

COMMENT L'HISTOLOGIE ET L'IHC ONT PERMIS DE  
NOUVELLES AVANCEES DANS LA CARACTERISATION  
DE L'ARTHRITE EXPERIMENTALE :  
ETUDE DE L'IMPACT DE L'ACTIVATION DU RECEPTEUR  
«PEROXISOME PROLIFERATOR-ACTIVATED RECEPTOR»  
GAMMA (PPAR $\gamma$ ) SUR LA PERTE OSSEUSE  
INFLAMMATOIRE

Koufany M.<sup>1</sup>, Bastien C.<sup>2</sup>, Bianchi A. <sup>1</sup>, Jouzeau J.-Y.<sup>1,3</sup> et Moulin D.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>UMR-7365 CNRS-Université de Lorraine (Ingénierie Moléculaire et Physiopathologie Articulaires IMoPA), Biôpole de l'Université de Lorraine, campus Biologie-santé, avenue de la forêt de Haye, CS50184, 54505 Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

<sup>2</sup>Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Pôle Laboratoires, Service d'Anatomie et de cytologie pathologiques, rue du Morvan, 54511 Vandoeuvre-lès-Nancy, France.

<sup>3</sup>Centre Hospitalier Régional et Universitaire, Pôle Laboratoires, Département de Pharmacologie Clinique et Toxicologie, avenue du Maréchal de Lattre de Tassigny, CO n°34, 54035 Nancy, France.

M. Koufany meriem.koufany@univ-lorraine.fr

C. Bastien c.bastien@chu-nancy.fr

A. Bianchi arnaud.bianchi@univ-lorraine.fr

JY. Jouzeau jean-yves.jouzeau@univ-lorraine.fr

D. Moulin david.moulin@univ-lorraine.fr

## INTRODUCTION

La polyarthrite rhumatoïde (PR) est une pathologie auto-immune dont l'étiologie demeure mal connue. C'est une maladie inflammatoire chronique caractérisée par la prolifération anormale des cellules de la membrane synoviale, conduisant à un épaissement et une désorganisation de cette membrane. Il se forme alors un pannus érosif responsable du gonflement articulaire, de la douleur et de la destruction progressive des tissus articulaires tels que le cartilage, l'os, et des éléments de voisinage (les ligaments et les tendons) pouvant conduire à la perte de fonction des articulations (1). Cette synovite est caractérisée par la prolifération du tissu de granulation conjonctivo-vasculaire, avec un infiltrat cellulaire massif constitué majoritairement de lymphocytes. Au niveau systémique, l'inflammation chronique est responsable d'une perte osseuse généralisée pouvant aller jusqu'à l'ostéoporose, due à un déséquilibre du processus de remodelage osseux au bénéfice de la résorption.

Le processus d'inflammation chronique dans la PR associe une réponse inflammatoire exacerbée à un déficit du contrôle de la réponse immune. Ainsi Wang et al. (2) ont montré que le rapport des lymphocytes T auxiliaires effecteurs (notamment la sous-population Th17)/T régulateurs (Treg) circulants était relativement bas chez des patients sains alors qu'il est fortement augmenté chez les patients atteints de PR active. Ce déséquilibre joue un rôle majeur dans la pathogénèse de la PR puisque les Th17 induisent non seulement la production de Tumor Necrosis

Factor (TNF- $\alpha$ , d'interleukine-1- $1\beta$  (IL-1 $\beta$ ), d'interleukine-6 (IL-6), de chémokines et de metalloprotéases, mais exercent également une forte activité pro-inflammatoire via la production d'interleukine-17 (IL-17) (3).

De plus, les études réalisées chez l'animal de laboratoire suggèrent que l'IL-17 pourrait être un médiateur clé des dégradations articulaires puisque son blocage par des anticorps spécifiques diminue la sévérité de l'arthrite expérimentale [4]. Il est bien établi que le potentiel ostéoclastogénique de l'IL-17 humaine s'exprime au travers de la modulation de la voie Receptor Activator of Nuclear factor-KappaB Ligand (RANKL) / osteoprotegerin (OPG) (5), ce rapport étant un régulateur essentiel du remodelage osseux.

L'arthrite induite chez le rat par l'injection d'adjuvant complet de Freund (AIA) est un modèle expérimental qui reproduit certains aspects immunologiques de la PR, notamment le rôle majeur des lymphocytes T, ainsi que certains aspects pathologiques. Ainsi, ce modèle se caractérise notamment par une inflammation chronique, une polysynovite et une destruction progressive du cartilage et de l'os, cette dernière pouvant être locale ou généralisée [6]. Même si, à l'instar des autres modèles, il ne reproduit pas la récurrence de la maladie, ces caractéristiques en font un modèle validé pour l'étude de molécules potentiellement anti-arthritiques, tels que les agonistes du récepteur nucléaire activé par les proliférateurs de peroxydome gamma (PPAR $\gamma$ ).

Le récepteur PPAR $\gamma$  appartient à la super-famille des récepteurs nucléaires qui sont des facteurs de transcription activables par des ligands. PPAR $\gamma$  est un facteur clé de la différenciation adipocytaire et de l'homéostasie du glucose dont l'activation est également capable de moduler la réponse inflammatoire (7). De nombreuses équipes de recherche portent un intérêt aux potentialités pharmacologiques associées de cet isotype et beaucoup ont déjà démontré que des agonistes spécifiques avaient la capacité de réduire la sévérité d'arthrites expérimentales (8, 9), faisant de PPAR $\gamma$  une cible thérapeutique potentielle dans le traitement de la polyarthrite rhumatoïde.

Cette étude a permis de mettre en évidence qu'un traitement par la pioglitazone, un agoniste synthétique hautement sélectif de PPAR $\gamma$ , réduisait la sévérité de l'arthrite expérimentale via la diminution de l'expression articulaire et systémique de l'IL-17 et modulait le rapport RANKL/OPG en faveur d'une réduction de la perte osseuse. L'étude histologique a également permis de démontrer, pour la première fois, que les cellules produisant localement l'IL-17 étaient majoritairement des Polynucléaires Neutrophiles (PMN) dans notre modèle expérimental de PR.

## **MATÉRIEL ET MÉTHODE**

### ***Animaux***

22 rats mâles Lewis de 150-175 g ont été utilisés (Charles River France). Après une période d'acclimatation d'une semaine, les groupes de traitement ont été formés en sélectionnant au hasard 7 à 8 rats par groupe avec un accès sans restriction à

l'eau courante et à une nourriture standardisée (Scientific Animal Food & Engineering A04, Villemoisson-sur-Orge, France).

L'animalerie était thermorégulée à 21°C  $\pm$  1°C et les animaux soumis à un cycle jour/nuit de 12h (avec éclairage de 6h à 18h). Toutes les expériences sur les animaux ont été réalisées en accord avec les recommandations nationales de soin des animaux et ont été acceptées au préalable par le comité local d'éthique (CERLEA). L'induction de l'arthrite, les prélèvements sanguins ainsi que la mise à mort avant prélèvement des tissus ont été réalisés sous anesthésie générale par isoflurane (AErrane™, Baxter SA, Maurepas, France) au sein de l'animalerie du laboratoire (autorisation n° A54-547-25).

### ***Induction de la polyarthrite et protocole expérimental***

L'arthrite a été induite au jour 0 (J0) par une injection intra-dermique à la base de la queue de 0,1 ml d'une émulsion d'adjuvant complet de Freund (ACF) contenant 10 mg/ml de Mycobacterium tuberculosis H37Ra inactivé (Difco Laboratory, Detroit, MI) en suspension dans 45 % d'huile de paraffine, 45 % de sérum physiologique et 10 % de Tween 80. Les animaux ont reçu la pioglitazone une fois par jour à partir de J0 et jusqu'à la mise à mort à J21. La pioglitazone (Actos™, Takeda) a été administrée par voie orale dans une suspension à 0,5 % de carboxyméthylcellulose à la posologie de 30 mg/kg/j. Les animaux ont été divisés en trois groupes : contrôles (animaux naïfs non arthritiques), AIA (animaux arthritiques ne recevant que le véhicule) et

AIA+PIO (animaux arthritiques traités par la pioglitazone).

### ***Evaluation de la sévérité de la polyarthrite***

Un score clinique a été réalisé selon (10): une valeur comprise entre 0 (aucun signe) et 4 (lésions les plus sévères) a été attribuée à chacune des quatre pattes en fonction de la sévérité et de l'étendue de l'érythème, de l'œdème des tissus mous péri-articulaires, du gonflement et de la déformation de l'articulation. L'évaluation clinique a été réalisée en insu deux fois par semaine par deux expérimentateurs.

### ***Analyse histologique des articulations***

Les articulations de la cheville ont été prélevées à J21 et fixées immédiatement pendant 24h dans une solution tamponnée à 4% de paraformaldéhyde (PFA) avant d'être décalcifiées pendant 6h à température ambiante, dans une solution décalcifiante commerciale (RDO, Apex engineering, Plainfield, USA) contenant de l'acide chlorhydrique, de la quinoléine et des Furaldéhydes. Les tissus ont ensuite été re-fixés pendant 24h dans du PFA avant d'être inclus dans la paraffine. Les coupes de 5 µm d'épaisseur réalisées à l'aide d'un microtome à rotation (Leica RM 2135, LEICA Microsystems, France) ont été réhydratées dans un gradient décroissant d'éthanol et colorées à l'hématoxyline-éosine-safran (HES, automate de colorations multiparamétrique, Tissue-Tek® DRS™, Sakura®). Les échantillons ont ensuite été déshydratés dans des bains d'alcool de concentration croissante et montés entre lame et lamelle dans un milieu de montage organique (Per-

tex, Leica Biosystems®). Chaque articulation a fait l'objet de cinq lames sur lesquelles l'évaluation des lésions du cartilage articulaire et de l'os de la cheville a été effectuée en insu, en utilisant un score global adapté de celui décrit par Helyes (11). La dégradation du cartilage a été évaluée sur une échelle de 0 (pas de lésion) à 3 (destruction importante de la couche de cartilage). Les critères morphologiques suivants ont été utilisés pour apprécier l'érosion osseuse : 0 = normale, 1 = faible perte localisée de l'os cortical, 2 = perte modérée de l'os cortical et trabéculaire, 3 = perte importante généralisée de l'os.

### ***Analyse immunohistochimique (IHC) des tissus articulaires***

Les lames ont été déparaffinées par passages successifs dans du Tissue Clear®, de l'alcool absolu, de l'alcool à 95% en enfin de l'alcool à 70%. Les épitopes ont ensuite été démasqués par incubation des lames pendant 6-8h dans du tampon citrate pH6 (Zytomed Systems) à 70°C. Après plusieurs rinçages au PBS, les échantillons ont été recouverts d'eau oxygénée à 3% pendant 10min pour inhiber les peroxydases endogènes. Après rinçage, un sérum bloquant a été déposé afin de saturer les sites de liaison aspécifiques puis les anticorps primaires dilués dans un tampon commercial de saturation (Antibody Diluent Zytomed Systems) ont été ajoutés aux coupes de tissus. L'anticorps polyclonal de lapin anti-IL-17 (Abbiotec) a été dilué au 1/200<sup>ème</sup>, les anticorps polyclonaux de chèvre anti-RANKL et anti-OPG (Santa Cruz Biotechnology) ont été dilués respectivement au 1/400<sup>ème</sup> et 1/100<sup>ème</sup>.

La réaction antigène-anticorps a eu lieu toute la nuit à 4°C. Le lendemain, les lames ont été lavées dans du PBS puis mises en contact avec un anticorps secondaire couplé à de la peroxydase de raifort (Vectorlabs). Après plusieurs rinçages, le chromogène AEC permanent® (Permanent AEC Kit Zytomed Systems) a été ajouté permettant de détecter notre protéine d'intérêt au bout de 8-10 min. Une contre-coloration du tissu a été effectuée par de l'hématoxyline (Hematoxylin solution Mayer's, Sigma-Aldrich) et les lames ont été bleuies dans de l'eau lithinée. Les échantillons ont alors été déshydratés dans des bains d'alcool croissants et montés entre lame et lamelle dans le milieu de montage organique cité précédemment.

### *Dosage des médiateurs de l'ostéoclastogénèse par immuno-enzymologie*

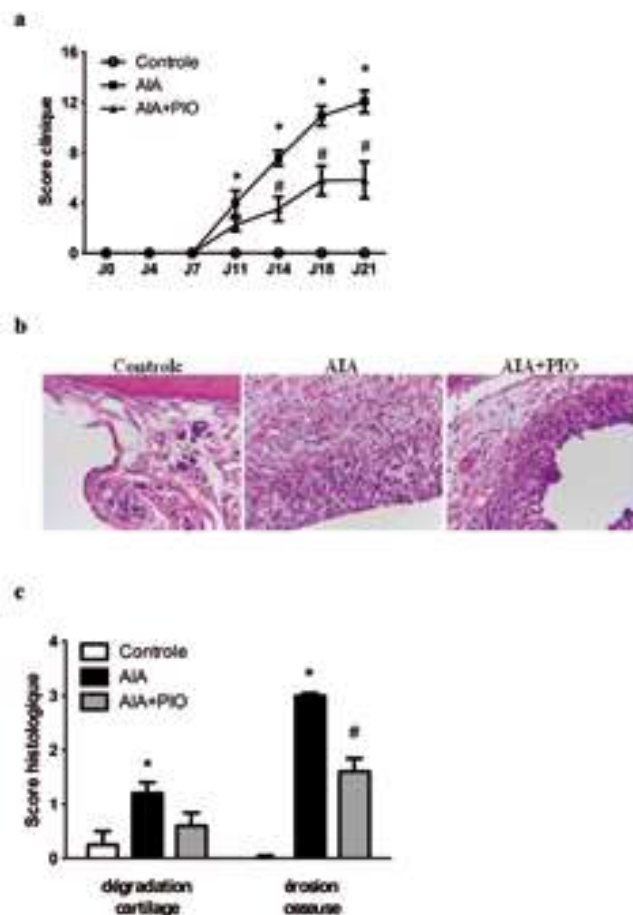
Les taux sériques d'IL-17, de RANKL soluble (sRANKL) et d'OPG ont été dosés à J21 par une méthode ELISA selon les recommandations du fournisseur du kit (Millipore, France). Les données ont été traitées grâce au système d'analyse Bio-Plex® (Bio-Rad). Les limites de quantification étaient de 1,6 pg/ml pour l'IL-17, 1,0 pg/ml pour sRANKL et 2,3 pg/ml pour OPG.

### *Analyse statistique*

Les résultats correspondant à l'index arthritique et au score histologique ont été analysés avec le test non paramétrique de Kruskal-Wallis. Toutes les autres données ont été comparées avec le test paramétrique de Bonferroni, après analyse de la variance (Stat View version 5, SAS Institute). Les différences ont été considérées comme significatives pour une valeur de  $p < 0,05$ .

## RÉSULTATS

### *Effet de la pioglitazone sur la sévérité de la polyarthrite*



**Figure 1 :** Effet de la pioglitazone sur la sévérité de la polyarthrite par adjuvant chez le rat. Les rats Lewis ont été immunisés avec 1 mg d'adjuvant complet de Freund à la base de la queue. Les groupes contrôle (n = 7) et AIA (n = 8) ont été traités avec le véhicule seul, le groupe AIA+PIO (n = 7) a été traité une fois par jour avec 30 mg/kg/j de pioglitazone (PIO).

a : score arthritique,  
b : coupe de cheville représentative de l'inflammation synoviale,  
c : score histologique sur le cartilage et l'os. Grossissement original X400. \*  $p < 0,05$  vs contrôle, #  $p < 0,05$  vs AIA (d'après l'image originale publiée dans *Arthritis Rheum.* 2013 Dec;65(12):3084-95).

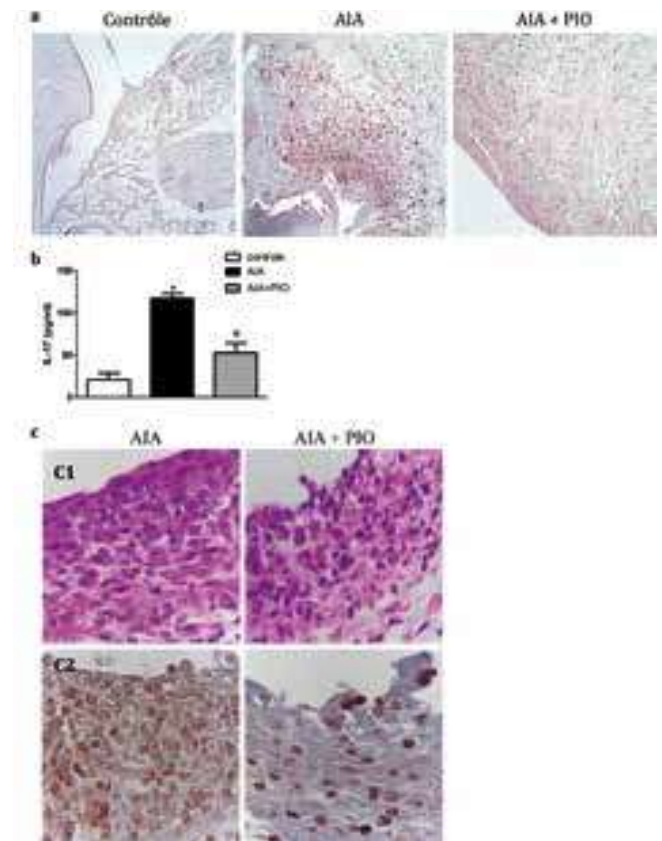
La polyarthrite a débuté à partir du 11<sup>ème</sup> jour et a atteint son maximum 20 jours après l'immunisation (Figure 1a). Les animaux arthritiques non traités ont présenté un score clinique moyen supérieur à 12, ce qui reflète une arthrite sévère atteignant à la fois les membres antérieurs

et postérieurs. La pioglitazone administrée à 30 mg/kg/j a réduit le score global de moitié comparativement aux animaux arthritiques non traités (-49 % à J21). Ceci a été confirmé par l'analyse histologique des chevilles colorées à l'HES qui montre une nette diminution de l'inflammation du tissu synovial chez les animaux traités (Figure 1b). Le score histologique réalisé sur le cartilage et l'os a mis en évidence une dégradation du cartilage ainsi qu'une érosion osseuse importante dans les chevilles des animaux arthritiques non traités comparés aux animaux sains. Le traitement par la pioglitazone a permis de réduire de façon significative l'érosion osseuse, alors que son effet sur la dégradation du cartilage s'est révélé plus modéré (figure 1c).

### ***Effet de la pioglitazone sur l'expression et la régulation de l'IL-17***

L'analyse immunohistochimique des coupes de cheville des animaux a montré que l'IL-17 était faiblement exprimée dans la synoviale des animaux sains alors que chez les animaux arthritiques non traités, 70 % des cellules étaient IL-17 positives (Figure 2a). L'expression de l'IL-17 a été nettement réduite chez les animaux traités par la pioglitazone (44 %). Ceci a été confirmé par le dosage sérique de l'IL-17 mettant en évidence une réduction de 50 % des taux circulants chez les animaux arthritiques traités (Figure 2b). L'analyse à fort grossissement de coupes sériées colorées à l'HES a permis de mettre en évidence que les cellules positives pour l'IL-17 étaient majoritairement des Polynucléaires Neutrophiles (PMN) (Figure 2c). Le traitement par la pioglitazone a réduit de façon signi-

ficative le pourcentage de PMN positifs pour l'IL-17 dans la synoviale (86 % vs 96 %).

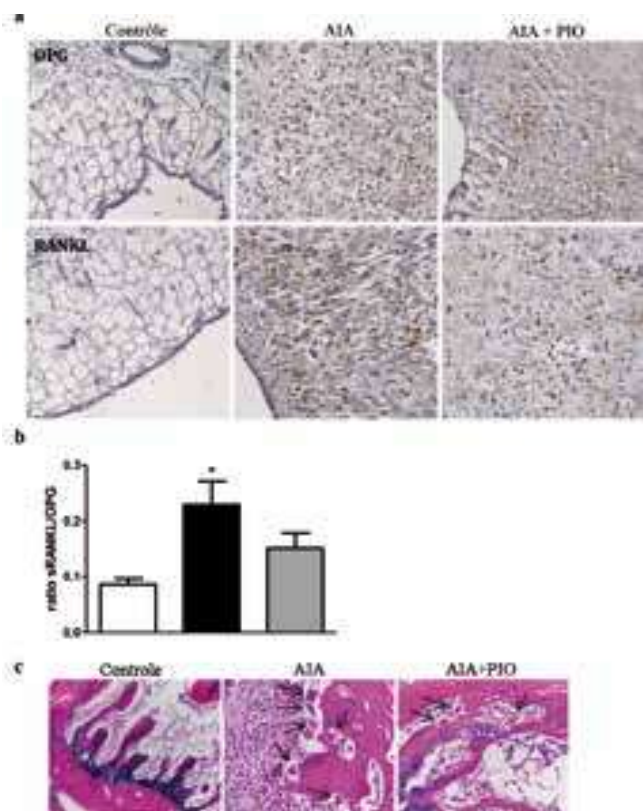


**Figure 2** : Effet de la pioglitazone sur l'expression de l'IL-17 dans la polyarthrite par adjuvant chez le rat. Les rats Lewis ont été immunisés avec 1 mg d'adjuvant complet de Freund à la base de la queue. Les groupes contrôle (n = 7) et AIA (n = 8) ont été traités avec le véhicule seul, le groupe AIA+PIO (n = 7) a été traité une fois par jour avec 30 mg/kg/j de pioglitazone (PIO).

a : production d'IL-17 analysée par IHC dans le tissu synovial de la cheville X400,  
 b : taux circulants d'IL-17,  
 c analyse histologique et IHC de la synoviale X1000, avec c1 = coloration à l'HES, c2 = immunomarquage pour l'IL-17. \* p < 0,05 vs contrôle, # p < 0,05 vs AIA (c : d'après l'image originale publiée dans *Arthritis Rheum.* 2013 Dec;65(12):3084-95).

### ***Effet de la pioglitazone sur la balance RANKL/OPG***

L'analyse immunohistochimique du tissu synovial a montré une surexpression de RANKL chez les animaux arthritiques non traités comparativement aux animaux sains, alors que la production d'OPG ne



**Figure 3 :** Effet de la pioglitazone sur le ratio sRANKL/OPG dans la polyarthrite par adjuvant chez le rat. Les rats Lewis ont été immunisés avec 1 mg d'adjuvant complet de Freund à la base de la queue. Les groupes contrôle (n = 7) et AIA (n = 8) ont été traités avec le véhicule seul, le groupe AIA+PIO (n = 7) a été traité une fois par jour avec 30 mg/kg/j de pioglitazone (PIO).

a : production d'OPG et de RANKL analysée par IHC dans le tissu synovial de la cheville X400,

b : ratio des taux circulants de sRANKL et d'OPG,

c : coupe de cheville représentative du nombre d'ostéoclastes présents. \*p<0,05 vs contrôle (d'après l'image originale publiée dans *Arthritis Rheum.* 2013 Dec;65(12):3084-95).

variait pas de façon significative (Figure 3a). Chez les animaux traités par la pioglitazone, nous avons observé une réduction importante du nombre de cellules positives pour RANKL, mais peu d'effet sur la production d'OPG. Le dosage sérique de sRANKL et d'OPG a confirmé l'augmentation du rapport sRANKL/OPG au cours de la polyarthrite et sa diminution par la pioglitazone (Figure 3b). De plus, l'analyse du tissu osseux de la cheville coloré

à l'HES suggère une réduction importante du nombre d'ostéoclastes chez les animaux traités comparés aux animaux arthritiques non traités (Figure 3c)

## DISCUSSION

La pioglitazone, qui est une molécule insulinosensibilisatrice de la famille des thiazolidinedione (TZD), est un agoniste de haute affinité du récepteur PPAR. Malgré la limitation de l'utilisation des TZDs chez les patients diabétiques, en raison d'effets indésirables cardiovasculaires, du risque de cancer de la vessie et d'une possible altération du métabolisme osseux, il demeure beaucoup de controverses à propos de leur impact sur le remodelage osseux. En effet, PPAR $\gamma$  active la différenciation des progéniteurs issus de la moelle osseuse vers la voie adipocytaire au détriment de la voie ostéoblastique (12). Cependant, d'autres études suggèrent que l'activation de PPAR $\gamma$  par son agoniste naturel, la 15-Désoxy-Delta-12,14-prostaglandine J2 (15d-PGJ2) inhibe la différenciation ostéoclastique (3). Les propriétés anti-arthritiques de la pioglitazone ont fait l'objet de nombreuses études mais peu se sont intéressées aux conséquences de l'activation sélective de PPAR $\gamma$  par cette TZD sur le métabolisme osseux en condition inflammatoire.

Lors de cette étude, nous avons évalué la capacité de la pioglitazone à réduire le processus arthritique, en nous intéressant particulièrement à son impact sur la voie ostéoclastogénique IL-17/RANKL/OPG dans un modèle expérimental de polyarthrite chez le rat. Nous confirmons les potentia-

lités anti-arthritiques de la pioglitazone décrites dans la littérature, notamment sur le score clinique de sévérité de l'arthrite. L'analyse histologique a montré que cette activation très sélective de PPAR réduisait également l'hyperplasie synoviale et les lésions des tissus cartilagineux et osseux dans les articulations périphériques.

Chez les patients atteints de PR, des quantités importantes d'IL-17 sont retrouvées dans le liquide synovial. Cette interleukine a été récemment démontrée comme étant un facteur clé de régulation de la physiopathologie articulaire, capable d'induire la production de TNF $\alpha$  et d'IL-1, de réguler positivement la production de RANKL et de stimuler l'expression des métalloprotéases (14). Nous avons démontré, grâce à l'analyse immunohistochimique, que l'IL-17 était abondamment produite dans la synoviale inflammatoire, ce qui était cohérent avec les taux d'IL-17 sérique. Le traitement par la pioglitazone a significativement diminué la production locale et systémique d'IL-17 chez les animaux arthritiques. De plus, l'observation anatomopathologique des coupes de chevilles inflammatoires colorées à l'HES nous a permis de démontrer que, parmi les populations infiltrant la synoviale, les PMN étaient majoritairement responsables de la production locale d'IL-17. Nos résultats sont en accord avec une étude récente démontrant que l'IL-17A, un des sous-types majeur de l'IL-17, pouvait être exprimée par plusieurs sous-populations de cellules immunitaires dans la synoviale inflammatoire de patients atteints de PR, y compris les mononucléaires et les PMN (15). Nos résultats confirment éga-

lement des études récentes en faveur d'un rôle régulateur de PPAR $\gamma$  sur l'expression de l'IL-17 et/ou l'activation des Th17 (16). Le potentiel ostéoclastogénique de l'IL-17 au travers de la voie sRANKL/OPG est bien établi et une augmentation de ce rapport dans la synoviale a été corrélée à la sévérité des lésions articulaires et à la perte osseuse dans un modèle d'arthrite induite au collagène (17). Nous avons démontré que l'activation de PPAR $\gamma$  réduisait à la fois le ratio de sRANKL/OPG circulant ainsi que la production locale de RANKL, mise en évidence par immunohistochimie. De plus, l'analyse histologique des articulations périphériques (chevilles) a montré une réduction significative des cellules multinucléées de morphologie ostéoclastique chez les animaux traités par la pioglitazone. L'ensemble de ces données nous amène à émettre l'hypothèse que la pioglitazone diminue la perte osseuse associée à l'arthrite via une modulation directe de l'ostéoclastogénèse.

En conclusion, notre étude a montré que la pioglitazone, en plus de réduire la sévérité de l'arthrite, avait un effet suppresseur majeur sur la production articulaire et systémique d'IL-17 et de RANKL, suggérant un rôle modulateur de l'ostéoclastogénèse dépendante de ces médiateurs dans l'arthrite chronique. Malgré leur rôle controversé chez les patients diabétiques, les TZDs pourraient avoir un intérêt thérapeutique chez des patients atteints de PR lors de poussées inflammatoires de la maladie en prévenant la destruction osseuse responsable des déformations secondaires des articulations.



## BIBLIOGRAPHIE

1. LEE, D.M. AND M.E. WEINBLATT, Rheumatoid arthritis. *Lancet*, 2001. 358(9285): p. 903-11.
2. WANG, W., ET AL., The Th17/Treg imbalance and cytokine environment in peripheral blood of patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatol Int*, 2012. 32(4): p. 887-93.
3. VOLIN, M.V. AND S. SHAHRARA, Role of TH-17 cells in rheumatic and other autoimmune diseases. *Rheumatology (Sunnyvale)*. 2011 oct. 20 ; 1(104). pii : 2169
4. LUBBERTS, E., M.I. KOENDERS, AND W.B. VAN DEN BERG, The role of T-cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models. *Arthritis Res Ther*, 2005. 7(1): p. 29-37.
5. DAOUSSIS, D., A.P. ANDONOPOULOS, AND S.N. LIOSSIS, Wnt pathway and IL-17: novel regulators of joint remodeling in rheumatic diseases. Looking beyond the RANK-RANKL-OPG axis. *Semin Arthritis Rheum*. 39(5): p. 369-83.
6. WHITELEY, P.E. AND S.A. DALRYMPLE, Models of inflammation: adjuvant-induced arthritis in the rat. *Curr Protoc Pharmacol*, 2001. Chapter 5: p. Unit5 5.
7. STRAUS, D.S. AND C.K. GLASS, Anti-inflammatory actions of PPAR ligands: new insights on cellular and molecular mechanisms. *Trends Immunol*, 2007. 28(12): p. 551-8.
8. GIAGINIS, C., A. GIAGINI, AND S. THEOCHARIS, Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma (PPAR-gamma) ligands as potential therapeutic agents to treat arthritis. *Pharmacol Res*, 2009. 60(3): p. 160-9.
9. KOUFANY, M., ET AL., Anti-inflammatory effect of antidiabetic thiazolidinediones prevents bone resorption rather than cartilage changes in experimental polyarthritis. *Arthritis Res Ther*, 2008. 10(1): p. R6.
10. PHILIPPE, L., ET AL., Relations between functional, inflammatory, and degenerative parameters during adjuvant arthritis in rats. *Am J Physiol*, 1997. 273(4 Pt 2): p. R1550-6.
11. HELYES, Z., ET AL., Antiinflammatory and analgesic effects of somatostatin released from capsaicin-sensitive sensory nerve terminals in a Freund's adjuvant-induced chronic arthritis model in the rat. *Arthritis Rheum*, 2004. 50(5): p. 1677-85.

12. GIMBLE, J.M., ET AL., Peroxisome proliferator-activated receptor-gamma activation by thiazolidinediones induces adipogenesis in bone marrow stromal cells. *Mol Pharmacol*, 1996. 50(5): p. 1087-94.
13. MBALAVIELE, G., ET AL., Activation of peroxisome proliferator-activated receptor-gamma pathway inhibits osteoclast differentiation. *J Biol Chem*, 2000. 275(19): p. 14388-93.
14. KOENDERS, M.I., L.A. JOOSTEN, AND W.B. VAN DEN BERG, Potential new targets in arthritis therapy: interleukin (IL)-17 and its relation to tumour necrosis factor and IL-1 in experimental arthritis. *Ann Rheum Dis*, 2006. 65 Suppl 3: p. iii29-33.
15. MORAN, E.M., ET AL., IL-17A expression is localised to both mononuclear and polymorphonuclear synovial cell infiltrates. *PLoS One*. 6(8): p. e24048.
16. KLOTZ, L. AND P. KNOLLE, Nuclear receptors: TH17 cell control from within. *FEBS Lett*. 585(23): p. 3764-9.
17. LUBBERTS, E., ET AL., IL-17 promotes bone erosion in murine collagen-induced arthritis through loss of the receptor activator of NF-kappa B ligand/osteoprotegerin balance. *J Immunol*, 2003. 170(5): p. 2655-62.