

## 脓毒症大鼠调节性 T 细胞凋亡对辅助性 T 细胞漂移的影响及血必净注射液的干预作用

戴新贵 姚咏明 艾宇航

**【摘要】** 目的 探讨脓毒症大鼠 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞(Treg)凋亡对辅助性 T 细胞(Th)漂移的影响及血必净注射液的干预作用。方法 将 Wistar 大鼠随机分为正常组、假手术组、模型组、血必净组,每组 8 只。行盲肠结扎穿孔术(CLP)制备脓毒症大鼠模型。于第 3 日采用免疫磁珠法分选各组 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 并培养 12 h,用流式细胞仪检测 Treg 凋亡率及叉头翼状螺旋转录因子(Foxp3)和 T 淋巴细胞毒性相关抗原 4(CTLA-4)的表达,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测白细胞介素-10(IL-10)的分泌量;再将 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 与 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞 1:1 共培养,刀豆素 A 刺激 68 h,ELISA 检测 Th1、Th2、Th17 分泌的  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )、IL-4、IL-17 水平。结果 正常组 Treg 凋亡率[(12.03±0.89)%]与假手术组[(9.48±2.17)%]比较差异无统计学意义;模型组 Treg 凋亡率[(5.87±0.44)%]明显低于正常组和假手术组;而血必净组的 Treg 凋亡率[(27.29±2.48)%]显著高于其他各组( $P$ 均<0.01)。Foxp3、CTLA-4 表达和 IL-10 分泌量随 Treg 凋亡率增加而减少,相关系数( $r$ )分别为-0.878( $P=0.042$ )、-0.877( $P=0.042$ )、-0.743( $P=0.010$ )。与正常组比较,模型组 IFN- $\gamma$ 、IL-4 水平和 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值均明显升高[IFN- $\gamma$ :(254.70±44.88)ng/L 比(0.68±0.78)ng/L,IL-4:(8.82±0.61)ng/L 比(3.48±0.98)ng/L,IFN- $\gamma$ /IL-4 比值:30.28±4.87 比 0.23±0.30, $P$ 均<0.01];而血必净组 IFN- $\gamma$ [(491.54±84.28)ng/L]和 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值(45.31±8.01)均显著高于模型组( $P<0.01$ 和 $P<0.05$ );各区间 IL-17 水平无明显差异( $P$ 均>0.05)。结论 脓毒症时 Treg 凋亡率增加可减轻对效应 T 细胞的抑制功能,血必净注射液能有效促进脓毒症 Treg 凋亡,介导 Th2 向 Th1 漂移。

**【关键词】** 脓毒症; 调节性 T 细胞; 辅助性 T 细胞; 血必净注射液

**Effect of apoptosis of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T lymphocytes on polarization of helper T lymphocytes and potential interventional influence of Xuebijing injection (血必净注射液) in septic rats** DAI Xin-gui\*, YAO Yong-ming, AI Yu-hang. \* Intensive Care Unit, Xiangya Hospital of Central South University, Changsha 410008, Hunan, China

Corresponding author: YAO Yong-ming, Email: c\_ff@sina.com

**【Abstract】** Objective To evaluate the influence of apoptosis of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T lymphocyte (Treg) on polarization of helper T lymphocyte (Th) and effect of Xuebijing injection (血必净注射液) in septic rats. **Methods** A sepsis model was reproduced by cecal ligation and puncture (CLP). Wistar rats were randomly divided into the normal group ( $n=8$ ), sham operation group ( $n=8$ ), model group ( $n=8$ ) and Xuebijing injection treatment group ( $n=8$ ). CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Tregs in each group were separated by immunomagnetic beads isolation system on day 3, the apoptotic rates, expression of forkhead/winged helix transcription factor p3 (Foxp3) as well as cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4 (CTLA-4) of Treg were analyzed by flow cytometry, and the secretion level of interleukin-10 (IL-10) of Tregs was determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) after culturing Tregs for 12 hours. Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ), IL-4, and IL-17 levels, which were respectively secreted by Th1, Th2 and Th17, were measured by ELISA in the supernatant after CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Tregs were co-cultured with CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T lymphocytes for 68 hours. **Results** The apoptosis rate of the normal group was (12.03±0.89)%, which was not significantly different compared with the sham operation group [(9.48±2.17)%]. The apoptosis rate of model group [(5.87±0.44)%] was much lower than that of the normal and sham operation groups, while the Xuebijing injection treatment group [(27.29±2.48)%] had the highest apoptosis rate compared to others (all  $P<0.01$ ). The expression of Foxp3, CTLA-4, and the secretion of IL-10 of Treg were negatively correlated with the apoptosis rates, correlation coefficients ( $r$ ) respectively were -0.878 ( $P=0.042$ ), -0.877 ( $P=0.042$ ), and -0.743 ( $P=0.010$ ). The secretion of IFN- $\gamma$ , IL-4 and ratio of IFN- $\gamma$ /IL-4 in model group were significantly elevated compared with the normal group [IFN- $\gamma$ :(254.70±44.88) ng/L vs. (0.68±0.78) ng/L, IL-4:(8.82±0.61) ng/L vs. (3.48±0.98) ng/L, ratio of IFN- $\gamma$ /IL-4: 30.28±4.87 vs. 0.23±0.30, all  $P<0.01$ ], and secretion of IFN- $\gamma$  as well as ratio of IFN- $\gamma$ /IL-4 were markedly higher in Xuebijing injection treatment group [(491.54±84.28) ng/L, 45.31±8.01, respectively] than in model group ( $P<0.01$  and  $P<0.05$ ). No marked change in IL-17 levels was noted in various groups (all  $P>0.05$ ). **Conclusion** Due to the apoptosis of Treg, the suppression function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Tregs on CD4<sup>+</sup>T lymphocyte appears to be abated, and treatment with Xuebijing injection could effectively enhance the apoptosis of Tregs, mediating the response of shifting Th2 to Th1.

【Key words】 sepsis; regulatory T lymphocyte; helper T lymphocyte; Xuebijing injection

近年研究提示,机体细胞免疫功能紊乱在脓毒症发生发展过程中有重要作用<sup>[1-2]</sup>。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞(Treg)作为调节功能的 T 细胞亚群,具有免疫无反应和免疫抑制两大特征,介导辅助性 T 细胞(Th)功能性极化,参与了自身免疫性疾病和感染性疾病的病理过程<sup>[3-4]</sup>。脓毒症时体内存在大量 Treg,且对凋亡具有强力抵抗作用<sup>[5-6]</sup>,因此通过诱导脓毒症 Treg 凋亡可为治疗脓毒症提供新的策略。既往认为 Treg 最终介导了 Th1/Th2 漂移,从而影响炎症反应的结局;最近发现了以分泌白细胞介素-17(IL-17)为主要特征的 Th17<sup>[7-8]</sup>,这向 CD4<sup>+</sup> T 细胞分化、Th 漂移等传统理论提出了挑战,同样也为感染、免疫性疾病提供了新的研究思路。我们前期的研究证实,血必净注射液能有效降低严重烧伤动物死亡率<sup>[9]</sup>,但其确切作用机制尚不清楚。本研究中采用盲肠结扎穿孔术(CLP)复制脓毒症动物模型,探讨血必净注射液对 Treg 凋亡的影响及其介导 Th1/Th2/Th17 漂移的作用。

## 1 材料与方法

**1.1 实验动物及分组:**雄性清洁级 Wistar 大鼠,体重 180~220 g,购自中国医学科学院实验动物研究所,适应性饲养 1~2 周,实验前禁食 12 h。按随机数字表法将大鼠分为正常组、假手术组、模型组、血必净组,每组 8 只,以实验第 3 日为观察时间点。

**1.2 主要试剂及仪器:**藻红蛋白(PE)-抗大鼠 CD25、异硫氰酸荧光素(FITC)标记抗大鼠 CD4、别藻蓝蛋白(APC)标记膜联蛋白 V (Annexin V)凋亡试剂盒购自美国 BD 公司;大鼠抗-PE 试剂盒、CD4 磁珠、MiniMACS 磁性分离仪以及分选柱均购自德国 Miltenyi Biotec 公司;PE 标记叉头翼状螺旋转录因子(Foxp3)试剂盒、PE 标记 T 淋巴细胞毒性相关抗原 4(CTLA-4)、抗大鼠 CD3 单克隆抗体、抗大鼠 CD28 单克隆抗体为美国 eBioscience 公司产品;锥虫蓝购自美国 Sigma 公司;γ-干扰素(IFN-γ)、IL-4、IL-10 酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒均购自

美国 Biosource 公司;IL-17 ELISA 试剂盒购自美国 Usclife Science 公司;CO<sub>2</sub> 培养箱系日本 NAPCO 公司产品;FACS Calibur 流式细胞仪系美国 BD 公司产品;血必净注射液由天津红日药业股份有限公司生产(国药准字 Z20040033)。

## 1.3 实验方法

**1.3.1 脓毒症模型制备及处理:**用氯胺酮注射液+速眠新 I 注射液 2:1 混合液肌肉注射麻醉大鼠,采用 CLP 制备脓毒症动物模型。结扎盲肠与回肠连接处,用 18 号针头贯通盲肠 2 次形成肠瘘,并留置 2 条引流条(0.5 cm×2.0 cm)防止针孔愈合,后逐层缝合皮肤,术毕立即皮下注射 10 ml 生理盐水抗休克。假手术组只暴露盲肠后缝合皮肤,经阴茎背静脉注射生理盐水 4 ml/kg。血必净组在 CLP 基础上经阴茎背静脉注入血必净注射液 4 mg/kg。

**1.3.2 细胞分离及培养:**断颈处死大鼠后无菌取脾脏,研磨后过 400 目滤网,细胞悬液离心后加入淋巴细胞分离液离心取中层白色细胞。加入 PE-抗 CD25 和 PE 磁珠,阳性选择(阳选)获得 CD25<sup>+</sup>T 细胞,阴性选择(阴选)获得 CD25<sup>-</sup>T 细胞。用 CD25<sup>+</sup>T 细胞解离试剂解离后,阴选细胞以 FITC-抗 CD4 和 CD4 磁珠阳选即得 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg;CD25<sup>-</sup>T 细胞以 FITC-抗 CD4 和 CD4 磁珠阳选即得 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞。流式细胞仪检测双阳性细胞的纯度。用质量分数 0.4% 锥虫蓝对 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 进行染色,观察细胞存活率。用含体积分数 20% 小牛血清的 RPMI1640 培养液于 48 孔培养板中,在 CO<sub>2</sub> 培养箱中培养。各组于第 3 日分离 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 培养 12 h,再以培养液调整 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 和 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞浓度为 1:1 培养,刀豆素 A(Con A, 5 mg/L)进行刺激,37 °C CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 68 h 后离心取上清液,于-70 °C 冰冻待检。

**1.3.3 Treg 凋亡率检测:**分离细胞后培养 12 h,悬浮 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg (1×10<sup>9</sup>/L)用磷酸盐缓冲液(PBS)洗 2 次,加入 100 μl 结合缓冲液和 APC 标记的 Annexin V (20 mg/L)10 μl,室温避光 30 min,再加入放线菌素 D(7-AAD)10 μl,避光反应 5 min 后,加入 400 μl 结合缓冲液,流式细胞仪选择 7-AAD 阴性 Annexin V 阳性细胞为凋亡细胞,检测细胞凋亡率。

**1.3.4 Foxp3 和 CTLA-4 表达检测:**100 μl 制备好的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg (1×10<sup>9</sup>/L)加 1 ml 新配制的破

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.03.003

基金项目:国家重点基础研究发展规划项目(2005CB522602);国家自然科学基金项目(30872683);天津市科技创新专项基金项目(06F22DSH00403)

作者单位:410008 湖南长沙,中南大学湘雅医院 ICU(戴新贵、艾宇航);100037 北京,解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所(姚咏明)

通信作者:姚咏明,Email:c\_ff@sina.com

膜液, 4 ℃避光孵育 2 h, 再用 2 ml 破膜缓冲液洗涤; 加 PE-抗 Foxp3, 暗处 4 ℃孵育 30 min 后用 2 ml 破膜缓冲液洗涤, 离心弃上清液, 加入 0.5 ml PBS, 流式细胞仪检测 Foxp3 的平均荧光强度。重悬细胞 ( $1 \times 10^6/L$ ) 中直接加 PE-CTLA-4, 4 ℃避光孵育 30 min, 检测 CTLA-4 平均荧光强度。

**1.3.5 细胞因子检测:**包括 Treg 分泌的主要抑制性细胞因子 IL-10, Th1 分泌的 IFN- $\gamma$ , Th2 分泌的 IL-4, Th17 分泌的 IL-17。IL-10 标本来源于各组分离的 Treg 培养 12 h 后收集的上清液, IFN- $\gamma$ , IL-4, IL-17 标本来源于 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 和 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞共培养 68 h 后的上清液。用 ELISA 试剂盒检测, 严格按说明书操作, 分别计算出标准曲线和回归方程, 将样品吸光度代入标准曲线, 计算出样品中细胞因子的蛋白浓度。

**1.4 统计学分析:**结果用均数±标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, SPSS 13.0 统计软件包对数据进行单因素方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 纯度和存活率:**正常大鼠的脾脏单个核细胞经过 MACS 两次分选后, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 和 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T 细胞平均纯度分别为 (95.21 ± 2.34)%、(88.6 ± 2.2)%; 锥虫蓝检测 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 活性为 (92.13 ± 1.89)%, 可以满足进一步实验的要求。

**2.2 Treg 凋亡率及 Foxp3, CTLA-4 表达(表 1):**模型组 Treg 凋亡率明显低于正常组和假手术组, 血必净组显著高于其他组 ( $P$  均  $< 0.01$ )。正常组和假手术组 Foxp3, CTLA-4 表达差异均无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ ); 模型组 Foxp3, CTLA-4 表达明显高于正常组和假手术组 ( $P$  均  $< 0.01$ ); 血必净组 Foxp3, CTLA-4 表达最低 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

**2.3 细胞因子分泌量(表 2):**模型组 IL-10 分泌水平明显高于正常组和假手术组, 而血必净组水平明显低于其他各组 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

**2.4 效应 T 细胞分泌细胞因子的变化**

**2.4.1 IFN- $\gamma$  水平(表 2):**正常组分泌微量 IFN- $\gamma$ ;

模型组 IFN- $\gamma$  水平较正常组及假手术组大幅度升高; 血必净组 IFN- $\gamma$  水平进一步增加, 与其他组比较差异有统计学意义 ( $P$  均  $< 0.01$ )。

**表 1 各组大鼠 Treg 凋亡率及 Foxp3, CTLA-4 荧光强度表达比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	动物数	凋亡率(%)	Foxp3(%)	CTLA-4(%)
正常组	8	12.03 ± 0.89	136.15 ± 7.34	123.46 ± 8.71
假手术组	8	9.48 ± 2.17	126.50 ± 12.18	119.12 ± 6.38
模型组	8	5.87 ± 0.44 <sup>bc</sup>	174.98 ± 19.56 <sup>bc</sup>	172.00 ± 10.07 <sup>bc</sup>
血必净组	8	27.29 ± 2.48 <sup>bce</sup>	59.69 ± 6.78 <sup>bce</sup>	55.37 ± 9.86 <sup>bce</sup>

注:与正常组比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与假手术组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>e</sup> $P < 0.01$

**2.4.2 IL-4 水平(表 2):**模型组 IL-4 水平较正常组和假手术组均明显增加 ( $P$  均  $< 0.01$ ); 血必净组 IL-4 水平较模型组增加, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

**2.4.3 IL-17 水平(表 2):**各组 IL-17 水平比较差异无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ )。

**2.4.4 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值(表 2):**与正常组和假手术组比较, CLP 组 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值显著增高, 血必净组则明显高于其他组 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

**2.5 相关性分析:**反映 Treg 细胞活性指标 Foxp3 和 CTLA-4 表达及 IL-10 分泌量与 Treg 凋亡率均呈显著负相关, 相关系数 ( $r$ ) 分别为 -0.878 ( $P = 0.042$ )、-0.877 ( $P = 0.042$ )、-0.743 ( $P = 0.010$ )。

**3 讨论**

正常情况下, Th 亚群 Th1/Th2 处于平衡状态, Th1/Th2 失衡并向 Th1 或 Th2 状态转化的趋势称为 Th1/Th2 漂移。Th1 和 Th2 亚群失衡与否直接影响着机体的免疫功能, 并与疾病的状态密切相关<sup>[10]</sup>。在脓毒症的发病过程中, 机体并非总是处于一成不变的炎症激活状态, 研究表明免疫抑制同样也是脓毒症的重要特征。在脓毒症的初始阶段, 以分泌大量炎症介质为主要特征, 而随着脓毒症的进展, 机体可能经历了一个免疫抑制阶段, 表现为淋巴细胞增殖能力下降, 呈现以 Th2 为主的免疫反应和大量淋巴细胞凋亡等, 从而对病原体的易感性明显增

**表 2 各组大鼠 Treg、效应 T 细胞分泌细胞因子水平的比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	动物数	IL-10(ng/L)	IFN- $\gamma$ (ng/L)	IL-4(ng/L)	IL-17(ng/L)	IFN- $\gamma$ /IL-4 比值
正常组	8	126.30 ± 24.20	0.68 ± 0.78	3.48 ± 0.98	201.25 ± 119.20	0.23 ± 0.30
假手术组	8	133.72 ± 25.66	19.04 ± 6.71 <sup>b</sup>	5.41 ± 0.71 <sup>b</sup>	252.50 ± 116.67	0.32 ± 0.19
模型组	8	318.05 ± 28.28 <sup>bc</sup>	254.70 ± 44.88 <sup>bc</sup>	8.82 ± 0.61 <sup>bc</sup>	244.37 ± 221.10	30.28 ± 4.87 <sup>bc</sup>
血必净组	8	50.55 ± 2.12 <sup>bce</sup>	491.54 ± 84.28 <sup>bce</sup>	10.87 ± 1.23 <sup>bc</sup>	229.06 ± 139.89	45.31 ± 8.01 <sup>bcd</sup>

注:与正常组比较, <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$ ; 与假手术组比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ ; 与模型组比较, <sup>d</sup> $P < 0.05$ , <sup>e</sup> $P < 0.01$

加<sup>[1,11]</sup>。有资料提示, Treg 能在其分泌的 IL-10 环境中选择性抑制 Th1, CD4<sup>+</sup> T 细胞分化向 Th2 的漂移是造成脓毒症时机体免疫状态从亢进到抑制转变的重要因素<sup>[1-2]</sup>。因此从理论上讲, 诱导 Treg 凋亡可促使 Th1 介导的保护性炎症反应恢复, 从而达到调理脓毒症免疫功能紊乱状态的目的。

业已明确, Treg 主要通过细胞接触机制和分泌抑制性细胞因子发挥对效应 T 细胞的免疫抑制功能, Foxp3 和 CTLA-4 是其细胞接触机制最主要的表面分子, 能有效反映 Treg 活性<sup>[12-13]</sup>; IL-10 是 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg 免疫抑制作用的主要释放因子, 抑制效应 T 细胞免疫功能, 因此本研究中选择了 Foxp3 和 CTLA-4 表达及分泌 IL-10 水平作为其功能活化的指标。本实验结果显示, 模型组 Treg 凋亡率明显低于正常组, 而血必净组显著高于其他各组, 证实血必净注射液能有效促进脓毒症 Treg 凋亡。进一步分析可见, 反映 Treg 活性指标 Foxp3 和 CTLA-4 表达及 IL-10 分泌量与 Treg 凋亡率均呈显著负相关, Foxp3、CTLA-4 表达和 IL-10 分泌量随 Treg 凋亡率增加而减少, 说明适当诱导脓毒症体内 Treg 凋亡有利于改善免疫抑制状态。我们在前期体外实验中观察到内毒素刺激后 Treg 增强了对效应 T 细胞的抑制功能, 血必净注射液通过促进 Treg 凋亡而有效改善其对 T 细胞的抑制效应。

本组资料显示, 模型组 IFN- $\gamma$  和 IL-4 水平较正常组有明显升高, 但就单一炎症细胞因子水平进行比较还难以明确不同状态对 Th 漂移的影响, 因此我们采用 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值来反映 Th1/Th2 漂移情况<sup>[1]</sup>。结果证实, 模型组 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值明显高于正常组和假手术组, 说明脓毒症在启动促炎反应的同时就已启动了抗炎反应, 只是在第 3 日仍以促炎反应为主。血必净组 IFN- $\gamma$  水平虽显著高于模型组, 但 IL-4 分泌量也较模型组有所增多, 且给予血必净注射液处理后 IFN- $\gamma$ /IL-4 比值明显高于模型组, 说明血必净注射液调节了体内 Th2 向 Th1 的漂移。此外, 本实验中 Treg 与效应 T 细胞培养后分泌 IL-17 水平变化不明显, 推测可能与 Th17 介导的炎症反应关系不甚密切, 也可能与 Treg 在凋亡后分泌转化生长因子- $\beta$  功能下降、在缺少 IL-6 的环境中不能有效诱导 Th17 生成有关<sup>[7]</sup>。

综上所述, 本实验结果显示, 脓毒症时由于 Treg 凋亡率明显下降, 细胞接触机制及分泌细胞因子功能上调, 从而介导了 Th1 向 Th2 漂移; 随着 Treg 凋亡率增加, 其对效应 T 细胞抑制功能显著下

降, Th2 向 Th1 漂移。血必净注射液则能促进脓毒症 Treg 凋亡, 介导 Th2 向 Th1 漂移, 有助于改善机体细胞免疫抑制状态。

**参考文献**

- [1] 姚咏明. 免疫功能紊乱在脓毒症发病中的作用及意义. 中国危重病急救医学, 2007, 19(3): 138-141.
- [2] Dejaco C, Duftner C, Grubeck-Loebenstien B, et al. Imbalance of regulatory T cells in human autoimmune diseases. Immunology, 2006, 117(3): 289-300.
- [3] Le NT, Chao N. Regulating regulatory T cells. Bone Marrow Transplant, 2007, 39(1): 1-9.
- [4] Taylor A, Verhagen J, Blaser K, et al. Mechanisms of immune suppression by interleukin-10 and transforming growth factor- $\beta$ ; the role of T regulatory cells. Immunology, 2006, 117(4): 433-442.
- [5] Taams LS, Smith J, Rustin MH, et al. Human anergic/suppressive CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> T cells, a highly differentiated and apoptosis-prone population. Eur J Immunol, 2001, 31(4): 1122-1131.
- [6] Taylor SR, Alexander DR, Cooper JC, et al. Regulatory T cells are resistant to apoptosis via TCR but not P2X7. J Immunol, 2007, 178(6): 3474-3482.
- [7] Weaver CT, Hatton RD, Mangan PR, et al. IL-17 family cytokines and the expanding diversity of effector T cell lineages. Annu Rev Immunol, 2007, 25: 821-852.
- [8] Mucida D, Park Y, Kim G, et al. Reciprocal TH17 and regulatory T cell differentiation mediated by retinoic acid. Science, 2007, 317(5835): 256-260.
- [9] 王文江, 姚咏明, 威力明, 等. 血必净注射液对烧伤延迟复苏大鼠器官功能及死亡率的影响. 中国危重病急救医学, 2006, 18(1): 16-18.
- [10] 王兵, 张畔. 多器官功能障碍综合征中急性虚证发病与辅助 T 淋巴细胞 1/2 平衡之间的关系及治疗对策. 中国中西医结合急救杂志, 2005, 12(1): 58-61.
- [11] Groux H, O'Garra A, Bigler M, et al. A CD4<sup>+</sup> T cell subset inhibits antigen-specific T cell responses and prevents colitis. Nature, 1997, 389(6652): 737-742.
- [12] Brunkow ME, Jeffery EW, Hjerrild KA, et al. Disruption of a new forkhead/winged-helix protein, scurf, results in the fatal lymphoproliferative disorder of the scurfy mouse. Nat Genet, 2001, 27(1): 68-73.
- [13] Zheng Y, Josefowicz SZ, Kas A, et al. Genome-wide analysis of Foxp3 target genes in developing and mature regulatory T cells. Nature, 2007, 445(7130): 936-940.

(收稿日期: 2009-01-05)  
(本文编辑: 李银平)

**• 广告目次 •**

- ①天津生化制药: 琥珀氢可 ..... (封二)
- ②锐普生物: TnI 试剂盒 ..... (插页)
- ③广东天普药业: 天普洛安 ..... (插页)
- ④珠海丽珠: 丽珠血液灌流器 ..... (插页)
- ⑤廊坊爱尔: 炭肾 ..... (插页)
- ⑥第一制药: 克倍宁 ..... (封三)
- ⑦天津红日药业: 血必净注射液 ..... (封底)