

解毒祛瘀滋肾方干预 TLR9 信号通路对 MRL/lpr 狼疮小鼠肾脏的保护作用

张莉¹, 羊唯², 曹灵勇², 谢志军²

(1. 杭州市中医院, 杭州 310005; 2. 浙江中医药大学, 杭州 310053)

【摘要】 目的 基于对 TLR9 - MyD88 - NF - κ B 通路的干预作用, 阐明解毒祛瘀滋肾方对狼疮鼠肾脏的保护作用。方法 将 30 只 MRL/lpr 狼疮鼠随机分为模型对照组、泼尼松治疗组、中药组共 3 组, 对各治疗组进行相应的药物治疗, 疗程 8 周。采用 HE 染色法、PAS 染色法、Masson 染色法分别对 MRL/lpr 小鼠肾脏切片进行病理染色, 观察比较 3 组小鼠病理变化及治疗效果; 采用 real-time PCR 法观察比较各组小鼠 TLR - 9、MyD88、NF - κ B mRNA 表达量的差异。结果 与模型组比较, 中药组能明显改善 MRL/lpr 小鼠的肾组织病理损伤。Real-time PCR 法结果显示: 中药组 MRL/lpr 小鼠的肾组织 TLR - 9、MyD88、NF - κ B mRNA 表达均低于模型组(均为 $P < 0.05$)。结论 解毒祛瘀滋肾方对 MRL/lpr 小鼠肾脏具有保护作用, 可对其病理变化产生影响, 减轻其肾脏损害, 延缓病程, 并与解毒祛瘀滋肾方对 MRL/lpr 小鼠 TLR - 9 - MyD88 - NF - κ B 信号通路的抑制作用相关。

【关键词】 系统性红斑狼疮; MRL/lpr 小鼠; 解毒祛瘀滋肾方

【中图分类号】 R - 33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 09-0014-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.009.003

Protective action of Jie-Du-Qu-Yu-Zi-Shen prescription in treating lupus nephritis of MRL/lpr mice through inhibiting the TLR9 pathway

ZHANG Li¹, YANG Wei², CAO Ling-yong², XIE Zhi-jun²

(1. Chinese Medical Hospital of Hangzhou City, Hangzhou 310005, China; 2. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053)

【Abstract】 Objective To clarify the protective action of a Chinese medicine, Jie-Du-Qu-Yu-Zi-Shen prescription, on the lupus nephritis in MRL/lpr mice through the TLR9-MyD88-NF- κ B signaling pathway. **Methods** Thirty MRL/lpr mice were randomly divided into model group, prednisone group, and traditional Chinese medicine (TCM) group ($n = 10$). Each treatment group received appropriate treatment or drug therapy for 8 weeks. The pathological changes of mouse renal tissues in the three groups were examined and compared using HE, PAS, and Masson staining. Real-time PCR was performed to compare the expression of TLR-9, MyD88, NF- κ B mRNA in each group of the mice. **Results** Compared with the model group, the Chinese medicine Jie-Du-Qu-Yu-Zi-Shen prescription significantly improved the renal pathological tissue damages in the MRL/lpr mice. Real-time PCR assay showed that the expression levels of TLR-9, MyD88, NF- κ B mRNA in the TCM group were significantly lowered ($P < 0.01$ for all). The differences between the TCM group and prednisone group were statistically not significant ($P > 0.05$). **Conclusions** Jie-Du-Qu-Yu-Zi-Shen prescription has protective effect on the kidney of MRL/lpr mice, alleviating its pathological changes, and delaying the

[基金项目] 高等学校博士学科点专项科研基金(No. 20123322120001); 国家自然科学基金(No. 81273680)。

[作者简介] 张莉(1979 -), 硕士, 主治医师, E-mail: tomorrow123go@163.com。

[通讯作者] 谢志军, 副研究员, 硕士生导师, E-mail: xzj575@163.com。

disease course, probably, through inhibiting the TLR-9-MyD88-NF- κ B signaling pathway in the kidneys of MRL/lpr mice.

【Key words】 Systemic lupus erythematosus; Lupus nephritis; MRL/lpr mice; Jie-Du-Qu-Yu-Zi-Shen prescription

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种可累及多系统的以免疫性炎症为突出表现的自身免疫性疾病。肾脏损害是其重要的临床表现。目前关于 SLE 的发病原因及机理仍不十分明确,研究发现^[1], Toll 样受体 9 (TLR-9) 信号通路在该病的发生中起着重要作用,细菌、病毒和凋亡细胞作为 TLR-9 的外源性、内源性配体,可被其特异性识别,继而激活多种细胞因子转录表达,诱导 B 细胞多克隆增殖活化,产生自身抗体。前期研究表明,解毒祛瘀滋肾方治疗 SLE 具有较好的疗效。本研究以 TLR-9 通路为切入点,采用病理学及免疫分子生物学实验手段进行研究,以阐明解毒祛瘀滋肾方治疗 SLE 增效减毒作用的机理,为临床运用中医药减少 SLE 的损伤及新型药物的开发提供实验依据及理论基础。

1 材料和方法

1.1 动物

SPF 级 MRL/lpr 狼疮小鼠,雌性,14 周龄,体重(33.90 ± 3.02)g,共 30 只,由中科院上海斯莱克实验动物有限责任公司从美国 Jackson 实验室引种培育[SCXK 沪 2012 - 0002];饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心 SPF 小鼠屏障饲养室 [SYXK (浙)2013 - 0184],室温 20℃,相对湿度 40% ~ 60%,每日光照 12 h,自由摄食、饮水,均依 3R 原则进行人道关怀。

1.2 主要药品与试剂

泼尼松片:5 mg/片(浙江仙琚制药股份有限公司,批号:111129)。药品剂量根据人和动物用量转换公式确定,药品溶液的配制:(1)泼尼松混悬液:将泼尼松片溶于 0.9% 的生理盐水,配制成 2.162 mg/mL 混悬液。(2)中药汤剂:将解毒祛瘀滋肾方中药生地 15 g、炙鳖甲 12 g、炒米仁 15 g、青蒿 12 g、赤芍 12 g、积雪草 15 g、升麻 9 g、佛手 9 g、白花蛇舌草 15 g、生甘草 6 g 煎煮浓缩成生药含量 1.82 g/mL。糖原染色液(PSA)试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司),Masson 三色染色液试剂盒(珠海贝索生物技术有限公司)。

1.3 分组与用药品

小鼠在 SPF 级封闭状态下正常饲料喂养,观察并记录体重、毛色,监测尿蛋白变化。适应性喂养 1

周后(8 周龄)按体重将 30 只 MRL/lpr 小鼠随机分成 3 组,即模型组、泼尼松治疗组、中药(解毒祛瘀滋肾方)组,每组 8 只小鼠。模型组给予生理盐水 0.2 mL/d 灌胃、泼尼松治疗组给予上述相应的泼尼松混悬液 10 mg/kg·d 灌胃、中药组给予解毒祛瘀滋肾方中药复方浓缩液 24 g/kg·d 灌胃。

1.4 标本采集

连续饲养用药 8 周后处死全部小鼠,处死前 1 d 晚上禁食,于次日上午 9:00 ~ 10:00,分离肾脏,右侧肾脏液氮冷冻后, -80℃ 超低温冰箱冻存,左侧肾脏用 4% 中性甲醛溶液固定,备用。

1.5 肾组织病理学检查

肾组织经固定浸腊与石蜡包埋后以轮转式切片机将蜡块切成薄片,厚度 3 ~ 5 μ m,并移入(70 ~ 80)℃温箱中烘烤 40 ~ 50 min;然后分别进行苏木精-伊红(HE)染色、糖原染色(PSA)和 Masson 三色染色,中性树胶封片。

1.6 Real-time PCR 法检测肾组织 TLR9、MyD88、NF- κ B mRNA 水平

取冻存的各组小鼠肾组织 100 mg 匀浆,提取总 RNA,RT-PCR 合成 cDNA,real-time PCR 检测 TLR9、MyD88、NF- κ B mRNA 水平,以 GAPDH 为内参,TLR9、MyD88、NF- κ B mRNA 和 GAPDH 引物序列见表 1。

表 1 TLR9、MyD88、NF- κ B mRNA 和 GAPDH 引物序列

Tab. 1 Primer sequences of TLR9、MyD88、NF- κ B mRNA and GAPDH

引物	序列
TLR9	5' -TTCTCAAGACGGTGGATC-3'
	5' -GGCGCACTCGCACATAG-3'
MyD88	5' -TCCTGCGGTTTCATCACT-3'
	5' -GGGCCCTTCCTAGACTTTG-3'
NF- κ B	5' -GCCGTGGAGTACGACAA-3'
	5' -CGGTTTCCCATTTAGTATGT-3'
GAPDH	5' -ATCCGTAAGACCTCTATGCCAACA-3'
	5' -GCCGTGGAGTACGACAA-3'

2 结果

2.1 各组肾组织病理变化

各组 MRL/lpr 小鼠肾组织 HE 染色显示:模型组呈现中到重度系膜细胞增多,系膜基质显著增宽,肾小球呈节段性硬化,毛细血管内皮细胞大量增生,管腔狭窄明显,病变程度在各组中最为严重;

中药组可见轻度系膜细胞增多,系膜基质增宽,少量毛细血管内皮细胞增生,毛细血管管腔狭窄;泼尼松组系膜区轻度增宽,肾小球系膜细胞节段性增多,肾间质炎症细胞浸润不明显,其病变为各组最轻。PAS 染色显示:模型组呈现明显的阳性反应,系膜细胞及基质均明显增多,肾小球系膜、基底膜以及肾小管均可见大量淋巴细胞浸润,病变程度在各组中最为严重。中药组呈阳性反应,系膜细胞及基质轻度增多,系膜基质增宽,少量肾小球系膜、基底膜以及肾小管可见淋巴细胞浸润。泼尼松组呈阳性反应,系膜细胞及基质增多不明显,肾小球系膜、基底膜、以及肾小管淋巴细胞浸润不明显,为各组病变最轻。Masson 染色显示:模型组可见大量蓝色胶原物沉积,肾小球呈现节段性硬化,大量细胞增生,使肾小球呈分叶状,肾间质纤维化,肾小球毛细血管管壁显著增厚,肾小球系膜、基底膜可见大量嗜复红物沉积,病变程度为各组中最重。中药组可见少量蓝色胶原物沉积,肾小球毛细血管管壁无明显增厚,肾小球系膜、基底膜可见少量嗜复红物沉积。泼尼松组可见少量蓝色胶原物沉积,肾小球毛细血管管壁无明显增厚,肾小球系膜、基底膜嗜复红物沉积不明显,病变为各组最轻。详见图 1~3 (见封二)。

2.4 解毒祛瘀滋肾方对 MRL/lpr 小鼠 TLR9、MyD88、NF- κ B mRNA 的影响

Real-time PCR 法检测肾组织的结果显示:中药组 TLR-9 mRNA、MyD88 mRNA、NF- κ B mRNA 水平均显著低于模型组 ($P < 0.01$);泼尼松组 TLR-9 mRNA、MyD88 mRNA、NF- κ B mRNA 水平均显著低于模型组 ($P < 0.01$);中药组与泼尼松组 TLR-9 mRNA、MyD88 mRNA、NF- κ B mRNA 水平的差异无统计学意义 ($P > 0.05$) (图 4)。

3 讨论

SLE 该病多发于 15~40 岁中、青年女性,男女发病比例为 1:7~9,肾脏损害为 SLE 常见的较严重的并发症,同时为导致 SLE 患者死亡的重要原因之一。临床肾脏受累者可见于 2/3 狼疮患者,一般认为 30 岁以下患者肾脏受累率高,大部分肾损害发生于皮疹、关节炎等全身受累之后,约 1/4 病人以肾脏症状为首发表现。约 75% 的 SLE 患者可出现蛋白尿,血尿,管型尿及其他肾功能损害,约 95% SLE 患者光镜下病理检查可出现异常^[2,3]。目前关于 SLE

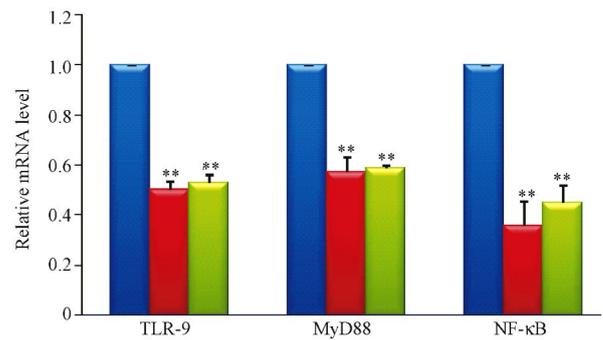


图 4 肾组织 TLR-9/MyD88/NF- κ B mRNA 水平比较 (RT-PCR) (与模型组比较, ** $P < 0.01$)。

Fig. 4 Comparison of mRNA levels of TLR 9/MyD88/NF- κ B in the mouse renal tissues determined by RT-PCR.

Compared with the model group, ** $P < 0.01$.

的发病机理仍然不是十分明确,但多数认为与感染、遗传、性激素、环境、免疫紊乱等多种因素有关,但无论哪种致病因素,最终均需通过使淋巴细胞过度活化,致使免疫复合物沉积在肾脏而导致肾脏的继发性损害。而细菌、病毒和凋亡细胞作为 TLR-9 的外源性、内源性配体,可被其特异性识别,继而激活多种细胞因子转录表达,诱导 B 细胞多克隆增殖活化,产生自身抗体。

中医认为其病因病机主要为先天禀赋不足,或热毒侵犯人体,或七情内伤,五志过及,饮食劳倦而生内热,煎熬阴液最终导致瘀热。阴虚、瘀热互结为本病重要病机,由于本病病程长,常在后期出现本虚标实,虚实兼夹的病机^[4]。中医临床治疗本病常用清热解毒,活血化瘀,益肾养阴之法。有研究显示^[5],解毒祛瘀滋肾方配合糖皮质激素等治疗 SLE 可减轻西药的副作用,减少并发症,提高患者生活质量。

Toll 样受体 (TLRs) 信号通路是固有免疫中的一个非常重要的通路^[6]。多种因素导致的异常凋亡的细胞产物可与多种细胞的 TLRs 结合,促进炎症细胞因子产生,并激活 B 细胞产生多种自身抗核抗体,如抗 dsDNA 抗体等。抗 dsDNA 抗体与 SLE 疾病活动及狼疮肾炎有显著相关性^[7]。SLE 患者肾组织可见抗原抗体复合物及补体沉积,肾小球存在单核细胞/巨噬细胞浸润^[8,9]和淋巴细胞浸润^[10]。研究表明^[11-13],MCP-1、IL-8 等趋化因子导致的炎性细胞浸润是狼疮肾炎的重要病理机制。TLRs 在炎性细胞分泌 MCP-1、IL-8 等趋化因子中发挥了重要作用。TLR9 主要存在于细胞内囊泡,配体活化后

可激活 NF- κ B, 产生多种细胞因子、趋化因子和粘附分子。增生性和膜性狼疮肾炎的肾小球和小管间质高表达 TLR-9, 表明 TLR-9 可促进狼疮患者的肾脏损伤^[14-16]。从 SLE 患者提纯的 DNA 抗原抗体复合物中的 DNA 平均序列长度为 180 bp, 与凋亡细胞的染色体裂解片段长度相符, 其中的 CpG 二核苷酸出现频率是健康人的 5~6 倍^[17]。TLR-9 可特异性结合微生物及哺乳动物 CpG DNA^[18-20]。活动性狼疮肾炎患者血清提纯的包含非甲基化 CpG DNA 序列的 DNA 抗原抗体复合物可通过 TLR-9 通路刺激 B 细胞和浆细胞样树突状细胞(pDC) 活化并分泌趋化因子(MCP-1、IL-8 等)和细胞因子^[21, 22]。但 DNA 抗原抗体复合物如何通过 TLR-9 通路刺激狼疮肾系膜细胞活化并分泌趋化因子未见报道。

本研究基于对 TLR-9 信号通路, 对解毒祛瘀滋肾方对 MRL/lpr 狼疮样小鼠的肾脏保护作用进行了研究, 结果表明: 模型组小鼠肾组织 HE 染色可见重度系膜细胞增生, 系膜基质增宽, 肾小球呈节段性硬化, 毛细血管管腔明显狭窄, 细胞外基质可见大量炎性细胞浸润, PAS 染色示系膜区显著增宽, 系膜细胞及基质均明显增多, 基底膜可见淋巴细胞浸润, Masson 染色示大量蓝色胶原物沉积, 肾小球呈现节段性硬化, 大量细胞增生, 使肾小球呈分叶状, 肾间质纤维化, 肾小球毛细血管管壁显著增厚, 肾小球系膜、基底膜可见大量嗜复红物沉积, 而中药组及泼尼松组病理表现明显减轻, 可见解毒祛瘀滋肾方 MRL/lpr 小鼠肾脏病理损伤具有明显的改善作用。进一步研究显示, 解毒祛瘀滋肾方能明显抑制 MRL/lpr 小鼠肾脏中 TLR-9、MyD88、NF- κ B mRNA 水平(与模型组比较, 其差异均具有统计学意义, 且均为 $P < 0.01$), 且中药组与泼尼松组相比无显著差异($P > 0.05$)。说明解毒祛瘀滋肾方与泼尼松均能显著影响 MRL/lpr 小鼠肾脏中 TLR-9、MyD88、NF- κ B mRNA 水平, 从而发挥其肾脏保护作用。

在本研究的基础上, 我们将进一步研究解毒祛瘀滋肾方是如何抑制 TLR-9 信号通路而发挥作用, 并进一步研究该方是否对其它 TLR 家族成员具有抑制作用。

参考文献:

[1] Sato Y, Miyata M, Nishimaki T, et al. CpG motif-containing DNA fragments from sera of patients with systemic lupus erythematosus proliferate mononuclear cells in vitro [J]. J

Rheumatol, 1999, 26(2): 294-301.

- [2] 顾越英. 系统性红斑狼疮诊治指南(草案) [J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(8): 508-513.
- [3] 中华医学会风湿病学分会. 系统性红斑狼疮诊治指南(草案) [J]. 中华风湿病学杂志, 2003, 7(8): 508-513.
- [4] 张蕾, 杨霓芝. 杨霓芝教授治疗狼疮性肾炎经验 [J]. 云南中医中药杂志, 2010, 31(2): 6-7.
- [5] 温成平, 范永升, 李永伟, 等. 中西医结合治疗系统性红斑狼疮的增效减毒作用研究 [J]. 浙江中医药大学学报, 2007, 31(3): 305-309.
- [6] Mulla MJ, Brosens JJ, Chamley LW, et al. Antiphospholipid antibodies induce a pro-inflammatory response in first trimester trophoblast via the TLR4/MyD88 pathway [J]. Am J Reprod Immunol, 2009, 62(2): 96-111.
- [7] Migliorini P, Baldini C, Rocchi V, et al. Anti-Sm and anti-RNP antibodies [J]. Autoimmunity, 2005, 38: 47-54.
- [8] Chan RW, Lai FM, Li EK, et al. Expression of chemokine and fibrosing factor messenger RNA in the urinary sediment of patients with lupus nephritis [J]. Arthritis Rheum, 2004, 50: 2882-2890.
- [9] Chan RW, Lai FM, Li EK, et al. The effect of immunosuppressive therapy on the messenger RNA expression of target genes in the urinary sediment of patients with active lupus nephritis [J]. Nephrol Dial Transplant, 2006, 21: 1534-1540.
- [10] Kuroiwa T, Lee EG. Cellular interactions in the pathogenesis of lupus nephritis: the role of T cells and macrophages in the amplification of the inflammatory process in the kidney [J]. Lupus, 1998, 7: 597-603.
- [11] Haberstroh U, Pocock J, Gomez-Guerrero C, et al. Expression of the chemokines MCP-1/CCL2 and RANTES/CCL5 is differentially regulated by infiltrating inflammatory cells [J]. Kidney Int, 2002, 62: 1264-1276.
- [12] Segerer S, Nelson PJ, Schlondorff D. Chemokines, chemokine receptors, and renal disease: from basic science to pathophysiologic and therapeutic studies [J]. J Am Soc Nephrol, 2000, 11: 152-176.
- [13] Kelley VR, Rovin BH. Chemokines: therapeutic targets for autoimmune and inflammatory renal disease [J]. Springer Semin Immunopathol, 2003, 24(4): 411-421.
- [14] Papadimitraki ED, Tzardi M, Bertsias G, et al. Glomerular expression of toll-like receptor-9 in lupus nephritis but not in normal kidneys: implications for the amplification of the inflammatory response [J]. Lupus, 2009, 18(9): 831-835.
- [15] Summers SA, Steinmetz OM, Ooi JD, et al. Toll-like receptor 9 enhances nephritogenic immunity and glomerular leukocyte recruitment, exacerbating experimental crescentic glomerulonephritis [J]. Am J Pathol, 2010, 177(5): 2234-2244.
- [16] Summers SA, Hoi A, Steinmetz OM, et al. TLR9 and TLR4 are required for the development of autoimmunity and lupus nephritis

(下转第 38 页)

- [3] Mathew R, Gewitz MH. Pulmonary hypertension in infancy and childhood [J]. *Heart Dis*, 2000, 2: 362 – 368.
- [4] Lam CF, Peterson TE, Croatt AJ, et al. Functional adaptation and remodeling of pulmonary artery in flow-induced pulmonary hypertension [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2005, 289 (6): H2334 – H2341.
- [5] Wei L, Zhao Q, Chen A, et al. Establishment of hemodynamic pulmonary hypertension after total resection of right lung in rats [J]. *Clinical Med J China*, 2007, 14(4): 482 – 484.
- [6] Zhao K, Wang H, Hou M, et al. Preventive effects of different number of mesenchymal stem cells transplantation on lung injury in rats [J]. *Chin J Comp Med*, 2012, 22(1): 34 – 38.
- [7] Rungtatscher A, Hallström S, Linardi D, et al. S-nitroso human serum albumin attenuates pulmonary hypertension, improves right ventricular-arterial coupling, and reduces oxidative stress in a chronic right ventricle volume overload model [J]. *J Heart Lung Transplant*, 2015, 34(3): 479 – 488.
- [8] Liu C, Yan Z, Fang C, et al. Establishment and comparison of two reliable hyperkinetic pulmonary hypertension models in rabbits [J]. *J Thorac Cardiovasc Surg*, 2014, 148(5): 2353 – 2359.
- [9] 张留保, 陈进贵, 刘平, 等. 不同动物颈总动脉结扎后存活率比较 [J]. *解剖科学进展*, 1997, 3(3): 277.
- [10] 张辉, 郑荣琴. 超声观察单侧颈总动脉结扎前后心血管指标变化的实验研究 [J]. *生物医学工程与临床*, 2012, 16(4): 322 – 326.

[修回日期] 2015-07-25

(上接第 13 页)

- [12] Newson MJ, Roberts EM, Pope GR, et al. The effects of apelin on hypothalamic-pituitary-adrenal axis neuroendocrine function are mediated through corticotrophin-releasing factor- and vasopressin-dependent mechanisms [J]. *J Endocrinol*, 2009, 202(1): 123 – 129.
- [13] 傅惠英, 寿旗扬, 蔡月琴, 等. 盐酸奥芬米洛对实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠下丘脑 – 垂体 – 肾上腺轴功能的影响 [J]. *甘肃中医学院学报*, 2013, 30(2): 1 – 4.
- [14] 张琰, 邓树泳, 马娜, 等. 肾虚动物模型的现代研究进展 [J]. *中国老年学杂志*, 2014, 34(3): 838 – 841.
- [15] 施玉华, 马正立, 汪丽亚, 等. 中药复方对小鼠氢化考的松模型肝切片的组织学与组织化学研究 [J]. *中医杂志*, 1983, (5): 382 – 385.
- [16] 彭成. 补肾壮阳液的药理研究 [J]. *中药药理与临床*, 1994, (特): 17.
- [17] 施玉华. 动物模型在中医药理论形态学研究中的应用 [D]. 北京: 全国中医药动物模型研讨会论文集汇编. 1993: 48.
- [18] 沈自尹. 中医肾的古今论 [J]. *中医杂志* 1997, (5): 48.
- [19] 谢启文, 王高峰, 王淑芬, 等. 现代神经内分泌学. 上海: 上海医科大学出版社, 1999: 351 – 355.
- [20] Chrousos GP, Gold PW. The concept of stress and stress system disorder [J]. *JAMM*, 1992, 267: 1244 – 1252.

[修回日期] 2015-07-25

(上接第 17 页)

- in pristane nephropathy [J]. *J Autoimmun*, 2010, 35(4): 291 – 298.
- [17] Sano H, Takai O, Harata N, et al. Binding properties of human anti-DNA antibodies to cloned human DNA fragments [J]. *Scand J Immunol*, 1989, 30(1): 51 – 63.
- [18] Hemmi H, Takeuchi O, Kawai T, et al. A Toll-like receptor recognizes bacterial DNA [J]. *Nature*, 2000, 408: 740 – 745.
- [19] Wagner H. The immunobiology of the TLR9 subfamily [J]. *Trends Immunol*, 2004, 25(7): 381 – 386.
- [20] Shi Z, Cai Z, Sanchez A, et al. A novel Toll-like receptor that recognizes vesicular stomatitis virus [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286 (6): 4517 – 4524.
- [21] Krieg AM. CpG motifs in bacterial DNA and their immune effects [J]. *Annu Rev Immunol*, 2002, 20: 709 – 716.
- [22] Means TK, Latz E, Hayashi F, et al. Human lupus autoantibody-DNA complexes activate DCs through cooperation of CD32 and TLR9 [J]. *J Clin Invest*, 2005, 115: 407 – 417.

[修回日期] 2015-07-25