

# 慢性丙型肝炎患者 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> 调节性T细胞表达增加

杨江华, 张永祥, 苏川, 孙南雄

杨江华, 张永祥, 孙南雄, 南京医科大学第一附属医院感染科 江苏省南京市 210029

苏川, 南京医科大学病原生物学系 江苏省南京市 210029  
杨江华, 男, 1972-11-28 生, 安徽省铜陵市人, 汉族, 2003年南京医科大学  
博士研究生, 主要从事丙型肝炎慢性化机制研究。

江苏省现代病原生物学重点实验室开放课题, No. XDBY04002  
通讯作者: 苏川, 江苏省南京市汉中路140号, 南京医科大学病原生物学系,  
chuansu@njmu.edu.cn

电话: 025-86862773 传真: 025-86661318

共同通讯作者: 孙南雄, 210029, 江苏省南京市, 南京医科大学第一附属医  
院感染科. sun9876@126.com

电话: 025-83986144 传真: 025-83190852

收稿日期: 2005-05-30 接受日期: 2005-06-13

## Increase of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in peripheral blood of patients with chronic hepatitis C

Jiang-Hua Yang, Yong-Xiang Zhang, Chuan Su, Nan-Xiong Sun

Jiang-Hua Yang, Yong-Xiang Zhang, Nan-Xiong Sun, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Chuan Su, Department of Pathogenic Biology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China

Supported by the Open Project from Pathogenic Biology Laboratory of Jiangsu Province, No. XDBY04002

Correspondence to: Chuan Su, Department of Pathogenic Biology, Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. chuansu@njmu.edu.cn

Co-correspondence to: Nan-Xiong Sun, Department of Infectious Diseases, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, Jiangsu Province, China. sun9876@126.com.

Received: 2005-05-30 Accepted: 2005-06-13

### Abstract

**AIM:** To investigate the role of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in the immune responses of patients with chronic hepatitis C.

**METHODS:** The number of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in the peripheral blood of chronic HC patients was detected by flow cytometry. Then the CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells were co-cultured with CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T cells, and their inhibitory effect was analyzed. Flow cytometry was also used to examine the effect of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells on the synthesis of Interferon- $\gamma$  and Interleukin-4 in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T cells. The expression of Foxp3 in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells was detected by reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR).

**RESULTS:** The percentage of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory

T cells in the peripheral CD4<sup>+</sup> T cells of the chronic HC patients was significantly higher than that of the healthy controls ( $14.1 \pm 1.6\%$  vs  $5.3 \pm 0.8\%$ ,  $P < 0.01$ ). CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells significantly inhibited the proliferation of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup> T cells ( $P = 0.002$ ) and the synthesis of IFN- $\gamma$ . Foxp3 was highly expressed in CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells.

**CONCLUSION:** The level of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells increases in patients with chronic hepatitis C virus infection, which can specifically inhibit the response of Th1 cells.

**Key Words:** Hepatitis C virus; CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells; CD4<sup>+</sup> T cell; Foxp3

Yang JH, Zhang YX, Su C, Sun NX. Increase of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells in peripheral blood of patients with chronic hepatitis C. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2005;13(18):2201-2204

### 摘要

**目的:** 探讨CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T(Treg)细胞在慢性丙型肝炎患者免疫下调中的意义。

**方法:** 流式细胞仪检测慢性丙型肝炎患者外周血中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的数量;与CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞共同培养,检测其抑制功能;流式细胞仪检测其对CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞合成IFN- $\gamma$ 和IL-4的影响;RT-PCR检测CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞中Foxp3的mRNA表达。

**结果:** CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞约占慢性丙型肝炎患者外周血中CD4<sup>+</sup>T细胞的14.1  $\pm$  1.6%,显著高于正常对照5.3  $\pm$  0.8% ( $P < 0.01$ ),显著抑制CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖 ( $P = 0.002$ ),以及合成IFN- $\gamma$ 。CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞高表达Foxp3。

**结论:** 持续性HCV感染患者CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞表达增加,特异性抑制Th1细胞反应。

**关键词:** HCV; CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞; CD4<sup>+</sup>T细胞; Foxp3

杨江华, 张永祥, 苏川, 孙南雄. 慢性丙型肝炎患者CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞表达增加. *世界华人消化杂志* 2005;13(18):2201-2204  
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/2201.asp>

### 0 引言

HCV感染的显著临床特点是, 80%以上的急性患者可

转变为慢性持续性感染, 而慢性HCV感染又是肝硬化和原发性肝细胞癌的重要病因<sup>[1]</sup>. 研究急性自限性HCV感染的患者和猩猩表明有效控制HCV感染需要一个持久、广泛的CD4<sup>+</sup>Th1细胞反应. 而慢性丙型肝炎患者表现为HCV特异性CD4<sup>+</sup>Th细胞数量减少, 对抗原刺激的增生能力显著降低, 主要分泌Th2型细胞因子(IL-4、IL-6和IL-10), 而分泌Th1型细胞因子能力减弱(IFN- $\gamma$ )<sup>[1-5]</sup>. 近来研究显示, 在多种病原体的慢性感染中, 如疟原虫<sup>[6]</sup>、利什曼原虫<sup>[7]</sup>和HIV<sup>[8]</sup>等, 能够诱导宿主上调表达一群具有免疫抑制功能的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg(CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>regulatory T cell)细胞, 分泌的IL-10和TGF- $\beta$ 能够抑制抗原特异性CD4<sup>+</sup>T细胞反应, 下调Th1的功能. 而去除CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞能够显著降低这些病原体的感染率. 现就CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞在慢性丙型肝炎患者中的数量, 功能以及发病中的意义进行了探讨.

## 1 材料和方法

1.1 材料 慢性丙型肝炎患者18例, 男11例, 女7例, 年龄14-60(平均48)岁. 诊断符合2004年丙型肝炎防治指南的诊断标准. 所有病例6 mo内均未使用免疫调节药物和抗病毒治疗, 不合并HBV感染以及其它病毒性肝炎. 正常对照15例, 男10例, 女5例.

细胞培养在RPMI1640中, 含有2.05 mmol/L谷氨酰胺; 10<sup>5</sup> U/L青霉素和链霉素(Hyclone), 以及100 mL/L人AB血清, 于96孔U型培养板(Costar). 流式抗体有PE-Cy5标记的CD4, PE标记的CD25, FITC标记的CD45RO(BD PharMingen), PE标记的IFN- $\gamma$ 抗体和IL-4抗体(eBioscience), 同型对照抗体为PE标记的大鼠IgG1和小鼠IgG1(eBioscience). 以及红细胞裂解液与抗CD3抗体(BD PharMingen). 阳性分选CD8<sup>+</sup>T细胞磁珠(Dynal), 分选CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞的免疫磁珠(Miltenyi). RNA纯化试剂盒与RT-PCR试剂盒(QIAGEN).

### 1.2 方法

1.2.1 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞计数 取全血100  $\mu$ L, 分别加入PE-Cy5标记的CD4, PE标记的CD25, FITC标记的CD45RO各10  $\mu$ L于标本管中, 室温孵育20-30 min. 再加红细胞裂解液, 并振荡混匀. 洗涤一次, 重新悬浮细胞, 上流式细胞仪检测. 对于已分离的细胞用直接抗体标记后, 即可检测.

1.2.2 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞的分离与培养 采患者或正常人静脉血, 用密度梯度离心法分离单个核细胞. 然后用Dynabeads阳性分选去除单个核细胞中的CD8<sup>+</sup>T细胞; 再使用Miltenyi磁珠阴性分选CD4<sup>+</sup>T细胞. 将这种去除T细胞(CD8<sup>+</sup>T和CD4<sup>+</sup>T细胞)的剩余细胞, 用Co-60照射(30 Gy), 作为APC. 对总CD4<sup>+</sup>T细胞再通过抗CD25的磁珠阳性分选, 将CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞与

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞分开.

分别取CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞, 或两者按1:1混合, 以及APC各1 $\times$ 10<sup>5</sup>个细胞, 共同培养, 同时加入10 mg/L抗HCV抗原肽(包括C区、NS3区、NS4a区和NS5a区)共同培养5 d, 在培养结束前16 h加入<sup>3</sup>H-TdR, 收集细胞, 在液闪计数仪上测每分钟脉冲数.

1.2.3 细胞内因子检测 检测细胞内因子IL-4和IFN- $\gamma$ , 取CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞, 或与CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞相混合, 加入20 mg/L HCV抗原合成肽, 37 $^{\circ}$ C, 50 mL/L CO<sub>2</sub>培养6 h. 培养开始1 h后, 每孔加入0.7 mg/L BFA. 收集培养细胞, 经Fix&Perm固定通透细胞后, 加入PE标记的IFN- $\gamma$ 抗体和IL-4抗体, 阴性对照管加PE标记的大鼠IgG1和小鼠IgG1同型抗体对照, 4 $^{\circ}$ C避光放置30 min; 洗涤后, 重悬于500  $\mu$ L PBS中, 经FACSCalibur流式细胞仪检测.

1.2.4 Foxp3的mRNA检测 采用RT-PCR检测Foxp3的mRNA的表达. 取1 $\times$ 10<sup>5</sup>个细胞, 用柱分离法抽提RNA, 用DEPC处理过的水将RNA稀释为1 mg/L. FoxP3引物为: forward, 5'-TCACCTACGCCACGCTCAT, reverse, 5'-ACTCAGGTTGTGGCGGATGG. 反应条件: 逆转录50 $^{\circ}$ C 30 min; 95 $^{\circ}$ C 15 min灭活逆转录酶; PCR循环条件为, 95 $^{\circ}$ C 60 s, 53 $^{\circ}$ C 60 s, 72 $^{\circ}$ C 60 s; 72 $^{\circ}$ C 10 min终延伸. 同时设 $\beta$ -actin作为内参照.

统计学处理 采用SPSS 10.1软件通过Mann-Whitney *U*检验分析比较丙型肝炎患者和正常对照CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的数量差异, 其中两组之间的关系采用非参数Speaman相关性分析.

## 2 结果

2.1 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的数量和功能 丙型肝炎患者外周血中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>T细胞约占CD4<sup>+</sup>T细胞14.1 $\pm$ 1.6%, 明显高于正常人外周血中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>T细胞约占CD4<sup>+</sup>T细胞的(5.3 $\pm$ 0.8)% ( $P = 0.004 < 0.01$ ) (图1A). 同时慢性丙型肝炎患者CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞, 后者的数量与HCV RNA滴度之间呈正相关性( $R = 0.575$ ,  $P = 0.016 < 0.05$ ) (图1B). CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞表达一种转录因子Foxp3, 并可作为其一种较为特异性的分子标记<sup>[9]</sup>. 我们的研究证实, 用RT-PCR扩增Foxp3 mRNA后, 当循环次数降到30时, 仅见CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞表达Foxp3, 并且丙肝患者较正常对照表达增高(图1C).

2.2 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞抑制CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞的增殖 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞具有免疫低反应性, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞不发生增殖, 增殖能力显著低于CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞. 经HCV抗原活化后, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞对CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞的增殖功能具有显著的抑制效应 ( $P = 0.002 < 0.01$ ) (图2).

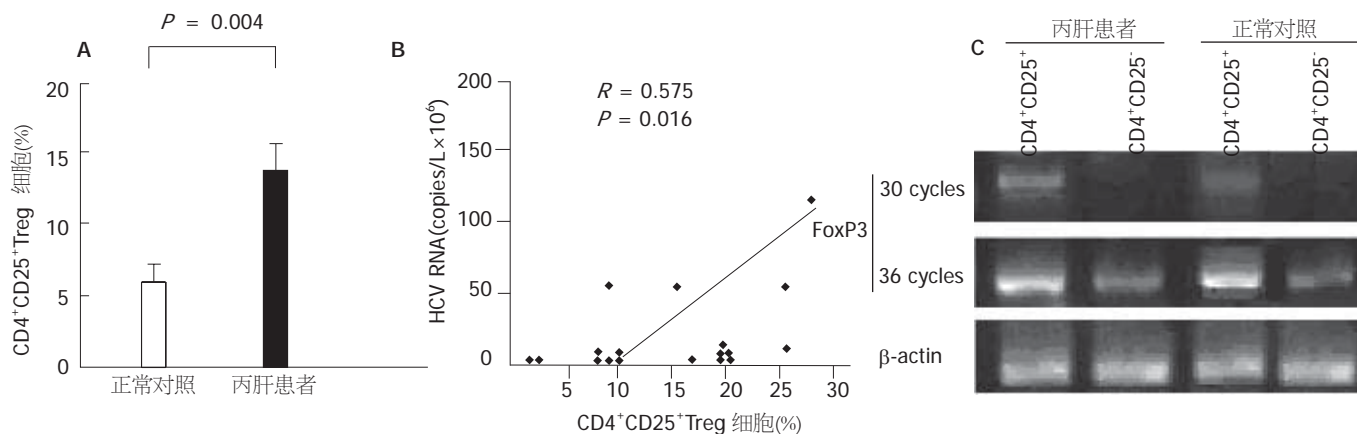


图1 慢性丙型肝炎患者外周血中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>T细胞占CD4<sup>+</sup>T细胞的比例. A: 与正常对照相比慢性丙型肝炎患者CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>CD45RO<sup>+</sup>T细胞占CD4<sup>+</sup>T细胞的比例增加( $P = 0.004$ ); B: 慢性丙型肝炎患者HCV RNA滴度与CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞之间的相关性分析( $R = 0.575$ ,  $P = 0.016$ ); C: RT-PCR检测Foxp3的mRNA的表达.

2.3 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞抑制CD4<sup>+</sup>T细胞合成细胞因子  
取CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞或CD4<sup>+</sup>CD25<sup>-</sup>T细胞与CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞相混合, 用HCV抗原刺激培养. 在加入CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞的一组合成IFN- $\gamma$ 的CD4<sup>+</sup>T细胞显著减少, 而对IL-4数量影响并不明显(图3). 由此提示, 在持续性HCV感染过程中CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞主要抑制HCV特异性Th1细胞反应.

### 3 讨论

在持续性HCV感染患者外周血中一群具有免疫抑制功能的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞表达上调, 不仅数量增加, 而且功能也较正常人CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞增强, 并显著抑制CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖, 以及HCV特异性CD4<sup>+</sup>T细胞合成IFN- $\gamma$ . 由此提示, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞介导的免疫抑制作用在持续性HCV感染过程中起着重要作用. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞是一类具有免疫抑制功能抑制性T细胞群, 特征性地表达IL-2的 $\alpha$ 链(CD25). CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞主要分泌细胞因子IL-10和TGF- $\beta$ , 活化后的细胞表面分子CTLA-4表达增加, 表达转录因子Foxp3<sup>[10]</sup>. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞具有免疫低反应性,

多表现为记忆细胞表型(CD45RO<sup>+</sup>). 经多克隆激活剂或特异性抗原激活后, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞能够通过依赖细胞接触的方式抑制CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞的增生、分化, 以及分泌细胞因子<sup>[11]</sup>. 已有研究表明, 在多种病原体的慢性感染中, 都能够诱导宿主上调表达CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞, 抑制抗原特异性CD4<sup>+</sup>T细胞反应, 而去除CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞能够显著降低这些病原体的感染率<sup>[6-8]</sup>. Sugimoto *et al*<sup>[12]</sup>研究指出, 在慢性HCV感染患者体内CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的数量明显高于恢复患者(7.3% *vs* 2.5%,  $P = 0.002$ ), 而正常对照则为3.6%( $P = 0.017$ ). 体外研究显示, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞能够抑制HCV特异性CD8<sup>+</sup>T细胞的增殖. 以及最近研究报道, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞能够调节持续性HCV中的细胞免疫反应<sup>[13]</sup>. 多项研究表明, HCV特异性Th1细胞在控制急性HCV感染中起着重要作用, 慢性患者多表现为HCV特异性CD4<sup>+</sup>T细胞数量减少、增殖功能减弱, 以及分泌Th1型细胞因子(IFN- $\gamma$ )功能降低等<sup>[3, 14-17]</sup>, 但尚未阐明其发生机制. 本组研究数据表明, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞不仅抑制慢性丙型肝炎患者

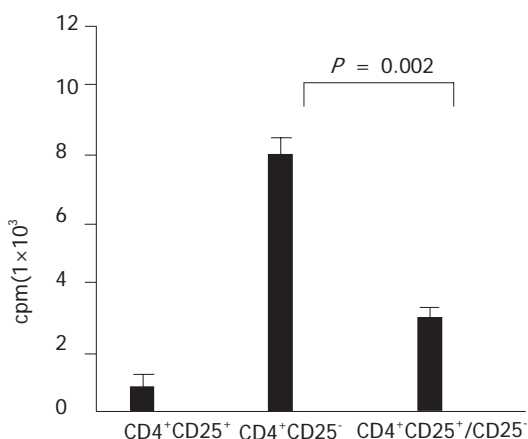


图2 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞抑制HCV特异性CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞的增殖( $P = 0.002$ ).

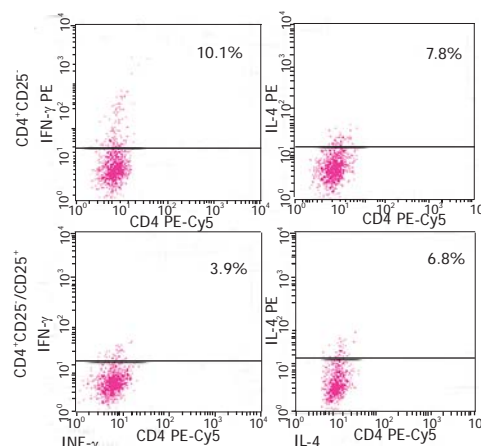


图3 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞抑制HCV特异性CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T细胞合成细胞因子.



CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖, 并显著抑制HCV特异性Th1细胞反应(IFN- $\gamma$ ), 对Th2细胞反应(IL-4)的抑制作用不明显. 或许这将有助于解释为什么在慢性HCV感染以及其它慢性病原体感染中存在Th细胞极化异常现象.

当机体感染病原体时, 多种微生物的分子及其代谢产物都能够作用静止APC上的TLR(Toll-like receptors), 如作用后的APC不能分化成熟, 则诱导初始CD4<sup>+</sup>T细胞表达转录因子Foxp3, 分化为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞, 从而抑制效应T细胞的应答<sup>[18]</sup>. 本研究也表明, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞高表达Foxp3, 可作为CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞一种特异性标记. 总之, 持续性HCV感染患者外周血中一群具有免疫抑制功能的CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞数量增加, 显著抑制CD4<sup>+</sup>T细胞的增殖, 以及HCV特异性Th1细胞反应. 因而提示, CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞在丙型肝炎慢性化过程中起着免疫调节作用. 这为进一步研究在持续性HCV感染中如何调控CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Treg细胞的功能奠定了基础.

#### 4 参考文献

- Frank C, Mohamed MK, Strickland GT, Lavanchy D, Arthur RR, Magder LS, El Khoby T, Abdel-Wahab Y, Aly Ohn ES, Anwar W, Sallam I. The role of parenteral antischistosomal therapy in the spread of hepatitis C virus in Egypt. *Lancet* 2000;355:887-891
- Chang KM. Immunopathogenesis of hepatitis C virus infection. *Clin Liver Dis* 2003;7:89-105
- Gerlach JT, Diepolder HM, Jung MC, Gruener NH, Schraut WW, Zachoval R, Hoffmann R, Schirren CA, Santantonio T, Pape GR. Recurrence of hepatitis C virus after loss of virus-specific CD4(+) T-cell response in acute hepatitis C. *Gastroenterology* 1999;117:933-941
- Tsai SL, Liaw YF, Chen MH, Huang CY, Kuo GC. Detection of type 2-like T-helper cells in hepatitis C virus infection: implications for hepatitis C virus chronicity. *Hepatology* 1997;25:449-458
- MacDonald AJ, Duffy M, Brady MT, McKiernan S, Hall W, Hegarty J, Curry M, Mills KH. CD4 T helper type 1 and regulatory T cells induced against the same epitopes on the core protein in hepatitis C virus-infected persons. *J Infect Dis* 2002;185:720-727
- Hisaeda H, Maekawa Y, Iwakawa D, Okada H, Himeno K, Kishihara K, Tsukumo S, Yasutomo K. Escape of malaria parasites from host immunity requires CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat Med* 2004;10:29-30
- Mendez S, Reckling SK, Piccirillo CA, Sacks D, Belkaid Y. Role for CD4(+) CD25(+) regulatory T cells in reactivation of persistent leishmaniasis and control of concomitant immunity. *J Exp Med* 2004;200:201-210
- Aandahl EM, Michaelsson J, Moretto WJ, Hecht FM, Nixon DF. Human CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> regulatory T cells control T-cell responses to human immunodeficiency virus and cytomegalovirus antigens. *J Virol* 2004;78:2454-2459
- Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. Foxp3 programs the development and function of CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> regulatory T cells. *Nat Immunol* 2003;4:330-336
- Baecher-Allan C, Brown JA, Freeman GJ, Hafler DA. CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> high regulatory cells in human peripheral blood. *J Immunol* 2001;167:1245-1253
- Asseman C, von Herrath M. About CD4pos CD25pos regulatory cells. *Autoimmun Rev* 2002;1:190-197
- Sugimoto K, Ikeda F, Stadanlick J, Nunes FA, Alter HJ, Chang KM. Suppression of HCV-specific T cells without differential hierarchy demonstrated ex vivo in persistent HCV infection. *Hepatology* 2003;38:1437-1448
- Cabrera R, Tu Z, Xu Y, Firpi RJ, Rosen HR, Liu C, Nelson DR. An immunomodulatory role for CD4(+)CD25(+) regulatory T lymphocytes in hepatitis C virus infection. *Hepatology* 2004;40:1062-1071
- Ulsenheimer A, Gerlach JT, Gruener NH, Jung MC, Schirren CA, Schraut W, Zachoval R, Pape GR, Diepolder HM. Detection of functionally altered hepatitis C virus-specific CD4 T cells in acute and chronic hepatitis C. *Hepatology* 2003;37:1189-1198
- Rosen HR, Miner C, Sasaki AW, Lewinsohn DM, Conrad AJ, Bakke A, Bouwer HG, Hinrichs DJ. Frequencies of HCV-specific effector CD4<sup>+</sup> T cells by flow cytometry: correlation with clinical disease stages. *Hepatology* 2002;35:190-198
- Kantzanou M, Lucas M, Barnes E, Komatsu H, Dusheiko G, Ward S, Harcourt G, Klenerman P. Viral escape and T cell exhaustion in hepatitis C virus infection analysed using Class I peptide tetramers. *Immunol Lett* 2003;85:165-171
- Nascimbeni M, Mizukoshi E, Bosmann M, Major ME, Mihalik K, Rice CM, Feinstone SM, Rehermann B. Kinetics of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> memory T-cell responses during hepatitis C virus rechallenge of previously recovered chimpanzees. *J Virol* 2003;77:4781-4793
- Hori S, Nomura T, Sakaguchi S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3. *Science* 2003;299:1057-1061

电编 李琪 编辑 潘伯荣 审读 张海宁