

## 日本血吸虫感染小鼠肠系膜淋巴结 Th17 细胞的免疫应答

罗雪平<sup>1</sup>, 陈殿慧<sup>1</sup>, 谢红艳<sup>2</sup>, 高志岩<sup>1</sup>, 方会龙<sup>3</sup>, 黄俊<sup>1\*</sup>

**【摘要】** 目的 观察 C57BL/6 小鼠感染日本血吸虫后肠系膜淋巴结 Th17 细胞的免疫应答。方法 20 只 C57BL/6 小鼠随机分为感染组和对照组, 每组 10 只, 感染组小鼠经腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴, 每鼠 (40±5) 条。感染后 5~6 周分离小鼠肠系膜淋巴结的淋巴细胞, 分别用抗小鼠 CD3 单克隆抗体 (anti-CD3, 1 μg/ml) 和抗小鼠 CD28 单克隆抗体 (anti-CD28, 1 μg/ml) 刺激, 培养 4 h 后收集细胞, RT-PCR 检测小鼠肠系膜淋巴结淋巴细胞中白细胞介素 17 (IL-17) 和维甲酸相关孤独受体 (ROR-γt) mRNA 的转录水平; 培养 72 h 后, ELISA 检测细胞培养上清液 IL-17 和 γ 干扰素 (IFN-γ) 的含量。同时用佛波酯 (PMA, 10 ng/ml) 和离子霉素 (1 μg/ml) 刺激淋巴细胞 5 h 后, 胞内细胞因子染色, 流式细胞术检测 Th17 细胞的含量和其他细胞因子的产生。结果 ELISA 检测结果显示, 感染小鼠肠系膜淋巴结培养物上清液中 IFN-γ [(214.3±62.6) pg/ml] 和 IL-17 [(176.8±62.1) pg/ml] 的含量明显高于健康小鼠 [(46.7±13.9) 和 0 pg/ml] ( $P < 0.05$ )。RT-PCR 检测结果显示, IL-17 和 ROR-γt mRNA 转录水平也明显高于健康小鼠。感染小鼠肠系膜淋巴结 CD4<sup>+</sup>T 细胞中, Th17 细胞的比例为 (0.55±0.03)%, 明显高于健康小鼠 [(0.16±0.01)%] ( $P < 0.05$ )。在 CD4<sup>+</sup>T 细胞中, IL-17<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup> 细胞占 0.06%, IL-17<sup>+</sup>IFN-γ<sup>+</sup> 和 IL-17<sup>+</sup>IL-5<sup>+</sup> 细胞各占 0.02%, IL-17<sup>+</sup>IL-9<sup>+</sup> 细胞占 0.01%, 未检测到 IL-17<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup> 和 IL-17<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> 细胞。结论 日本血吸虫感染 C57BL/6 小鼠的肠系膜淋巴结能诱导 Th17 细胞产生。Th17 细胞能分泌 IL-4, 及少量的 IFN-γ、IL-5 和 IL-9, 不分泌 IL-10, 也不表达 Foxp3。

**【关键词】** 日本血吸虫; C57BL/6 小鼠; 肠系膜淋巴结; Th17; 细胞因子

中图分类号: R392.1 文献标识码: A

## Immune Response of Th17 Cells in Mesenteric Lymph Node of Mice Infected by *Schistosoma japonicum*

LUO Xue-ping<sup>1</sup>, CHEN Dian-hui<sup>1</sup>, XIE Hong-yan<sup>2</sup>, GAO Zhi-yan<sup>1</sup>  
FANG Hui-long<sup>3</sup>, HUANG Jun<sup>1\*</sup>

(1 Department of Pathogenic Biology and Immunology, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510182, China; 2 Department of Functional Experiment Centre, Guangzhou Medical College, Guangzhou 510182, China; 3 Department of Parasitology, Xiangnan College, Chenzhou 423000, China)

**【Abstract】** **Objective** To observe the immune response of Th17 cells in mesenteric lymph node (MLN) of C57BL/6 mice infected by *Schistosoma japonicum*. **Methods** Twenty C57BL/6 mice were randomly divided into infected group and control group each with ten mice. The mice in infected group were infected each with 40±5 *S. japonicum* cercariae. Five to six weeks later, MLN lymphocytes were separated and stimulated for 4 h by anti-CD3 (1 μg/ml) and anti-CD28 (1 μg/ml) before examination of IL-17 and retinoic acid receptor-related orphan receptor γt (ROR-γt) mRNA by reverse transcription PCR. The level of IL-17 and IFN-γ was detected by ELISA after culturing with supernatant for 72 h. MLN lymphocytes were stimulated for 5 h by 10 ng/ml phorbol myristoyl acetate (PMA) and 1 μg/ml ionomycin. The intracellular cytokines were stained and the content of Th17 and other cytokines was examined by flow cytometry. **Results** The level of IFN-γ [(214.3±62.6) pg/ml] and IL-17 [(176.8±62.1) pg/ml] in the supernatant of cultured MLN cells from the infected mice was significantly higher than that of normal mice [(46.7±13.9) and 0 pg/ml] ( $P < 0.05$ ). The expression level of IL-17 and ROR-γt mRNA was also considerably higher than that of normal mice. IL-17<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>, IL-17<sup>+</sup>

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 30901353); 湖南省自然科学基金 (No. 11JJ3103); 广州市科技新星项目 (No. 2011J22007)

作者单位: 1 广州医学院基础医学院病原学与免疫学教研室, 广州 510182; 2 广州医学院机能学实验中心, 广州 510182;

3 湘南学院寄生虫学教研室, 郴州 423000

\* 通讯作者, E-mail: hj165@sina.com

IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>, IL-17<sup>+</sup>IL-5<sup>+</sup> and IL-17<sup>+</sup>IL-9<sup>+</sup> cells accounted for 0.06%, 0.02%, 0.02%, and 0.01% of the mesenteric lymph node CD4<sup>+</sup> T cells of the infected mice, respectively. However, IL-17<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup> and IL-17<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> cells were undetected.

**Conclusion** The MLN of *S. japonicum*-infected C57BL/6 mice can induce the production of Th17 cells, and these cells can secrete IL-4, less IFN- $\gamma$ , IL-5 and IL-9, but not IL-10, and can not express Foxp3 in the infected mice.

**【Key words】** *Schistosoma japonicum*; C57BL/6 mouse; Mesenteric lymph node; Th17; Cytokine

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 30901353), Natural Science Fund of Hunan Province (No. 11JJ3103) and the Science and Technology Planning Project of Guangzhou City (No. 2011J22007)

\* Corresponding author, E-mail: hj165@sina.com

在机体的适应性免疫应答中, CD4<sup>+</sup> T 细胞作为效应 T 细胞的重要成分, 参与免疫应答的各个阶段, 并在免疫调节中发挥重要作用。当 CD4<sup>+</sup> T 细胞在外周淋巴组织中受抗原刺激后, 主要分化为 Th1 和 Th2 两个细胞亚群。目前, 已公认 Th17 细胞是 CD4<sup>+</sup> T 细胞第 3 种独立的 Th 细胞亚群<sup>[1, 2]</sup>, 在自身免疫性疾病、肿瘤、炎症反应和移植排斥的发生和发展中起到重要作用。Th17 细胞的主要效应因子是白细胞介素 17 (IL-17)。IL-17 是一种致炎细胞因子, 可促进 T 细胞的激活和刺激上皮细胞、内皮细胞和成纤维细胞产生多种细胞因子, 如 IL-6、粒细胞-巨噬细胞刺激因子 (GM-CSF) 和细胞黏附分子, 从而导致炎症的产生<sup>[3]</sup>。

日本血吸虫病为典型的慢性感染性疾病, 感染诱导 Th1、Th2 和 Treg 细胞的产生, 同时有研究显示, Th17 细胞可能通过分泌 IL-17 在血吸虫感染宿主引起免疫病理反应中起重要作用<sup>[4]</sup>。感染日本血吸虫宿主主要是引起肝脏与结肠的病理改变<sup>[5]</sup>。肠系膜淋巴结是肠道的引流淋巴结, 也是免疫应答的主要场所, 肠系膜淋巴结 Th17 的产生可能对宿主免疫应答的调节发挥着重要作用, 因此本研究主要观察日本血吸虫感染 C57BL/6 小鼠肠系膜淋巴结 Th17 细胞的免疫应答。

## 材料与方 法

### 1 材 料

1.1 实验动物 6~8 周龄雌性 SPF 级 C57BL/6 小鼠 20 只, 购自广东省医学实验动物中心; 阳性钉螺购自江西省寄生虫病防治研究所, 常规逸蚴获得尾蚴, 用于小鼠感染。

1.2 主要试剂和仪器 抗小鼠 CD3mAb、抗小鼠 CD28mAb、离子霉素 (ionomycin)、佛波酯 (PMA) 和布雷菲德菌素 (brefeldin A, BFA) 购自美国 Sigma 公司, 抗小鼠 IL-17 ELISA 检测试剂盒购自美国 R&D 公司, 小鼠  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ ) ELISA 试剂盒购自美国 BD 公司, Trizol 购自美国 Invitrogen 公司, RT-PCR 试剂盒购自日本 TaKaRa 公司, 流式细胞术检测用的小鼠荧光标记 CD4-Percep、CD8-FITC、IFN- $\gamma$ -APC、IL-4-APC、IL-5-APC、IL-9-APC、IL-10-APC、Foxp3-

APC 和 IL-17-PE 等单克隆抗体购自美国 BD 公司, RPMI 1640 培养液和 Hank's 液购自美国 Gibco 公司, 胎牛血清购自美国 Hugen 公司。PCR 热循环仪为美国 Bio-Rad 公司产品, FACS Calibur 流式细胞仪为美国 BD 公司产品, Elx800 酶标仪为美国 BioTek 产品。

### 2 方 法

2.1 动物模型的建立 将 20 只 6~8 周龄雌性 SPF 级 C57BL/6 小鼠随机分为感染组和对照组, 每组 10 只。感染组小鼠经腹部皮肤感染日本血吸虫尾蚴 (40 $\pm$ 5) 条。

2.2 标本采集与单个细胞悬液的制备 感染组小鼠感染日本血吸虫后第 5~6 周, 眼球取血, 脱颈处死, 无菌获取肠系膜淋巴结, 置于 200 目筛网中央, 加 1 ml Hank's 液, 用注射器针芯研磨; 用 15 ml 离心管收集过滤的细胞悬液, 4 $^{\circ}$ C, 600 $\times$ g 离心 8 min, 弃上清; 10 ml Hank's 液重悬细胞, 4 $^{\circ}$ C 600 $\times$ g 离心 5 min; Hank's 液洗涤细胞 2 次后, 用 2 ml RPMI 1640 完全培养液重悬细胞, 0.4% 台盼蓝染色, 计数。

2.3 ELISA 检测 IL-17 和 IFN- $\gamma$  水平 调整细胞密度为 2 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml, 用 anti-CD3 (1  $\mu$ g/ml) 和 anti-CD28 (1  $\mu$ g/ml) 刺激, 混匀后加入 96 孔平底细胞培养板, 每孔 200  $\mu$ l, 设 3 个复孔。培养板置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养 72 h。收集细胞培养上清液于 -80 $^{\circ}$ C 冻存, 用于检测 IL-17 和 IFN- $\gamma$  水平。具体按照抗小鼠 IL-17 和抗小鼠 IFN- $\gamma$  ELISA 检测试剂盒说明书操作。酶标仪测定吸光度 (A<sub>450</sub> 值)。

2.4 RT-PCR 检测 调整细胞密度为 5 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml, 在细胞悬液中加或未加 anti-CD3 (1  $\mu$ g/ml) 和 anti-CD28 (1  $\mu$ g/ml) 刺激, 混匀后置于 37 $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub> 细胞培养箱中培养, 4 h 后收集细胞加入 Trizol RNA 保存液, 于 -80 $^{\circ}$ C 保存。使用 Trizol 试剂提取总 RNA, 逆转录为互补脱氧核糖核酸 (cDNA), 以此为模板进行 PCR 扩增。引物由英潍捷基 (上海) 贸易有限公司合成。将  $\beta$  肌动蛋白 ( $\beta$ -actin) 作为内参。扩增  $\beta$ -actin 的上、下游引物序列分别为 5'-CCGTAAAGACCTCTATGCCAAC-3' 和 5'-GGGTGTTAAACGCAGCTCAGTA-3', 扩增片段为 293 bp。反应体系: 10 $\times$ PCR 缓冲液 2.5  $\mu$ l,

10 mmol/L 脱氧核苷三磷酸 (dNTPs) 1  $\mu$ l, 10  $\mu$ mol/L  $\beta$ -actin 混合引物 0.5  $\mu$ l, Ex *Taq* 酶 (5 U/ $\mu$ l) 0.25  $\mu$ l, cDNA 2  $\mu$ l, RNase Free dH<sub>2</sub>O 18.75  $\mu$ l。反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 3min; 95 $^{\circ}$ C 45s, 50 $^{\circ}$ C 45s, 72 $^{\circ}$ C 1min, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。扩增 IL-17 的上下游引物序列分别为 5'-TCTCATCCAGCAAGAGATCC-3' 和 5'-AGTTTGGGACCCCTTTACAC-3', 扩增片段为 300bp。反应体系: 10 $\times$ PCR 缓冲液 2.5  $\mu$ l, 10 mmol/L dNTP 1  $\mu$ l, 10  $\mu$ mol/L IL-17 混合引物 0.5  $\mu$ l, Ex *Taq* 酶 (5 U/ $\mu$ l) 0.25  $\mu$ l, cDNA 2  $\mu$ l, RNase Free dH<sub>2</sub>O 18.75  $\mu$ l。反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 3 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 50 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共 30 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。扩增维甲酸相关孤独受体 (ROR- $\gamma$ t) 的上下游引物序列分别为 5'-CATCTCTGCAAGACTCATCG-3' 和 5'-CAGGGATTCAACATCAGTG-3', 扩增片段为 183 bp。反应体系: 10 $\times$ PCR 缓冲液 2.5  $\mu$ l, 10 mmol/L dNTP 1  $\mu$ l, 10  $\mu$ mol/L 的 ROR- $\gamma$ t 混合引物 0.5  $\mu$ l, Ex *Taq* (5 U/ $\mu$ l) 0.25  $\mu$ l, cDNA 2  $\mu$ l, RNase Free dH<sub>2</sub>O 18.75  $\mu$ l。反应条件为: 95 $^{\circ}$ C 3 min; 95 $^{\circ}$ C 45 s, 58 $^{\circ}$ C 45 s, 72 $^{\circ}$ C 1 min, 共 34 个循环; 72 $^{\circ}$ C 10 min。1% 琼脂糖凝胶电泳。

2.5 细胞内细胞因子染色检测 IL-17、IFN- $\gamma$ 、IL-4、IL-5、IL-9、IL-10 和 Foxp3 水平 将健康小鼠和感染小鼠淋巴细胞分别调整细胞数为 2 $\times$ 10<sup>6</sup>/ml, 加 PMA (10 ng/ml) 和离子霉素 (1  $\mu$ g/ml) 刺激, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 培养, 1 h 后加 1  $\mu$ l/ml BFA 继续培养 4 h。PBS 洗涤 2 次, 加入 4% 多聚甲醛固定 8 min。PBS 洗涤 2 次, 加 PBS (含牛血清白蛋白、NaN<sub>3</sub> 和皂苷) 重悬细胞, 4 $^{\circ}$ C 静置过夜。将细胞分装至流式管中, 每管约 1 $\times$ 10<sup>6</sup> 个细胞, 加入相应的荧光标记抗体, 4 $^{\circ}$ C 避光静置 30 min。PBS 洗涤 2 次后, 300  $\mu$ l PBS 重悬细胞, 用流式细胞仪检测分析。

### 3 统计学分析

用 SPSS10.0 统计软件进行统计分析, 两组间比较用 *t* 检验。

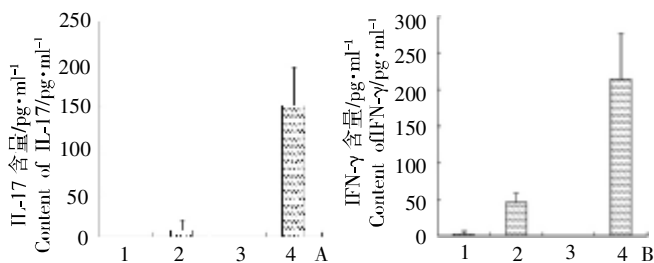
## 结 果

### 1 感染小鼠肠系膜淋巴结细胞中 IL-17 和 IFN- $\gamma$ 的含量

ELISA 检测结果显示, 感染小鼠淋巴结细胞经 anti-CD3 和 anti-CD28 共同刺激 72h, 培养物上清液中 IFN- $\gamma$  (214.3 $\pm$ 62.6 pg/ml) 和 IL-17 (176.8 $\pm$ 62.1 pg/ml) 的含量明显高于健康小鼠 (46.7 $\pm$ 13.9 和 0 pg/ml) ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

### 2 感染小鼠肠系膜淋巴结 IL-17 和 ROR- $\gamma$ t 的转录水平

RT-PCR 检测结果显示, 琼脂糖凝胶电泳可见长度为 293 bp 的  $\beta$ -actin mRNA 逆转录后 cDNA 扩增条带,



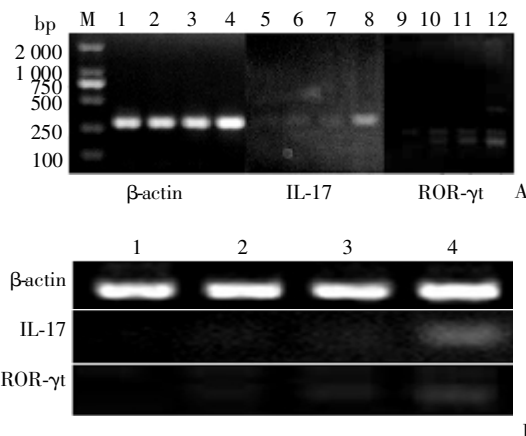
A: IL-17 的含量; B: IFN- $\gamma$  的含量。1: 未经刺激的健康小鼠肠系膜淋巴结; 2: 经 anti-CD3 和 anti-CD28 刺激的健康小鼠肠系膜淋巴结; 3: 未经刺激的感染小鼠肠系膜淋巴结; 4: 经 anti-CD3 和 anti-CD28 刺激的感染小鼠肠系膜淋巴结。

A: Content of IL-17; B: Content of IFN- $\gamma$ . 1: Unstimulated normal mice; 2: Normal mice stimulated with anti-CD3 and anti-CD28; 3: Unstimulated infected mice; 4: Infected mice stimulated with anti-CD3 and anti-CD28.

图 1 培养上清液中 IL-17 和 IFN- $\gamma$  的含量

Fig. 1 Content of IL-17 and IFN- $\gamma$  in the culture supernatant

长度为 300 bp 的 IL-17 和 183 bp 的 ROR- $\gamma$ t 特异性扩增条带 (图 2A)。感染小鼠淋巴结细胞经 anti-CD3 和 anti-CD28 共同刺激后, 其 RNA 中 IL-17 和 ROR- $\gamma$ t 特异性条带明显亮于对照组 (图 2B)。



A: 经 anti-CD3 和 anti-CD28 刺激后, 小鼠肠系膜淋巴结 IL-17 和 ROR- $\gamma$ t 的 PCR 产物; B: 经 anti-CD3 和 anti-CD28 刺激后, 小鼠肠系膜淋巴结 IL-17 和 ROR- $\gamma$ t mRNA 的转录水平。M: DNA 标志物 (DL2000); 1, 5, 9: 未经刺激的健康小鼠肠系膜淋巴结; 2, 6, 10: 经刺激的健康小鼠肠系膜淋巴结; 3, 7, 11: 未经刺激的感染小鼠肠系膜淋巴结; 4, 8, 12: 经刺激的感染小鼠肠系膜淋巴结。A: PCR products of IL-17 and ROR- $\gamma$ t in mesenteric lymph node of mice stimulated with anti-CD3 and anti-CD28; B: Transcription levels of IL-17 and ROR- $\gamma$ t mRNA in mesenteric lymph node of mice stimulated with anti-CD3 and anti-CD28. M: DNA marker (DL2000); 1, 5, 9: Unstimulated normal mice; 2, 6, 10: Normal mice stimulated with anti-CD3 and anti-CD28; 3, 7, 11: Unstimulated infected mice; 4, 8, 12: Infected mice stimulated with anti-CD3 and anti-CD28.

图 2 经 Anti-CD3 和 anti-CD28 刺激后, 小鼠肠系膜淋巴结 IL-17 和 ROR- $\gamma$ t 的 PCR 产物以及 IL-17 和 ROR- $\gamma$ t mRNA 的转录水平  
Fig. 2 PCR products of IL-17 and ROR- $\gamma$ t, and transcription level of IL-17 and ROR- $\gamma$ t mRNA in MLN of mice stimulated with anti-CD3 and anti-CD28

### 3 感染小鼠肠系膜淋巴结细胞中 Th17 细胞的含量

感染小鼠肠系膜淋巴结 CD4<sup>+</sup>T 细胞中

Th17 细胞的比例 [(0.55±0.03) %] 明显高于健康小鼠 [(0.16±0.01)%] ( $P<0.05$ )。

#### 4 Th17 细胞与其他 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的关系

在 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 IL-17<sup>+</sup>IL-4<sup>+</sup>细胞占 0.06%，即 10% Th17 细胞能分泌 IL-4。此外，IL-17<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>+</sup>和 IL-17<sup>+</sup>IL-5<sup>+</sup>细胞占 0.02%，IL-17<sup>+</sup>IL-9<sup>+</sup>细胞占 0.01%。未检测到 IL-17<sup>+</sup>IL-10<sup>+</sup>和 IL-17<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>细胞 (图 3)。

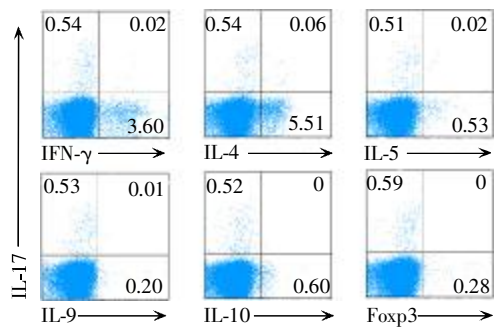


图 3 Th17 细胞与其他 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群的关系

Fig. 3 Relation between Th17 and other CD4<sup>+</sup>T cell subpopulations

### 讨 论

血吸虫病是当今世界仅次于疟疾的人类寄生虫病，流行于 76 个国家和地区，目前估计有 6 亿人口受到威胁，感染人口约 1.947 亿<sup>[6]</sup>。日本血吸虫病是日本血吸虫寄生在门静脉系统所引起的疾病，主要病变是由虫卵引起的肉芽肿，病变在肝和结肠中最为显著。一般认为，日本血吸虫感染宿主早期主要以 Th1 型细胞免疫为主，分泌大量的 IFN- $\gamma$  等细胞因子，产生严重的免疫炎症反应。随着成虫产卵，日本血吸虫逐渐出现免疫逃避，Th1 型细胞免疫向 Th2 型体液免疫偏移，小鼠出现免疫下调，感染呈慢性化表现，炎症反应强度下降，导致虫卵肉芽肿的形成和肝肠组织纤维化病变<sup>[7]</sup>。已有研究发现，血吸虫感染后能诱导 Th17 细胞的产生，并参与肝组织肉芽肿形成的后期免疫病理反应，提示 Th17 细胞可能在血吸虫虫卵引起的免疫病理过程中发挥着重要的作用<sup>[8]</sup>。

本研究观察到，感染小鼠肠系膜淋巴结淋巴细胞培养上清液中 IFN- $\gamma$  含量明显高于健康小鼠的，这与文献报道的在血吸虫感染早期，主要以分泌 IFN- $\gamma$  等细胞因子的 Th1 型细胞免疫为主一致<sup>[9]</sup>。同时，感染小鼠的 IL-17 的含量明显高于健康小鼠，IL-17 细胞因子的 mRNA 和控制 Th17 细胞分化重要的转录因子 ROR- $\gamma$ t 的 mRNA 的表达水平高于健康小鼠的，细胞内细胞因子染色结果也表明肠系膜淋巴结中 Th17 细胞的含量明显高于健康小鼠的。上述结果提示，感染

日本血吸虫小鼠的肠系膜淋巴细胞能诱导 Th17 细胞产生。

根据所分泌细胞因子和生物学功能的不同，CD4<sup>+</sup>T 细胞可分为不同的亚群，如 Th1、Th2、Th9、Th17 和 Treg 等。Th1 主要分泌 IFN- $\gamma$ ，促进细胞免疫应答，IL-4 是 Th2 细胞分泌的主要细胞因子，可促进抗体的分泌，促进体液免疫应答，同时抑制细胞免疫应答。IL-5 也是 Th2 细胞分泌的细胞因子，主要促进 IgE 类抗体的产生，引发速发型过敏反应。Th9 细胞产生特征性细胞因子 IL-9。研究表明，有些效应 T 细胞同时具有两种 T 细胞亚群的特征。在人和小鼠的感染性炎症中，均发现能够同时表达 T-bet 和 ROR- $\gamma$ t 两种转录因子，即具有 Th1 和 Th17 两种细胞亚群特征的细胞<sup>[10-12]</sup>。介导过敏反应的细胞也会同时表达 GATA-3 和 ROR- $\gamma$ t，同时分泌细胞因子 IL-4 和 IL-17<sup>[13]</sup>。本研究观察了日本血吸虫感染 C57BL/6 小鼠的肠系膜淋巴结淋巴细胞中的 IL-17 与 CD4<sup>+</sup>T 细胞其他亚群之间的关系，发现 Th17 细胞能分泌 IL-4，可少量分泌 IFN- $\gamma$ 、IL-5 和 IL-9。

在血吸虫感染小鼠中，Treg 细胞是 IL-10 的主要来源<sup>[14]</sup>。Foxp3 是与 Treg 细胞的调节功能密切相关的特异性转录因子。有研究证实，在促炎症细胞因子的环境中，Foxp3 水平下降而 ROR- $\gamma$ t 的表达水平升高，最终促进 Th17 细胞的分化<sup>[15]</sup>。本研究结果表明，在感染小鼠 Th17 细胞含量增高的同时 Foxp3 含量下降 (待发表)，且 Th17 细胞不能分泌 IL-10，也不能表达 Foxp3，提示在血吸虫感染模型中 Th17 细胞发挥促进炎症反应作用。但最近 Voo 等<sup>[16]</sup>研究发现，通过流式细胞术从人的外周血中分离出来的部分 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>的 Treg 可分泌 IL-17，这群细胞不仅具有抗炎症和自身免疫反应的作用，而且具有抗微生物的固有免疫反应。这进一步说明，Treg 不但可以抑制机体的免疫功能，而且也有可能参与 Th17 的促进炎症发生的过程，并与 Th17 有协同作用，但其机制还不清楚，有待进一步研究。

总而言之，日本血吸虫病的免疫病理变化是多种细胞和多种细胞因子之间相互作用、相互调节而引起的。Th17 细胞在寄生虫感染免疫中起着重要作用，且具有保护性和致病性的双重作用，在感染早期 Th17 细胞起着保护性作用，到寄生虫产卵期时则起着致病性作用<sup>[17]</sup>。但在复杂的体内感染情况下，Th17 细胞与其他辅助性 T 细胞之间的免疫调节效应机制具体是通过何种途径来调节还需进一步研究。

其保护功能与羟自由基损伤相关。

### 参 考 文 献

- [1] Seo MS, Kang SW, Kim K, *et al.* Identification of a new type of mammalian peroxiredoxin that forms an intramolecular disulfide as a reaction intermediate[J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(27): 20346-20354.
- [2] Knight M, Raghavan N, Goodall C, *et al.* *Biomphalaria glabrata* peroxiredoxin: effect of *Schistosoma mansoni* infection on differential gene regulation[J]. *Mol Biochem Parasitol*, 2009, 167(1): 20-31.
- [3] Pushpamali WA, De Zoysa M, Kang HS, *et al.* Comparative study of two thioredoxin peroxidases from disk abalone (*Haliotis discus discus*): Cloning, recombinant protein purification, characterization of antioxidant activities and expression analysis [J]. *Fish Shellfish Immunol*, 2008, 24(3): 294-307.
- [4] Hu Z, Lee KS, Choo YM, *et al.* Molecular cloning and characterization of 1-Cys and 2-Cys peroxiredoxins from the bumblebee *Bombus ignitus*[J]. *Comp Biochem Physiol B Biochem Mol Biol*, 2010, 155(3): 272-280.
- [5] Sayed AA, Williams DL. Biochemical characterization of 2-Cys peroxiredoxins from *Schistosoma mansoni*[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(25): 26159-26166.
- [6] Hofmann B, Hecht HJ, Flohe L. Peroxiredoxins[J]. *Biol Chem*, 2002, 383(3-4): 347-364.
- [7] Rhee SG, Chae HZ, Kim K. Peroxiredoxins: A historical overview and speculative preview of novel mechanisms and emerging concepts in cell signaling[J]. *Free Radic Biol Med*, 2005, 38(12): 1543-1552.
- [8] Lee KS, Kim SR, Park NS, *et al.* Characterization of a silkworm thioredoxin peroxidase that is induced by external temperature stimulus and viral infection[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2005, 35(1): 73-84.
- [9] Hambarde S, Yennamalli RM, Subbarao N, *et al.* Predictive inference on cytoplasmic and mitochondrial thioredoxin peroxidases in the highly radioresistant Lepidopteran insect *Spodoptera frugiperda*[J]. *Bioinformatics*, 2010, 4(9): 399-404.
- [10] Iwai K, Naganuma A, Kuge S. Peroxiredoxin Ahp1 acts as a receptor for alkylhydroperoxides to induce disulfide bond formation in the Cad1 transcription factor[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(14): 10597-10604.
- [11] Harder S, Bente M, Isermann K, *et al.* Expression of a mitochondrial peroxiredoxin prevents programmed cell death in *Leishmania donovani*[J]. *Eukaryot Cell*, 2006, 5(5): 861-870.
- [12] Chae HZ, Chung SJ, Rhee SG. Thioredoxin-dependent peroxide reductase from yeast[J]. *J Biol Chem*, 1994, 269(44): 27670-27678.
- [13] Wood ZA, Schröder E, Robin Harris J, *et al.* Structure, mechanism and regulation of peroxiredoxins[J]. *Trends Biochem Sci*, 2003, 28(1): 32-40.
- [14] Chae HZ, Robison K, Poole LB, *et al.* Cloning and sequencing of thiol-specific antioxidant from mammalian brain; alkyl hydroperoxide reductase and thiol-specific antioxidant define a large family of antioxidant enzymes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1994, 91(15): 7017-7021.
- [15] Jiang Q, Yan YH, Hu GK, *et al.* Molecular cloning and characterization of a peroxiredoxin from *Phanerochaete chrysosporium*[J]. *Cell Mol Biol Lett*, 2005, 10(4): 659-668.

(收稿日期: 2012-02-20 编辑: 瞿麟平)

(上接第 261 页)

### 参 考 文 献

- [1] Harrington LE, Hatton RD, Mangan PR, *et al.* Interleukin 17-producing CD4<sup>+</sup> effector T cells develop via a lineage distinct from the T helper type 1 and 2 lineages [J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1123-1132.
- [2] Park H, Li Z, Yang XO, *et al.* A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(11): 1133-1141.
- [3] Komiyama Y, Nakae S, Matsuki T, *et al.* IL-17 plays an important role in the development of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 566-573.
- [4] Rutitzky LI, Stadecker MJ. Exacerbated egg-induced immunopathology in murine *Schistosoma mansoni* infection is primarily mediated by IL-17 and restrained by IFN-gamma [J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41(9): 2677-2687.
- [5] Stavitsky AB. Regulation of granulomatous inflammation in experimental models of schistosomiasis[J]. *Infect Immun*, 2004, 72(1): 1-12.
- [6] Chen MG. Schistosomiasis in the world and its control progress [J]. *Chin J Schisto Control*, 2002, 14(2): 81-83. (in Chinese) (陈名刚. 世界血吸虫病流行情况及防治进展[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2002, 14(2): 81-83.)
- [7] Chen HH, Zhang RL, Zhu XQ. The research progress of immune pathology in the schistosomiasis japonica [J]. *Chin J Zoonoses*, 2006, 22(1): 75-77, 80. (in Chinese) (陈虹虹, 张仁利, 朱兴全. 日本血吸虫病免疫病理的研究进展[J]. 中国人兽共患病学报. 2006, 22(1): 75-77, 80.)
- [8] Rutitzky LI, Lopes DRJ, Stadecker MJ. Severe CD4 T cell-mediated immunopathology in murine schistosomiasis is dependent on IL-12p40 and correlates with high levels of IL-17 [J]. *J Immunol*, 2005, 175(6): 3920-3926.
- [9] Xu HG, Zhang ZJ, Xia CM. Dynamics of liver tissue immune pathology and IFN- $\gamma$ /IL-4 cytokine levels in mice infected with *Schistosoma japonicum* in different stages[J]. *J Trop Dis Parasit*, 2010, 8(2): 72-74, 100. (in Chinese) (徐海根, 张正姬, 夏超明. 日本血吸虫感染小鼠不同时期肝组织免疫病理与 IFN- $\gamma$ /IL-4 水平的动态变化[J]. 热带病与寄生虫学, 2010, 8(2): 72-74, 100.)
- [10] Acosta-Rodriguez EV, Rivino L, Geginat J, *et al.* Surface phenotype and antigenic specificity of human interleukin 17-producing T helper memory cells[J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(6): 639-646.
- [11] Liu X, Lee YS, Yu CR, *et al.* Loss of STAT3 in CD4<sup>+</sup> T cells prevents development of experimental autoimmune diseases[J]. *J Immunol*, 2008, 180(9): 6070-6076.
- [12] Annunziato F, Cosmi L, Santarlasci V, *et al.* Phenotypic and functional features of human Th17 cells[J]. *J Exp Med*, 2007, 204(8): 1849-1861.
- [13] Cosmi L, Maggi E, Santarlasci V, *et al.* Identification of a novel subset of human circulating memory CD4<sup>+</sup> T cells that produce both IL-17A and IL-4[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2010, 125(1): 222-230.
- [14] Dunne DW, Cooke A. A worm's eye view of the immune system: consequences for evolution of human autoimmune disease[J]. *Nat Rev Immunol*, 2005, 5(5): 420-426.
- [15] Zhou L, Lopes JE, Chong MM, *et al.* TGF- $\beta$ -induced Foxp3 inhibits T (H)17 cell differentiation by antagonizing ROR $\gamma$  function[J]. *Nature*, 2008, 453(7192): 236-240.
- [16] Voo KS, Wang YH, Santori FR, *et al.* Identification of IL-17-producing FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells in humans [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(12): 4793-4798.
- [17] Wen XY, He L, Chi Y, *et al.* Dynamics of Th17 cells and their role in *Schistosoma japonicum* infection in C57BL/6 mice [J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2011, 5(11): e1399.

(收稿日期: 2012-03-30 编辑: 张争艳)