

DOI:10.3724/SP.J.1008.2009.00157

白介素-18 增强 T 淋巴细胞直接接触激活的单核细胞分泌细胞因子的功能

霍红^{1△}, 张从昕^{2△}, 赵东宝³, 戴生明^{3*}

1. 解放军第二炮兵总医院肾内科, 北京 100088

2. 第二军医大学科研部, 上海 200433

3. 第二军医大学长海医院风湿免疫科, 上海 200433

[摘要] **目的:** 研究 IL-18 是否参与调节 T 细胞通过直接接触激活的单核细胞的功能及其细胞内机制。 **方法:** 采用磁珠分离技术从健康人外周血分离纯化 T 细胞和单核细胞, 被植物血凝素 (PHA) 预刺激的 T 细胞用多聚甲醛固定后按 4 : 1 与单核细胞共培养。采用 ELISA 法测定上清中肿瘤坏死因子 (TNF)- α 和 IL-18 的含量。采用流式细胞仪分析单核细胞表面 IL-18 受体 α 链的表达 (IL-18R α)。 **结果:** PHA 刺激 48 h 或 72 h 的 T 细胞诱导单核细胞产生的 TNF- α 显著高于未接受 PHA 刺激的 T 细胞。单独培养的单核细胞和 T 细胞几乎不产生 TNF- α 。T 细胞直接接触可诱导单核细胞产生 IL-18, 且该作用能被核因子 (NF)- κ B 抑制剂 N-乙酰基-L-半胱氨酸 (NAC) 和磷脂酰肌醇 (PI)3-激酶抑制剂 LY294002 分别抑制, 但有丝分裂原激活蛋白激酶 (MAPK) 抑制剂 SB203580 对之无作用。与 T 细胞共孵育 24 h 的单核细胞表面 IL-18R α 的表达明显上调。单克隆的 IL-18 中和抗体呈剂量依赖性抑制与 T 细胞共孵育的单核细胞产生 TNF- α 。IL-18 不能促进单纯单核细胞产生 TNF- α , 但呈剂量依赖性促进由于接触 T 细胞膜而激活的单核细胞产生 TNF- α , 且该作用可被 NAC 和 LY294002 分别拮抗, 但不受 SB203580 影响。 **结论:** T 细胞可通过直接接触诱导单核细胞产生 TNF- α 和 IL-18, 上调单核细胞表面的 IL-18R, 并激活单核细胞内的 NF- κ B 和 PI3-激酶。IL-18 可增强 T 细胞接触激活的单核细胞分泌致炎细胞因子的功能, 该作用依赖细胞内 NF- κ B 和 PI3-激酶途径的激活。

[关键词] T 淋巴细胞; 单核细胞; 巨噬细胞; 细胞接触; 白细胞介素 18; 信号转导

[中图分类号] R 392.11

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2009)02-0157-05

Interleukin-18 enhances cytokine secretion by monocytes activated through direct contact with T lymphocytes

HUO Hong^{1△}, ZHANG Cong-xin^{2△}, ZHAO Dong-bao³, DAI Sheng-ming^{3*}

1. Department of Nephrology, PLA General Hospital of the Second Artillery, Beijing 100088, China

2. Department of Science Research Administration, Second Military Medical University, Shanghai 200433

3. Department of Rheumatology & Immunology, Changhai Hospital, Second Military Medical University, Shanghai 200433

[ABSTRACT] **Objective:** To study whether interleukin (IL)-18 is involved in the activation of monocytes through direct contact with T cells and the related intracellular mechanism. **Methods:** T cells and monocytes were isolated and purified from the peripheral blood of healthy donors by magnetic beads. Phytohemagglutinin (PHA) pre-stimulated T cells were fixed by 1% paraformaldehyde and were then co-cultured with monocytes at a T cell : monocyte ratio of 4 : 1. TNF- α and IL-18 levels in the supernatants were assayed by ELISA. Expression of IL-18 receptor α chain (IL-18R α) on the surface of monocytes was analyzed by flow cytometry. **Results:** Monocytes activated by PHA-stimulated T cells produced significantly more TNF- α than by unstimulated T cells; non-cultured T cells or monocytes hardly produced any TNF- α . Upon direct cellular contact, PHA pre-stimulated T cells also up-regulated IL-18R α expression on the surface of monocytes and induced IL-18 production in monocytes, which could be suppressed by nuclear factor (NF)- κ B inhibitor (N-acetyl-L-cysteine, NAC) or phosphatidylinositol (PI) 3 kinase inhibitor (LY294002), but not by mitogen activated protein kinase (MAPK) inhibitor (SB203580). Neutralizing anti-IL-18 monoclonal antibody dose-dependently inhibited the production of TNF- α by monocyte-stimulated T cells. IL-18 failed to induce TNF- α production by cultured monocytes alone, while dose-dependently enhanced TNF- α production in monocyte-

[收稿日期] 2008-06-17

[接受日期] 2008-09-08

[基金项目] 上海市浦江人才计划(06PJ14121). Supported by Shanghai Pujiang Talent Program (06PJ14121).

[作者简介] 霍红, 博士, 主治医师. E-mail: huohong6@sina.com; 张从昕, 博士, 副教授. E-mail: zhangcongxin@sohu.com

Δ 共同第一作者 (Co-first authors).

* 通讯作者 (Corresponding author). Tel: 021-81872115, E-mail: dsm@medmail.com.cn

stimulated T cells, which could be inhibited by NAC or LY294002, but not by SB203580. **Conclusion:** By direct cellular contact T cells can stimulate monocytes to produce TNF- α and IL-18, up-regulate IL-18 receptor expression in monocytes, and activate intracellular NF- κ B and PI3 kinase pathways. IL-18 can enhance T cell ability to stimulate TNF- α production by monocytes, which is dependent on the activation of NF- κ B and PI3 kinase pathways.

[KEY WORDS] T lymphocytes; monocytes; macrophages; cell contact; interleukin-18; signal transduction

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2009, 30(2): 157-161]

在炎症部位,多种免疫/炎症细胞的侵入、相互作用在炎症的发生、发展中起重要作用,其中又以T淋巴细胞和单核-巨噬细胞之间的相互作用最为重要^[1]。单核-巨噬细胞是致炎细胞因子产生的主要来源,主要参与慢性炎症的持续,导致炎症部位的组织结构损害^[2]。T细胞主要通过细胞膜的直接接触激活单核-巨噬细胞产生肿瘤坏死因子(TNF)- α 等^[3]。白介素(IL)-18是一种致炎细胞因子^[4],在感染性炎症、类风湿关节炎、动脉粥样斑块等病变中起重要作用。为了阐述在慢性炎症部位IL-18是否能够通过调节由T细胞接触活化的单核-巨噬细胞的功能而参与病理机制,而设计了本研究。

1 材料和方法

1.1 主要材料和试剂 胎牛血清(FCS)、RPMI 1640培养基购自Gibco公司。N-乙酰基-L-半胱氨酸(NAC)、LY294002、SB203580、7-氨基-放射菌素D(7-AAD)均购自Sigma公司。重组人IL-18、单克隆的抗人IL-18的中和抗体(IL-18mAb)购自日本MBL公司。植物血凝素(PHA)购自日本和光纯药。T细胞分离试剂盒和单核细胞分离试剂盒购自MACS(Miltenyi Biotec)。抗IL-18受体 α 链(IL-18 α)的单克隆抗体购自R&D System。藻红蛋白(PE)标记的二抗即羊抗鼠IgG(H+L)购自法国Immunotech公司。Ficoll-Paque(相对密度1.077)购自瑞典Amersham Biosciences公司。

1.2 T细胞和单核细胞的纯化 从健康志愿者采外周静脉血,肝素抗凝,经浓度梯度离心后(分层液为Ficoll-Paque)分离外周血单核细胞(PBMC),然后分别按照T细胞分离试剂盒(含结合半抗原的抗CD11b、CD16、CD19、CD36和CD56单克隆抗体及结合微磁珠的抗半抗原的单克隆抗体)和单核细胞分离试剂盒(含封闭用的人Ig,结合半抗原的抗CD3、CD7、CD19、CD45RA、CD56和抗IgE的单克隆抗体及结合微磁珠的抗半抗原的单克隆抗体)的说明书操作,收集能够通过安放在MACS磁性细胞分离器(型号MidiMACS, Miltenyi Biotec)上MACS分离柱(型号LS⁺/VS⁺, Miltenyi Biotec)的细胞,即分别得到纯化的T细胞和单核细胞。

1.3 T细胞的刺激与固定 纯化的T细胞用含10%FCS的RPMI 1640培养基(2×10^6 细胞/ml)培养,用5 μ g/ml的PHA分别刺激24、48、72 h。然后用1%多聚甲醛在4 $^{\circ}$ C固定2 h后磷酸缓冲液(PBS)洗4次。在与单核细胞共培养之前,所有T细胞都被固定。

1.4 单核细胞的培养 纯化的单核细胞用含10%FCS的RPMI 1640培养基悬浮,以 5×10^5 细胞/ml的细胞密度接种在96孔培养板上,然后加入经1%多聚甲醛固定的T细胞,比例为T细胞:单核细胞=4:1。在37 $^{\circ}$ C的CO₂孵箱中孵育48 h后收集上清,-20 $^{\circ}$ C保存。根据实验目的不同,在培养基中同时加入IL-18(1~100 ng/ml)或IL-18mAb(0.05~5 μ g/ml)。为了研究信号转导途径,在加入T细胞之前,单核细胞先用核因子(NF)- κ B的抑制剂NAC(1~100 mmol/L)、磷脂酰肌醇(PI)3-激酶抑制剂LY294002(0.5~50 μ mol/L)或有丝分裂原激活蛋白激酶(mitogen activated protein kinase, MAPK)抑制剂SB203580(1~100 μ mol/L)预孵育2 h。

为了检测IL-18R α 的表达,单核细胞以 2×10^5 细胞/ml接种在6孔培养板上,与已被多聚甲醛固定的T细胞按单核细胞:T细胞=1:4共同孵育0(作为对照)、12和24 h,培养基中加或不加IL-18(100 ng/ml)。

1.5 细胞因子的测定 TNF- α 和IL-18的测定采用酶联免疫吸附测定法(ELISA),按照说明书操作。TNF- α 的ELISA试剂盒购自比利时Biosource Europe S. A.公司,敏感度为3 pg/ml。IL-18的ELISA试剂盒购自日本MBL公司,敏感度为12.5 pg/ml。

1.6 流式细胞仪分析 用细胞刮收集待分析的细胞,分别用一抗,即抗IL-18R α 单克隆抗体或对应的同型对照Ig(即小鼠IgG1, 2 μ g/ml)在4 $^{\circ}$ C孵育35 min,用PBS洗后再与PE标记的二抗即羊抗鼠IgG(H+L)在4 $^{\circ}$ C并避光条件下孵育30 min。并且加入7-AAD(5 μ g/ml)作双重染色,以排除死细胞^[5]。然后用FACSCalibur流式细胞仪(Becton Dickinson)分析,所用软件为CELLQuest(Becton Dickinson)。所得结果用抗IL-18R α 抗体染色的平均荧光强度(MFI)减去小

鼠 IgG1 的 MFI 表示, 即 Δ MFI。

1.7 统计学处理 每个实验均重复 4 次且血细胞来自于 4 个不同个体, 所得结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示。多组间均数的比较用方差分析, 两组间均数的比较用非配对 *t* 检验。 $P < 0.05$ 为显著性检验水准。

2 结果

2.1 T 细胞接触诱导单核细胞产生 TNF- α PHA 刺激 24 h 的 T 细胞, 对单核细胞产生 TNF- α 的诱导作用与未接受 PHA 刺激的 T 细胞无统计学差异。 PHA 刺激 48 h (图 1A) 和 72 h (图 1B) 的 T 细胞诱导单核细胞产生的 TNF- α 水平显著高于未接受 PHA 刺激的 T 细胞。 单独培养的单核细胞和 T 细胞几乎不产生 TNF- α (图 1)。 故后续实验中采用 PHA 刺激 72 h 的 T 细胞。

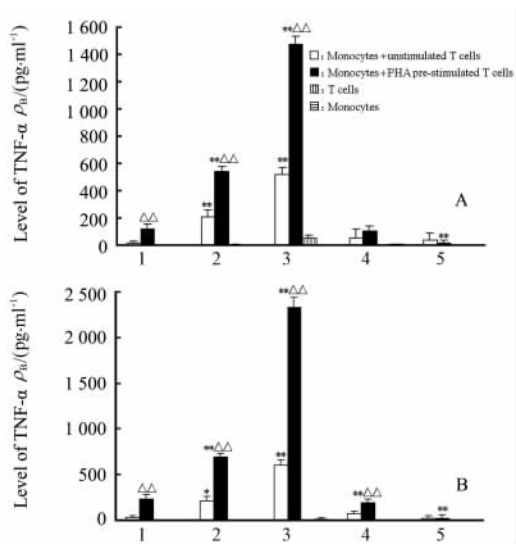


图 1 与 T 细胞共孵育促进单核细胞产生 TNF- α 以及 IL-18、IL-18mAb 对其的影响

Fig 1 Effects of IL-18 and IL-18mAb on TNF- α production by monocytes following cellular contact with T cells

A: T cells pre-stimulated by PHA for 8 h; B: T cells pre-stimulated by PHA for 72 h. 1: Control group; 2: 10 ng/ml IL-18; 3: 100 ng/ml IL-18; 4: 1 μ g/ml mouse IgG; 5: 5 μ g/ml IL-18mAb. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs control group; $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs monocytes co-cultured with unstimulated T cells; $n = 4, \bar{x} \pm s$

2.2 T 细胞直接接触对单核细胞产生 IL-18 的影响 在单独培养的单核细胞的上清中不能检测到 IL-18, 而与 T 细胞共孵育的单核细胞上清中可以检测到 IL-18。 且 T 细胞接触诱导单核细胞产生 IL-18 的作用, 能被 NF- κ B 抑制剂 NAC 和 PI3-激酶抑制剂 LY294002 分别拮抗, 但不能被 MAPK 抑制剂 SB203580 拮抗(图 2)。

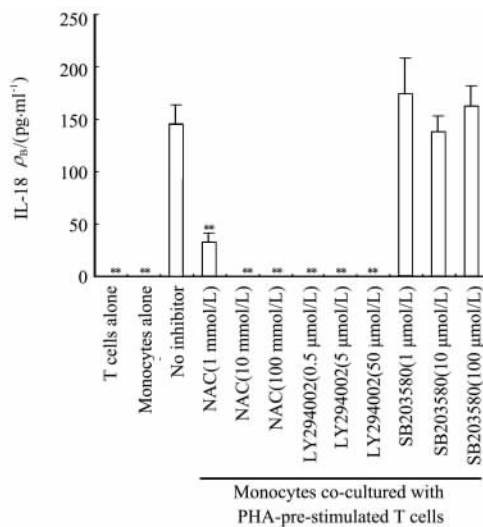


图 2 被 PHA 预刺激 72 h 的 T 细胞通过接触诱导单核细胞产生 IL-18

Fig 2 Production of IL-18 by monocytes following contact with PHA-pre-stimulated T cells

* * $P < 0.01$ vs control (no inhibitor); $n = 4, \bar{x} \pm s$

2.3 T 细胞直接接触对单核细胞表达 IL-18 和 IL-18R α 的影响 在用 7-AAD 排除死细胞(包括已被多聚甲醛固定的 T 细胞)后, 采用流式细胞仪分析了与 T 细胞共孵育的单核细胞表面 IL-18R α 的表达情况。 以单核细胞与 T 细胞单纯混合(即共孵育的时间为 0 h)后的 IL-18R α 表达水平作为基础值。 结果显示, 在共孵育 12 h 后 IL-18R α 的表达仅有升高趋势但无统计学差异 (Δ MFI: 100.4 ± 17.4 vs 86.8 ± 4.0 , $P > 0.05$); 在共孵育 24 h 后的 IL-18R α 表达明显上调 (Δ MFI: 115.9 ± 6.0 vs 86.8 ± 4.0 , $P < 0.01$)。 与未加 IL-18 相比, IL-18 (100 ng/ml) 在共孵育 12 h 后 (Δ MFI: 99.2 ± 16.1 vs 100.4 ± 17.4 , $P > 0.05$) 或 24 h 后 (Δ MFI: 109.1 ± 7.2 vs 115.9 ± 6.0 , $P > 0.05$) 对单核细胞 IL-18R α 的表达均无显著影响。

2.4 IL-18 和 IL-18mAb 对 T 细胞-单核细胞接触反应的作用 IL-18 (1~100 ng/ml) 呈剂量依赖性促进由于接触 T 细胞膜而激活的单核细胞产生 TNF- α (图 1, 图 3)。 IL-18 (10~100 ng/ml) 不能促进单纯的单核细胞产生 TNF- α (图 1)。 IL-18mAb (0.05~5.0 μ g/ml) 呈剂量依赖性抑制与 T 细胞共孵育的单核细胞产生 TNF- α , 而与其同型的小鼠非特异性 IgG1 对此无影响(图 4)。

2.5 IL-18 依赖的信号转导途径 见图 5。 NF- κ B 抑制剂 NAC 和 PI3-激酶抑制剂 LY294002 均能剂量依赖性拮抗 IL-18 对与 T 细胞共培养的单核细胞产生 TNF- α 的促进作用, 而 MAPK 抑制剂

SB203580 不影响 IL-18 对 TNF- α 生成的促进作用。当 NAC 和 LY294002 合用时几乎可完全取消 IL-18 促进与 T 细胞接触的单核细胞生成 TNF- α 的作用。

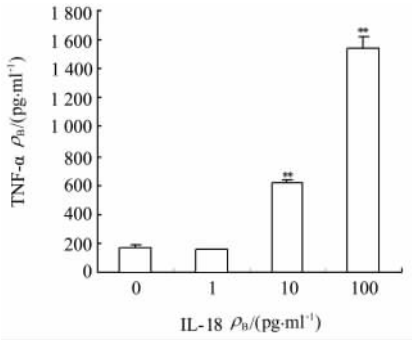


图 3 不同剂量的 IL-18 对与 T 细胞共孵育的单核细胞产生 TNF- α 的影响

Fig 3 Dose-effect of IL-18 on TNF- α production by monocytes co-cultured with PHA-prestimulated T cells

** $P < 0.01$ vs control (0 ng/ml IL-18); $n = 4, \bar{x} \pm s$

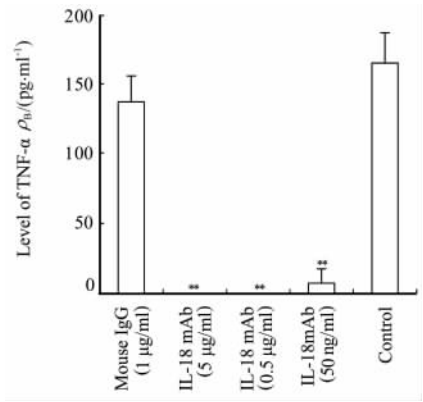


图 4 不同浓度的 IL-18mAb 对与 T 细胞共孵育的单核细胞产生 TNF- α 的影响

Fig 4 Different concentrations of IL-18mAb affect TNF- α production in monocytes co-cultured with PHA-prestimulated T cells

** $P < 0.01$ vs control; $n = 4, \bar{x} \pm s$

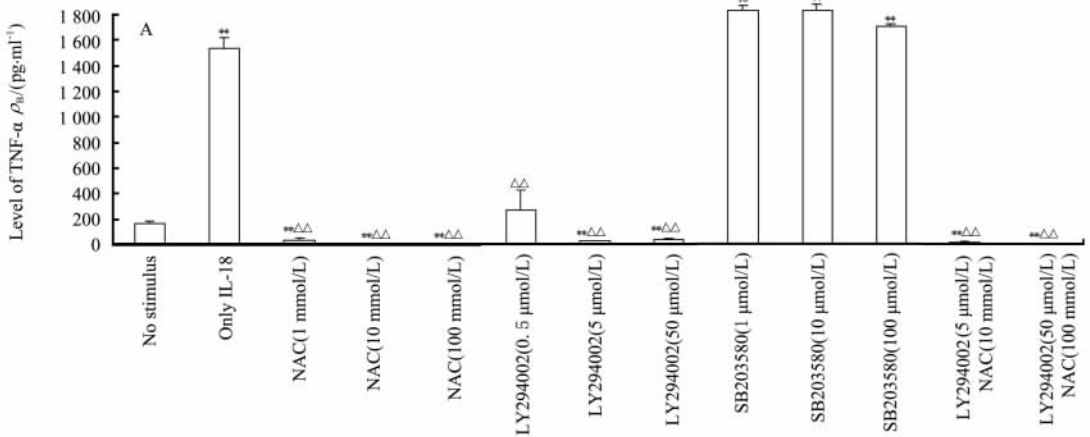


图 5 细胞内信号转导途径抑制剂对 IL-18 促进与 T 细胞共孵育的单核细胞分泌 TNF- α 的影响

Fig 5 Effects of intracellular signal-inhibitors on IL-18-stimulated TNF- α production in monocytes co-cultured with T cells

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ vs negative control (no stimulus); $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$ vs positive control (only IL-18 stimulation). $n = 4, \bar{x} \pm s$

3 讨论

本研究采用经 1% 多聚甲醛固定的 T 细胞, 排除了 T 细胞通过分泌可溶性分子影响单核细胞活性的可能性, 结果显示 T 细胞可以通过细胞膜接触激活单核细胞分泌 TNF- α , 而且经 PHA 刺激 48 h 以上的 T 细胞对单核细胞产生 TNF- α 的诱导作用明显强于未预先接受 PHA 刺激的 T 细胞。该结果证实了先前的研究报道, 如 IL-2、IL-6 和 TNF- α 或 IL-15 单独激活的 T 细胞被固定后可以诱导单核细胞产生 TNF- α , 但不能诱导 IL-10 的产生^[3]。从类风湿关节炎滑膜组织中分离的 T 细胞(在体内已激活)经固定后也能诱导单核细胞产生 TNF- α , 且在

共培养时用筛网将 T 细胞和单核细胞隔开, T 细胞对单核细胞的诱导作用消失, 进一步表明 T 细胞对单核细胞的激活依赖直接的细胞膜接触^[6]。

IL-18 可以诱导 T 细胞产生 IFN- γ , 还可以促进其他细胞因子如 TNF- α 、IL-1 β 、IL-8、GM-CSF 及一氧化氮等的生成^[4]。T 细胞、NK 细胞、树突状细胞、枯否细胞、关节软骨细胞、成骨细胞及滑膜成纤维细胞等均能分泌 IL-18^[4]。IL-18 受体(IL-18R)由异二聚体组成, 即 α 链(IL-18R α)和 β 链(IL-18R β)。IL-18R α 是受体复合体中与 IL-18 的结合部分, IL-18R β 是介导信号转导的辅助链。外周血 T、B 淋巴细胞和 NK 细胞以及类风湿关节炎滑膜中的淋巴细胞、巨噬细胞、成纤维细胞均能表达 IL-

18R^[4]。在本研究中我们发现 PHA 预激活的 T 细胞诱导单核细胞产生 IL-18。IL-18 的中和抗体可以拮抗 T 细胞接触诱导单核细胞分泌 TNF- α , 进一步证明了 T 细胞通过直接接触诱导单核细胞自分泌 IL-18。我们还发现 T 细胞通过直接接触促进单核细胞表面 IL-18 α 的表达。在实验观察期间未发现外源性 IL-18 (100 ng/ml) 对 IL-18R α 的表达有明显影响。上述结果表明 IL-18 可能参与调节 T 细胞和单核细胞的接触活化反应。

迄今为止,关于调节 T 细胞通过接触诱导单核细胞激活的因素的相关研究很少。IFN- γ 和 GM-CSF 可以促进细胞因子预刺激的 T 细胞通过接触诱导单核细胞分泌 TNF- α ^[3]; IFN- β 和载脂蛋白 A-I 可以抑制 PHA 预刺激的 T 细胞通过接触对单核细胞合成 TNF- α 的诱导作用^[7-8]。本研究发现 IL-18 促进 PHA 预刺激的 T 细胞通过接触诱导单核细胞合成 TNF- α , 而且还发现 IL-18 的中和抗体可以拮抗 T 细胞接触诱导单核细胞分泌 TNF- α , 进一步证实了 IL-18 可以提高 T 细胞通过直接接触激活的单核细胞分泌致炎细胞因子的功能。IL-18 与受体结合后引起的细胞内信号转导途径尚无定论^[4]。Morel 等^[9]报道 IL-18 诱导类风湿关节炎滑膜细胞分泌 IL-8 依赖 NF- κ B 途径的激活。Wyman 等^[10]发现 MAPK 抑制剂 SB203580 可以抑制 IL-18 对中性粒细胞的活化。PI3-激酶的反义寡聚核苷酸可以降低 IL-18 对滑膜成纤维细胞表达黏附分子的促进作用^[11]。本研究表明,IL-18 对 T 细胞通过接触诱导单核细胞分泌 TNF- α 的促进作用,依赖 NF- κ B 途径和 PI3-激酶途径的激活,而不依赖 MAPK 途径的激活。

有关单核细胞被预刺激的 T 细胞通过接触激活后细胞内的信号转导途径的报道非常少,且结果不一致。Brennan 等^[6]发现类风湿关节炎滑膜 T 细胞通过接触诱导单核细胞分泌 TNF- α 的作用可被 NF- κ B 抑制剂拮抗,但被 PI3-激酶抑制剂增强;由抗 CD3 的抗体预刺激正常人外周血 T 细胞通过接触诱导单核细胞分泌 TNF- α 的作用可被 PI3-激酶抑制剂拮抗,但不受 NF- κ B 抑制剂的影响。Foey 等^[12]也发现,无论是类风湿关节炎滑膜 T 细胞还是细胞因子预刺激的 T 细胞,其通过接触诱导巨噬细胞分泌 IL-10 的作用均可被 PI3-激酶抑制剂拮抗。本研究结果显示 NF- κ B 抑制剂和 PI3-激酶抑制剂都可拮抗 PHA 预刺激的 T 细胞诱导单核细胞分泌 IL-18 的作用,而 MAPK 抑制剂无此作用,表明被 T

细胞接触激活的单核细胞的功能依赖胞内 NF- κ B 途径和 PI3-激酶途径的激活。

[参考文献]

- [1] McInnes I B, Leung B P, Liew F Y. Cell-cell interactions in synovitis. Interactions between T lymphocytes and synovial cells [J]. *Arthritis Res*, 2000, 2: 374-378.
- [2] Burger D, Dayer J M. The role of human T-lymphocyte-monocyte contact in inflammation and tissue destruction [J]. *Arthritis Res*, 2002, 4(Suppl 3): S169-S176.
- [3] Sebbag M, Parry S L, Brennan F M, Feldmann M. Cytokine stimulation of T lymphocytes regulates their capacity to induce monocyte production of tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-10: possible relevance to pathophysiology of rheumatoid arthritis [J]. *Eur J Immunol*, 1997, 27: 624-632.
- [4] Biet F, Loch C, Kremer L. Immunoregulatory functions of interleukin 18 and its role in defense against bacterial pathogens [J]. *J Mol Med*, 2002, 80: 147-162.
- [5] Schmid I, Hausner M A, Cole S W, Uittenbogaart C H, Giorgi J V, Jamieson B D. Simultaneous flow cytometric measurement of viability and lymphocyte subset proliferation [J]. *J Immunol Methods*, 2001, 247(1-2): 175-186.
- [6] Brennan F M, Hayes A L, Ciesielski C J, Green P, Foxwell B M, Feldmann M. Evidence that rheumatoid arthritis synovial T cells are similar to cytokine-activated T cells; involvement of phosphatidylinositol 3-kinase and nuclear factor kappaB pathways in tumor necrosis factor alpha production in rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Rheum*, 2002, 46: 31-41.
- [7] Jungo F, Dayer J M, Modoux C, Hyka N, Burger D. IFN-beta inhibits the ability of T lymphocytes to induce TNF-alpha and IL-1beta production in monocytes upon direct cell-cell contact [J]. *Cytokine*, 2001, 14: 272-282.
- [8] Hyka N, Dayer J M, Modoux C, Kohno T, Edwards C K 3rd, Roux-Lombard P, et al. Apolipoprotein A-I inhibits the production of interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha by blocking contact-mediated activation of monocytes by T lymphocytes [J]. *Blood*, 2001, 97: 2381-2389.
- [9] Morel J C, Park C C, Kumar P, Koch A E. Interleukin-18 induces rheumatoid arthritis synovial fibroblast CXCL12 chemokine production through NF-kappaB activation [J]. *Lab Invest*, 2001, 81: 1371-1383.
- [10] Wyman T H, Dinarello C A, Banerjee A, Gamboni-Robertson F, Hiester A A, England K M, et al. Physiological levels of interleukin-18 stimulate multiple neutrophil functions through p38 MAP kinase activation [J]. *J Leukoc Biol*, 2002, 72: 401-409.
- [11] Morel J C, Park C C, Zhu K, Kumar P, Ruth J H, Koch A E. Signal transduction pathways involved in rheumatoid arthritis synovial fibroblast interleukin-18-induced vascular cell adhesion molecule-1 expression [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277: 34679-34691.
- [12] Foey A, Green P, Foxwell B, Feldmann M, Brennan F. Cytokine-stimulated T cells induce macrophage IL-10 production dependent on phosphatidylinositol 3-kinase and p70S6K: implications for rheumatoid arthritis [J]. *Arthritis Res*, 2002, 4: 64-70.