

基础研究

坏死细胞逆转脓毒症小鼠 Treg/Th17 比例的失衡

顾冬生^{1,2}, 熊露³, 韩艳萍¹, 孙尔维¹¹南方医科大学第三附属医院风湿免疫科, 广东 广州 510630; ²解放军第421医院泌尿外科, 广东 广州 510318; ³广州爱尔眼科医院, 广东 广州 510080

摘要:目的 研究预输注坏死细胞对脓毒症小鼠模型 Treg/Th17 细胞平衡的影响。方法 将34只 C57BL/6 小鼠随机分成4组: 正常对照组(PBS组, $n=5$)、假手术对照组(Sham组, $n=5$)、脓毒症组(CLP组, $n=12$)及坏死细胞处理组(Nec组, $n=12$)。PBS组为正常小鼠, 腹腔注射200 μ l PBS一次, Sham组小鼠手术分离盲肠末端后, 不进行结扎穿孔; CLP组小鼠用盲肠结扎穿孔法(CLP)建立脓毒症模型; Nec组小鼠预先腹腔注射 2×10^7 个坏死细胞, 第5天再行盲肠结扎穿孔。所有小鼠于制备CLP模型后2周处死, 流式细胞仪检测外周血、脾脏和胸腺中CD4⁺Foxp3⁺ Treg细胞以及CD4⁺IL17A⁺ Th17细胞比例。结果 CLP组脾脏中Th17比例及Treg/Th17比值均显著高于PBS组及Sham组($P<0.01$); CLP组小鼠胸腺内Treg比例显著低于Sham组($P<0.01$); 而预输注坏死细胞, 可逆转上述CLP手术后小鼠体内Th17比例、Treg比例及Treg/Th17的比例失衡($P<0.05$)。结论 预输注坏死细胞可以逆转脓毒症小鼠体内Treg/Th17细胞亚群的失衡。

关键词: 脓毒症; 调节性T细胞; Th17细胞; 坏死细胞

Transfusion of necrotic cells redresses regulatory T cell and Th17 cell imbalance in septic mice

GU Dongsheng^{1,2}, XIONG Lu³, HAN Yanping¹, SUN Erwei¹¹Department of Rheumatism and Immunity, Third Affiliated Hospital, Southern Medical University, Guangzhou 510630, China;²Department of Urinary Surgery, 421 Hospital of PLA, Guangzhou 510318, China; ³Guangzhou Aier Eye Hospital, Guangzhou 510080, China

Abstract: Objective To investigate the effect of transfusion of necrotic cells on regulatory T (Treg) and Th17 cell balance in septic mice. **Method** Thirty-four C57BL/6 mice were randomized into PBS group ($n=5$), sham-operated group ($n=5$), sepsis group ($n=12$), and necrotic cell transfusion group ($n=12$) and subjected to intraperitoneal PBS injection, sham operation by separating the cecum only, cecal ligation and puncture (CLP), and injection of 2×10^7 necrotic cells 5 days before CLP, respectively. All the mice were sacrificed 2 weeks after CLP for analyzing the proportion of CD4⁺Foxp3⁺Treg cells and CD4⁺IL17A⁺ Th17 cells in the peripheral blood, spleen and thymus by flow cytometry. **Results** The percentage of Th17 cells and Treg/Th17 ratio in the spleen was significantly higher in CLP group than in the sham-operated group and PBS group ($P<0.01$). The percentage of Treg cells in the thymus was significantly lower in CLP group than in the sham-operated group ($P<0.01$). Pre-infusion of necrotic cells redressed the abnormality of Treg and Th17 cell percentages and Treg/Th17 imbalance in mice following CLP ($P<0.05$). **Conclusion** Pre-infusion of necrotic cells can reverse Treg/Th17 imbalance in septic mice.

Key words: sepsis; regulatory T cells; Th17 cells; necrotic cells

脓毒症作为重症感染,是由感染引起的全身炎症反应综合征,其发病机制涉及到全身炎症网络效应、基因多态性、免疫功能障碍等多个方面。T细胞亚群失衡,尤其是调节性T细胞(Treg)及Th17细胞的平衡,被认为在脓毒症免疫机制中有重要作用^[1-3]。有文献报道,给小鼠预先输注坏死细胞能够改变脓毒症小鼠生存率^[4-5],但其机制仍不清楚。我们采用预注射坏死细胞的方法,研究

其对脓毒症小鼠体内Treg/Th17细胞亚群平衡的影响。

1 材料和方法

1.1 实验动物及分组

8~10周龄的SPF级雄性C57BL/6小鼠34只,体重 20 ± 2 g,南方医科大学实验动物中心提供(许可证号:SCXK 粤2011-0015)。随机分成4组:正常对照组(PBS组, $n=5$)、假手术对照组(Sham组, $n=5$)、脓毒症组(CLP组, $n=12$)以及坏死细胞处理组(Nec组, $n=12$)。正常对照组腹腔注射200 μ l PBS 1次,假手术组在小鼠麻醉后,仅分离盲肠末端后,不进行结扎穿孔。脓毒症组小鼠用盲肠结扎穿孔法(CLP)建立脓毒症模型。坏死细胞处理组于5 d前预先腹腔注射 2×10^7 个坏死细胞,第0

收稿日期:2014-02-16

基金项目:国家自然科学基金(81273310);国家自然科学基金青年基金(81202359)

Supported by National Natural Science Foundation of China (81273310).

作者简介:顾冬生,博士,主治医师,E-mail: rmjy1981@163.com

通信作者:孙尔维,主任医师,博士生导师,E-mail: ewsun@263.net

天行盲肠结扎穿孔。

1.2 主要试剂与仪器设备

FITC 标记大鼠抗小鼠 CD4 单抗, Alexa Fluor647 标记大鼠抗小鼠 Foxp3 单抗, PE 标记大鼠抗小鼠 IL-17A 单抗(美国 BD); PE 标记大鼠同型对照 IgG1κ、Foxp3 检测打孔/固定液套装(美国 eBioscience); 凋亡细胞检测试剂盒(南京凯基生物); 佛波酯(PMA), 离子霉素(Ionomycin), 布雷菲德菌素 A(BFA)(美国 ENZO); BD FACScalibur™ 流式细胞仪(美国 BD)。

1.3 实验方法

1.3.1 坏死细胞制备与检测 取 8~10 周龄 C57BL/6 小鼠 3 只, 颈椎脱臼法处死, 无菌环境中取出胸腺, 5 ml 注射器平端研磨, 200 目滤网过滤, PBS 重悬细胞。调整细胞浓度至 $2 \times 10^8/\text{ml}$ 后, 平均分装两离心管, 56°C 水浴 1 h 后室温备用。取 100 μl 坏死细胞悬液加入凯基试剂盒中的缓冲液 400 μl , 混匀。加入 Annexin V-FITC 5 μl , PI 5 μl , 混匀后避光反应 5 min, 立即上流式细胞仪检测, Annexin V 与 PI 双阳性为坏死细胞。

1.3.2 脓毒症小鼠的制备 脓毒症模型的建立参考 Rittirsch 等^[6]报道的方法。1%戊巴比妥钠麻醉小鼠后, 仰卧位固定, 刮去被毛, 常规消毒腹部, 腹正中切口。进入腹腔后, 分离盲肠远端与大肠系膜, 避免损伤肠系膜血管。在盲肠远端 1/2 处用无菌 4 号丝线结扎, 并用无菌 7 号针头在盲肠远端中央处贯通穿刺, 挤出少许内容物后将盲肠推回腹腔, 逐层缝合关闭腹腔。术后立即背部皮下注射生理盐水 1 ml。自由进食饮水。根据汤耀卿等^[7]等方法及病理结果判断造模是否成功。每 24 h 记录 1 次各组存活小鼠数量, 连续随访记录 2 周。

1.3.3 CD4^+ T 细胞亚群的检测 处理后第 14 天处死所有存活小鼠, 取外周血并制备脾脏及胸腺细胞悬液, 含 10% 血清的 1640 全培养基重悬后, 加入 100 ng/ml PMA, 1 $\mu\text{g}/\text{ml}$ Ionomycin 以及 10 $\mu\text{g}/\text{ml}$ BFA, 37°C 、5% CO_2 孵箱孵育 6 h。PBS 洗涤并加入抗 CD4 抗体, 4°C 避光孵育 60 min, Foxp3 检测打孔/固定液处理 1 h, 透化工作液洗涤细胞, 300 g 离心 5 min 并弃去上清液, 残余液体分为 2 管, 分别加 IL-4 单抗、IFN- γ 单抗及对应的同型对照抗体, 避光孵育 30 min, PBS 洗涤并重悬后, 流式细胞仪检测。以 CD4^+ 细胞设门, 检测其中 $\text{CD4}^+\text{IL17A}^+$ Th17 细胞及 $\text{CD4}^+\text{Foxp3}^+\text{Treg}$ 细胞比例。

1.4 统计学分析

采用 SPSS 16.0 统计分析软件对数据进行统计分析, 脓毒症术后生存率用 Kaplan-Meier 法描述, log-rank 检验比较组间小鼠生存率的差异, 分析细胞亚群比例用采用单向方差分析, $P < 0.05$ 具有统计学意义。

2 结果

2.1 脓毒症模型鉴定及病理

小鼠行 CLP 手术后, 其活动减少, 精神萎靡, 眼角有脓性分泌物, 饮食饮水减少, 腹腔有较多渗出液。术后第 2 天死亡小鼠病理检查发现: (1) 肝淤血、局部可见肝细胞坏死, 散在炎性细胞浸润; (2) 肾间质淤血, 散在小灶性出血; (3) 肺组织有不同程度的出血、渗出、肺间质炎症细胞浸润。假手术组小鼠状态均较好, 饮食饮水正常, 无腹腔渗出液。实验结果符合小鼠脓毒症模型的基本要素, 脓毒症造模成功^[6]。

2.2 CLP 手术后小鼠的生存率

CLP 手术后第 14 天, CLP 组小鼠死亡 6 只, 存活率 50%。Nec 组小鼠死亡 7 只, 存活率 41.7%。相比下, PBS 组和 Sham 组小鼠全部存活, 存活率 100%。CLP 组与 Nec 组间生存率无统计学差异($\chi^2=4.053, P=0.132$, 图 1)。

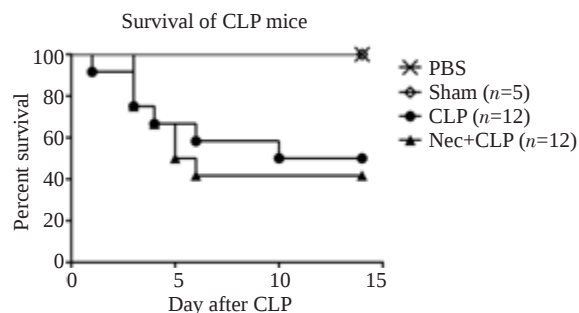


图 1 4 组小鼠 CLP 造模后 2 周生存率曲线

Fig.1 Survival rates of mice in the 4 groups 14 days after CLP.

2.3 坏死细胞的鉴定

使用小鼠胸腺细胞制备坏死细胞, 细胞悬液 56°C 水浴 1 h 后, 经流式检测, Annexin V 和 PI 双阳性细胞达到 97% 以上(图 2), 可以用于下一步实验。

2.4 坏死细胞对 CLP 小鼠体内 CD4^+ T 细胞亚群的影响

2.4.1 各组小鼠外周血中 Th17 及 Treg 细胞亚群占 CD4^+ T 淋巴细胞的比例 CLP 手术造模后第 14 天, 检测各实验组及对照组存活小鼠外周血中 Th17、Treg 细胞亚群占 CD4^+ T 淋巴细胞的比例。实验结果(表 1)显示, 与 PBS 组相比, 手术后小鼠外周血中的 Treg 细胞占 CD4^+ T 淋巴细胞的比例均有减低($P_{\text{Treg}}=0.050$)。各实验组中外周血 Th17 细胞占 CD4^+ T 细胞的比例未见统计学差异。脓毒症造模后, CLP 组及 CLP+Nec 组小鼠外周血 CD4^+ 细胞的比例均有降低($P_{\text{CD4}}=0.000$)。结果说明 Treg 细胞比例虽受到手术(创伤)影响而降低, 但脓毒症手术及坏死细胞对外周血 Treg 及 Th17 细胞比例无特殊影响。

2.4.2 各组小鼠脾脏中 Th17 及 Treg 细胞亚群占 CD4^+ T 淋巴细胞的比例 CLP 手术造模后第 14 天, 检测各组存活小鼠脾脏中 Th17 及 Treg 亚群占 CD4^+ T 细胞的比例。结果(表 2)显示, CLP 组小鼠脾脏中 Th17/CD4 比值为显著高于其他 3 组($P_{\text{Th17}}=0.008$)。手术处理后(无论 CLP 与否)小鼠脾脏 Treg 占 CD4^+ T 比例均显著低于 PBS 对照组($P_{\text{Treg}}=0.000$), 但此 3 组之间相互无统计学

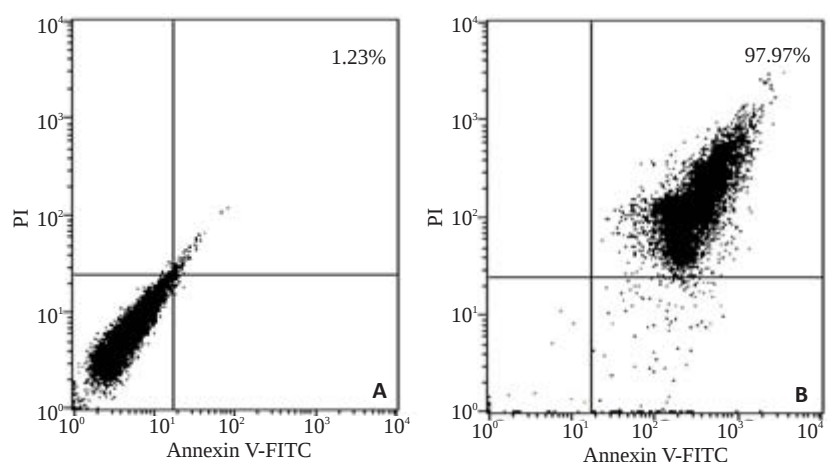


图2 56℃水浴法制备坏死细胞

Fig.2 Detection of necrotic cells in water bath at 56℃. A: Living cells; B: Necrotic cells.

差异($P>0.05$)。结果(图3、4)说明,在脓毒症可升高小鼠脾脏中Th17细胞比例,而预先注射坏死细胞能够逆转Th17细胞的增加,同时坏死细胞还会增加脾脏中CD4⁺T细胞的数目。

2.4.3 各组小鼠胸腺中Th17及Treg细胞亚群占CD4⁺T淋巴细胞的比
CLP手术造模后,检测各实验组及对照组小鼠胸腺中CD4⁺T亚群占CD4⁺T淋巴细胞的比

例。结果(表3)显示:小鼠胸腺中Treg细胞比例均存在组间差异。我们发现CLP组小鼠胸腺内Treg占CD4⁺T比例显著低于Sham组和CLP+Nec组小鼠($P<0.05$)。各实验组及对照组之间胸腺Th17细胞、CD4⁺T细胞的比例未见差异($P>0.05$)。结果说明脓毒症影响到小鼠胸腺产生Treg细胞,输注坏死细胞,可以保护胸腺内Treg细胞的产生。

2.4.4 计算各组小鼠体内Treg/Th17的比值 我们进一步计算了各组小鼠体内Treg与Th17的比例。结果(表4)显示:虽然手术后小鼠脾脏Treg/Th17比值整体降低,但与Sham组小鼠相比,CLP组小鼠脾脏内Treg/Th17比值显著降低,而输注坏死细胞可以明显逆转Treg/Th17的失衡,差异具有统计学意义($P<0.01$)。各组小鼠外周血及胸腺中,Treg/Th17比值未见统计学差异($P>0.05$,图5)。

表1 外周血中各CD4⁺T亚群占CD4⁺T细胞的比例

Tab.1 Percentages of CD4⁺T subsets in CD4⁺T cells in peripheral blood (% , Mean±SD)

T subsets/CD4 ⁺ T cells	Group				F	P
	PBS (n=5)	Sham (n=5)	CLP (n=6)	CLP+Necrotic cells (n=5)		
Th17/CD4 ⁺	1.15±0.32	0.80±0.37	0.80±0.54	0.77±0.67	0.669	0.583
Treg/CD4 ⁺	5.74±1.57	2.82±1.66 [△]	2.99±1.97 [△]	3.46±1.52 [△]	3.201	0.050
CD4 ⁺ T	39.10±8.73	42.38±3.39	27.32±4.47 ^{◇*}	26.20±5.64 ^{◇*}	10.261	0.000

[△] $P<0.05$ vs PBS group; [◇] $P<0.01$ vs PBS group; ^{*} $P<0.01$ vs Sham group.

表2 脾脏中各CD4⁺T亚群占CD4⁺T细胞中的比例

Tab.2 Percentages of CD4⁺T subsets in CD4⁺T cells in the spleen (% , Mean±SD)

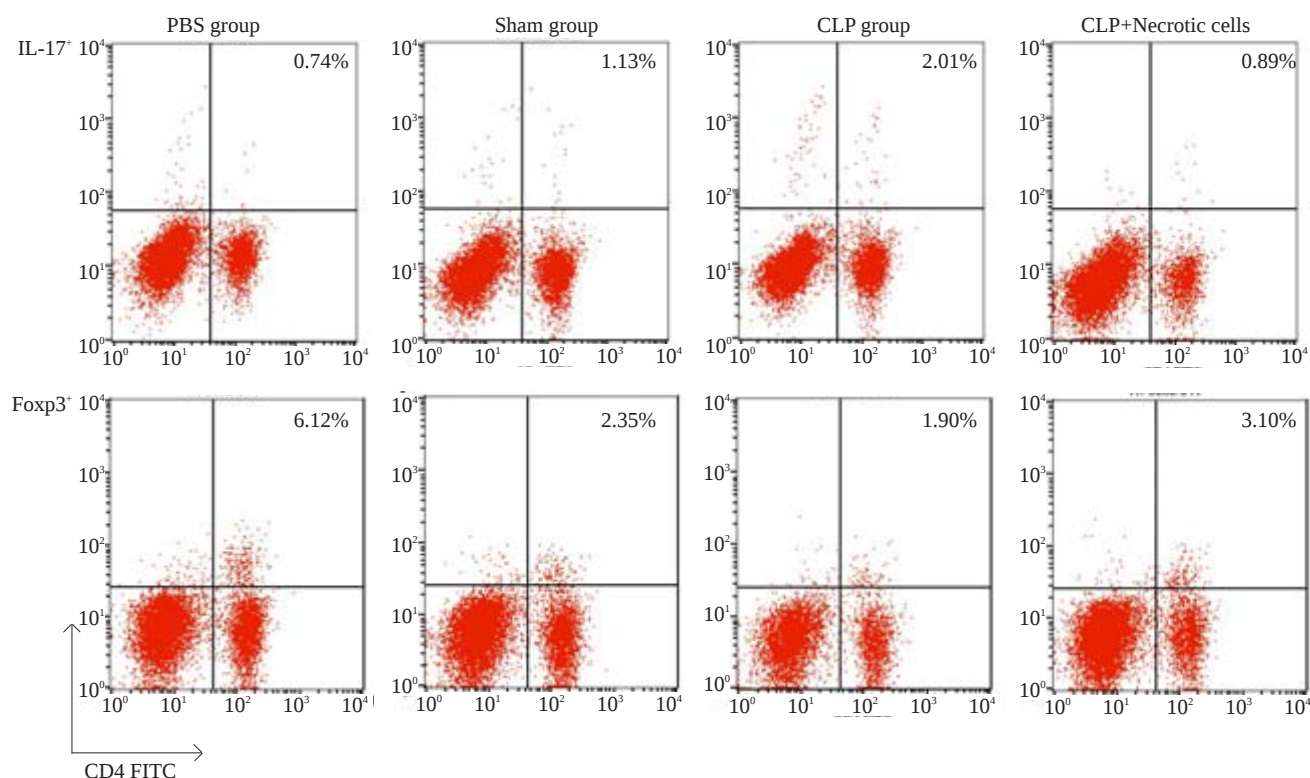
T subsets/CD4 ⁺ T cells	Group				F	P
	PBS (n=5)	Sham (n=5)	CLP (n=6)	CLP+Necrotic cells (n=5)		
Th17/CD4 ⁺	0.92±0.18 [△]	0.95±0.58 [△]	1.67±0.26	0.89±0.41 [△]	5.513	0.008
Treg/CD4 ⁺	6.37±1.99	2.68±1.45 [◇]	1.21±0.83 [◇]	2.75±1.40 [◇]	12.155	0.000
CD4 ⁺ T	23.45±2.98	22.58±2.95	20.96±4.90	28.10±4.80 ^{△*}	2.975	0.061

[△] $P<0.05$ vs PBS group; [◇] $P<0.01$ vs PBS group; ^{*} $P<0.01$ vs Sham group.

3 讨论

在脓毒症发病机制中,免疫功能紊乱是脓毒症进展的最重要的原因^[8-11]。通常在脓毒症早期,固有免疫系统激活,补体激活、大量炎性介质释放、多种免疫细胞参与疾病的发生发展,包括巨噬细胞、DC细胞、中性粒细胞、NK细胞等。在脓毒症后期,适应性免疫也参与脓毒症炎症反应中。一般认为,抗原提呈细胞(APC)在提呈

抗原的同时,可分泌细胞因子诱导初始T细胞分化为CD4⁺Th细胞,包括Th1、Th2、Th17等,以及影响Treg的产生和分化^[12-15]。在脓毒症炎症反应中,Th17则通过分泌IL-17诱导巨噬细胞、内皮细胞等细胞产生TNF- α 、IL-1 β 、IL-6等多种前炎症细胞因子/趋化因子,参与炎症反应^[11]。而Treg细胞作为负向调控细胞,在脓毒症后诱导T细胞向Th2方向分化,并介导的免疫无反应性,发

图3 脾脏中Th17及Treg占CD4⁺T细胞比例Fig.3 Percentage of Th17 and Treg cells in CD4⁺T cells in the spleen.表3 胸腺中CD4⁺T亚群占CD4⁺T细胞中的比例Tab.3 Percentages of CD4⁺T subsets in the thymuses (% , Mean±SD)

T subsets/CD4 ⁺ T cells	Group				F	P
	PBS (n=5)	Sham (n=5)	CLP (n=6)	CLP+Necrotic cells (n=5)		
Th17/CD4 ⁺	0.74±0.56	0.75±0.56	1.44±0.87	1.35±0.76	1.472	0.257
Treg/CD4 ⁺	2.01±0.61	2.52±0.63 [*]	1.48±0.45	2.35±0.58 [△]	3.683	0.033
CD4 ⁺ T	73.07±2.64	72.77±5.46	75.79±9.24	70.33±10.23	0.470	0.707

[△]P<0.05, ^{*}P<0.01 vs CLP group.

表4 各组小鼠体内Treg/Th17比例

Tab.4 Percentages of Treg and Th17 cells in the 4 groups (% , Mean±SD)

T cells balance	Group				F	P
	PBS (n=5)	Sham (n=5)	CLP (n=6)	CLP+Necrotic cells (n=5)		
Blood	5.26±1.63	3.52±0.80 [*]	3.64±1.28	5.28±1.81	2.453	0.099
Spleen	6.92±1.82	2.94±0.30 ^{*△}	0.68±0.42 [*]	3.10±1.24 ^{*△}	29.641	0.000
Thymus	4.43±3.37	4.76±3.07	1.31±0.75	2.13±1.09	7.991	0.093

^{*}P<0.001 vs PBS group; [△]P<0.01 vs CLP group.

挥着关键调节作用^[16-17]。Treg通过细胞接触机制和释放细胞因子作用于效应T细胞,发生免疫抑制,影响Th17的极化,决定着炎症反应的不同结局^[18-19]。有文献报道Treg/Th17之间存在平衡,Treg/Th17的失调和自身免疫疾病、肿瘤及慢性炎症有密切关系^[20-23]。

我们的研究发现,脓毒症小鼠体内存在Treg/Th17失衡,其脾脏中Th17比例均明显升高,胸腺中Treg比例

减少。说明脓毒症发生后机体发生强烈的促炎反应,体内Th17表达增加,抗感染免疫反应及清除病原体的能力增强。同时,脓毒症可以上调小鼠脾脏中Th17比例,导致Treg/Th17平衡向Th17方向发展。但与临床研究报道不同^[24-26],我们实验中并未发现外周Treg比例上升,脓毒症小鼠胸腺中Treg的比例反而有显著降低。考虑临床实验多检测CD4⁺CD25⁺T细胞,而活化的幼稚

T细胞也会表达CD25⁺,故其从严格意义上不属于Treg。体内主要发挥抑制功能的是自然发生的Treg,其在胸腺分化成熟,主要以转录因子Foxp3为特异性标志^[27]。以CD4⁺Foxp3⁺作为Treg标志更为准确。所以临床实验的报道与我们的结论不矛盾。

按照Hotchkiss^[5]等报道,预先输注坏死细胞可以改善脓毒症小鼠的生存率。但我们的实验结果未见生存率差异。考虑其原因,一方面我们实验的样本量相对较少($n=34$,文献中的样本均在100以上),在生存分析统计中不易体现统计学差异;另一方面,我们输注的坏死细胞数目(2×10^7)少于文献报道(5×10^7)也是可能的影响因素。不论如何,结合我们的实验结果及文献报道,预先输注坏死细胞对脓毒症小鼠生存率的干预,很有可能与其逆转脓毒症小鼠体内中Treg/Th17的失衡有关。按照Sun^[28]的观点,坏死细胞可以激发免疫反应。其在脓毒症中的保护作用及对Treg/Th17平衡的影响,是否与预激活了小鼠免疫系统仍不清楚。推测坏死细胞释放的炎性分子如HMGB-1、HSPs等,与T细胞亚群平衡有关^[29-32]。如能进一步明确坏死细胞对Treg/Th17平衡的影响机制,对脓毒症的预防及治疗具有重要意义。

参考文献:

- [1] 黄惠君, 杨军, 王国兵, 等. CD4⁺CD25⁺调节性T淋巴细胞与Th17细胞在新生儿脓毒症炎症免疫反应中的作用[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(9): 676-8.
- [2] 陈驾君, 白祥军, 李仁杰, 等. 创伤脓毒症患者外周血Th17/Treg平衡变化及临床意义[J]. 中华创伤杂志, 2012, 28(10): 885-8.
- [3] 吴铁军, 张丽娜, 亢翠翠. Treg/Th17失衡在脓毒症发病机制中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(12): 2411-3, 2422.
- [4] 刘占国, 张捷, 何懿, 等. 凋亡和坏死细胞输注对脓毒症小鼠存活率的影响[J]. 南方医科大学学报, 2011, 31(6): 960-4.
- [5] Hotchkiss RS, Chang KC, Grayson MH, et al. Adoptive transfer of apoptotic splenocytes worsens survival, whereas adoptive transfer of necrotic splenocytes improves survival in sepsis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(11): 6724-9.
- [6] Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, et al. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture[J]. Nat Protoc, 2009, 4(1): 31-6.
- [7] 汤耀卿, 李磊. 脓毒症动物模型制作方略及应用[J]. 中华实验外科杂志, 2006, 23(12): 1433-4.
- [8] 姚咏明. 免疫功能紊乱在脓毒症发病中的作用及意义[J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19(3): 138-41.
- [9] 李成荣. 脓毒症免疫功能紊乱及免疫调节治疗[J]. 临床儿科杂志, 2010, 28(1): 13-7.
- [10] Wen H, Lei Y, Eun SY, et al. Plexin-A4-semaphorin 3a signaling is required for toll-like receptor- and sepsis-induced cytokine storm[J]. J Exp Med, 2010, 207(13): 2943-57.
- [11] Rendon JL, Choudhry MA. Th17 cells: critical mediators of host responses to burn injury and sepsis[J]. J Leukoc Biol, 2012, 92(3): 529-38.
- [12] Kessel A, Bamberger E, Masalha M, et al. The role of T regulatory cells in human sepsis[J]. J Autoimmun, 2009, 32(3/4): 211-5.
- [13] Nascimento DC, Alves-Filho JC, Sonego F, et al. Role of regulatory T cells in long-term immune dysfunction associated with severe sepsis[J]. Crit Care Med, 2010, 38(8): 1718-25.
- [14] Schmidt-Weber CB, Akdis M, Akdis CA. Th17 cells in the big picture of immunology[J]. J Allergy Clin Immunol, 2007, 120(2): 247-54.
- [15] McGeachy MJ, Cua DJ. T cells doing it for themselves: TGF-beta regulation of Th1 and Th17 cells[J]. Immunity, 2007, 26(5): 547-9.
- [16] 蒋丽娜, 姚咏明. 调节性T细胞在脓毒症免疫功能紊乱中的临床意义[J]. 中华创伤杂志, 2010, 26(9): 799-801.
- [17] 栾樱译, 姚咏明. 脓毒症免疫功能障碍与调节性T细胞关系的研究进展[J]. 中华实验外科杂志, 2011, 28(1): 155-6.
- [18] Zheng SG. Regulatory T cells vs Th17: differentiation of Th17 versus Treg, are the mutually exclusive? [J]. Am J Clin Exp Immunol, 2013, 2(1): 94-106.
- [19] McGovern JL, Nguyen DX, Notley CA, et al. Th17 cells are restrained by Treg cells via the inhibition of interleukin-6 in patients with rheumatoid arthritis responding to anti-tumor necrosis factor antibody therapy[J]. Arthritis Rheum, 2012, 64(10): 3129-38.
- [20] Noack M, Miossec P. Th17 and regulatory T cell balance in autoimmune and inflammatory diseases[J]. Autoimmun Rev, 2014, 13(6): 668-77.
- [21] Li Q, Wang Y, Yu F, et al. Peripheral Th17/Treg imbalance in patients with atherosclerotic cerebral infarction[J]. Int J Clin Exp Pathol, 2013, 6(6): 1015-27.
- [22] Jamshidian A, Shaygannejad V, Pourazar A, et al. Biased Treg/Th17 balance away from regulatory toward inflammatory phenotype in relapsed multiple sclerosis and its correlation with severity of symptoms[J]. J Neuroimmunol, 2013, 262(1/2): 106-12.
- [23] Chen Z, Ding J, Pang N, et al. The Th17/Treg balance and the expression of related cytokines in Uyghur cervical cancer patients[J]. Diagn Pathol, 2013, 8: 61.
- [24] 付丹, 李成荣, 王国兵, 等. CD4⁺CD25⁺调节性T细胞/Th17细胞失衡与婴幼儿脓毒症[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2009, 29(11): 997-1001.
- [25] 邵敏, 刘宝, 王锦权, 等. 脓毒症患者CD4⁺CD25⁺调节性T细胞和Th17细胞检测的临床意义[J]. 中国急救医学, 2011, 31(7): 594-8.
- [26] 吴铁军, 张丽娜, 亢翠翠. 乌司他丁对严重脓毒症患者炎症免疫失衡的调理作用[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(4): 219-23.
- [27] Dasgupta A, Saxena R. Regulatory T cells: a review[J]. Natl Med J India, 2012, 25(6): 341-51.
- [28] Sun E. Cell death recognition model for the immune system[J]. Med Hypotheses, 2008, 70(3): 585-96.
- [29] Xia Q, Duan L, Shi L, et al. HMGB1 accelerates early acute allograft rejection via enhancing IL-17 gammadelta T cells response[J]. Transpl Int, 2014. [Epub ahead of print].
- [30] Li J, Wang FP, She WM, et al. Enhanced high-mobility group box 1 (HMGB1) modulates regulatory T cells (Treg)/T helper 17 (Th17) balance via toll-like receptor (TLR)-4-interleukin (IL)-6 pathway in patients with chronic hepatitis B[J]. J Viral Hepat, 2014, 21(2): 129-40.
- [31] Pawaria S, Binder RJ. CD91-dependent programming of T-helper cell responses following heat shock protein immunization[J]. Nat Commun, 2011, 2: 521.
- [32] Miyake Y, Yamasaki S. Sensing necrotic cells[J]. Adv Exp Med Biol, 2012, 738: 144-52.

(编辑:黄开颜)