

· 论著 ·

文章编号: 1007-8738(2013)07-0739-05

慢性乙型肝炎患者外周血单核细胞 Tim-3 表达的检测及意义

高西阳, 李 捷, 潘修成*, 李 莉, 傅涓涓, 姚 伟 (徐州医学院附属医院感染病科, 江苏 徐州 221002)

[摘要] 目的 研究慢性乙型肝炎(CHB)患者外周血单核细胞中T淋巴细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3(Tim-3)的表达及其炎症因子生成的影响。方法 利用多色流式技术和荧光实时定量PCR(qRT-PCR), 分别检测不同状态的CHB患者外周血单核细胞亚群表面Tim-3分子和Tim-3 mRNA表达水平。给予重组人galectin-9和脂多糖(LPS)共刺激CHB活动期患者外周血单核细胞, 用ELISA检测培养上清中TNF- α 、IL-1 β 和IL-6水平。结果 慢乙肝免疫耐受期患者(IT)外周血单核细胞表面Tim-3表达水平显著高于健康对照组(HC)和免疫活动期患者(IA)($P < 0.01$), 其中IT患者CD14⁺CD16⁻和CD14⁺CD16⁺单核细胞亚群中Tim-3的表达均高于IA患者, 差异均有统计学意义。qRT-PCR结果进一步证实IA患者外周血单核细胞中Tim-3 mRNA的表达高于HC($P = 0.040$)。IA患者CD14⁺单核细胞上Tim-3的表达与血清丙氨酸氨基转移酶(ALT)水平呈正相关($r = 0.362$, $P = 0.028$)。重组人galectin-9和LPS共刺激IA患者外周血单核细胞比单独使用LPS刺激分泌更高水平的TNF- α 、IL-1、IL-6。结论 CHB患者外周血单核细胞Tim-3表达上调, 与血清ALT水平呈正相关, Tim-3/galectin-9通路能够促进LPS诱导的单核细胞的炎症因子的分泌。

[关键词] Tim-3; 单核细胞; 慢性乙型肝炎; 荧光实时定量 RT-PCR

[中图分类号] R392.33, R512.6*2 **[文献标志码]** A

Expression and significance of Tim-3 on peripheral blood monocytes in patients with chronic hepatitis B

GAO Xiyang, LI Chan, PAN Xiucheng*, LI Li, FU Juanjuan, YAO Wei

Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital, Xuzhou Medical College, Jiangsu 221002, China

[Abstract] **Objective** To detect T cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule 3 (Tim-3) expression on peripheral blood monocytes (PBMs) and explore its effect on inflammatory cytokines production of PBMs in patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** The expression of Tim-3 protein and mRNA on PBM subsets was respectively determined using flow cytometry and real-time quantitative RT-PCR (qRT-PCR) in CHB patients at different phases. After PBMs were stimulated with both recombinant human galectin-9 and lipopolysaccharide (LPS) in active CHB patients, the supernatants were collected to measure the levels of proinflammatory factors including TNF- α , IL-1 β and IL-6 by ELISA. **Results** Compared with healthy controls and CHB patients at immune active (IA) phase, the expression of Tim-3 was significantly up-regulated in PBMs of CHB patients at immune tolerance (IT) phase ($P < 0.01$). The level of Tim-3 expression on both CD14⁺CD16⁻ and CD14⁺CD16⁺ monocyte subsets of CHB patients at IT phase was significantly higher than that of the CHB patients at IA phase and of healthy controls ($P < 0.05$). qRT-PCR further demonstrated that the level of Tim-3 mRNA on monocytes of CHB patients at IA phase was also higher than that of healthy controls ($P = 0.040$). There was a positive correlation between the expression of Tim-3 on CD14⁺ monocytes and serum ALT level in IA CHB patients ($r = 0.362$, $P = 0.028$). The levels of proinflammatory factors in supernatants, such as TNF- α , IL-1 β and IL-6 increased significantly in monocytes stimulated by LPS and galectin-9, compared with ones by LPS alone. **Conclusion** Tim-3 expression, which is up-regulated on PBMs of CHB patients, is negatively correlated to the level of ALT in sera of IA CHB patients, and Tim-3/galectin-9 pathway might promote proinflammatory factors production of monocytes stimulated with LPS.

[Key words] Tim-3; monocyte; chronic hepatitis B; real-time quantitative RT-PCR

收稿日期: 2012-12-30; 接受日期: 2013-04-28

基金项目: 江苏省六大人才高峰基金(2010WS028); 江苏省研究生创新计划项目(CXZZ110744)

作者简介: 高西阳(1984-), 男, 安徽宿州人, 医师, 硕士研究生

Tel: 0516-85802180; E-mail: gxy.2008@qq.com

*Corresponding author, 潘修成, E-mail: xzpxc68@126.com

免疫反应介导的肝脏损伤是慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)的主要发病机制。研究表明,非特异性免疫细胞尤其是单核-巨噬细胞在慢性乙型肝炎的发作及疾病进展中发挥重要作用^[1]。单核细胞在外周血中占白细胞的5%~10%,仅次于中性粒细胞和淋巴细胞,如此庞大的细胞数量也预示着单核细胞在固有免疫中起着举足轻重的作用。因此,研究外周血单核细胞的功能对全面了解慢性乙型肝炎发病机制有重要意义。

大量研究结果表明 T 淋巴细胞免疫球蛋白黏蛋白分子 3 (T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule 3, Tim-3) 通过与其配体 galectin-9 的结合对机体免疫功能的调节发挥重要作用,是适应性免疫反应的重要负性调节分子,在炎症性疾病中发挥重要作用^[2-3]。除表达于活化的 CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、NK 细胞等以外, Tim-3 常规表达于单核细胞/巨噬细胞,但目前对 Tim-3 分子在单核细胞/巨噬细胞介导的炎症反应中的作用尚存在争议^[4-5]。为了探讨慢性 HBV 感染状态下单核细胞 Tim-3 表达的状况及其意义,本实验采用多色流式细胞技术及荧光实时定量 PCR (real-time quantitative transcription polymerase chain reaction, qRT-PCR) 对不同状态的慢乙肝患者外周血单核细胞中 Tim-3 的表达进行了检测,并进一步分析其对单核细胞介导的炎症反应的影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 对象 徐州医学院附属医院感染科门诊和住院的 CHB 患者 30 例,其中男 21 例、女 9 例;年龄 14~68(36.3±13.7)岁。诊断标准符合 2010 年中华医学会肝病学会和感染病分会联合制定的《慢性乙型肝炎防治指南》。同时排除合并其他类型肝炎病毒感染、自身免疫性肝炎、药物性肝病、酒精性肝病、肝炎肝硬化等疾病。进一步将 CHB 患者划分为免疫耐受 (immunological tolerance, IT) 组 (血清 HBsAg 和 HBeAg 阳性, HBV DNA 滴度 > 10⁵ 拷贝/mL, 血清丙氨酸氨基转移酶水平正常等, 15 例); 免疫激活 (immune active, IA) 组 15 例: 血清 HBV DNA > 10⁵ 拷贝/mL, 伴有 ALT 持续或间歇升高, 肝组织学中度或严重炎症坏死等表现。健康对照组 (healthy controls, HC) 15 例, 选自徐州医学院附属医院健康体检中心, 年龄和性别与患者相匹配的健康献血员, 无 HIV、HBV、HCV、HDV、CMV、EB 等病毒感染。

1.1.2 主要仪器与试剂 FACS Calibur 流式细胞检测仪为 Beckton/Dickinson 生产, ABI 7500 实时荧光定量 PCR 仪 (ABI 公司产品), Thermo MK3 型酶标仪等。荧光团标记的小鼠抗人单克隆抗体 (mAb) (CD14- FITC、CD16-PeCy5、Tim-3-PE) 及相应同型对照等均购自 Biolegend 公司。Total RNA Extractor

(总 RNA 抽提试剂盒) 购自上海生工生物有限公司, SYBR® Green qPCR SuperMix-UDG 荧光定量 PCR 试剂盒 (Invitrogen 公司产品), 脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 购自 Sigma 公司, 重组人 galectin-9 购自 RD 公司, TNF-α、IL-1β 和 IL-6 ELISA 试剂盒购自北京达科为生物技术有限公司。Anytest 2000 时间分辨荧光免疫分析仪为上海新波生物技术有限公司产品。

1.2 方法

1.2.1 流式细胞仪分析外周血单核细胞 Tim-3 表达 新鲜肝素抗凝外周静脉血 200 μL, 平均分至 A、B 两管, 每管 100 μL; A 管加入加入荧光团标记抗体: CD14-FITC、CD16-PeCy5、Tim-3-PE 各 20 μL, B 管加入荧光标记抗体: CD14-FITC、CD16-PeCy5、IgG2A-PE 各 20 μL, 混匀; 室温避光孵育 30 min; 加适量红细胞裂解液, 室温避光孵育 10 min 后离心弃上清液, PBS 洗涤后加入 200 μL PBS 重悬细胞。上机, 流式细胞仪检测样品中阳性细胞百分比。采用 BD 公司的 CellQuest 软件进行测定分析。

1.2.2 外周血单核细胞的分离 分别抽取 IA、IT 和 HC 外周血静脉血 10 mL, 肝素抗凝, 采用聚蔗糖-泛影葡胺 (Ficoll-hypaque) 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC), 接种于培养皿中, 置于 37℃、50 mL/L CO₂ 培养箱中静置 2 h 后弃上清, 收集贴壁细胞即单核细胞, 备用。通过密度梯度离心及贴壁法能获取单核细胞纯度 ≥ 80%; 台盼蓝拒染实验确定单核细胞存活率 ≥ 95%。

1.2.3 qRT-PCR 检测外周血单核细胞中 Tim-3 mRNA 表达 按 TRIzol 提取 RNA 的操作说明, 在 1 × 10⁶ 细胞加 1 mL Total RNA Extractor, 最终 RNA 产物于 -80℃ 保存。按 QIAGEN 公司反转录多聚酶链式反应试剂盒说明合成 cDNA, 置于 -20℃ 备用。根据 NCBI GenBank 中人 β-actin [GI: 168480144] 和 Tim-3 [GI: 354681988] 的基因序列, 应用 Premier Primer5.0 引物设计软件设计特异性引物: Tim-3 上游引物: 5'-CCAAATCCCAGGCATAAT-3', 下游引物: 5'-AAGCGA-CAACCCAAAGGT-3'; β-actin 上游引物: 5'-CGAAACTACCT-TCAACTCCATC-3', 下游引物: 5'-AGTGATCTCCTTCTGCATC-CT-3'。按荧光定量试剂盒说明书将相关试剂加入专用的光学 PCR 管中并放入荧光实时定量 PCR 仪上进行扩增并进行实时检测。PCR 热循环参数: 95℃ 4 min, 然后 3 步反应: 95℃ 30 s, 60℃ 30 s, 72℃ 30 s, 40 个循环, 在每个循环的最后一步收集荧光信号。融解曲线设定: 95℃ 2 min, 95℃ 15 s, 60℃ 1 min, 重复 2 个循环。分别检测不同分组中 β-actin 和 Tim-3 mRNA 的相对表达水平。每份标本分别同时用 β-actin 和 Tim-3 的引物进行 qRT-PCR, 重复 3 次, 得到的 Ct 值 (指每个反应管内的荧光信号到达设定阈值时所经历的循环数, 即最低循环数值) 取平均值。Tim-3 mRNA 的相对表达量以 2^{-ΔΔCt} 表示, 其中 ΔΔCt = [Tim-3 平均 Ct 值 (样本组) - β-actin 平均 Ct 值 (样本组)] - [Tim-3 平均 Ct 值 (校正组) - β-actin 平均 Ct 值 (校正组)]。

1.2.4 ELISA 检测 IA 患者单核细胞培养液上清中 TNF-α、IL-1β 和 IL-6 含量 分别抽取 5 例 IA 患者外周静脉血, 肝素抗凝, 采用贴壁法分离出单核细胞, 每份单核细胞悬液分 3 组: LPS + galectin-9 组; LPS 终浓度为 1 μg/mL 和重组人

galectin-9抗体终浓度 5 $\mu\text{g}/\text{mL}$; LPS 组: 加入 LPS 使其终浓度为 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$, 并加入 PBS 作为对照; 空白对照组: 不加任何干预, 加入 PBS 作为对照。LPS 刺激 6 h 后, 加入重组人 galectin-9 共刺激 48 h。分别收集各组单核细胞培养上清液, 严格按相关 ELISA 试剂盒说明书操作, 显色后在全自动酶标仪上 450 nm 波长读数。

1.2.5 肝功能的检测 全自动生化分析仪测定: 丙氨酸氨基转移酶 (alanine aminotransferase, ALT)、总胆红素 (total bilirubin, TBIL) 等指标。

1.2.6 HBV DNA 检测 实时荧光定量 PCR 仪检测患者血清 HBVDNA 含量 (拷贝/mL), 检测下限 1 000 拷贝/mL。

1.2.7 HBV 感染标志物 时间分辨荧光免疫分析仪测定血清 HBsAg、抗-HBs、HbeAg、抗-Hbe 和抗-HBc 水平。

1.2.8 统计学分析 采用 SPSS13.0 软件进行统计学分析。结果采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计量资料采用 *t* 检验和单因素方差分析 LSD 法, 计数资料采用卡方检验和单因素方差分析 Scheffe 法, 相关分析采用非参数 Spearman 法。所有检测中, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血单核细胞分群 全血经多色荧光抗体染色后, 由流式细胞仪检测外周血单核细胞亚群 Tim-3 细胞频数, 单核细胞亚群的设门见图 1。

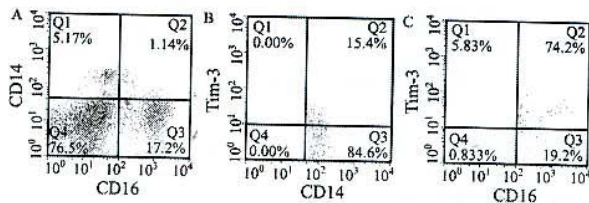


图 1 流式细胞仪检测单核细胞亚群 Tim-3 的表达

2.2 CHB 患者外周血单核细胞表面 Tim-3 的表达

流式细胞仪分析 15 例 IA 患者、15 例 IT 患者和 15 例 HC, 统计学结果显示 IT、IA 患者和 HC 外周血 CD14⁺Tim-3⁺ 细胞频数分别为 (17.09 \pm 3.45)%、(14.55 \pm 2.41)% 和 (4.94 \pm 2.99)%。三组比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 28.735$, $P < 0.01$)。IT 和 IA 患者 CD14⁺Tim-3⁺ 细胞频数显著高于 HC, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$), 而 IT 患者和 IA 患者之间差异无统计学意义 ($P = 0.116$)。

2.3 不同 CHB 患者外周血 CD14⁺CD16⁻ 和 CD14⁺CD16⁺ 单核细胞亚群中 Tim-3 的表达 流式细胞仪进一步分析发现 CHB 患者处于不同临床状态下外周血 CD14⁺单核细胞亚群表面 Tim-3 表达不同。

CD14⁺CD16⁻Tim-3⁺ 细胞频数在 IT、IA 和 HC 3 组之间比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 30.703$, $P < 0.01$)。在 IT 患者 CD14⁺CD16⁻Tim-3⁺ 细胞频数明显高于 HC 和 IA (24.35% \pm 5.10% vs 4.72% \pm 2.81% 和 18.57% \pm 5.90%, $P < 0.01$)。CD14⁺CD16⁻Tim-3⁺ 细胞频数在 IT 和 IA 患者之间的差异也有统计学意义 ($P = 0.014$)。IT、IA 和 HC 的 CD14⁺CD16⁺Tim-3⁺ 细胞频数分别为 (71.41 \pm 6.54)%、(21.22 \pm 7.87)% 和 (55.19 \pm 12.77)% , 3 组比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 33.955$, $P < 0.01$)。IT 患者 CD14⁺CD16⁺Tim-3⁺ 细胞频数显著高于 HC 和 IA, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $F = 104.359$)。而 IA 与 HC 之间单核细胞亚群 Tim-3 的表达也有统计学差异 ($P < 0.01$) (图 2A 和 2B)。

流式细胞仪进一步分析处于不同临床状态下的 CHB 患者外周血 CD14⁺单核细胞亚群 Tim-3 的表达。结果发现, IT 患者 CD14⁺CD16⁻Tim-3⁺ 单核细胞比例明显高于 HC 和 IA (24.35% \pm 5.10% vs 4.72% \pm 2.81% 和 18.57% \pm 5.90%, $P < 0.01$); 而 CD14⁺CD16⁻Tim-3⁺ 单核细胞比例在 IT 和 IA 患者之间的差异也有统计学意义 ($P = 0.014$)。IT、IA 和 HC 3 组患者的 CD14⁺CD16⁺Tim-3⁺ 单核细胞比例分别为 (71.41 \pm 6.54)%、(21.22 \pm 7.87)% 和 (55.19 \pm 12.77)% , 3 组比较, 差异有统计学意义 ($\chi^2 = 33.955$, $P < 0.01$)。IT 患者 CD14⁺CD16⁺Tim-3⁺ 单核细胞比例显著高于 HC 和 IA, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$, $F = 104.359$)。而 IA 与 HC 之间单核细胞亚群 Tim-3 的表达也有统计学差异 ($P < 0.01$, 图 2A、B)。

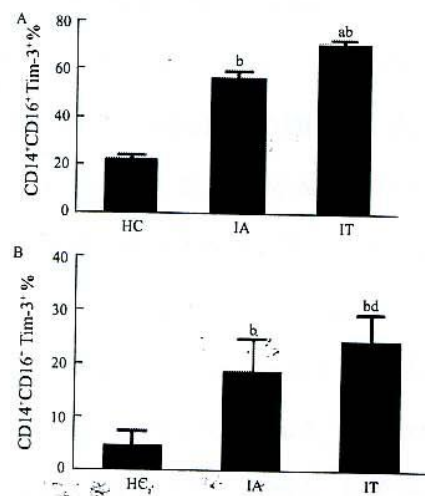


图 2 CHB 患者外周血单核细胞亚群中 Tim-3⁺ 细胞频数

2.4 单核细胞表面 Tim-3 的表达与肝脏炎症和病毒指标的相关关系 相关性分析发现, 在 15 例 IA 患者中, $CD14^+ Tim-3^+$ 细胞频数与血浆 ALT 水平成正相关($r=0.362, P=0.028$, 图 3), 但与 HBV DNA 水平、HbeAg 状态无明显相关性。

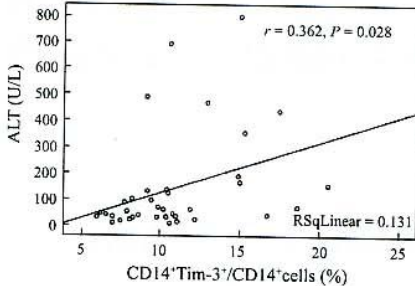
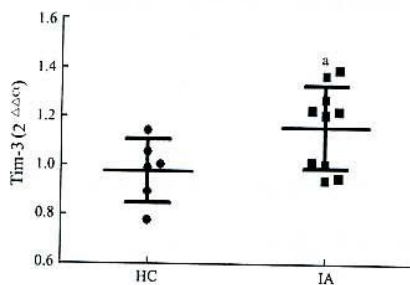


图3 IA患者 $CD14^+$ 细胞表面 Tim-3 的表达与血清 ALT 水平的相关性分析

2.5 qRT-PCR 检测不同慢乙肝患者外周血单核细胞中 Tim-3 表达水平 6 例 HC 和 10 例 CHB 患者外周血单核细胞 Tim-3 mRNA 的相对表达量采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法表示。统计学分析结果表明: IA 组单核细胞中 Tim-3 mRNA 的表达显著高于 HC 组 (1.16 ± 0.13 vs $0.97 \pm 0.13, t=2.26, P=0.040$), 差异有统计学意义(图 4)。 β -actin 和 Tim-3 荧光实时定量 PCR 的融解曲线均为单峰, 表明没有非特异性扩增。 β -actin 和 Tim-3 荧光定量 PCR 扩增产物经 25 g/L 琼脂糖凝胶电泳, 均显示为单一条带, 条带大小符合目的产物大小。IA 组单核细胞 Tim-3 mRNA 表达水平显著高于 HC 组 (1.16 ± 0.13 vs $0.97 \pm 0.13, t=2.26, P=0.040$), 差异有统计学意义(图 4)。



* $P < 0.05$ vs HC; HC: $n=6$, IA: $n=10$.

图4 健康对照组(HC)和慢乙肝活动期患者(IA)组外周血单核细胞 Tim-3 mRNA 表达水平比较

2.6 Tim-3-galectin-9 通路对活化的单核细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 的影响 结果显示 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 在 LPS + galectin-9 组、LPS 组和空白组之间的差异均有统计学意义($P < 0.05$)。单独 LPS 刺激组单核细胞分泌的 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平显著

高于空白对照组($P < 0.05$)。LPS 活化的单核细胞中加入 galectin-9 共培养后, 可见培养上清中 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 水平均明显高于单独 LPS 刺激组, 变化水平有统计学差异($P < 0.05$, 表 1)。

表1 不同分组中单核细胞上清 TNF- α 、IL-1 β 和 IL-6 浓度的比较 ($n=5, \bar{x} \pm s, \text{pg/mL}$)

组别	TNF- α	IL-1 β	IL-6
LPS + galectin-9 组	336.60 ± 50.75^{ac}	263.35 ± 9.88^{ac}	200.77 ± 151.98^{ac}
LPS 组	219.62 ± 24.99^c	171.622 ± 29.28^c	163.23 ± 7.45^c
空白组	114.51 ± 31.64	87.37 ± 49.94	104.13 ± 18.49

* $P < 0.05$ vs LPS 组; $^c P < 0.05$ vs 空白组。

3 讨论

根据 CD16 分子表达情况, $CD14^+$ 单核细胞 (monocytes, Mo) 被分为 2 大亚群, 即经典单核细胞 ($CD14^+ CD16^- Mo$) 和非经典的单核细胞 ($CD14^+ CD16^+ Mo$)^[4]。 $CD14^+ CD16^- Mo$ 在健康人群中占总数的 90% ~ 95%, 而 $CD14^+ CD16^+ Mo$ 仅占 5% ~ 10%, 但炎症因子 (如 TNF- α , IL-1, IL-6) 主要由该亚群生成, 因此, $CD14^+ CD16^+ Mo$ 被认为是前炎症单核细胞亚群。Shi 等^[6] 报道慢乙肝患者尤其是慢加急性肝衰竭患者外周血和肝组织内 $CD14^+ CD16^+ Mo$ 增多, 并且与肝脏损伤程度以及患者死亡率密切相关, 但对单核细胞炎症功能的调控机制尚不清楚。本文研究发现慢乙肝患者外周单核细胞 Tim-3 表达升高, 并对单核细胞炎症功能发挥重要调节作用。

本研究发现, CHB 患者 (包括 IA 和 IT 患者) 外周血 $CD14^+$ 单核细胞表面 Tim-3 蛋白和 mRNA 表达上调, 显著高于健康对照者 (HC), 其中 IT 患者外周 $CD16^-$ 和 $CD16^+$ 单核细胞亚群 Tim-3 的表达均明显高于 HC 和 IA 患者, 提示 CHB 患者外周单核细胞表达 Tim-3 上调可能参与了乙肝感染慢性化过程, 然而, 单核细胞高表达 Tim-3 分子是促进或抑制了机体对 HBV 感染的免疫耐受至今尚不清楚。近期有报道, 正常人或 HCV 感染者外周血 $CD14^+$ 单核/巨噬细胞均表达 Tim-3, 并抑制 IL-12 介导的适应性免疫反应, 可能参与丙型肝炎病毒所致的机体免疫耐受^[7-8]。然而, 与 IT 患者相比, IA 患者外周血 $CD16^-$ 及 $CD16^+$ Mo 亚群中 Tim-3 表达水平均明显下降, 并且 Tim-3 表达与血清 ALT 水平成正相关, 提示, 单核细胞 Tim-3 分子的表达与慢性乙型肝炎的发作密切相关。至于为何 IT 患者外周单核细胞高表达 Tim-3 分子, 推测可能是机体抗 HBV 的固有免疫反应, 但其并不能有效打破机体对 HBV 感染的免疫耐受状态。

为进一步研究 Tim-3 对 CHB 患者外周血单核细胞炎症功能的影响,体外分离 IA 患者外周血单核细胞,以 LPS 活化单核细胞后,加入重组人 galectin-9 蛋白以活化 Tim-3 通路,观察单核细胞生成炎症因子的变化情况。结果显示加入 galectin-9 蛋白后,单核细胞表达的 TNF- α 、IL-1、IL-6 等炎症因子水平升高,提示 galectin-9 对 LPS 诱导的单核细胞炎症功能起到促进作用,其原因可能与 Tim-3/galectin-9 信号通路通过促进 LPS/TLR4 信号通路的某一环节从而增强促炎细胞因子的表达有关。这与近期的一些研究结果相一致^[9-11],如, Mengshol 等^[9]体外研究发现,重组人 galectin-9 活性蛋白能够诱导丙型肝炎患者外周血和肝组织中单个核细胞分泌大量促炎介质,包括 TNF- α 、IL-1 β 和 IFN- γ ,胞内细胞因子染色显示 TNF- α 、IL-1 β 主要由 CD14⁺ 单核细胞产生。然而, Wang 等^[12]报道 Tim-3 分子能通过调节单核细胞 IL-12/IL-23 表达进而下调炎症细胞 Th17 的分化及其 IL-17 分泌,提示 Tim-3 对单核细胞介导炎症反应的负性调控作用。分析原因可能与不同病毒感染情况下 Tim-3 表达对单核细胞功能调节的作用不同,此外 Tim-3 可能还存在其他的配体,确切原因需要进一步研究。

总之,本研究发现单核细胞表达 Tim-3 分子参与 CHB 慢性化和炎症活动过程,进一步揭示了慢性乙型病毒性肝炎的发病机制,并为减轻肝脏炎症和逆转病情进展提供免疫治疗新靶点。

参考文献:

- [1] Zhang JY, Zou ZS, Huang A, et al. Hyper-activated pro-inflammatory CD16⁺ monocytes correlate with the severity of liver injury and fibrosis in patients with hepatitis B [J/OA]. PLoS One, 2011, 6 (3): e17484.
- [2] Koguchi K, Anderson DE, Yang L, et al. Dysregulated T cell expression of TIM-3 in multiple sclerosis [J]. J Exp Med, 2006, 203 (6): 1413 - 1418.
- [3] Khademi M, Illés Z, Gielen AW, et al. T cell Ig-and mucin-domain-containing molecule-3 (Tim-3) and Tim-1 molecules are differentially expressed on human Th1 and Th2 cells and in cerebrospinal fluid-derived mononuclear cells in multiple sclerosis [J]. J Immunol, 2004, 172(11): 7169 - 7176.
- [4] Anderson AC. Editorial: Tim-3 puts on the brakes [J]. J Leukoc Biol, 2012, 91(2): 183 - 185.
- [5] Zhao D, Hou N, Cui M, et al. Increased T cell immunoglobulin and mucin domain 3 positively correlate with systemic IL-17 and TNF- α level in the acute phase of ischemic stroke [J]. J Clin Immunol, 2011, 31(4): 719 - 727.
- [6] Shi F, Zhang JY, Zeng Z, et al. Skewed ratios between CD3⁺ T cells and monocytes are associated with poor prognosis in patients with HBV-related acute-on-chronic liver failure [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2010, 402(1): 30 - 36.
- [7] Zhang Y, Ma CJ, Wang JM, et al. Tim-3 negatively regulates IL-12 expression by monocytes in HCV infection [J/OA]. PLoS One, 2011, 6(5): e19664.
- [8] Zhang Y, Ma CJ, Wang JM, et al. Tim-3 regulates pro- and anti-inflammatory cytokine expression in human CD14⁺ monocytes [J]. J Leukoc Biol, 2012, 91(2): 189 - 196.
- [9] Mengshol JA, Golden-Mason L, Arikawa T, et al. A crucial role for Kupffer cell-derived galectin-9 in regulation of T cell immunity in hepatitis C infection [J/OA]. PLoS One, 2010, 5(3): e9504.
- [10] Uchida Y, Ke B, Freitas MC, et al. T-cell immunoglobulin mucin-3 determines severity of liver ischemia/reperfusion injury in mice in a TLR4-dependent manner [J]. Gastroenterology, 2010, 139 (6): 2195 - 2206.
- [11] Anderson AC, Anderson DE, Bregoli L, et al. Promotion of tissue inflammation by the immune receptor Tim-3 expressed on innate immune cell [J]. Science, 2007, 318(5853): 1141 - 1143.
- [12] Rodriguez-Manzanet R, Dekruyff R, Kuchroo VK, et al. The costimulatory role of TIM molecules [J]. Immunol Rev, 2009, 229(1): 259 - 270.
- [13] Wang JM, Shi L, Ma CJ, et al. Differential regulation of IL-12/IL-23 by Tim-3 drives TH17 cell development during HCV infection [J]. J Virol, 2013, 87(8): 4372 - 4383.

版权许可声明

本刊已许可中国学术期刊(光盘版)电子杂志社在中国知网及其系列数据库产品中以数字化方式复制、汇编、发行、信息网络传播本刊全文。作者向本刊提交文章发表的行为,均视为同意在本编辑部网站及 CNKI 中国期刊全文数据库等数据库出版,使用费不再另行支付。