

本文引用:罗悦晨,韩玲,孙志娜,等.细胞外信号调节激酶信号通路对小鼠脾脏树突状细胞表型和功能的影响[J].新乡医学院学报,2016,33(4):257-260. DOI:10.7683/xyxyxb.2016.04.003.

### 【基础研究】

# 细胞外信号调节激酶信号通路对小鼠脾脏树突状细胞表型和功能的影响

罗悦晨, 韩玲, 孙志娜, 赵春晓

(中国医学科学院血液病医院 血液学研究所,天津 300020)

**摘要:** **目的** 探讨细胞外信号调节激酶(ERK)信号通路对小鼠脾脏树突状细胞(DC)表型和功能的影响。**方法** 应用免疫磁珠细胞分选方法分离小鼠脾脏 DC,流式细胞术鉴定细胞纯度。应用 U1026 抑制 ERK 信号通路。流式细胞术检测 DC 表面共刺激分子的表达及细胞凋亡;酶联免疫吸附测定(ELISA)检测 DC 细胞因子的分泌。**结果** U1026 处理组较对照组 DC 表面 CD86( $P < 0.01$ )和 CD40( $P < 0.05$ )的表达下调。脂多糖(LPS) + U1026 组较 LPS 组 DC 表面 CD80( $P < 0.01$ )和 CD86( $P < 0.05$ )表达下调。对照组 DC 凋亡比例为  $(57.09 \pm 0.64)\%$ , U1026 处理组 DC 凋亡比例为  $(76.65 \pm 0.25)\%$ , 2 组 DC 凋亡比例比较差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。对照组肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-6(IL-6)及转化生长因子- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) 水平分别为  $(78.22 \pm 5.71)$ 、 $(47.75 \pm 0.77)$ 、 $(57.72 \pm 2.34) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , U1026 处理组 TNF- $\alpha$ 、IL-6 及 TGF- $\beta$  水平分别为  $(22.22 \pm 0.32)$ 、 $(23.35 \pm 0.32)$ 、 $(34.21 \pm 1.76) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ , 2 组各细胞因子水平比较差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** ERK 信号通路可调控 DC 表面共刺激分子的表达、细胞凋亡及细胞因子的分泌。

**关键词:** 树突状细胞;细胞外信号调节激酶;U1026;脾脏

中图分类号: R392.12 文献标志码: A 文章编号: 1004-7239(2016)04-0257-04

## Effect of extracellular signal-regulated kinase pathway on the phenotype and function of mouse splenic dendritic cell

LUO Yue-chen, HAN Ling, SUN Zhi-na, ZHAO Chun-xiao

(State Key Laboratory of Experimental Hematology, Institute of Hematology and Hospital of Blood Disease, Chinese Academy of Medical Sciences, Tianjin 300020)

**Abstract:** **Objective** To investigate the effect of extracellular signal-regulated kinase (ERK) pathway on the phenotype and function of mouse splenic dendritic cell (DC). **Methods** Magnetic bead cell sorting was used to isolate splenic DC, and then the flow cytometry was used to analyze the purity of DC. U1026 was used to inhibit the activity of ERK pathway. The expression of DC costimulatory molecules and apoptosis were analyzed by flow cytometry. The secretion of cytokines of DC were detected by enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The expressions of CD86 and CD40 of DC in U1026 treatment group were less than those in control group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ); the expressions of CD80 and CD86 of DC in lipopolysaccharides (LPS) + U1026 group were less than those in LPS group ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ). The proportion of DC apoptosis in control group and U1026 treatment group was  $(57.09 \pm 0.64)\%$  and  $(76.65 \pm 0.25)\%$  respectively, there was statistic difference of the proportion of DC apoptosis between the two groups ( $P < 0.01$ ). The levels of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-6 (IL-6) and transforming growth factor- $\beta$  (TGF- $\beta$ ) in control group was  $(78.22 \pm 5.71)$ ,  $(47.75 \pm 0.77)$ ,  $(57.72 \pm 2.34) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  respectively; the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and TGF- $\beta$  in U1026 treatment group was  $(22.22 \pm 0.32)$ ,  $(23.35 \pm 0.32)$ ,  $(34.21 \pm 1.76) \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$  respectively; there were statistic difference of the levels of TNF- $\alpha$ , IL-6 and TGF- $\beta$  between the two groups ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **Conclusion** ERK pathway can regulates the costimulatory molecules expression, apoptosis and cytokine secretion of splenic DC.

**Key words:** dendritic cell; extracellular signal-regulated kinase; U1026; spleen

DOI:10.7683/xyxyxb.2016.04.003

收稿日期:2015-09-09

**基金项目:**国家重大科学研究计划项目(编号:2013CB966904);国家自然科学基金资助项目(编号:81401295,81273217);天津市应用基础及前沿技术研究计划项目(编号:12JCYBJC32800,15JCQNJC45200);协和青年基金和中央高校基本科研业务费专项基金资助(编号:3332015126)。

**作者简介:**罗悦晨(1984-),女,江西赣州人,博士,助理研究员,研究方向:细胞免疫。

树突状细胞(dendritic cell, DC)是目前已知的体内功能最强的抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC),可有效诱导初始 T 细胞增殖和应答,促进细胞毒性 T 淋巴细胞和辅助性 T 细胞的生成,是连接先天性免疫和获得性免疫的桥梁<sup>[1-2]</sup>。体内 DC

按其发育程度可分为未成熟 DC 和成熟 DC,二者生物学特征有明显差异。未成熟 DC 表达低水平 CD80、CD86 及 CD40 等共刺激分子及黏附分子,体外激发混合淋巴细胞反应 (mixed lymphocyte reaction, MLR) 的能力较低,但具有极强的摄取和处理抗原的能力。成熟 DC 表面的主要组织相容性复合物 (major histocompatibility complex, MHC) 和共刺激分子表达上调,释放 T 细胞刺激因子,诱导细胞毒性 T 淋巴细胞的生成,体外激发 MLR 和抗原提呈能力增强。

细胞外信号调节激酶 (extracellular signal-regulated kinase, ERK) 是一类具有传递丝裂原信号功能的丝/苏氨酸蛋白激酶<sup>[3-4]</sup>。Ras/Raf/MEK/ERK 是 ERK 通路的主要途径<sup>[5]</sup>。ERK 可直接或通过核糖体 S6 蛋白激酶来磷酸化结节硬化复合物 2,抑制其活性,从而活化雷帕霉素靶蛋白 (mammalian target of rapamycin, mTOR) 通路<sup>[6-7]</sup>。ERK/mTOR 参与多种肿瘤的发生和发展,抑制 mTOR/eIF4E 和 ERK/Mnk1/eIF4E 通路的活性,降低白血病细胞系 SUP-B15 和 K562 的增殖能力<sup>[8]</sup>。ERK 和 mTOR 抑制剂具有协同抗肿瘤的作用<sup>[9]</sup>。另外, mTOR 能够调控 DC 的分化和成熟<sup>[10]</sup>。前期研究结果显示, ERK 影响 DC 细胞因子的分泌,提示 ERK 信号通路参与 DC 表型和功能的调控<sup>[11]</sup>。因此,本研究将进一步探讨 ERK 信号通路对小鼠 DC 表型和功能的影响,以期对 DC 相关疾病的治疗提供研究基础。

## 1 材料与方法

**1.1 试剂及实验动物** 异硫氰酸荧光素 (fluorescein isothiocyanate, FITC) 标记的小鼠抗 CD11c 抗体、藻蓝蛋白 (allophycocyanin, APC) 标记的小鼠抗 MHC-II 抗体、藻红蛋白 (phycoerythrin, PE) 标记的小鼠 CD40 抗体、藻蓝蛋白-花青染料 (allophycocyanin-cyanine 7, APC-Cy7) 标记的小鼠 CD80、藻红蛋白-花青染料 (phycoerythrin-cyanine 7, PE-Cy7) 标记的小鼠 CD86、FITC 标记的小鼠 Annexin-V 抗体、碘化丙啉 (propidium iodide, PI) 及肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、转化生长因子- $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ , TGF- $\beta$ )、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购自美国 eBioscience 公司。1640 培养液、胎牛血清 (fetal bovine serum, FBS)、青霉素、链霉素购自美国 Gibco 公司。U1026 购自上海碧云天生物技术有限公司。CD11c 分选磁珠购自美国 Miltenyi 公司。细菌脂多糖 (lipopolysaccharides, LPS) 购自美国 Sigma 公司。

无特定病原体级 C57BL/6J 小鼠购自中国医学科学院血液学研究所实验动物中心。小鼠均为雄性, 6~8 周龄, 15~20 g。

### 1.2 方法

**1.2.1 免疫磁珠细胞分选方法分离 C57BL/6J 小鼠脾脏 DC** 颈椎脱臼法处死 C57BL/6J 小鼠, 体积分数 75% 乙醇浸泡 5 min。无菌条件下取小鼠脾脏, 研磨后用 300 目无菌滤网过滤制备成单细胞悬液。裂解红细胞, 应用 CD11c 分选磁珠 (按说明书操作) 分选, 获得 CD11c<sup>+</sup> 的 DC 细胞。细胞培养于体积分数 10% FBS、链霉素 (0.05 g · L<sup>-1</sup>) 及青霉素 (0.05 U · L<sup>-1</sup>) 的 PMRI 1640 培养液, 置于 37 °C、体积分数 0.5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。

**1.2.2 流式细胞术检测 DC 表面共刺激分子的表达** 将细胞分为对照组、U1026 处理组、LPS 组及 LPS + U1026 组。对照组加入和 U1026 处理组相同体积的二甲基亚砜 (dimethyl sulfoxide, DMSO), U1026 处理组加入 U1026 (U1026 溶解于 DMSO, 使其终浓度为 1 × 10<sup>-5</sup> mol · L<sup>-1</sup>), LPS 组加入 LPS (终质量浓度为 0.001 g · L<sup>-1</sup>) 及与 LPS + U1026 处理组相同体积的 DMSO, LPS + U1026 组加入 LPS (终质量浓度为 0.001 g · L<sup>-1</sup>) 和 U1026 (终浓度为 1 × 10<sup>-5</sup> mol · L<sup>-1</sup>)。培养 24 h 后, 每组取 1 × 10<sup>5</sup> 个细胞, 加入抗 CD40、MHC-II、CD80 及 CD86 抗体各 0.5 μL, 4 °C 孵育 30 min。PBS 洗涤细胞 1 次, 流式细胞仪检测, 结果用平均荧光强度 (mean fluorescence intensity, MFI) 表示。

**1.2.3 流式细胞术检测 DC 凋亡情况** 将细胞分为对照组和 U1026 处理组。对照组加入和 U1026 处理组相同体积的 DMSO, U1026 处理组加入 U1026 (终浓度 1 × 10<sup>-5</sup> mol · L<sup>-1</sup>)。培养 24 h 后, 每组取 1 × 10<sup>5</sup> 个细胞, 加入 Annexin-V 抗体 5 μL, 室温避光孵育 10 min。随后加入 PI 5 μL, 室温避光孵育 5 min。PBS 洗涤细胞 1 次, 流式细胞仪检测。

**1.2.4 ELISA 检测 DC 细胞因子的分泌** 将细胞分为对照组和 U1026 处理组。对照组加入和 U1026 处理组相同体积的 DMSO, U1026 处理组加入 U1026 (终浓度 1 × 10<sup>-5</sup> mol · L<sup>-1</sup>)。培养 24 h 后, 每组取 1 × 10<sup>6</sup> 个细胞接种于 24 孔板, 48 h 后收集细胞上清液。取细胞上清液或稀释好后的标准品 50 μL 加入反应孔内。立即加入 50 μL 的生物素标记的抗体。盖上膜板, 轻轻振荡混匀, 37 °C 温育 1 h。甩去孔内液体, 每孔加洗涤液 200 μL, 振荡 30 s, 甩去洗涤液, 用吸水纸拍干, 重复 3 次。每孔加入 80 μL 的亲本和链霉素-辣根过氧化物酶, 轻轻振荡混匀, 37 °C 温育 30 min。甩去孔内液体, 每孔加洗涤液 200 μL, 振荡

30 s,甩去洗涤液,用吸水纸拍干;重复 3 次。加入反应底物,轻轻振荡混匀,37 ℃温育10 min。取出酶标板,加入 50 μL 终止液,在 450 nm 波长处测定各孔的光密度值。并根据标准孔数值绘制标准曲线,计算待测样品中 TNF-α、IL-6 及 TGF-β 的含量。

**1.3 统计学处理** 应用 SPSS 16.0 统计软件进行分析。数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

**2.1 U1026 对 DC 表面共刺激分子表达的影响** 结果见表 1。U1026 处理组较对照组 DC 表面 CD86 ( $P < 0.01$ ) 和 CD40 ( $P < 0.05$ ) 表达下调。LPS + U1026 组较 LPS 组 DC 表面 CD80 ( $P < 0.01$ ) 和 CD86 ( $P < 0.05$ ) 表达下调,CD40 亦有下降的趋势。但 U1026 对 DC 的 MHC-II 表达无显著影响 ( $P > 0.05$ )。

表 1 各组 DC 表面共刺激分子表达情况

Tab.1 Expression of DC costimulatory molecules in each group ( $\bar{x} \pm s$ )				
组别	CD80	CD86	CD40	MHC- II
对照组	244 ± 17	1 150 ± 26	382 ± 2	53 356 ± 209
U1026 处理组	218 ± 12	971 ± 10 <sup>a</sup>	326 ± 11 <sup>b</sup>	52 367 ± 415
LPS 组	606 ± 2	2 221 ± 28	805 ± 12	53 619 ± 142
LPS + U1026 组	511 ± 5 <sup>c</sup>	2 027 ± 30 <sup>d</sup>	708 ± 57	54 173 ± 295

注:与对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.01$ ,<sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与 LPS 组比较<sup>c</sup> $P < 0.01$ ,<sup>d</sup> $P < 0.05$ 。

**2.2 U1026 对 DC 凋亡的影响** 对照组 DC 凋亡比例为 (57.09 ± 0.64) % ,U1026 处理组 DC 凋亡比例为 (76.65 ± 0.25) % ,2 组 DC 凋亡比例比较差异有统计学意义 ( $P < 0.01$ )。

**2.3 U1026 对 DC 细胞因子分泌的影响** 对照组 TNF-α、IL-6 及 TGF-β 水平分别为 (78.22 ± 5.71)、(47.75 ± 0.77)、(57.72 ± 2.34) mg · L<sup>-1</sup>,U1026 处理组 TNF-α、IL-6 及 TGF-β 水平分别为 (22.22 ± 0.32)、(23.35 ± 0.32)、(34.21 ± 1.76) mg · L<sup>-1</sup>,2 组各细胞因子水平比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$ , $P < 0.01$ )。

3 讨论

ERK 信号通路能够将细胞外信号传导至细胞核,进而介导核因子-κB 和激活蛋白-1 等转录因子的活化,调控细胞增殖、分化、凋亡和癌变等多种生物学反应<sup>[12-13]</sup>。U1026 是一种常用的 ERK 抑制剂,可以通透细胞,选择抑制 ERK 的磷酸化和激活<sup>[14-15]</sup>。

1973 年,Steinman 和 Cohn 在小鼠脾脏中发现具有树突状突起形态的细胞,命名为树突状细胞,其

最大的特点是能够刺激初始型 T 细胞活化和增殖<sup>[16]</sup>。在免疫稳态下,DC 主要分布于外周非淋巴组织中,为不成熟状态,表达低水平的 MHC-II 分子和共刺激分子。一旦发生组织损伤或感染,DC 获得成熟表型和功能,其中一个重要的特点是高表达 MHC-II 分子和共刺激分子 CD80、CD86 及 CD40,诱导初始 T 细胞转化为效应 T 细胞,从而启动免疫应答<sup>[17-19]</sup>。DC 分泌的细胞因子对 T 细胞的活化和分化具有重要的调控作用<sup>[20]</sup>。例如,TGF-β 和 IL-6 参与了调节性 T 细胞和 Th17 的产生<sup>[21]</sup>。以往的研究提示,ERK 信号通路可能参与了 DC 功能的调控。例如,Toll 样受体能够激活 DC 的 ERK 信号通路<sup>[22]</sup>,但并未阐明 ERK 信号通路对 DC 表型和功能的具体调控作用。本研究结果显示,ERK 抑制剂 U1026 能够降低 DC 的 CD80、CD86 及 CD40 表达,但对 MHC-II 没有显著影响。另外,ERK 抑制了 DC 的凋亡,促进多种细胞因子的分泌。结果证实,ERK 信号通路正向调控 DC 介导的 T 细胞活化。以再生障碍性贫血为代表的一类免疫异常导致疾病的一个最大特点是 DC 的过度活化<sup>[23]</sup>。抑制 DC 的过度活化可以作为此类疾病的一个治疗靶点。本研究结果为进一步探讨以 DC 为靶点的相关疾病的治疗提供了实验依据。

参考文献:

[1] LANZAVECCHIA A,SALLUSTO F. Regulation of T cell immunity by dendritic cells[J]. *Cell*,2001,106(3):263-266.

[2] MILDNER A,JUNG S. Development and function of dendritic cell subsets[J]. *Immunity*,2014,40(5):642-656.

[3] LAVOIE H,THERRIEN M. Regulation of RAF protein kinases in ERK signalling[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*,2015,16(5):281-298.

[4] 王东军,董虹廷. 人脑神经胶质瘤组织中细胞外信号调节激酶和磷脂酰肌醇 3 激酶的表达及其临床意义[J]. *新乡医学院学报*,2014,31(12):978-982.

[5] MCCUBREY J A,STEELMAN L S,CHAPPELL W H,*et al.* Roles of the Raf/MEK/ERK pathway in cell growth, malignant transformation and drug resistance[J]. *Biochim Biophys Acta*,2007,1773(8):1263-1284.

[6] MA L,CHEN Z,ERDJUMENT-BROMAGE H,*et al.* Phosphorylation and functional inactivation of TSC2 by Erk implications for tuberous sclerosis and cancer pathogenesis[J]. *Cell*,2005,121(2):179-193.

[7] KINDRACHUK J,ORK B,HART B J,*et al.* Antiviral potential of ERK/MAPK and PI3K/AKT/mTOR signaling modulation for Middle East respiratory syndrome coronavirus infection as identified by temporal kinome analysis[J]. *Antimicrob Agents Chemother*,2015,59(2):1088-1099.

[8] SHI F,LEN Y,GONG Y,*et al.* Ribavirin inhibits the activity of mTOR/eIF4E,ERK/Mnk1/eIF4E signaling pathway and synergizes with tyrosine kinase inhibitor imatinib to impair Bcr-Abl media-

ted proliferation and apoptosis in Ph + leukemia [J]. *PLoS One*, 2015, 10(8):e0136746.

[9] PARK H, KIM Y, SUL J W, *et al.* Synergistic anticancer efficacy of MEK inhibition and dual PI3K/mTOR inhibition in castration-resistant prostate cancer [J]. *Prostate*, 2015, 75(15):1747-1759.

[10] SCHEFFLER J M, SPARBER F, TRIPP C H, *et al.* LAMTOR2 regulates dendritic cell homeostasis through FLT3-dependent mTOR signalling [J]. *Nat Commun*, 2014, 5:5138.

[11] WU W, WANG W, WANG Y, *et al.* IL-37b suppresses T cell priming by modulating dendritic cell maturation and cytokine production via dampening ERK/NF-kappaB/S6K signalings [J]. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*, 2015, 47(8):597-603.

[12] WU P K, PARK J I. MEK1/2 inhibitors: molecular activity and resistance mechanisms [J]. *Semin Oncol*, 2015, 42(6):849-862.

[13] 徐岚. 大蒜素促进人子宫内膜癌细胞株 HEC-1 细胞凋亡的细胞外信号调节激酶信号通路研究 [J]. *新乡医学院学报*, 2016, 33(1):20-22.

[14] ZHAO B X, SUN Y B, WANG S Q, *et al.* Grape seed procyanidin reversal of p-glycoprotein associated multi-drug resistance via down-regulation of NF-kappaB and MAPK/ERK mediated YB-1 activity in A2780/T cells [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8):e71071.

[15] ZHAO X, LIU L, LIU D, *et al.* Progesterone enhances immunoregulatory activity of human mesenchymal stem cells via PGE2 and IL-6 [J]. *Am J Reprod Immunol*, 2012, 68(4):290-300.

[16] BANCHEREAU J, COHN F, INABA K, *et al.* Remembering ralph steinman [J]. *J Exp Med*, 2011, 208(12):2343-2347.

[17] HONG J, GU X D, XIANG J B, *et al.* Recipient dendritic cells modified by RNA interference targeting CD80 and CD86 elicit T cell hyporesponsiveness via enhanced T cell apoptosis [J]. *Chin Med J (Engl)*, 2013, 126(11):2139-2144.

[18] BAK S P, BARNKOB M S, BAI A, *et al.* Differential requirement for CD70 and CD80/CD86 in dendritic cell-mediated activation of tumor-tolerized CD8 T cells [J]. *J Immunol*, 2012, 189(4):1708-1716.

[19] JIGA L P, BAUER T M, CHUANG J J, *et al.* Generation of tolerogenic dendritic cells by treatment with mitomycin C: inhibition of allogeneic T-cell response is mediated by downregulation of ICAM-1, CD80, and CD86 [J]. *Transplantation*, 2004, 77(11):1761-1764.

[20] GUTCHER I, BECHER B. APC-derived cytokines and T cell polarization in autoimmune inflammation [J]. *J Clin Invest*, 2007, 117(5):1119-1127.

[21] 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.

[22] ARMBRUSTER N S, RICHARDSON J R, SCHREINER J, *et al.* PSM peptides of staphylococcus aureus activate the p38-CREB pathway in dendritic cells, thereby modulating cytokine production and T cell priming [J]. *J Immunol*, 2016, 196(3):1284-1292.

[23] LIU C, SHENG W, FU R, *et al.* Differential expression of the proteome of myeloid dendritic cells in severe aplastic anemia [J]. *Cell Immunol*, 2013, 285(1/2):141-148.

( 本文编辑:孟 月 英文编辑:孟 月 )

( 上接第 256 页 )

参考文献:

[1] JIAN W, ZHONG L, WEN J, *et al.* SEPTIN2 and STATHMIN regulate CD99-Mediated cellular differentiation in Hodgkin's lymphoma [J]. *PLoS One*, 2015, 10(5):e127568.

[2] 张弓, 刘芳, 陈小艳, 等. mCD99L2 基因干扰慢病毒载体的构建与鉴定 [J]. *南方医科大学学报*, 2009, 29(2):228-231.

[3] LIU F, ZHANG G, LIU F, *et al.* Effect of shRNA targeting mouse CD99L2 gene in a murine B cell lymphoma *in vitro* and *in vivo* [J]. *Oncol Rep*, 2013, 29(4):1405-1414.

[4] POPPEMA S, POTTERS M, VISSER L, *et al.* Immune escape mechanisms in Hodgkin's disease [J]. *Ann Oncol*, 1998, 9(Suppl 5):S21-S24.

[5] 张雯珂, 武周炜. 青蒿琥酯对宫颈癌 Hela 细胞免疫抑制作用的影响 [J]. *新乡医学院学报*, 2015, 32(2):130-134.

[6] EYRE T A, COLLINS G P. Immune checkpoint inhibition in lymphoid disease [J]. *Br J Haematol*, 2015, 170(3):291-304.

[7] WHERRY E J, KURACHI M. Molecular and cellular insights into T cell exhaustion [J]. *Nat Rev Immunol*, 2015, 15(8):486-499.

[8] DE ARAUJO-SOUZA P S, HANSCHKE S C, VIOLA J P. Epigenetic control of interferon-gamma expression in CD8 T cells [J]. *J Immunol Res*, 2015, 2015:849573.

[9] MALEC M, SODERQVIST M, SIRSJÖ A, *et al.* Real-time polymerase chain reaction determination of cytokine mRNA expression profiles in Hodgkin's lymphoma [J]. *Haematologica*, 2004, 89(6):679-685.

[10] KARUBE K, OHSHIMA K, SUZUMIYA J, *et al.* Gene expression profile of cytokines and chemokines in microdissected primary Hodgkin and Reed-Sternberg(HRS) cells: high expression of interleukin-11 receptor alpha [J]. *Ann Oncol*, 2006, 17(1):110-116.

[11] TERABE M, PARK J M, BERZOFISKY J A. Role of IL-13 in regulation of anti-tumor immunity and tumor growth [J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2004, 53(2):79-85.

[12] BOYMAN O, KOLIOS A G, RAEBER M E. Modulation of T cell responses by IL-2 and IL-2 complexes [J]. *Clin Exp Rheumatol*, 2015, 33(4 Suppl 92):S54-S57.

[13] GANDHI M K, LAMBLEY E, DURAISWAMY J, *et al.* Expression of LAG-3 by tumor-infiltrating lymphocytes is coincident with the suppression of latent membrane antigen-specific CD8<sup>+</sup> T-cell function in Hodgkin's lymphoma patients [J]. *Blood*, 2006, 108(7):2280-2289.

[14] MARSHALL N A, CHRISTIE L E, MUNRO L R, *et al.* Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin's lymphoma [J]. *Blood*, 2004, 103(5):1755-1762.

[15] NIEDERKORN J Y. Emerging concepts in CD8<sup>+</sup> T regulatory cells [J]. *Curr Opin Immunol*, 2008, 20(3):327-331.

[16] 胡润芳, 袁方, 郭盛, 等. 生命早期使用抗生素对新生大鼠细胞因子平衡的影响 [J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2015, 30(11):863-866.

( 本文编辑:徐自超 英文编辑:徐自超 )