

## · 实验研究 ·

# 实验性外伤性视神经病变大鼠脾细胞中 Th17 细胞数量与视网膜中 IL-17 表达的变化

郑华宾 颜华

**【摘要】** 背景 研究表明,实验性外伤性视神经病变(TON)可激活机体的免疫系统而发生免疫性炎症反应,而一种 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞,即辅助性 T 细胞 17(Th17)与免疫性炎症的发生和发展有关,但 Th17 与 TON 发生和发展的关系尚不明确。目的 观察 TON 大鼠脾脏中 Th17 细胞数量及视网膜中白细胞介素-17(IL-17)的表达变化。方法 采用随机数字表法将 70 只 4 周龄雄性健康 SD 大鼠分为正常对照组、伪手术组和 TON 1、3、7、14、28 d 组,每组 10 只。TON 组大鼠右眼结膜切开分离并暴露视神经,用液压颅脑损伤(FPI)仪以 25° 击打视神经,平均打击力为(699.1±60.8)kPa,建立 TON 大鼠模型,伪手术组大鼠仅暴露视神经。各组大鼠均行闪光视觉诱发电位(F-VEP)检查,测量 P<sub>2</sub>波的潜伏期和振幅;收集各组大鼠脾脏以制备单细胞悬液,采用流式细胞技术计数 Th17 细胞;采用免疫组织化学法检测各组大鼠视网膜组织中 IL-17 蛋白的表达。结果 正常对照组与伪手术组大鼠 F-VEP P<sub>2</sub>波潜伏期和振幅、脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例、视网膜组织中 IL-17 阳性细胞数比较,差异均无统计学意义( $P=0.829, 0.830, 0.856, 0.496$ )。与伪手术组比较,各 TON 组大鼠 F-VEP P<sub>2</sub>波的潜伏期明显延长,振幅明显下降,差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ )。TON 1、3、7、14 和 28 d 组大鼠脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例分别为(1.80±0.18)%、(1.98±0.20)%、(2.34±0.20)%、(2.11±0.13)%、(1.92±0.18)% ,均明显高于伪手术组的(0.94±0.13)% ,差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ )。TON 1、3、7、14 和 28 d 组大鼠视网膜组织中 IL-17 阳性细胞数分别为 1 673.416±188.021、1 892.431±151.026、2 420.454±256.024、1 996.429±177.022 和 1 629.410±127.023,均明显高于伪手术组的 796.326±100.028,差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ )。结论 TON 大鼠脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例上升,视网膜组织中 IL-17 蛋白表达量增加,二者可能参与 TON 的发生和发展过程。

**【关键词】** 外伤性视神经病变; CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞/免疫; 辅助性 T 细胞 17; 白细胞介素-17; 流式细胞术; 免疫组织化学; 动物模型

**Changes of Th17 positive splenocytes and retinal interleukin-17 expression in rats with traumatic optic neuropathy** Zheng Huabin, Yan Hua. Department of Ophthalmology, Tianjin Medical University General Hospital, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Yan Hua, Email: phuayan2000@163.com

**[Abstract]** **Background** Studies showed that traumatic optic neuropathy (TON) can activate and induce immuno-inflammatory response, while T helper cell 17 (Th17), a CD4<sup>+</sup> T lymphocyte, is associated with immuno-inflammatory response. However, the effects of Th17 on the development of TON are unclear. **Objective** This study was to observe the changes of Th17 lymphocytes in spleen and the expression of interleukin-17 (IL-17) in retina in TON rats. **Methods** Seventy male 4-week-old SD rats were randomly divided into normal control group, sham operation group and TON 1-, 3-, 7-, 14- and 28-day group according to random number table. The optical nerves of the right eyes were exposed and impacted at a 25° angle by using fluid percussion injury (FPI) device with the average force (699.1±60.8) kPa to create the TON models in the TON groups, and only optical nerves were exposed in the sham operation group. Flash visual evoked potential (F-VEP) was recorded and the amplitude and latency were measured to evaluate the function of optical nerves of the rats. The rat splenocyte suspension in various groups was

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2015.10.003

基金项目:国家自然科学基金项目(81371038、91442124);天津市自然科学基金项目(12JCYBJC33900、14JCYBJC28000)

作者单位:300052 天津医科大学总医院眼科

通信作者:颜华, Email: phuayan2000@163.com

prepared for the detection of Th17 cells by flow cytometry, and the expression of IL-17 protein was detected by immunochemistry. **Results** No significant differences were found in the amplitudes and latencies of  $P_2$  wave, proportion of Th17 cells and the IL-17 positive cell numbers in retina between the normal control group and sham operation group ( $P = 0.829, 0.830, 0.856, 0.496$ ). The amplitudes of  $P_2$  wave were significantly lower, and the latencies of  $P_2$  wave were significantly longer in the TON groups than those in the sham operation group (all at  $P < 0.05$ ). The proportions of Th17 positive  $CD4^+$  T lymphocytes were  $(0.94 \pm 0.13)\%$ ,  $(1.80 \pm 0.18)\%$ ,  $(1.98 \pm 0.20)\%$ ,  $(2.34 \pm 0.20)\%$ ,  $(2.11 \pm 0.13)\%$ ,  $(1.92 \pm 0.18)\%$  in the sham operation group, TON 1-day group, TON 3-day group, TON 7-day group, TON 14-day group and TON 28-day group, respectively, showing significant differences between the sham operation group and various TON groups (all at  $P < 0.05$ ). In addition, the IL-17 positive cell numbers in retina were  $796.326 \pm 100.028$ ,  $1\ 673.416 \pm 188.021$ ,  $1\ 892.431 \pm 151.026$ ,  $2\ 420.454 \pm 256.024$ ,  $1\ 996.429 \pm 177.022$  and  $1\ 629.410 \pm 127.023$  in the sham operation group, TON 1-day group, TON 3-day group, TON 7-day group, TON 14-day group and TON 28-day group, respectively, showing significant differences between the sham operation group and various TON groups (all at  $P < 0.05$ ). **Conclusions** In rats of TON, the proportion of Th17 cell in splenocytes and the expressions of IL-17 in retina are increased, suggesting that Th17 and IL-17 participate in the progression of TON.

[Key words] Optic neuropathy, traumatic; CD4-positive T-lymphocytes/immunology; T helper cell 17; Interleukin-17; Flow cytometry; Immunohistochemistry; Disease models, animal

外伤性视神经病变 (traumatic optic neuropathy, TON) 是颅脑损伤严重的并发症之一, 占头部闭合性损伤的 0.5% ~ 2.0%, 多为间接视神经损伤<sup>[1]</sup>。目前对 TON 发病机制的研究尚不深入, 其治疗方案尚无统一的标准。近年来研究表明, TON 可激活机体的免疫系统, 可能会对 TON 的预后产生影响。辅助性 T 细胞 17 (T helper cell 17, Th17) 是近年来发现的一种  $CD4^+$  T 淋巴细胞, 可分泌高水平的白细胞介素-17 (interleukin-17, IL-17), 参与机体的抗感染免疫反应, 从而诱导炎症发生, 在自身免疫性疾病和感染性疾病中发挥重要的作用<sup>[2-3]</sup>。Th17 及 IL-17 在 TON 中变化的研究目前鲜有报道。本研究中拟观察 TON 模型大鼠脾脏中 Th17 细胞的数量与视网膜中 IL-17 表达的动态变化情况, 为进一步研究 Th17 细胞和 IL-17 表达在 TON 发病中的作用提供实验依据。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验动物及分组** 清洁级 4 周龄雄性健康 SD 大鼠 70 只, 购于天津医科大学实验动物中心, 体质量 300 ~ 350 g。实验动物的使用和饲养遵循 ARVO 声明, 本研究经天津医科大学实验动物伦理委员会审核通过。应用随机数字表法将大鼠随机分为正常对照组、伪手术组和 TON 1、3、7、14、28 d 组, 均选取右眼作为实验眼, 左眼不予处理。

**1.1.2 主要试剂及仪器** 淋巴细胞分离液 (深圳达科公司); FITC 标记兔抗鼠 CD4 单克隆抗体、PE 标记兔抗鼠 IL-17 单克隆抗体 (美国 BD 公司); 兔抗鼠多

克隆 IgG 一抗 (美国 Santa Cruz 公司); 羊抗兔 IgG-HRP 二抗试剂盒 (北京中杉金桥生物技术有限公司)。MODEL01-B 液压颅脑损伤 (fluid percussion injury, FPI) 仪 (美国 Newsun 公司); FACSCalibur 流式细胞仪 (美国 BD 公司); RETI-Port/Scan21 多功能视觉电生理诊断仪 (德国 Roland 公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 TON 动物模型的建立** 参照文献 [4] 中描述的方法建立 TON 动物模型。用体积分数 10% 水合氯醛 (3.5 ml/kg) 麻醉 TON 组大鼠, 沿 10:00 ~ 2:00 方位弧形剪开右眼穹隆部结膜, 分离并暴露视神经, 将大鼠固定在 FPI 鼠架上, 沿巩膜外壁将自制的视神经打击管伸入眼眶内约 2 mm, 调整打击锤以 25° 打击视神经, 平均打击力为  $(699.1 \pm 60.8)$  kPa。伪手术组大鼠麻醉后, 沿 10:00 ~ 2:00 方位弧形剪开右眼穹隆部结膜, 分离并暴露视神经, 但不予打击处理。正常对照组大鼠不予任何处理。造模后左氧氟沙星滴眼液点眼, 每日 3 次, 预防感染。

**1.2.2 各组大鼠闪光视觉诱发电位检测** 10% 水合氯醛 (3.5 ml/kg) 麻醉大鼠, 采用银针电极 (阻抗  $< 15$  k $\Omega$ ) 进行检测。作用电极置入枕骨粗隆处 (OZ 位) 皮下, 参考电极置入鼻部 (FPZ) 皮下, 地电极置入耳后乳突处 (A 位) 皮下。采用 LED 眼罩闪烁刺激, 闪烁频率为 1.6 Hz, 通频带宽为 30 ~ 100 Hz, 每眼连续测量 3 次, 每次间隔 10 min。分别记录正常对照组、伪手术组及各 TON 组大鼠闪光视觉诱发电位 (flash visual evoked potential, F-VEP)  $P_2$  波的潜伏期和振幅。

**1.2.3 流式细胞仪检测各组大鼠脾脏中 Th17 细胞占**

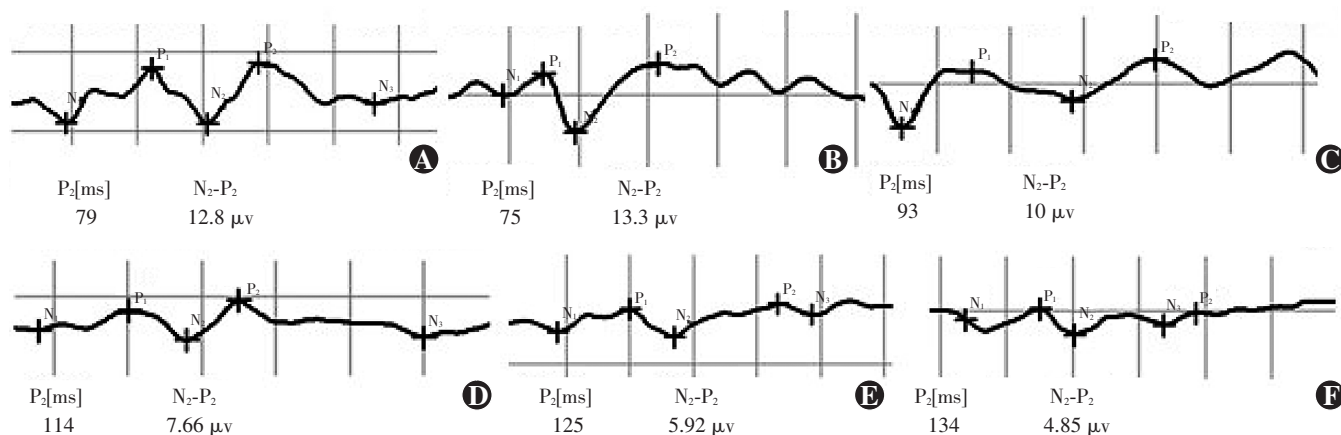


图 1 正常对照组、伪手术组及各 TON 组 F-VEP 检查结果 P<sub>2</sub> 代表潜伏期, N<sub>2</sub>-P<sub>2</sub> 代表振幅 A: 正常对照组 B: 伪手术组 C: TON 1 d 组 D: TON 7 d 组 E: TON 14 d 组 F: TON 28 d 组

CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例 颈椎脱臼法处死大鼠后取出脾脏,用 PBS 冲洗干净,切碎后置于玻璃皿中研磨,用 200 目不锈钢细网过滤后制成单细胞悬液,用大鼠淋巴细胞分离液进行分离以获取淋巴细胞,将淋巴细胞以 1×10<sup>6</sup>/ml 的密度接种于 24 孔板,培养液中加入 50 ng/ml 佛波酯、1 μg/ml 离子霉素和 2 μg/ml 莫能霉素,置 37 °C 培养箱中培养 5 h,收集细胞,用 IL-17 一抗 (1:100) 和 CD4 一抗 (1:100) 共同孵育 20 min, PBS 洗涤,微网过滤后上机检测 Th-17 细胞比例。实验重复 3 次,取其平均值。

1.2.4 免疫组织化学法检测各组大鼠视网膜组织中 IL-17 的表达 颈椎脱臼法处死大鼠,完整取出大鼠眼球,制备石蜡切片。采用标准 SP 两步法进行免疫组织化学染色。滴加 IL-17 一抗 (1:500), 4 °C 孵育过夜,添加羊抗兔 IgG-HRP 二抗,37 °C 孵育 30 min, DAB 显色,明矾苏木素复染后封片。PBS 代替一抗作为阴性对照。用图像采集系统摄取图像,400 倍显微镜下每张载片任意选取 3 个视野,每个视野面积为 0.2 mm×0.2 mm,阳性细胞为细胞质中出现黄色或棕黄色着色,采用 Image-Pro Plus 6.0 对视野中的阳性细胞进行计数,取其平均值。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 统计学软件(美国 SPSS 公司)进行统计分析。本研究各测试指标的数据资料经 Kolmogorov-Smirnov 检验呈正态分布,以  $\bar{x} \pm s$  表示,经 Levene 检验证实方差齐。采用完全随机分组 7 水平实验设计,正常对照组、伪手术组及 TON 1、3、7、14、28 d 组间 F-VEP P<sub>2</sub> 波潜伏期与振幅、脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例、视网膜组织中 IL-17 阳性细胞数的总体差异比较均采用单因素方差分析,组间的多重比较采用 LSD-t 检验。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组大鼠 F-VEP 的比较

各组大鼠均可记录到典型的 NPN 波形(图 1)。伪手术组大鼠较正常对照组 F-VEP P<sub>2</sub> 波的潜伏期稍延长,振幅稍降低,但差异均无统计学意义(P=0.829、0.830);与伪手术组比较,各 TON 组大鼠 F-VEP P<sub>2</sub> 波的潜伏期从造模后开始延长,到 14 d 左右稳定,而振幅从造模后开始降低,到 14 d 左右稳定,各 TON 组大鼠 F-VEP P<sub>2</sub> 波的潜伏期和振幅值均明显低于伪手术组,差异均有统计学意义(均 P<0.05)(表 1)。

表 1 正常对照组、伪手术组及各 TON 组 P<sub>2</sub> 波潜伏期及振幅的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	潜伏期 (ms)	振幅 (μV)
正常对照组	10	78.80 ± 8.52	12.23 ± 1.74
伪手术组	10	79.70 ± 9.79	13.45 ± 2.21
TON 1 d 组	10	93.60 ± 12.50 <sup>a</sup>	10.41 ± 1.75 <sup>a</sup>
TON 3 d 组	10	105.00 ± 8.77 <sup>a</sup>	8.52 ± 1.38 <sup>a</sup>
TON 7 d 组	10	112.00 ± 9.46 <sup>a</sup>	7.50 ± 1.34 <sup>a</sup>
TON 14 d 组	10	126.30 ± 10.48 <sup>a</sup>	5.89 ± 1.29 <sup>a</sup>
TON 28 d 组	10	129.30 ± 8.23 <sup>a</sup>	5.61 ± 1.09 <sup>a</sup>
F		44.219	37.838
P		0.000	0.000

注:与伪手术组比较,<sup>a</sup>P<0.01(单因素方差分析,LSD-t 检验) TON: 外伤性视神经病变

2.2 各组大鼠脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例

伪手术组大鼠脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例较正常对照组增高,但差异无统计学意义(P=0.856);各 TON 组大鼠脾脏中 Th17 细胞所占 CD4<sup>+</sup> T 细胞的比例从造模后开始上升,造模后 7 d 达高峰,随后逐渐下降,但在造模后 28 d 仍高于伪手术组,差异均有统计学意义(均 P<0.05)(图 2,表 2)。



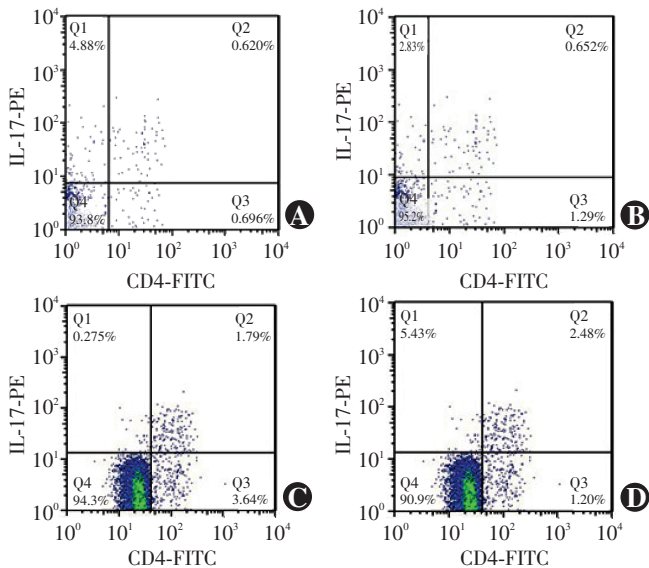


图 2 流式细胞仪检测各组大鼠脾脏中 Th17 细胞所占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例 右上象限(Q2)和右下象限(Q3)分别代表 Th17 阳性 CD4<sup>+</sup>T 细胞和 Th17 阴性 CD4<sup>+</sup>T 细胞 A: 正常对照组大鼠脾脏中 Th17 阳性细胞所占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例相对较少 B: 伪手术组大鼠脾脏中 Th17 阳性细胞所占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例与正常对照组无明显差别 C: TON 1 d 组大鼠脾脏中 Th17 阳性细胞所占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例明显升高 D: TON 7 d 组大鼠脾脏中 Th17 细胞所占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例最高 IL: 白细胞介素

### 2.3 各组大鼠视网膜组织中 IL-17 阳性细胞数的比较

伪手术组大鼠视网膜组织中 IL-17 阳性细胞数较正常对照组稍增多, 差异无统计学意义 ( $P = 0.496$ ); 各 TON 组大鼠视网膜组织中 IL-17 阳性细胞从损伤后开始增多, 造模后 7 d 达高峰, 随后开始减少, 但造模后 28 d 时仍多于伪手术组。不同时间点 TON 组与伪手术组大鼠视网膜组织中 IL-17 阳性细胞数的比较, 差异均有统计学意义 (均  $P < 0.05$ ) (图 3, 表 2)。

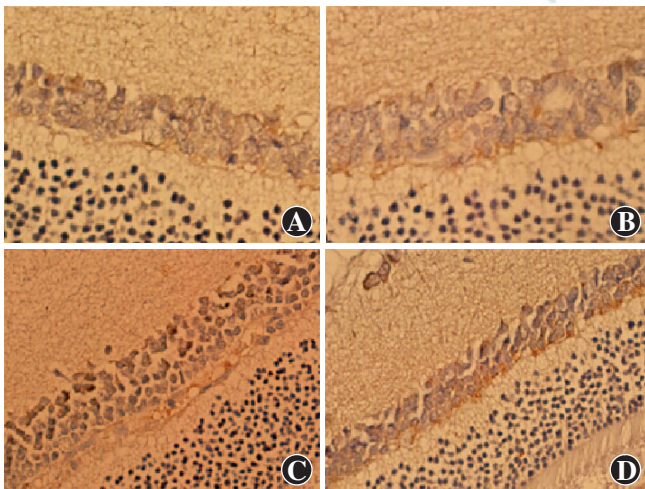


图 3 免疫组织化学法检测各组大鼠视网膜组织中 IL-17 的表达 (DAB ×400) A: 正常对照组大鼠视网膜组织中可见内核层少量 IL-17 的表达 B: 伪手术组大鼠视网膜组织中 IL-17 的表达与正常对照组无明显差别 C: TON 1 d 组大鼠视网膜组织中 IL-17 的表达开始明显增多 D: TON 7 d 组大鼠视网膜组织中 IL-17 的表达达峰值

表 2 各组大鼠脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞比例及视网膜中 IL-17 阳性细胞数的比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	样本量	Th17 细胞比例 (%)	IL-17 阳性细胞数
正常对照组	10	0.92 ± 0.15	672.532 ± 83.656
伪手术组	10	0.94 ± 0.13	796.326 ± 100.028
TON 组 1 d	10	1.80 ± 0.18 <sup>a</sup>	1 673.416 ± 188.021 <sup>a</sup>
TON 组 3 d	10	1.98 ± 0.20 <sup>a</sup>	1 892.431 ± 151.026 <sup>a</sup>
TON 组 7 d	10	2.34 ± 0.20 <sup>a</sup>	2 420.454 ± 256.024 <sup>a</sup>
TON 组 14 d	10	2.11 ± 0.13 <sup>a</sup>	1 996.429 ± 177.022 <sup>a</sup>
TON 组 28 d	10	1.92 ± 0.18 <sup>a</sup>	1 629.410 ± 127.023 <sup>a</sup>
F		75.629	154.929
P		0.000	0.000

注: 与伪手术组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$  (单因素方差分析, LSD-*t* 检验) Th: 辅助性 T 细胞; IL: 白细胞介素; TON: 外伤性视神经病变

### 3 讨论

本研究中采用 FPI 法建立 TON 动物模型, 是目前较为常用的 TON 造模方法<sup>[5]</sup>。造模后 F-VEP 检查结果表明, TON 组大鼠的 P<sub>2</sub> 波潜伏期从造模后开始延长, 而振幅从造模后开始下降, 并均在造模后 14 d 左右稳定, 这些改变符合临床上视神经外伤后的视觉电生理检查变化特征, 表明采用 FPI 法可以成功建立 TON 模型。

TON 发病机制较为复杂, 目前尚无统一的治疗方案。Levin 等<sup>[6]</sup>认为, 糖皮质激素治疗和视神经管减压术均不是 TON 治疗的最佳方法, 因此关于 TON 发生机制的研究对选择有效的治疗方法至关重要。既往研究表明, 外力通过骨骼传导的方式或牵拉和剪切等方式损伤视神经, 外伤引起的血管功能障碍是引起 TON 的主要原因<sup>[7]</sup>, 而近年来研究表明, TON 可激活机体的免疫系统, 进而引起一系列的免疫反应。Kipnis 等<sup>[8]</sup>研究发现, 外伤后动物体内发生自身免疫应答反应, 而外源性 Th1 细胞能避免由免疫应答所引起的视神经元继发性变性。Fisher 等<sup>[9]</sup>研究发现, 视神经损伤后, C57BL/6J 小鼠视神经组织中 IL-6 表达量增多, 而在损伤后 24 h 内清除 IL-6 能显著提高视网膜神经节细胞的存活率, 说明 IL-6 能一定程度地加重视神经损伤。Th17 细胞是 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 具有 IL-23 依赖性并特异性分泌 IL-17<sup>[10]</sup>。IL-17 能刺激成纤维细胞、单核细胞等分泌 IL-6、IL-8、集落刺激因子等多种细胞因子, 促进淋巴细胞的增生和分化, 产生抗体并加重炎症反应<sup>[11]</sup>。Peng 等<sup>[12]</sup>对实验性自身免疫性葡萄膜炎小鼠进行检测, 发现其体内 Th17 细胞分泌大量 IL-17, 且分泌量与葡萄膜炎的严重程度基本一致, 给予 IL-17 抗体能明显减轻炎症反应。

本研究结果显示, 正常对照组与伪手术组大鼠的



F-VEP 检查、流式细胞仪检测、免疫组织化学法检测结果差异均无统计学意义,说明伪手术对大鼠脾脏中 Th17 细胞数量及视网膜中 IL-17 的表达无明显影响。流式细胞仪检查结果还表明,视神经损伤后大鼠脾脏中 Th17 阳性细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例上升,免疫组织化学法检测结果也显示各 TON 组大鼠视网膜组织中 IL-17 蛋白表达增多,这些结果均提示 Th17 细胞、IL-17 可能参与 TON 的发生和发展,推测视神经损伤后大鼠体内产生大量促炎因子(如 IL-6)和抗炎因子(如转化生长因子-β),这 2 种因子共同诱导 T 细胞分化为 Th17 细胞<sup>[13]</sup>。Th17 细胞分泌 IL-17 等细胞因子,诱导促炎因子(如 IL-6 和肿瘤坏死因子)、趋化因子(如单核细胞趋化蛋白 1、巨噬细胞炎性蛋白 2)和基质金属蛋白酶的表达,引起局部细胞浸润和组织破坏,同时 IL-17 可参与中性粒细胞的增生、成熟和分化,对 T 细胞的活化起到协同刺激作用<sup>[14]</sup>,最终加重炎症反应,进一步损伤视神经。

综上所述,本研究结果表明 TON 大鼠脾脏中 Th17 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞的比例上升,视网膜组织中 IL-17 蛋白表达增多,Th17 细胞及 IL-17 蛋白在 TON 发病过程中可能起到一定的促进作用,为进一步研究 TON 的发病机制提供了一定的实验依据。本研究中所检测的免疫因子相对单一,未能系统说明 TON 发生和发展过程中免疫系统的变化过程,亟待进一步的研究证实。

## 参考文献

[1] Steinsapir KD, Goldberg RA. Traumatic optic neuropathy: an evolving understanding[J]. Am J Ophthalmol, 2011, 151(6): 928-933. doi:

10.1016/j.ajo.2011.02.007.

- [2] Kim JS, Sklarz T, Banks LB, et al. Natural and inducible TH17 cells are regulated differently by Akt and mTOR pathways[J]. Nat Immunol, 2013, 14(6): 611-618. doi:10.1038/ni.2607.
- [3] Hirota K, Turner JE, Villa M, et al. Plasticity of Th17 cells in Peyer's patches is responsible for the induction of T cell-dependent IgA responses[J]. Nat Immunol, 2013, 14(4): 372-379. doi:10.1038/ni.2552.
- [4] 张琳琳,吕瀛娟,于荣国,等. 标准化大鼠外伤性视神经损伤动物模型建立[J]. 眼外伤职业眼病杂志, 2008, 30(12): 913-917.
- [5] Hilaire JT, Jonathan L, Niklas M, et al. Lateral fluid percussion braininjury: a 15-year review and evaluation[J]. J Neurotrauma, 2005, 22(1): 42-47. doi:10.1089/neu.2005.22.42.
- [6] Levin LA, Beck RW, Joseph MP, et al. The treatment of traumatic optic neuropathy: the International Optic Nerve Trauma Study [J]. Ophthalmology, 1999, 106(7): 1268-1277.
- [7] Takkar B, Singh D, Saxena R, et al. Head trauma with contralateral traumatic optic neuropathy[J]. Oman J Ophthalmol, 2013, 6(1): 61-62. doi:10.4103/0974-620X.111925.
- [8] Kipnis J, Mizrahi T, Yoles E, et al. Myelin specific Th1 cells are necessary for post-traumatic protective autoimmunity[J]. J Neuroimmunol, 2002, 130(1-2): 78-85.
- [9] Fisher J, Mizrahi T, Schori H, et al. Increased post-traumatic survival of neurons in IL-6-knockout mice on a background of EAE susceptibility [J]. J Neuroimmunol, 2001, 119(1): 1-9.
- [10] 徐丹,杨丹,付锦. Th17 细胞分化的转录调控网络[J]. 中国免疫学杂志, 2013, 29(5): 556-559. doi:10.3969/j.issn.1000-484X.2013.05.025.
- [11] Dardalhon V, Korn T, Kuchroo VK, et al. Role of Th1 and Th17 cells in organ-specific autoimmunity[J]. J Autoimmun, 2008, 31(3): 252-256. doi:10.1016/j.jaut.2008.04.017.
- [12] Peng Y, Han G, Shao H, et al. Characterization of IL-17+ interphotoreceptor retinoid-binding protein-specific T cells in experimental autoimmune uveitis[J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2007, 48(9): 4153-4161. doi:10.1167/iovs.07-0251.
- [13] Bettelli E, Carrier Y, Gao W, et al. Reciprocal developmental pathways for the generation of pathogenic effector TH17 and regulatory T cells[J]. Nature, 2006, 441(7090): 235-238.
- [14] Hwang SY, Kim HY. Expression of IL-17 homologs and their receptors in the synovial cells of rheumatoid arthritis patients [J]. Mol Cell, 2004, 19(2): 180-184.

(收稿日期:2015-05-15)

(本文编辑:刘艳 张宇)

读者·作者·编者

## 本刊对医学研究中知情同意和医学伦理学描述的要求

根据国际医学期刊编辑委员会提供的“生物医学期刊投稿统一要求”的表述,本刊对作者撰写稿件时关于“知情同意”和“医学伦理学”的描述提出如下要求:

(1) 知情同意 在未事先获得知情同意的情况下,患者有隐私不被侵犯的权力。患者的身份信息,包括姓名、来源、住院号等均不应该以文字、图片或家系信息的方式在出版物上公开,除非这些信息对于本研究是必需的,如需在出版物上显示,应征得患者(或者父母、监护人)签署的知情同意书。

发表的文章中应该省略不必要的患者个人信息,但难以做到完全匿名时(如在照片中掩盖患者的眼部,不足以保护患者的隐私权),应提供知情同意的信息。如果用改变患者的身份特征(如遗传家系等)以保护患者隐私权的方法,作者应该确保这些改变不影响研究的科学性,并且编辑应在文中对此予以说明。

(2) 医学伦理学 以人体为试验对象的研究,作者应该提及试验步骤是否符合相应的负责机构、国家委员会或 1975 年赫尔辛基宣言(2005 年修订)的医学伦理学标准。如果研究过程对是否符合赫尔辛基宣言有疑问或存在一定的问题,作者应当做出客观说明并解释研究的合理性,提交已通过审查机构的批准情况。以动物为实验对象的研究,作者应当说明是否遵循当地的相关机构、学会(国内或国外)及国家实验动物保护和利用指南。

(本刊编辑部)