

405 - 408

- 3 林艳. 药片分剂量准确性考察及对儿童用药安全的影响[D]. 杭州:浙江大学, 2014
- 4 金丹, 田春华, 杨月明, 等. 儿童用药安全现状及政策研究与思考[J]. 中国药事, 2015, 4:427 - 431
- 5 刘元江, 缪经纬, 陈景勇, 等. 儿科用药药品分剂量的策略及实例分析[J]. 中国药房, 2012, 37:3537 - 3539
- 6 李英, 贾露露, 胡泊洋, 等. 国内 13 家儿童医院片剂分剂量问卷

调查与儿童适宜规格的建议[J]. 中国新药杂志, 2015, 23:

2756 - 2760

- 7 陈丽莉, 钟世冰. 儿童口服药单剂量包装发药的应用[J]. 世界最新医学信息文摘:连续型电子期刊, 2014, 36
- 8 杨建华. 住院药房口服制剂药品单剂量调剂发药模式建立[J]. 北方药学, 2014, 3:123 - 124

(收稿日期:2016 - 09 - 26)

(修回日期:2016 - 10 - 08)

HBV 相关肝病患者外周血 NK 细胞 PD - 1、Tim - 3 表达及意义

赵小瑜 周 妮 汤永志 林 希 陈华忠 朱坚胜

摘 要 **目的** 了解 HBV 相关肝病患者外周血 NK 细胞表面 PD - 1、Tim - 3 的表达情况,探讨 PD - 1 和 Tim - 3 的表达与血清 HBV - DNA 载量的相关情况。**方法** 选择 HBV 感染相关肝病患者 74 例,其中 CHB 患者 30 例,LC 患者 24 例,HCC 患者 20 例,健康对照 18 例。应用流式细胞术检测 NK 细胞表面 PD - 1、Tim - 3 表达,荧光定量 PCR 检测 HBV - DNA 量,ELISA 法检测细胞因子分泌水平。统计各组患者 PD - 1 和 Tim - 3 的表达率,比较各组差异,分析其与病情的相关性。**结果** CHB、LC、HCC 组外周血 NK 细胞表面 PD - 1 和 Tim - 3 的表达率分别为 $34.46\% \pm 7.31\%$ 、 $59.09\% \pm 12.35\%$ 、 $61.49\% \pm 15.26\%$ 和 $19.18\% \pm 6.05\%$ 、 $28.64\% \pm 11.20\%$ 、 $31.24\% \pm 11.85\%$,均高于对照组 ($P < 0.01$),LC 组和 HCC 组明显高于 CHB 组 ($P < 0.01$),LC 组和 HCC 组比较无统计学差异。在 CHB 组,PD - 1 的表达率与 HBV - DNA 呈负相关关系 ($R = -0.437$, $P = 0.033$)。CHB、LC、HCC 各组血清中细胞因子 TNF - α 和 IFN - γ 水平分别为 0.66 ± 0.63 、 0.75 ± 0.66 、 0.85 ± 0.71 和 1.76 ± 0.88 、 1.83 ± 1.23 、 1.60 ± 0.53 ,均低于健康对照组 ($P < 0.01$)。**结论** HBV 相关肝病患者 NK 细胞表面 PD - 1、Tim - 3 表达均增加,且与病情严重程度有关,增加表达的 PD - 1 与血清 HBV - DNA 载量存在负相关性,HBV 肝病各组血清 TNF - α 、IFN - γ 分泌减少。

关键词 乙型肝炎病毒 自然杀伤细胞 程序性死亡受体 - 1 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 - 3

中图分类号 R512.6 + 1

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.05.014

Expression and Meaning of PD - 1, Tim - 3 on NK in HBV Related Liver Disease. Zhao Xiaoyu, Zhou Ni, Tang Yongzhi, et al. Department of Infectious Disease, Taizhou Hospital Affiliated to Wenzhou Medical University, Zhejiang 317000, China

Abstract Objective To quantitative analysis the expression variation of PD - 1, Tim - 3 on HBV - related liver disease patients peripheral blood NK cell. To investigate the correlation of serum HBV - DNA loads and the expression of PD - 1, Tim - 3. **Methods** All of 92 subjects including 30 CHB, 24 LC, 20 HCC and 18 healthy adults were enrolled in present study. The expression of PD - 1 and Tim - 3 were detected by flow cytometry. The quantity of HBV - DNA were obtained by fluorescence quantitative PCR, and the concentrations of cytokines were assayed by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). The expression of PD - 1, Tim - 3 in each group, was Calculated and compared the differences, analyzed its correlation with disease progression. **Results** In group of CHB, LC, HCC, expression of PD - 1 and Tim - 3 on peripheral blood NK cell were $34.46\% \pm 7.31\%$, $59.09\% \pm 12.35\%$, $61.49\% \pm 15.26\%$ and $19.18\% \pm 6.05\%$, $28.64\% \pm 11.20\%$, $31.24\% \pm 11.85\%$ respectively, which were higher than control group ($P < 0.01$). Group of LC and HCC were higher than CHB group ($P < 0.01$), but no significant difference were found between LC and HCC group. In the group of CHB, the expression of PD - 1 and HBV - DNA loads was negatively correlated ($R = -0.437$, $P = 0.033$). Compared with the group of control, the concentration of TNF - α and IFN - γ decreased in the group of CHB, LC, HCC 0.66 ± 0.63 , 0.75 ± 0.66 , 0.85 ± 0.71 and 1.76 ± 0.88 , 1.83 ± 1.23 , 1.60 ± 0.53 , ($P < 0.01$). **Conclusion** The expression of PD - 1, Tim - 3 on NK cell were increased

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2012KYB237)

作者单位:317000 温州医科大学附属浙江省台州医院感染科

通讯作者:朱坚胜,主任医师,硕士生导师,电子邮箱:zhujs@enzemed.com

in HBV - related liver disease patients, and the increased expression of PD - 1 was negatively correlated with serum HBV - DNA loads. Concentration of TNF - α , IFN - γ were decreased in HBV related liver disease patients.

Key words Hepatitis B virus; Natural killer cell; Programmed death - 1; T cell immunoglobulin - and mucin - domain - containing molecule - 3

慢性乙型肝炎病毒(hepatitis B virus, HBV)感染是最常见的慢性传染病之一,全球约有 20 亿人曾感染 HBV^[1]。因其导致的后果如肝硬化(liver cirrhosis, LC)、肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)的发生率也居高不下,HBV 感染防治仍是临床的一大难题^[2]。已有研究表明,慢性 HBV 感染是由于机体免疫反应不足导致,以往研究多集中于 HBV 感染后引发的特异性免疫反应,但近来研究表明固有免疫在 HBV 感染过程中也发挥了重要作用^[3]。自然杀伤(natural killer, NK)细胞作为淋巴细胞的一部分,是天然免疫反应过程中主要的效应细胞,无需抗原预先致敏即能直接杀伤靶细胞,而且 NK 细胞还可通过分泌炎性因子调节特异性免疫反应,因此其在 HBV 慢性感染过程中发挥着不可忽视的作用。有研究发现在病毒性肝炎患者体内 NK 细胞的活性和功能均受到抑制,猜测其可能为慢性感染 HBV 的原因之一^[4]。

本研究通过检测 HBV 感染相关肝病患者 NK 细胞表面程序性死亡受体 - 1(programmed death - 1, PD - 1)、T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 - 3(T cell immunoglobulin - and mucin - domain - containing molecule - 3, Tim - 3)的表达率以及 PD - 1、Tim - 3 的表达与血清 HBV - DNA 载量的相关性,探讨 PD - 1、Tim - 3 表达与 HBV 相关肝病的关系与意义。

资料与方法

1. 临床资料:研究对象为温州医科大学附属台州医院感染科 2015 年 10 月~2016 年 6 月期间住院患者,其中慢性乙型肝炎(CHB)患者 30 例、乙型肝炎肝硬化(LC)患者 24 例、乙肝合并肝癌(HCC)患者 20 例,诊断标准按照 2015 年《慢性乙型肝炎防治指南》,排除其他类型肝病和 HIV 感染,未接受任何抗病毒治疗。对照组(HC)18 例为体检的健康成人。基本资料见表 1。

表 1 各实验组基本资料 ($\bar{x} \pm s$)

项目	CHB 组	LC 组	HCC 组	HC 组	P
性别[n(%)]					0.830
男性	22(73.3)	17(70.8)	17(85)	14(77.8)	
女性	8(26.7)	7(29.2)	3(15.0)	4(22.2)	
年龄(岁)	45.5 ± 10.9 *	55.0 ± 7.6 *	62.3 ± 12.2 *	43.1 ± 11.2	0.000
ALT(U/L)	446.6 ± 357.1 *	155.0 ± 90.9 *	35.4 ± 19.0 *	20.1 ± 10.0	0.000
HBsAg(+)[n(%)]	30(100)	24(100)	20(100)	-	-
HBV - DNA(lg 拷贝/毫升)	6.5 ± 1.5	4.0 ± 1.7	3.6 ± 2.2	-	-

与 HC 组比较, * $P < 0.05$

2. 主要试剂:抗人 CD16 - PE 及同型对照、抗人 CD56 - APC 及同型对照、抗人 Tim - 3 - FITC 及同型对照、抗人 PD - 1 - FITC 及同型对照(美国 eBioscience 公司),人 TNF - α 、IFN - γ 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(上海西唐生物科技有限公司),溶血素(杭州联科 Multisciences 生物有限公司),PBS 溶液(美国 Hyclone 公司),多聚甲醛(美国 Sigma 公司)。

3. 方法:(1)流式细胞术检测患者和健康人外周血 NK 细胞表面 PD - 1 和 Tim - 3 表达:抽取患者和健康人 EDTA 抗凝全血 2ml,在流式管中分别加入流式抗体 CD16、CD56、PD - 1 和 CD16、CD56、Tim - 3

以及单标和同型对照标记,然后每个流式管加入全血 50 μ l,混匀避光孵育 15min,加入 1ml 溶血素混匀避光孵育 10min,1000r/min,5min 离心,PBS 溶液清洗 2 遍,500 μ l 4% 多聚甲醛溶液固定上机检测。(2)荧光定量 PCR 检测 HBV - DNA 载量:抽取患者促凝血 4ml,按照说明书步骤进行操作。(3)ELISA:抽取患者和健康人促凝血 4ml,3000r/min,10min 离心收集血清,分装于 Ep 管 - 80℃ 保存。标本收集完毕后用 ELISA 法检测细胞因子 TNF - α 、IFN - γ 水平,按照说明书步骤进行操作,检测样品在 450nm 波长处的 A 值,作标准曲线并计算相应 TNF - α 、IFN - γ 的浓度。

4. 统计学方法:采用 SPSS 19.0 统计软件进行数

据统计学分析,所得数据用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间差异采用独立样本 t 检验,相关性行 $Pearson$ 相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. HBV 相关肝病各组和对对照组 NK 细胞上 PD-1、Tim-3 表达情况:与对照组比较,HBV 相关肝病各组外周血 NK 细胞表面 PD-1、Tim-3 表达水平均增加($P < 0.01$),LC 组和 HCC 组外周血 NK 细胞表面 PD-1、Tim-3 表达水平比较,CHB 组增加($P < 0.01$),LC 组与 HCC 组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,表 2)。

2. CHB 组 PD-1、Tim-3 表达率与 HBV-DNA 载量的关系:CHB 组外周血 NK 细胞表面 PD-1 的

表达率与血清中 HBV-DNA 载量呈负相关关系($P = 0.033$),Tim-3 的表达率与血清中 HBV-DNA 载量呈现一定的负相关性,但差异无统计学意义($P = 0.136$)。在 LC 组和 HCC 组中,PD-1、Tim-3 的表达率与 HBV-DNA 相关性比较,差异无统计学意义($P > 0.05$,图 1)。

表 2 各组 NK 细胞表面 PD-1、Tim-3 表达率 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PD-1 (%)	Tim-3 (%)	P
HC 组	18	14.39 ± 3.04	6.18 ± 1.64	0.000
CHB 组	30	34.46 ± 7.31 *	19.18 ± 6.05 *	0.000
LC 组	24	59.09 ± 12.35 **	28.64 ± 11.2	0.000
HCC 组	20	61.49 ± 15.26 **	31.24 ± 11.85 **	0.000

与 HC 组比较, * $P < 0.01$; 与 CHB 组比较, # $P < 0.01$

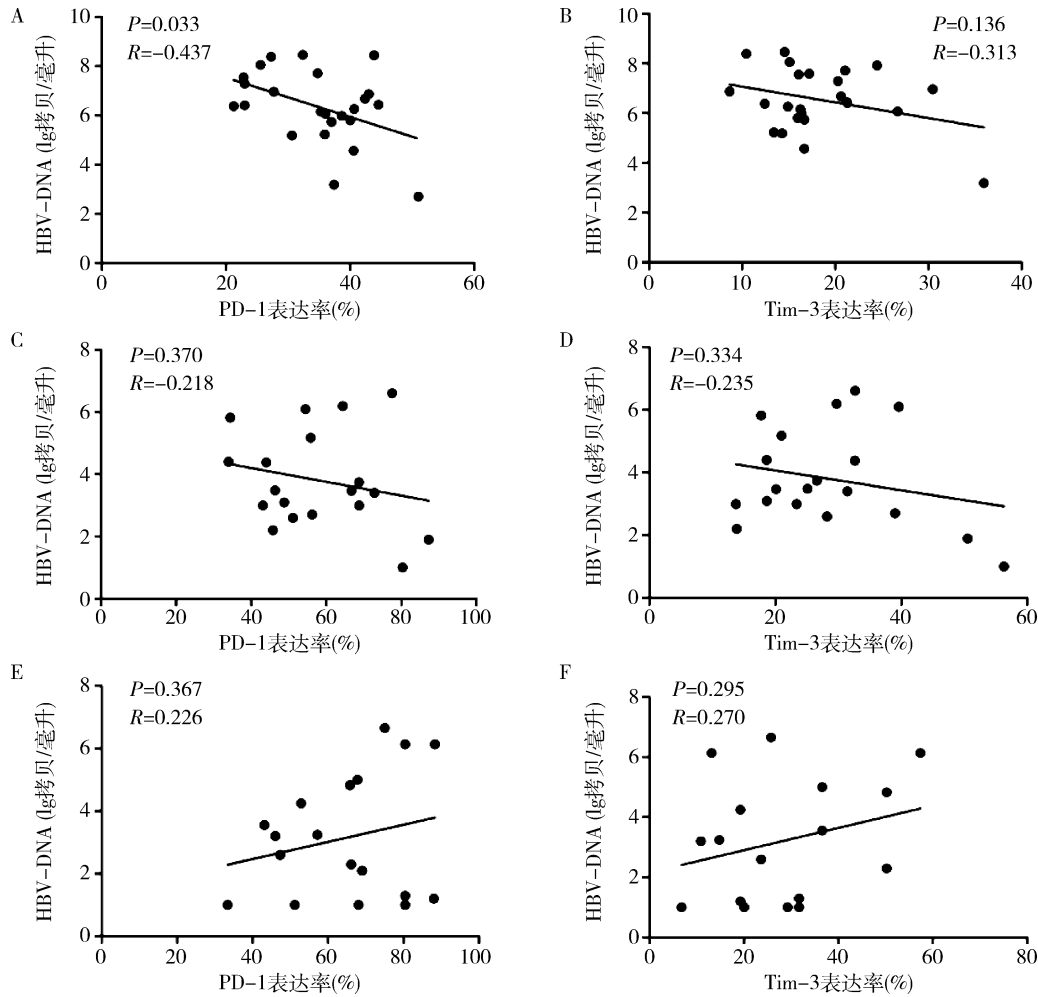


图 1 HBV 感染相关肝病各组 NK 表达 PD-1、Tim-3 与血清 HBV-DNA 载量的相关性

A、B. CHB 组 NK 细胞表面 PD-1、Tim-3 的表达率与 HBV-DNA 载量的关系;C、D. LC 组 NK 细胞表面 PD-1、Tim-3 的表达率与 HBV-DNA 载量的关系;E、F. HCC 组 NK 细胞表面 PD-1、Tim-3 的表达率与 HBV-DNA 载量的关系

3. HBV 相关肝病各组和对对照组与 CHB 组血清 TNF- α 、IFN- γ 的含量比较:与对照组比较,HBV 相

关肝病各组血清中细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 的浓度均下降($P < 0.01$),HBV 相关肝病各组间相互比较,

差异无统计学意义($P > 0.05$, 表 3)。

表 3 对照组与 HBV 肝病各组血清 TNF- α 、IFN- γ 的浓度 ($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	n	TNF- α	IFN- γ	P
HC 组	18	3.09 $\pm$ 0.90	6.29 $\pm$ 1.22	0.000
CHB 组	30	0.66 $\pm$ 0.63 *	1.76 $\pm$ 0.88 *	0.000
LC 组	24	0.75 $\pm$ 0.66 *	1.83 $\pm$ 1.23 *	0.000
HCC 组	20	0.85 $\pm$ 0.71 *	1.60 $\pm$ 0.53 *	0.000

与 HC 组比较, * $P < 0.01$

讨 论

已有研究表明, PD-1 和 Tim-3 与多种疾病如病毒感染、免疫性疾病、肿瘤等相关^[5-7]。PD-1 作为首个发现用于识别淋巴细胞功能受损的表面标志物, 可表达于 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK 细胞等免疫细胞表面。有研究表明, 在 HIV 和 HCV 感染过程中, PD-1 在病毒特异性 T 细胞上的表达均增高^[8, 9]。慢性 HBV 感染时, 在患者外周血 CD4⁺T 细胞表面 PD-1 明显高水平表达, 且增加表达的 PD-1 与 CD4⁺T 细胞的抑制性表型相关^[10]。Tim-3 在树突状细胞、NK 细胞、CD8⁺T 细胞、巨噬细胞等免疫细胞上表达^[11]。慢性病毒感染过程中, Tim-3 在固有免疫和适应性免疫反应中发挥极其重要的作用。当慢性 HBV 感染时, 在外周血或肝组织 NK 细胞、CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞等免疫细胞表面均存在 Tim-3 的高表达, 且阻断 Tim-3 通路后可部分恢复上述细胞的免疫功能^[12, 13]。

本研究应用流式细胞术检测慢性 HBV 感染相关肝病不同疾病阶段患者外周血 NK 细胞表面 PD-1、Tim-3 的表达情况, 结果显示在不同病例组 PD-1、Tim-3 的表达均较对照组明显升高, 这与国内外其他研究结果一致, 说明 PD-1 和 Tim-3 高表达与慢性 HBV 感染有关^[14, 15]。本研究中 LC 组和 HCC 组 PD-1、Tim-3 的表达水平明显高于 CHB 组, 而且比较 LC 组与 HCC 组, 虽然 PD-1 和 Tim-3 的表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$), 但 HCC 组 PD-1 和 Tim-3 的表达率仍高于 LC 组, 这提示 PD-1 与 Tim-3 表达水平可能与 HBV 慢性肝病病情发展相关。为进一步说明在 HBV 感染相关肝病患者中 NK 细胞 PD-1 和 Tim-3 的表达与 HBV 病毒载量的关系, 本研究对病例组血清 HBV-DNA 与 PD-1、Tim-3 的表达率进行相关分析, 结果显示, CHB 组 PD-1 的表达率与血清 HBV-DNA 载量呈现明显的

负相关关系, Tim-3 表达率与血清 HBV-DNA 载量也呈负相关性, 但差异无统计学意义($P > 0.05$)。而在其他研究如 Peng 等^[16]的研究结果显示在慢性乙型肝炎患者外周血 CD8⁺T 细胞表面 PD-1 的表达水平与血清 HBV-DNA 载量呈正相关关系, Wang 等^[15]研究结果也发现慢性乙型肝炎患者血清 HBV-DNA $> 10^5$ 拷贝/毫升组外周血总 T 细胞上 PD-1 表达高于血清 HBV-DNA $< 10^5$ 拷贝/毫升组, 而 Tim-3 的表达在该两组无差异, 这些研究结果与本研究结果不同, 由此推测这可能是由于研究的免疫细胞种类不同所致, NK 细胞介导固有免疫反应, T 细胞则主要介导适应性免疫反应, 而不同的细胞免疫等机制又能间接影响 HBV-DNA 载量, 故导致这一不同的结果。慢性 HBV 感染时, Th1 型和 Th2 型细胞比例失调, Th1 型细胞因子分泌减少, 与该理论相符, 本实验结果显示, 与健康组相比, HBV 相关肝病各组血清细胞因子 TNF- α 、IFN- γ 浓度均下降, 细胞因子网络的破坏导致机体不能有效地促进免疫细胞免疫应答和病毒的清除, 这也是慢性 HBV 感染的原因之一。

综上所述, HBV 慢性感染相关肝病与 NK 细胞表面高表达 PD-1 和 Tim-3 有关, PD-1 和 Tim-3 表达与肝病病情及预后有一定关系。由于本研究的研究对象较少, 其具体机制还有待于进一步研究, 今后将在体外阻断 PD-1 和 Tim-3 两条信号通路方面, 研究其相关变化。

参考文献

- Ott JJ, Stevens GA, Groeger J, *et al.* Global epidemiology of hepatitis B virus infection: new estimates of age-specific HBsAg seroprevalence and endemicity[J]. Vaccine, 2012, 30(12): 2212-2219
- Wang FS, Fan JG, Zhang Z, *et al.* The global burden of liver disease: the major impact of China[J]. Hepatology, 2014, 60(6): 2099-2108
- Busca A, Kumar A. Innate immune responses in hepatitis B virus (HBV) infection[J]. Virol J, 2014, 11: 22
- Rehermann B. Natural killer cells in viral hepatitis[J]. Cell Mol Gastroenterol Hepatol, 2015, 1(6): 578-588
- Jin HT, Anderson AC, Tan WG, *et al.* Cooperation of Tim-3 and PD-1 in CD8 T-cell exhaustion during chronic viral infection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2010, 107(33): 14733-14738
- Sharpe AH, Wherry EJ, Ahmed R, *et al.* The function of programmed cell death 1 and its ligands in regulating autoimmunity and infection[J]. Nat Immunol, 2007, 8(3): 239-245
- Cheng G, Li M, Wu J, *et al.* Expression of Tim-3 in gastric cancer tissue and its relationship with prognosis[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2015, 8(8): 9452-9457

(下转第 59 页)

平均粒径为 $27.16 \pm 0.2 \text{ nm}$ 。接有靶向分子的胶束粒径仍在 20 nm 左右。纳米颗粒在肿瘤组织中的渗透能力很大程度上由其粒径决定,有文献报道,从血管渗透至肿瘤组织间质的能力,小粒径(20 nm 左右)的纳米颗粒明显优于大粒径(100 nm 左右)的颗粒^[10]。因此 ANG - MIC - PTX 对肿瘤组织仍有较好的被动靶向作用。MIC - PTX 的 Zeta 电位为 $-4.01 \pm 0.12 \text{ mV}$, ANG - MIC - PTX 电位为 $-1.01 \pm 0.51 \text{ mV}$ ($P < 0.01$), 由于人体血液内大多数蛋白带正电荷,胶束不易产生溶血反应。体外释放的数据表明,将紫杉醇包载于胶束中还产生了一定的缓释效果,理论上能够减低药物的毒性不良反应,提高治疗时的单次给药剂量,并且药物维持有效浓度的时间得以延长。

综上所述,采用薄膜水化法制备载紫杉醇并连接有 Angiopep - 2 的 PEG - PLA 胶束(ANG - MIC - PTX)能通过血 - 脑脊液屏障,有治疗乳腺癌脑转移的潜力。脑靶向实验证实,接有靶向分子 Angiopep - 2 的胶束在相同的时间内能够大量地穿越 BBB 进入脑组织,在接下来的动物实验中,笔者将在荷瘤鼠中展开实验,进一步验证载有靶向分子的胶束能够有效地穿透血 - 脑脊液屏障到达脑转移瘤部位发挥抗肿瘤的功能。

参考文献

- 1 Ghoncheh M, Momenimovahed Z, Salehiniya H. Epidemiology, incidence and mortality of breast cancer in Asia [J]. Asian Pac J Cancer
- 8 Golden - Mason L, Palmer B, Klarquist J, *et al.* Upregulation of PD - 1 Expression on Circulating and Intrahepatic Hepatitis C Virus - Specific CD8⁺ T Cells Associated with Reversible Immune Dysfunction [J]. Journal of Virology, 2007, 81 (17): 9249 - 9258
- 9 Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, *et al.* PD - 1 expression on HIV - specific T cells is associated with T - cell exhaustion and disease progression [J]. Nature, 2006, 443 (7109): 350 - 354
- 10 Raziorrouh B, Heeg M, Kurkschiev P, *et al.* Inhibitory phenotype of HBV - specific CD4⁺ T - cells is characterized by high PD - 1 expression but absent coregulation of multiple inhibitory molecules [J]. PLoS One, 2014, 9 (8): e105703
- 11 Zhang XM, Shan NN. The role of T cell immunoglobulin and mucin domain - 3 in immune thrombocytopenia [J]. J Immunol, 2014, 79 (4): 231 - 236
- 12 Ju Y, Hou N, Meng J, *et al.* T cell immunoglobulin - and mucin - containing molecule - 3 (Tim - 3) mediates natural killer cell

- Prev, 2016, 17 (9): 47 - 52
- 2 Tabouret E, Chinot O, Metellus P, *et al.* Recent trends in epidemiology of brain metastases: an overview [J]. Anticancer Res, 2012, 32 (11): 4655 - 4662
- 3 Olson EM, Abdel - Rasoul M, Maly J, *et al.* Incidence and risk of central nervous system metastases as site of first recurrence in patients with HER2 - positive breast cancer treated with adjuvant trastuzumab [J]. Ann Oncol, 2013, 24 (6): 1526 - 1533
- 4 Torchilin VP, Lukyanov AN, Gao Z, *et al.* Immunomicelles: targeted pharmaceutical carriers for poorly soluble drugs [J]. Proc Natl AcadSci USA, 2003, 100 (10): 6039 - 6044
- 5 陆伟, 谭玉珍, 蒋新国. 建立体外共培养脑屏障模型评价纳米粒的胞吞转运和毒性 [J]. 药学杂志, 2006, 41 (4): 296 - 304
- 6 李珺, 彭亮, 黄胜和, 等. 体外血脑屏障模型的建立和发展 [J]. 广东医学, 2009, 30 (4): 647 - 648
- 7 Kaplan MA, Isikdogan A, Koca D, *et al.* Biological subtypes and survival outcomes in breast cancer patients with brain metastases (study of the Anatolian Society of Medical Oncology) [J]. Oncology, 2012, 83 (3): 141 - 150
- 8 Niikura N, Hayashi N, Masuda N, *et al.* Treatment outcomes and prognostic factors for patients with brain metastases from breast cancer of each subtype: a multicenter retrospective analysis [J]. Breast Cancer Res Treat, 2014, 147 (1): 103 - 112
- 9 李苏, 姜文奇, 王安训, 等. 5 - FU 核 - 壳型共聚物纳米胶束的制备及其体内释药的研究 [J]. 癌症, 2004, 23 (4): 381 - 385
- 10 Yonemura Y, Ninomiya I, Yamaguchi A, *et al.* Evaluation of immunoreactivity for erbB - 2 protein as a marker of poor shortterm prognosis in gastric cancer [J]. Cancer Res, 1991, 51 (3): 1034 - 1038

(收稿日期: 2016 - 11 - 21)

(修回日期: 2016 - 11 - 29)

(上接第 54 页)

- suppression in chronic hepatitis B [J]. J Hepatol, 2010, 52 (3): 322 - 329
- 13 Nebbia G, Peppia D, Schurich A, *et al.* Upregulation of the Tim - 3/galectin - 9 pathway of T cell exhaustion in chronic hepatitis B virus infection [J]. PLoS One, 2012, 7 (10): e47648
- 14 Liu Q, Li XH, Lin BL, *et al.* 448 Coexpression of Tim - 3 and Pd - 1 in Hbv - specific Cd8 T cells in patients with hepatitis B virus related acute - on chronic liver failure [J]. J Hepatol, 2012, 56: S177 - S178
- 15 Wang L, Zhao C, Peng Q, *et al.* Expression levels of CD28, CTLA - 4, PD - 1 and Tim - 3 as novel indicators of T - cell immune function in patients with chronic hepatitis B virus infection [J]. Biomed Rep, 2014, 2 (2): 270 - 274
- 16 Peng G, Li S, Wu W, *et al.* PD - 1 upregulation is associated with HBV - specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients [J]. Mol Immunol, 2008, 45 (4): 963 - 970

(收稿日期: 2016 - 09 - 01)

(修回日期: 2016 - 09 - 26)