

地区、种族之间差异以及个体环境暴露因素和程度的不同,所以不同文献报道结果有差异。因而下一步笔者将继续扩大样本,并结合多种混杂因素进一步分析 GSTM1 和 GSTT1 基因多态性与结直肠癌的关系。

参考文献

- 1 Yiping W, Xidai L, Ziguang L, *et al.* Genetic polymorphism of glutathione - S - transferase M1 and T1 in associated with carcinogenesis of hepatocellular carcinoma and nasophary - ngeal carcinoma [J]. Chin - German J Clin Oncol, 2012, 11(3):138 - 141
- 2 Shukla RK, Kant S, Mittal B, *et al.* Polymorphism of cytochrome p450, glutathione - S - transferase and N - acetyltransferases: influence on lung cancer susceptibility[J]. Niger J med, 2010, 19(3):257 - 263
- 3 Tripathi S, Ghoshal U, Mittal B, *et al.* Association between gastric mucosal glutathione S - transferase activity, glutathione S - transferase gene polymorphisms and Helicobacter pylori infection in gastric cancer [J]. Indian J Gastroenterol, 2011, 30(6):257 - 263
- 4 Zhao H, Lin J, Grossman HB, *et al.* Dietary isothiocyanates, GSTM1, GSTT1, NAT2 poly - morphisms and bladder cancer risk [J]. Int J Cancer, 2007, 120:2208 - 2213
- 5 Agaliu I, Langeberg WJ, Lampe JW, *et al.* Glutathione S - transferase M1, T1 and P1 polymorphisms and prostate cancer risk in middle - age men[J]. Prostate, 2006, 66:146 - 156

- 6 闫书山,王平,徐栋花,等. 中国汉族人群 GSTM1、GSTT1 基因多态性与结直肠癌遗传易感性的 Meta 分析[J]. 医学综述,2011, 17(19):3014 - 3017
- 7 Economopoulos KP, Sergebtanis TN. GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and colorectal cancer risk; a comprehensive Meta - analysis [J]. Eur J cancer, 2010, 46:1617 - 1631
- 8 Koh WP, Nelson HH, Yuan JM, *et al.* Glutathione S - transferase (GST) gene polymorphisms, cigarette smoking and colorectal cancer risk among Chinese in Singapore[J]. Carcinogenesis,2011, 32(10): 1507 - 1511
- 9 Di Petro G, Magno LA, Rios - Santos F, *et al.* Glutathione S - transferases: an overview in cancer research[J]. Expert Opin Drug Metab Toxicol, 2010, 6(2):153 - 170
- 10 Hezova R, Bienertova - Vasku J, Sachlova M, *et al.* Common polymorphism in GSTM1, GSTT1, GSTP1, GSTA1 and susceptibility to colorectal cancer in the Central European population[J]. Eur J Med Res, 2012, 17(1):17
- 11 付全航,高长明,吴建中,等. 谷胱甘肽转硫酶 GSTM1、GSTT1 和 GSTP1 基因多态性与江苏人群直肠癌易感性的关系[J]. 南京医科大学学报, 2007,27(2):196 - 201

(收稿日期:2015 - 08 - 06)

(修回日期:2015 - 09 - 25)

HBcAg 和 HBeAg 对小鼠骨髓源性树突状细胞功能的影响

吴乐灿 蓝松松 吴金明 王秀燕 林贤凡 吴文治 黄智铭 吴建胜

摘要 目的 探讨 HBcAg 和 HBeAg 对小鼠骨髓源性树突状细胞功能的影响。方法 分离 C57BL/6 小鼠骨髓细胞,用 rmGM - CSF 和 rmIL - 4 体外诱导为树突状细胞(DCs)后,按照干预条件分为对照组、HBcAg 组和 HBeAg 组。混合淋巴细胞反应(MLR)检测 DCs 刺激 T 淋巴细胞增殖能力,酶联免疫法(ELISA)检测培养上清中 IL - 12、IL - 10 和 IDO 的分泌水平,Western blot 法检测 Akt 磷酸化水平,设置 LY294002 组为阳性对照探讨细胞因子分泌的可能调节机制。结果 HBcAg 组上清液中 IL - 12 水平以及 DCs 刺激淋巴细胞增殖能力较对照组明显升高($P < 0.01$)。HBeAg 组上清液中 IL - 12 水平以及 DCs 刺激淋巴细胞增殖能力较对照组明显降低($P < 0.05$),而 IL - 10 和 IDO 的水平较对照组明显升高($P < 0.01$)。HBeAg 组 Akt 的磷酸化水平较对照组明显升高($P < 0.05$)。LY294002 组 Akt 的磷酸化水平较 HBeAg 组明显降低($P < 0.05$),并且上清液中 IL - 12 水平较 HBeAg 组明显升高($P < 0.01$),IL - 10 和 IDO 的水平较 HBeAg 组明显降低($P < 0.01$)。结论 相对于 HBcAg 的正性作用,HBeAg 通过 PI₃K - Akt 信号通路调节 DCs 细胞因子分泌,减弱 DCs 的免疫功能,这可能是乙型肝炎慢性化的机制之一。

关键词 乙型肝炎 e 抗原 乙型肝炎核心抗原 树突状细胞 吡嗪胺 2,3 - 双加氧化酶 Akt

中图分类号 R5 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2016.03.018

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(LY12H03003,Y2110768);温州市科技局科研基金资助项目(Y20140682)

作者单位:325000 温州市人民医院消化内科(吴乐灿);325000 温州医科大学附属第一医院消化内科(蓝松松、吴金明、王秀燕、林贤凡、吴文治、黄智铭、吴建胜)

通讯作者:吴金明,教授,主任医师,电子信箱:wzfydw@163.com

Effects of Hepatitis B Core Antigen and e Antigen on the Function of Mouse Bone Marrow – derived Dendritic Cells. Wu Lecan, Lan Song-song, Wu Jinming, et al. Department of Gastroenterology, Wenzhou People's Hospital, Zhejiang 325000, China

Abstract Objective To investigate the effects of hepatitis B core antigen and e antigen on the function of mouse bone marrow – derived dendritic cells. **Methods** Dendritic cells (DCs) were acquired from mouse bone marrow – derived cells by rmGM – CSF and rmIL – 4. All the DCs were classified into the control group, HBcAg – stimulated group and HBeAg – stimulated group. Then T – cell stimulatory capacity of DCs was determined in an allogeneic mixed lymphocyte reaction (MLR). The productions of IL – 12, IL – 10 and IDO were assessed by ELISA. The western blot was performed to detect the phosphorylation of Akt. Additional LY294002 was used as a positive group to explore the potential mechanism of cytokines regulation. **Results** The expression of IL – 12 and the stimulating T cell proliferation ability of DCs from HBcAg – stimulated group were significantly increased compared with the control group ($P < 0.01$). The expression of IL – 12 and the stimulating T cell proliferation ability of DCs from HBeAg – stimulated group were significantly decreased compared with the control group ($P < 0.05$), whereas the secretions of IL – 10 and IDO were significantly increased ($P < 0.01$). The phosphorylation of Akt in HBeAg – stimulated group was significantly increased compared with the control group ($P < 0.05$). When LY294002 being used to inhibit the phosphorylation of PI₃K (upstream regulator of Akt), the phosphorylation of Akt and the secretions of IL – 10 and IDO in HBeAg group were significantly decreased and the production of IL – 12 was significantly increased. **Conclusion** In contrast to the positive effect of HBcAg, HBeAg may utilize PI3K – Akt signaling pathway to regulate cytokines secretion and suppress the immune response of DCs.

Key words Hepatitis B e antigen; Hepatitis B core antigen; Dendritic cells; Indoleamine – 2,3 – dioxygenase; Akt

全球约有 4 亿慢性乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染者。2006 年全国乙型肝炎流行病学调查表明,我国存在约 9300 万慢性 HBV 感染者,其中约 2000 万慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 患者^[1]。CHB 有极大风险将发展为肝硬化、肝衰竭和肝癌等,对国家都是很大公共健康问题和经济负担。树突状细胞 (dendritic cells, DCs) 作为体内最强的专职抗原递呈细胞,能够直接激活 T 细胞,其功能具有可塑性,可分泌多种细胞因子,发挥抗 HBV 功能^[2,3]。以往研究表明,CHB 患者的树突状细胞存在功能缺陷,导致其不能有效地将抗原递呈给 T 淋巴细胞,从而导致异常的体液免疫和细胞免疫,而这可能与乙型肝炎慢性化存在密切联系^[4-6]。乙型肝炎核心抗原 (hepatitis B core antigen, HBcAg) 和乙型肝炎 e 抗原 (hepatitis B e antigen, HBeAg) 是 HBV DNA 的 C 区和前 C 区编码的重要病毒蛋白。HBeAg 不是病毒复制和感染所必需,但却是建立慢性感染所必需的,能在慢性感染阶段对宿主免疫应答进行免疫调节^[7]。本研究通过体外 HBeAg 和 HBcAg 刺激正常小鼠骨髓源性 DCs,观察 DCs 功能和细胞因子分泌,进一步探讨 HBeAg 和 HBcAg 在 HBV 感染慢性化中的作用机制。

材料与方 法

1. 主要材料:正常 C57BL/6 小鼠,6~8 周龄,购自上海斯莱克实验动物有限公司,为 SPF 级。HBeAg 和 HBcAg 购自北京科卫试剂公司,RPMI1640、胎牛

血清购自美国 Gibico 公司,rmGM – CSF、rmIL – 4 购自美国 PeproTech 公司,CD11c microbeads、磁柱购自德国 Miltenyi Biotec 公司,APC 标记的 CD11c 及同型对照购自美国 Biolegend 公司,mouseIL – 12p70、IL – 10 和 IDO 酶联免疫吸附实验 (ELISA) 试剂盒购自美国 RD 公司,CCK – 8 试剂购自日本同仁化学研究所,兔抗 pAktmAb、AktmAb 购自 Abcam 公司。PI₃K 蛋白特异性抑制剂 LY294002 购自碧云天生物科技有限公司。

2. 小鼠骨髓 DCs 分离培养及纯化:取 C57BL/6 小鼠麻醉后用拉颈法处死,于乙醇中浸泡 3~5min,无菌条件下分离并取出小鼠股骨和胫骨,在超净工作台中用吸取 RPMI 1640 的 1ml 注射器反复冲洗骨髓腔,直至颜色变白。100 目滤网过滤,加入红细胞裂解液溶解红细胞,1200r/min 离心 10min,去除上清,用 RPMI1640 完全培养液 [含 10% 胎牛血清、rmGM – CSF (10ng/ml)、rmIL – 4 (2ng/ml)、1% 青链双抗] 调整细胞浓度至 10^6 /ml,接种于 6 孔培养板中,37℃、含 5% CO₂ 的培养箱中培养 3h 贴壁后,去除非贴壁细胞,补足完全培养液。隔日半量换液。细胞培养至第 6 天时,收集悬浮和半贴壁细胞,使用 MiniMACS 免疫磁珠分选系统,按试剂说明书分选 CD11c⁺ 细胞,即为纯化 DCs。使用 APC – CD11c 以及相应同型对照抗体,流式检验 DCs 纯度。结果显示,经磁珠分选的 DCs 纯度达 90% 以上,满足后续实验要求。

3. HBeAg 和 HBcAg 刺激实验及分组:按不同干

预措施将纯化 DCs 分为 3 组,即加入 HBeAg (5 μ g/ml) 刺激 24h,为 HBeAg 刺激组;加入等量 HBeAg 刺激 24h,为 HBeAg 刺激组;另设对照组,加入含 50ng/ml LPS 的等量 RPMI1640 培养基。收集各组细胞行后续试验。

4. 混合淋巴细胞反应 (MLR) 检测 DCs 刺激 T 淋巴细胞增殖的能力:制备 BALB/c 小鼠脾脏细胞悬液,经 T 细胞纯化柱分离 T 细胞,用完全培养基调整细胞密度至 1 \times 10⁶/ml 作为应答细胞。将各组 DCs 重悬于 RPMI1640 培养液中,调整细胞密度为 2 \times 10⁵/ml,加入终浓度为 25 μ g/ml 的丝裂霉素 C,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中孵育 30min,PBS 洗 2 次,再用完全 RPMI1640 培养液重悬成 5 \times 10⁵/ml,作为刺激细胞。将 BALB/c 小鼠脾 T 淋巴细胞和各组 DCs 加入 96 孔板共培养,每孔加入淋巴细胞 100 μ l,然后分别加入 40、20、10 μ l 的 DCs 细胞,每种混合比例各设 3 个副孔,加培养液至总体积 200 μ l,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱孵育 96h。另设只含淋巴细胞的孔为对照组,含 RPMI1640 的孔为本底组。培养结束前 4h,每孔各加入 CCK-8 试剂 20 μ l,继续孵育 4h,振荡混匀后,于参比波长 650nm、检测波长 450nm 处测定其吸光度 A 值。重复 3 次,刺激结果用刺激指数 (stimulating Index, SI) 均值表示。SI = (实验组 A 值 - 本底 A 值)/(对照组 A 值 - 本底 A 值)。

5. 细胞因子检测:为探讨细胞因子分泌的可能调节机制,另外设置 LY294002 + HBeAg 组为阳性对照,即在 DCs 培养体系中加入 100nmol/L LY294002 24h 后,再以 HBeAg (5 μ g/ml) 刺激。取各组 DCs 培养上清液,使用 ELISA 试剂盒,按试剂盒说明书测定 IL-12 p70、IL-10 及吡啶胺 2,3-双加氧化酶 (IDO) 含量。酶标仪于波长 450nm 处检测出样品的 A 值,并在标准曲线上换算出对应细胞因子的含量。

6. DCs 细胞内 Akt 磷酸化水平检测:收集对照组、HBeAg 组及 HBeAg + LY294002 组 DCs。用裂解缓冲液提取总蛋白,BCA 法测定蛋白质浓度,每个样本取 30 μ g 蛋白,经 SDS-PAGE 后,电转移至 PVDF 膜。封闭 2h,加兔抗 pAkt mAb/Akt mAb (1:1000 稀释),4 $^{\circ}$ C 过夜,TBST 洗膜 (10min,3 次),再加入二抗 (1:5000 稀释),孵育 2h,TBST 洗 3 次后,ECL 试剂盒显色。底片经扫描仪透扫后,用 Quantity One 软件进行定量分析。

7. 统计学方法:检测结果以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,采用 SPSS 17.0 软件进行分析。数据采用 *t* 检

验或单因素方差分析 (One - Way ANOVA),Levene 法检验方差齐性,组间多重比较用 LSD 检验 (方差齐时) 或 Dunnett T3 检验 (方差不齐时)。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 树突状细胞刺激淋巴细胞增殖能力的检测: MLR 结果显示,3 组 DCs 刺激淋巴细胞增殖的能力随 DC/T 比例增高而增高。DC/T 比例为 1:5 和 1:10 时,HBeAg 组 DCs 刺激淋巴细胞增殖能力显著高于对照组,差异有统计学意义 (P 均 < 0.01),而 HBeAg 组 DCs 刺激淋巴细胞增殖能力显著低于对照组,差异有统计学意义 (P 均 < 0.01)。DC/T 比例为 1:20 时,方差齐性检验结果显示方差不齐 (Levene 法, $P < 0.05$),用 Dunnett T3 检验行组间多重比较。HBeAg 组 DCs 刺激淋巴细胞增殖能力显著高于对照组 ($P < 0.01$),而 HBeAg 组 DCs 刺激淋巴细胞增殖能力显著低于对照组 ($P < 0.05$,图 1)。

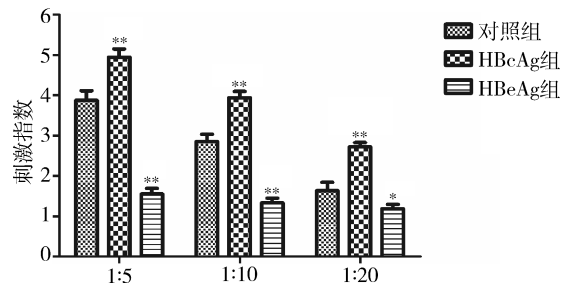


图 1 树突状细胞促 T 细胞增殖能力检测
与对照组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$

2. 细胞培养上清液中 IL-12 p70、IL-10 和 IDO 分泌水平:对照分泌 IL-12 p70 为 83.23 \pm 16.55pg/ml,IL-10 为 63.67 \pm 8.96pg/ml,IDO 为 45.89 \pm 15.47pg/ml,HBeAg 组分泌 IL-12 p70 为 316.38 \pm 32.91pg/ml,IL-10 为 140.69 \pm 21.50pg/ml,IDO 为 77.94 \pm 27.76pg/ml,而 HBeAg 组分泌 IL-12 p70 为 37.09 \pm 9.31pg/ml,IL-10 为 340.87 \pm 21.76pg/ml,IDO 为 368.07 \pm 35.77pg/ml。方差齐性检验结果显示方差齐性 (Levene 法, $P > 0.1$),用 LSD 检验行组间多重比较。与对照组相比,HBeAg 组 IL-12p70 和 IL-10 的分泌水平明显升高 (P 均 < 0.01),而 IDO 的分泌差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。HBeAg 组 IL-10 和 IDO 的分泌水平较对照组显著升高 (P 均 < 0.01),而 IL-12p70 的分泌水平明显低于对照组 ($P < 0.05$)。经 PI₃K 蛋白特异性抑制剂 LY294002 处理后,LY294002 + HBeAg 组 IL-12 p70 的分泌水平较 HBeAg 组显著

升高 ($P < 0.01$), 而 IL-10 和 IDO 的分泌水平明显低于 HBeAg 组 (P 均 < 0.01 , 图 2 ~ 图 4)。

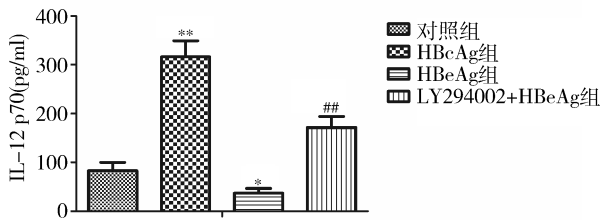


图 2 各组 DCs 上清液 IL-12 分泌水平
与对照组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;
与 HBeAg 组比较, ## $P < 0.01$

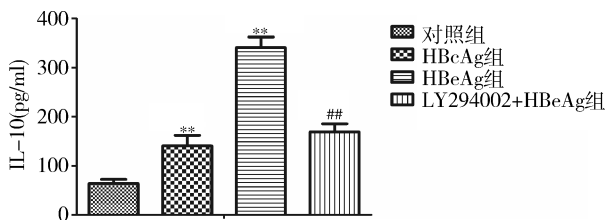


图 3 各组 DCs 上清液 IL-10 分泌水平
与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与 HBeAg 组比较, ## $P < 0.01$

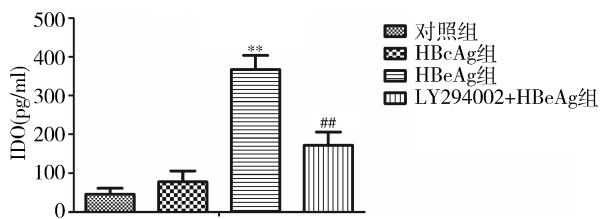


图 4 各组 DCs 上清液 IDO 分泌水平
与对照组比较, ** $P < 0.01$; 与 HBeAg 组比较, ## $P < 0.01$

3. DCs 细胞内磷酸化 Akt 蛋白的表达水平: 为探索 HBeAg 对 DCs 细胞内信号通路的影响, 笔者对对照组、HBeAg 组及 HBeAg + LY294002 组 DCs 细胞内 p-Akt 和 Akt 的表达进行了 Western blot 法检测。以 p-Akt 作为目的蛋白, Akt 作为参照蛋白, 使用灰度值进行定量分析, 分别计算各组 p-Akt/Akt 比值作为最终统计指标。3 组灰度值比值分别为对照组 (0.268 ± 0.092)、HBeAg 组 (0.540 ± 0.121)、HBeAg + LY294002 组 (0.294 ± 0.061)。方差齐性检验示方差齐 ($P > 0.1$), LSD 检验行组间两两比较, 结果显示, HBeAg 组 p-Akt/Akt 明显高于其余两组, 差异有统计学意义 (P 均 < 0.05 , 图 5 ~ 图 6)。

讨 论

HBV 感染人体后, 得以在人体内持续复制, 导致慢性化, 必须通过某些机制来诱导机体产生免疫耐



图 5 各组 DCs 中 p-Akt 和 Akt 表达量

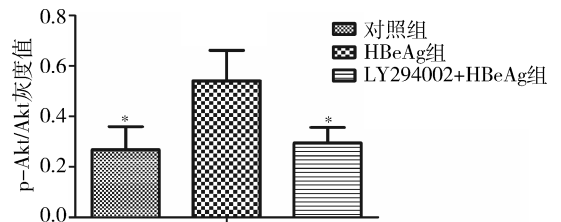


图 6 各组 DCs 中 p-Akt/Akt 灰度值比值
与 HBeAg 组比较, * $P < 0.05$

受, 使之不易被清除。目前公认, 机体对 HBV 的免疫耐受是 HBV 感染慢性化的主要原因^[8, 9]。DCs 属于专职抗原递呈细胞, 能够有效的识别病毒等病原体, 在抗病毒免疫中起重要作用, 其拥有独特的激活初始 T 细胞能力, 能够有效的将固有免疫和适应性免疫应答连接起来^[10]。已有研究报道, DCs 功能的缺陷是造成慢性病毒性肝炎感染者体内缺乏有效的 CTL 应答的重要原因^[11]。DC 分泌的 IL-12 (Th1 型细胞因子) 在 NK 细胞激活过程中起着明显的作用, 在促进 Th0 细胞向 Th1 细胞分化, 并在 T 细胞的增殖活化, 尤其是在促进 CD8 + CTL 的杀伤活性, 介导细胞免疫应答及机体抗病毒中发挥重要作用^[12]。细胞因子 IL-12 产生的减少可能也是 CHB 患者 DCs 刺激 T 细胞增殖能力降低的最重要的原因之一。IL-10 (Th2 型细胞因子) 的主要功能之一是下调 Th1 淋巴细胞和 NK 细胞的 IFN- γ 合成^[13]。IFN- γ 与病毒清除有关, 其合成减少对病毒清除作用减弱。研究发现慢性乙型肝炎患者血 IL-10 浓度增高而 IFN- γ 浓度降低, 这可能也是乙型肝炎慢性化的机制之一。

HBeAg 和 HBeAg 都是抗病毒免疫的重要靶位, 由 HBeAg 诱导的免疫应答侧重于 Th1 型免疫反应 (与感染的免疫性和防御性有关), 而分泌性 HBeAg 诱导的免疫应答侧重于 Th2 型免疫反应 (与感染慢性化相关), 它们之间活性的平衡决定了感染的结局及临床表现。有研究报道, HBeAg 导致慢性乙型肝炎患者外周血 Th1/Th2 型细胞因子失衡, 有利于形成对 HBV 感染的免疫耐受^[14]。

本研究中 DCs 经 HBcAg 和 HBeAg 刺激后,行 MLR 和 ELISA 检测。结果显示,HBcAg 能够显著提高 DCs 刺激淋巴细胞增殖的能力,促进 DCs 分泌 IL-12。而 HBeAg 却显著降低 DCs 刺激淋巴细胞增殖的能力,抑制 DCs 分泌 IL-12 并促进其分泌 IL-10。此外,笔者亦发现,HBeAg 组较对照组和 HBcAg 组分泌更高水平的 IDO。IDO 被认为是 DCs 发挥抑制作用的主要因素。DCs 介导的 IDO 分泌能够抑制 T 细胞的增殖和功能^[15]。Chen 等^[16]报道,CHB 患者外周血中 IDO 的活性增强,并且与 HBV 病毒载量密切相关,可能与机体对 HBV 的免疫耐受有关。因此,笔者推测,HBeAg 刺激的 DCs 可能通过分泌高浓度 IDO 而发挥免疫抑制功能。

磷脂酰肌醇 3-激酶(PI₃K)家族参与多种信号通路,调节细胞的主要功能。PI₃K-Akt 信号通路在许多人类肿瘤谱中失调,与肿瘤细胞躲避机体免疫监视和造成机体免疫耐受方面紧密相关。近年来研究表明,PI₃K 对 DC 的 IL-12 的合成起负性调节作用,而对 IL-10 的合成起正性调节作用^[17,18]。IDO 的表达亦受 c-KIT-PI₃K-Akt 信号通路的调节^[19]。故本研究应用 PI₃K 蛋白特异性抑制剂 LY294002 进行相关机制研究,发现 LY294002 能够显著抑制 HBeAg 刺激 DCs 的 IL-10 和 IDO 分泌,促进其 IL-12 分泌。该结果亦与 WB 结果相一致。上述结果提示 HBeAg 通过 PI₃K-Akt 信号通路调节 DCs 的 IL-12、IL-10 和 IDO 分泌。

综上所述,相对于 HBcAg 的正性作用,HBeAg 通过影响 DC 中的 PI₃K-Akt 信号通路,一方面引起 DCs 刺激淋巴细胞增殖能力低下,另一方面造成 DCs 本身 Th1/Th2 型细胞因子分泌失衡,导致机体不能产生强有力的抗病毒特异性 T 细胞免疫,引起对 HBV 的免疫耐受,从而使感染慢性化。但 HBeAg 是通过何种方式作用于 PI₃K-Akt 通路以及其是否确实通过影响 DCs 而导致免疫耐受等问题,有待于今后进一步研究。

参考文献

- 1 贾继东,李兰娟. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. 肝脏, 2011,1: 2-16
- 2 Jan RH, Lin YL, Chen LK, et al. Hepatitis B virus surface antigen can activate dendritic cells and modulate T helper type immune response[J]. Microbiol Immunol, 2011, 55(1): 51-59
- 3 Pan X, Yao W, Fu J, et al. Telbivudine improves the function of myeloid dendritic cells in patients with chronic hepatitis B[J]. Acta Vir-

- ol, 2012, 56(1): 31-38
- 4 Beckebaum S, Cicinnati VR, Zhang X, et al. Hepatitis B virus - induced defect of monocyte - derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for viral immune escape [J]. Immunology, 2003, 109(4): 487-495
- 5 Woltman AM, Op DBM, Biesta PJ, et al. Hepatitis B virus lacks immune activating capacity, but actively inhibits plasmacytoid dendritic cell function[J]. PLoS One, 2011, 6(1): e15324
- 6 Op DBM, Binda RS, van Roosmalen M H, et al. Hepatitis B virus surface antigen impairs myeloid dendritic cell function: a possible immune escape mechanism of hepatitis B virus[J]. Immunology, 2009, 126(2): 280-289
- 7 Ferrari C, Missale G, Boni C, et al. Immunopathogenesis of hepatitis B[J]. J Hepatol, 2003, 39: 36-42
- 8 Lavanchy D. Hepatitis B virus epidemiology, disease burden, treatment, and current and emerging prevention and control measures[J]. J Viral Hepat, 2004, 11(2): 97-107
- 9 Ratnam D, Visvanathan K. New concepts in the immunopathogenesis of chronic hepatitis B: the importance of the innate immune response [J]. Hepatol Int, 2008, 2(Suppl 1): 12-18
- 10 Banchereau J, Steinman RM. Dendritic cells and the control of immunity[J]. Nature, 1998, 392(6673): 245-252
- 11 Beckebaum S, Cicinnati VR, Zhang X, et al. Hepatitis B virus - induced defect of monocyte - derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for viral immune escape [J]. Immunology, 2003, 109(4): 487-495
- 12 Ferlazzo G, Pack M, Thomas D, et al. Distinct roles of IL-12 and IL-15 in human natural killer cell activation by dendritic cells from secondary lymphoid organs[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(47): 16606-16611
- 13 Gazzinelli RT, Wysocka M, Hieny S, et al. In the absence of endogenous IL-10, mice acutely infected with Toxoplasma gondii succumb to a lethal immune response dependent on CD4+ T cells and accompanied by overproduction of IL-12, IFN-gamma and TNF-alpha [J]. J Immunol, 1996, 157(2): 798-805
- 14 韩亚萍,李军,蒋龙凤,等. HBeAg 导致慢性乙型肝炎患者外周血 Th1/Th2 型细胞因子失衡[J]. 中华肝脏病杂志, 2013, 21(8): 584-589
- 15 Mellor AL, Munn DH. IDO expression by dendritic cells: tolerance and tryptophan catabolism[J]. Nat Rev Immunol, 2004, 4(10): 762-774
- 16 Chen YB, Li SD, He YP, et al. Immunosuppressive effect of IDO on T cells in patients with chronic hepatitis B[J]. Hepatol Res, 2009, 39(5): 463-468
- 17 Fukao T, Tanabe M, Terauchi Y, et al. PI₃K-mediated negative feedback regulation of IL-12 production in DCs[J]. Nat Immunol, 2002, 3(9): 875-881
- 18 Hirata N, Yanagawa Y, Iwabuchi K, et al. Selective regulation of interleukin-10 production via Janus kinase pathway in murine conventional dendritic cells[J]. Cellular Immunol, 2009, 258(1): 9-17
- 19 Balachandran VP, Cavnar MJ, Zeng S, et al. Imatinib potentiates antitumor T cell responses in gastrointestinal stromal tumor through the inhibition of IDO[J]. Nat Med, 2011, 17(9): 1094-1100

(收稿日期:2014-12-08)

(修回日期:2014-12-26)