

· 论 著 ·

IFN- γ 刺激培养未成熟树突状细胞免疫耐受效应机制研究*吴银平, 袁发焕 Δ , 侯卫平

(第三军医大学新桥医院肾病科, 重庆 400037)

摘要:目的 通过 γ -干扰素(IFN- γ)刺激培养未成熟树突状细胞,研究在体外 IFN- γ 诱导未成熟树突状细胞免疫耐受的效应机制。方法 采用经典的 GM-CSF+IL-4 诱导方案,以获得细胞表面缺乏共刺激分子的大鼠骨髓来源的未成熟树突状细胞,经 IFN- γ 刺激培养后,通过外源性抗原 T 细胞表位 pCol(28-40)多肽培养,流式细胞仪检测表面 MHC II 类分子及共刺激分子 CD80、CD86,DC 表面相对特异性标记 OX62 的情况,将脾脏分离淋巴细胞分为 3 组,即对照组、imDC 组和 imDC_{IFN- γ} 组,采用 MTT 法检测各组淋巴细胞增殖情况,Annex-V-Fluorescein 检测各组淋巴细胞凋亡,ELISA 法检测体外培养脾细胞上清液 Th1/Th2 型细胞因子,观察体外 CD4⁺T 细胞 Th 亚群的分化情况。**结果** IFN- γ 刺激培养的未成熟树突状细胞通过外源性抗原 T 细胞表位 pCol(28-40)多肽培养后低表达表面 MHC II 类分子(14.01%)及共刺激分子 CD80(4.78%)、CD86(19.79%),同样低表达 DC 表面相对特异性标记 OX62(15.31%, $P<0.05$, $n=4$);MTT 法检测共培养的脾淋巴细胞 imDC 组、imDC_{IFN- γ} 组与对照组增殖差异有统计学意义($P<0.05$, $n=5$);但 imDC_{IFN- γ} 组凋亡率为(12.9 \pm 0.02)%,与对照组和 imDC 组相比均明显增高($P<0.05$, $n=5$);Th1 型细胞因子明显向 Th2 型细胞因子偏移。**结论** IFN- γ 刺激培养的未成熟树突状细胞对外源性抗原 T 细胞表位 pCol(28-40)多肽摄取及提呈能力明显下降;抑制 T 细胞增殖,促进 T 细胞凋亡;并且促使 Th1 型细胞因子向 Th2 型细胞因子漂移,诱导形成免疫耐受。

关键词: γ -干扰素;未成熟树突状细胞;免疫耐受;T 细胞

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2010.21.003

中图分类号:R392.32

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2010)21-2852-03

Study on mechanism of immune tolerance effect of IFN- γ stimulated cultured immature dendritic cells*WU Yin-ping, YUAN Fa-huan Δ , HOU Wei-ping

(Department of Nephrology, Xinqiao Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: **Objective** To study the immune tolerance mechanisms in vitro of the IFN- γ stimulated cultured immature dendritic cells. **Methods** The classical method of GM-CSF + IL-4 was adopted to obtain the lack of cell surface costimulatory molecules in rat bone marrow-derived. Immature dendritic cells were stimulated culture by IFN- γ , then through the exogenous antigen T cell epitope pCol (28-40) peptide culture, flow cytometry detection of surface MHC II molecules and costimulatory molecules CD80, CD86, DC-specific surface sign OX62. Separated lymphocytes in the spleen were divided into three groups: control group, imDC group and imDC_{IFN- γ} group. MTT was used to detect lymphocyte proliferation in each group; Annex-V-Fluorescein to detect lymphocyte apoptosis in each group; ELISA assay was used to culture spleen cell supernatant Th1/Th2 type cytokines, CD4⁺ T-cell differentiation of Th subsets in vitro was observed. **Results** IFN- γ stimulated cultured immature dendritic cells through the exogenous antigen T cell epitope pCol (28-40) peptide cultured had low expression of surface MHC II molecules (14.01%), and co-stimulatory molecule CD80 (4.78%), CD86 (19.79%), the same low expression of DC surface, a relatively specific sign OX62 (15.31%, $P<0.05$, $n=4$), MTT assay co-cultured spleen lymphocytes imDC group, imDC_{IFN- γ} group and the control group had no significant proliferation ($P>0.05$, $n=5$); but the apoptosis rate of imDC_{IFN- γ} group (12.98 \pm 0.02)% was significantly higher than that of control group and imDC group ($P<0.05$, $n=5$); Th1 type cytokines apparently drifted to Th2 type cytokines. **Conclusion** IFN- γ stimulated cultured immature dendritic cells, then through exogenous antigen T cell epitope pCol (28-40) peptide culture show dendritic cells getting antigen and antigen-presenting ability significantly decreases, inhibits T cell proliferation and promotes T-cell apoptosis; the experiments also show that IFN- γ stimulated cultured immature dendritic cells promote Th1 type cytokines drifting to Th2 type cytokines, induction of immunological tolerance.

Key words: IFN- γ ; immature dendritic cells; immunological tolerance; T cells

树突状细胞(dendritic cells, DC)是体内最有效的抗原提呈细胞(antigen-presenting cell, APC),它不仅参与抗原的摄取及提呈,而且可诱导免疫耐受。目前研究发现 DC 的免疫应答还是诱导免疫耐受效应均取决于 DC 的成熟状态:成熟 DC 表面高表达 MHC II 类分子和共刺激分子 CD80、CD86,因而可诱

导 CD4⁺ Th0 分化为 Th1 介导细胞免疫应答;而未成熟 DC (immature DC, imDC)表面低表达 MHC II 类分子和共刺激分子 CD80、CD86,可诱导 CD4⁺ Th0 分化为 Th2 细胞而具有诱导建立外周免疫耐受的特性^[1]。Th2 细胞分泌高水平的 IL-4 可间接促进 DC 的成熟, γ -干扰素(IFN- γ)则能抵抗 IL-4 的效

应。在外周器官组织中,DC 是以一种不成熟的状态存在,可诱导调节性 T 细胞(regulate T cell, Treg)产生分泌具有负调节作用的 IL-10,参与外周免疫耐受的建立。Kitchen 等^[2]研究发现在 IFN- γ 基因敲除鼠可诱导更为严重的抗-GBM 肾炎,表现为抗原特异性 T 细胞的高度激活和增殖,提示由调节性 T 细胞分泌 IFN- γ 直接调控诱导免疫耐受的效应。新近研究还发现 IFN- γ 具有相矛盾的作用^[3],既有可能引发 Th1 驱使的免疫应答反应,又可诱导产生调节性 T 细胞控制免疫反应^[3],这种早期产生的 IFN- γ 能直接抑制具有 IFN γ R1 和 IFN γ R2 的 T 细胞,而且还可间接地预防 T 细胞的进一步激活。

本实验联合 IFN- γ 和 imDC 诱导免疫耐受特性,在体外通过 IFN- γ 刺激培养 imDC 与脾脏分离的淋巴细胞共培养,观察淋巴细胞增殖及凋亡情况及 CD4⁺ T 细胞 Th1/Th2 型细胞因子的表达情况。

1 材料与与方法

1.1 材料 健康雄性 Wistar 大鼠(体质量 200~250 g)购自第三军医大学大坪医院动物中心。大鼠重组 IFN- γ 、GM-CSF、IL-4(美国 R&D 公司),荧光抗体 FITC-anti-rat MHC II、FITC-anti-rat CD86、PE-anti-rat OX62、PE-anti-rat CD80 及同型对照抗体(eBioscience 公司),噻唑蓝(MTT, Amersha 公司),RPMI-1640 培养基(Hyclone 公司),胎牛血清((FCS, 杭州四季青公司)二甲基亚砷(DMSO, Sigma 公司),IL-4、IL-13、IFN- γ ELISA 试剂盒(美国 R&D 公司),T 细胞表位 pCol(28-40)多肽(上海英骏生物公司)等。

1.2 大鼠骨髓来源 imDC 制备 参照 Son 等^[4]的方法,颈椎脱臼处死大鼠,70%乙醇浸泡消毒 15 min。无菌取出股骨和胫骨,用镊子固定长骨后剪刀剪去骨两端,用 RPMI-1640 培养液反复冲洗出骨髓至培养皿中,直至骨变白。用 200 目尼龙网过滤去除小碎骨片和肌肉组织。滤液以 4℃、1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液。Tris-NH₄Cl 裂解红细胞,室温孵育 2~3 min,4℃、1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液。洗涤 2 遍后,用 24 mL DC 培养液(RPMI-1640 加 rGM-CSF 10 ng/mL+rIL-4 5 ng/mL)重悬细胞沉淀后,接种于 6 孔细胞培养板中,置 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱内孵育 3 h。轻轻吸出悬浮和半贴壁细胞,4℃、1 000 r/min 离心 5 min 弃上清液。DC 培养液重悬细胞沉淀,计数并调整密度为 1×10⁶/mL,加入 24 孔板中培养(1 mL/孔)。置 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱培养。每 48 小时新配制 DC 培养液半量换液,继续培养。培养至第 5 天收集、计数、用灭菌 PBS 调整 DC 浓度至 1×10⁶/mL,即为 imDC。

1.3 IFN- γ 刺激培养的大鼠骨髓来源未成熟树突状细胞(imDC_{IFN- γ})制备 DC 取材方法同上,DC 孵育 3 h,转入 24 孔培养板培养 18 h 后加 IFN- γ (100 U/mL)刺激培养细胞^[5],37℃、5%CO₂ 细胞培养箱培养。每 48 小时新配制的 DC 培养液半量换液,并补充 IFN- γ (50 U/mL),置 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱培养。培养至第 3 天用灭菌 0.01MPBS 洗 2 次,洗去 IFN- γ ,调整 DC 浓度至 1×10⁶/mL,补充外源性抗原 T 细胞表位 pCol(28-40)多肽,继续培养 48 h,收集、计数、用灭菌 PBS 调整 DC 浓度至 1×10⁶/mL,即为 imDC_{IFN- γ} 。

1.4 流式细胞检测 imDC 和 imDC_{IFN- γ} 表型 分别收集 imDC 和 imDC_{IFN- γ} 入刻度离心管,4℃、1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,加入 1 mL PBS 重悬,计数,分装入每管约 1×10⁶ 个细胞于 EP 管中。4℃、1 000 r/min 离心 5 min。弃上清液,再用

PBS 洗 3 次,最后用 200 μ L PBS 重悬。然后按试剂说明书加入荧光标记抗体:PE-anti-rat CD80(1 μ L)、FITC-anti-ratCD86(1 μ L)、FITC-anti-rat MHC II(1 μ L)和 PE-anti-rat OX62(10 μ L),4℃避光孵育 30 min。Staining buffer 洗涤 3 次,流式细胞仪检测。

1.5 分离脾脏淋巴细胞 无菌条件下取脾组织,于 200 目钢丝滤网上研磨成匀浆状,用含 2%胎牛血清的无菌生理盐水冲入无菌平皿制成悬液,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,加 5 mL Tris-NH₄Cl,静置 2~3 min 去除红细胞,加无菌生理盐水 5~6 mL 中和,1 200 r/min 离心 5 min,洗涤 3 遍,加入大鼠淋巴细胞分离液,严格按说明书提取白膜层细胞。光镜下计数后,用含 10%新生牛血清的 RPMI-1640 调整脾细胞浓度为 2×10⁶/mL,备用。

1.6 imDC 和 imDC_{IFN- γ} 与脾细胞铺板培养 实验分组:(1)对照组,加入含血清 RPMI-1640;(2)imDC 组,加入培养的 imDC;(3)imDC_{IFN- γ} 组,加入 imDC_{IFN- γ} 。取上述脾细胞中一部分,铺 24 孔板培养,每孔 0.5 mL,各孔加入制备好的 imDC 和 imDC_{IFN- γ} 各 0.5 mL,对照组加等量的含血清 RPMI-1640,轻轻吹打混匀,置 37℃、5%CO₂ 细胞培养箱培养。每个样本铺 6 个复孔,分别于铺板后 48、72 h 收集上清液,待作相关细胞因子测试。

1.7 MTT 法检测各组与淋巴细胞的增殖情况 (1)96 孔细胞培养板,每孔加入大鼠分离的脾脏淋巴细胞各 100 μ L。(2)含血清 RPMI-1640,5%CO₂、37℃培养 4 h。(3)于培养细胞中加入:含血清 RPMI-1640 200 μ L(对照组);培养的 imDC 200 μ L(imDC 组);imDC_{IFN- γ} 200 μ L(imDC_{IFN- γ} 组);均设 6 个复孔,同时设空白对照。(4)继续培养 48 h。(5)在实验前 4 h 每孔加入 MTT(5 mg/mL) 20 μ L。(6)轻轻吸去上清液,每孔加入 DMSO 150 μ L,轻轻振荡 10 min。(7)在酶标光度计上测光吸收值,测定波长为 490 nm,参考波长为 630 nm,所得光吸收值代表相应孔细胞的相对数量。

1.8 流式细胞仪检测各组淋巴细胞凋亡的情况 (1)24 孔细胞培养板,每孔加入分离的大鼠脾脏淋巴细胞 500 μ L。(2)将含血清 RPMI-1640 和培养细胞 imDC 和 imDC_{IFN- γ} 加入相应的培养孔 500 μ L,每组设 6 个复孔,同时设空白对照。(3)含血清 RPMI-1640,37℃、5%CO₂ 培养 48 h。(4)每天各组随机抽取 2 孔。分别收集各组细胞入刻度离心管,4℃、1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液。分装入每管约 1×10⁶ 个/mL 细胞于 EP 管中。4℃、1 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,再用 PBS 洗 3 次。最后用 200 μ L PBS 重悬。按试剂说明书加入荧光标记抗体,PE-anti-rat CD4 mAb(10 μ L),4℃、30 min 后洗涤 3 次,加 PBS 至 500 μ L。按 Annex-V-Flous 试剂盒说明书,用流式细胞仪检测细胞凋亡情况。(5)连续检测 2 d。

1.9 Th1/Th2 型细胞因子浓度测定 按照 R&D 公司 ELISA 试剂盒说明书操作,测定脾细胞上清液中 Th1 型细胞因子 IFN- γ (用铺板培养后 72 h 收集之上清液)以及 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-13 (用铺板培养后 48 h 收集之上清液)的含量,在 BIO-RAD 680 酶标仪上读取结果。

1.10 统计学方法 数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 SPSS 10.0 统计软件行秩和检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 流式细胞仪检测 DC 表型 流式细胞仪检测(收集制备

的 imDC 以及 imDC_{IFN-γ} 表面 MHC II 类分子和共刺激分子 CD80、CD86 以及 DC 表面相对特异性标记 OX62 情况, 结果发现, imDC 表达的上述分子分别为 20.07%、13.01%、21.38%、14.03%, 均明显低于 mDC 水平(mDC 上述分子表达水平均在 70% 以上, 数据未显示)。imDC_{IFN-γ} 表达上述分子分别为 14.01%、19.79%、15.31%、4.78%, 均低表达表面 MHC II 类分子和共刺激分子 CD80、CD86; 与 imDC 组相比, 除 CD80 略高一些, 其余均低于 imDC 组($P < 0.05, n = 4$), 见图 1。

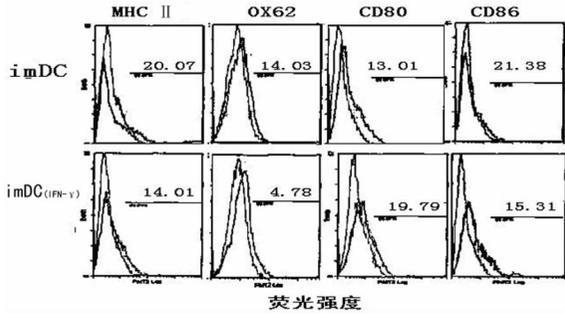


图 1 耐受性 DC 表面共刺激分子和 MHC II 类分子的表达情况

2.2 MTT 法检测各组淋巴细胞增殖情况 对照组 OD 值为 (0.195 0 ± 0.016 0); imDC 组为 (0.197 4 ± 0.017); imDC_{IFN-γ} 组为 (0.083 6 ± 0.012), imDC 组、imDC_{IFN-γ} 组与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05, n = 5$)。

2.3 在体外脾淋巴细胞与共培养细胞凋亡变化 采用流式细胞仪检测各组淋巴细胞凋亡率, imDC 组 (1.06 ± 0.01) 与对照组 (0.03 ± 0.01) 比较差异有统计学意义 ($P < 0.05, n = 5$); imDC_{IFN-γ} 组凋亡率为 (12.98 ± 0.02), 与对照组和 imDC 组比较均明显增高 ($P < 0.05, n = 5$), 见图 2。

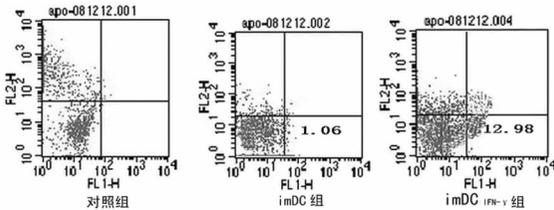


图 2 流式细胞仪检测体外同等条件下大鼠脾淋巴细胞凋亡变化

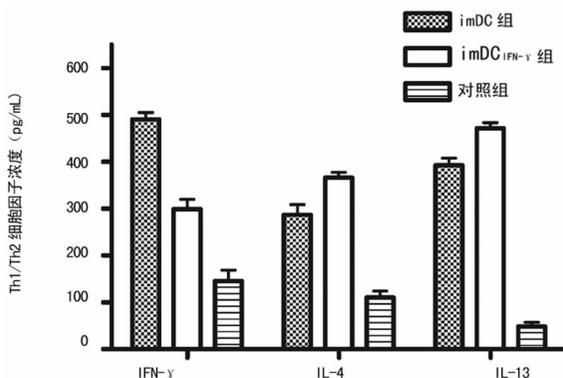


图 3 脾细胞上清液中 IL-4、IL-13、IFN-γ 浓度

2.4 ELISA 法检测体外培养脾细胞上清液 Th1/Th2 型细胞因子 imDC 组和 imDC_{IFN-γ} 组表达 IFN-γ 浓度差异无统计学

意义 ($P > 0.05, n = 5$), imDC 组表达 IFN-γ 浓度与对照组和 imDC_{IFN-γ} 组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05, n = 5$); imDC_{IFN-γ} 组表达 IL-4 和 IL-13 高于 imDC 组, 也明显高于对照组 ($P < 0.05, n = 5$), 见图 3。

3 讨论

DC 是目前已知的机体内功能最强的“专职抗原递呈细胞”(professional APC)^[6]。DC 广泛分布于除脑以外的全身各脏器。在外周 DC 获取抗原、递呈抗原、初始化免疫反应或死亡^[7-9]。DC 经历几个不同的表型期; 各个表型期 DC 具有不同的功能活性, 不同的免疫功能。未成熟 DC 特点是能够吞噬外源性抗原(通过胞吞、胞饮或各种受体介导的吞噬作用), 处理并将相应的肽段结合到内源性 MHC 分子。由于表面表达 MHC 和接触分子(CD80、CD86)的量较少, 从而在抗原识别时提呈抗原而缺乏共刺激分子及细胞因子的参与介导免疫耐受。本实验采用经典的 GM-CSF+IL-4 诱导方案, 经 IFN-γ 刺激培养的 imDC 通过外源性抗原 T 细胞表位 pCol(28-40) 多肽培养, 均低表达表面分子 MHC II 类分子及共刺激分子 CD80、CD86, 同样低表达 DC 表面相对特异性标记 OX62, 表明经 IFN-γ 刺激培养的 imDC 对抗原的摄取和提呈能力低, 未能激活 T 细胞免疫应答, 而具有诱导免疫耐受的特性。

Wood 和 Bawitzki^[3] 研究及新近研究发现 IFN-γ 诱导产生 Treg 控制免疫反应。Treg 分泌 IFN-γ 对 T 细胞的直接调控发挥着诱导免疫耐受的效应^[10]。有研究认为, Th1/Th2 的动态平衡是免疫耐受的关键因素, IFN-γ 由 Th1 分泌, IL-4 和 IL-13 由 Th2 分泌, Th1 向 Th2 漂移可能是免疫耐受的形成机制^[11-18]。ELISA 检测脾细胞上清液中 imDC 组和 imDC_{IFN-γ} 组表达 IFN-γ 无明显差异, 但均高于对照组, 同样脾细胞上清液中 imDC_{IFN-γ} 组表达 IL-4 和 IL-13 高于 imDC 组, 且明显高于对照组, 表明 IFN-γ 诱导产生 Treg 诱导免疫耐受的效应, 并且 Th1 向 Th2 漂移, 可能诱导形成免疫耐受。

imDC 在经 IFN-γ 刺激培养后对外源性抗原的摄取和提呈能力差, 能够体外抑制 T 细胞增殖, 促进其凋亡; 同时实验表明 Th1 向 Th2 漂移, 可诱导形成免疫耐受。该实验的结果有待于体内实验进一步验证, 这将为临床进一步研究免疫耐受提供新的思路。

参考文献:

- [1] 辛海明, 彭毅. CCR7 基因修饰未成熟树突状细胞诱导小鼠皮肤移植免疫耐受的研究[J]. 重庆医学, 2009, 38 (19): 2457.
- [2] Kitchen R, Khchen AR, Tumer AL, et al. Experimental autoimmune anti-Glomerular basement membrane glomerulonephritis a protective Role for IFN[J]. Am Soc Nephrol, 2004, 15: 1764.
- [3] Wood KJ, Bawitzki B. Interferon-γ: a crucial role in the function of induced regulatory T cells in vivo[J]. Trends Immunol, 2006, 27(4): 183.
- [4] Son Y, Egawa S, Tatsumi T, et al. A novel bulk-culture method for generating mature dendritic cells from mouse bone marrow cells[J]. Immunol Methods, 2002, 262 (1-2): 145.
- [5] Xiao BG, Wu XC, Yang JS, et al. Ther-(下转第 2857 页)

量呈显著正相关。

近年来研究发现,mtTFA 在快速增长的肿瘤中表达上调,可能参与调控与肿瘤发生、发展有关的基因的表达。mtTFA 能够特异性地识别并结合损伤的 mtDNA,结合后,抑制了修复酶对 mtDNA 损伤的识别和结合。此外,mtTFA 还能同 p53 相互作用在凋亡中发挥重要作用。因此,mtTFA 可能与肿瘤发生、发展有较为密切的关系。肿瘤细胞中,控制 mtDNA 转录、复制的调节多肽的表达有何变化? 其与肿瘤 mtDNA 拷贝数的改变有何关系? 这些问题鲜见文献报道。Yin 等^[7]利用竞争 PCR 及定量 PCR 等技术检测了 18 例肝癌 mtDNA 拷贝数的改变,并分析了这种变化与肝癌 mtSSB mRNA 表达量的关系。mtSSB 是调控 mtDNA 复制、修复和重组过程中的一种关键蛋白,目前已证实,正常组织中这种蛋白的表达量和 mtDNA 的含量之间呈显著的正相关^[8]。而 Yin 等^[7]的研究却发现,癌组织中 mtSSB mRNA 的平均表达量与癌旁正常组织相比虽然明显上调,但女性患者癌组织 mtDNA 平均拷贝数却显著低于相应正常组织,男性患者癌组织 mtDNA 平均拷贝数无明显变化;mtSSB mRNA 表达量和 mtDNA 拷贝数之间的相关性只存在于癌旁正常组织中,而癌组织中这种相关性消失。在本研究中,作者利用 RT-PCR 技术检测了 37 例肺癌及相应癌旁组织 mtTFA mRNA 的表达。结果发现,癌组织与癌旁正常组织 mtTFA mRNA 的平均表达量之间差异无统计学意义($P>0.05$)。上述结果说明,在这些肿瘤中,mtDNA 拷贝数虽然下降,但调控 mtDNA 转录、复制的主要调节因子如 mtSSB、mtTFA 的表达并没有显著下调。肿瘤中 mtDNA 拷贝数的改变与 mtDNA 转录、复制的主要调节因子的表达水平无关。肿瘤细胞中 mtDNA 拷贝数改变的具体机制还有待于进一步研究。

参考文献:

[1] Meierhofer D, Mayr J A, Foetsch U, et al. Decrease of mi-

tochondrialDNA content and energy metabolism in renal cell carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2004, 25(6):1005.

[2] Mambo E, Chatterjee A, Xing M, et al. Tumor-specific changes in mtDNA content in human cancer[J]. *Int J Cancer*, 2005, 116(6):920.

[3] Simonnet H, Alazard N, Pfeiffer K, et al. Low mitochondrial respiratory chain content correlates with tumor aggressiveness in renal cell carcinoma[J]. *Carcinogenesis*, 2002, 23:759.

[4] Cote J, Ruiz-Carrillo A. Primers for mitochondrial DNA replication generated by endonuclease G [J]. *Science*, 1993, 261:765.

[5] Bogenhagen DF, Wang Y, Shen EL, et al. Protein components of mitochondrial DNA nucleoids in higher eukaryotes[J]. *Mol Cell Proteomics*, 2003, 2:1205.

[6] Ekstrand MI, Falkenberg M, Rantanen A, et al. Mitochondrial transcription factor A regulates mtDNA copy number in mammals[J]. *Hum Mol Genet*, 2004, 13:935.

[7] Yin PH, Lee HC, Chau GY, et al. Alteration of the copy number and deletion of mitochondrial DNA in human hepatocellular carcinoma [J]. *Br J Cancer*, 2004, 90(12):2390.

[8] Ruiz De Mena I. Regulation of mitochondrial single-stranded DNA-binding protein gene expression links nuclear and mitochondrial DNA replication in *Drosophila*[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275:13628.

(收稿日期:2010-04-18)

(上接第 2854 页)

apeutic potential of IFN- γ modied dendritic cells in acute and chronic experimental allergic encephalomyelitis. [J]. *Int Immunol*, 2004, 16(1):13.

[6] 石庆凤,陈敏,曾维群,等. HBV 无症状携带者树突状细胞的分化及功能研究[J]. *重庆医学*, 2009, 38(7):821.

[7] 史蓉华,范娅涵,赵树铭,等. 人外周血富集白细胞层来源的树突状细胞的培养与鉴定[J]. *重庆医学*, 2009, 38(10):1195.

[8] 王海权,徐皓. 联合应用未成熟树突状细胞和 CD40L 单克隆抗体延长大鼠移植肠存活时间[J]. *南京医科大学学报:自然科学版*, 2006, 26(7):516.

[9] Steinman RM. The dendritic cell system and its role in immunogenicity[J]. *Annu Rev Immunol*, 1991, 9:271.

[10] Jurgens B, Hainz U. Interferon-gamma-triggered indoleamine 2, 3-dioxygenase competence in human monocyte-derived dendritic cells induces regulatory activity in allogeneic T cells [J]. *Blood*, 2009, 114(15):3235.

[11] Steinman RM, Hawiger D, Nussenzweig MC. Tolerogenic dendritic cells[J]. *Annu Rev Immunol*, 2003, 21:685.

[12] Chen Y, Chen J, Liu Z. Relationship between Th1/Th2 cytokines and immune tolerance in liver transplantation in

rats[J]. *Transplant Proc*, 2008, 40(8):2691.

[13] Williams CA, Harry RA, Mcleod JD, et al. Apoptotic cells induce dendritic cell-mediated suppression via interferon-gamma-induced IDO[J]. *Immunology*, 2008, 124(1):89.

[14] Mascarell L, Lombardi V, Louise A, et al. Oral dendritic cells mediate ntigen-specific tolerance by stimulating TH1 and regulatory CD4⁺T cells[J]. *Allergy Clin Immunol*, 2008, 122(3):603.

[15] Sagoo P, Lombardi G. Regulatory T cells as therapeutic cells[J]. *Curr Opin Organ Transplant*, 2008, 13(6):645.

[16] 刘加洪,姚艳红,王英年,等. Th1/Th2 平衡失调与人类疾病关系及其相关治疗研究现状[J]. *青岛大学医学院学报*, 2002, 38(4):366.

[17] Yamazaki S, Steinman RM. Dendritic cells as controllers of antigen-specific Foxp3(+) regulatory T cells[J]. *J Dermatol Sci*, 2009, 54(h2):69.

[18] Van Duivenvoorde LM, Van Mierlo GJ, Boonman ZF, et al. Dendritic cells: vehicles for tolerance induction and prevention of autoimmune diseases. [J]. *Immunobiology*, 2006, 211(6-8):627.

(收稿日期:2010-06-13 修回日期:2010-07-30)