

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2018.011.006
文章编号: 1005-8982 (2018) 011-0027-06

TGF- β_1 对 $\gamma\delta$ T 细胞 TLR-4 受体及 IL-2、IFN- γ 水平的影响

杜发旺¹, 刘红梅¹, 何正光¹, 杜先智², 罗晓斌¹

(1. 四川省遂宁市中心医院 呼吸内科, 四川 遂宁 629000; 2. 重庆医科大学附属第二医院 呼吸内科, 重庆 400010)

摘要: **目的** 探讨转化生长因子 β_1 (TGF- β_1) 对 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞 Toll 样受体 4 (TLR-4) 蛋白表达的影响, 及 TGF- β_1 对 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞分泌淋巴因子白细胞介素 2 (IL-2)、干扰素 γ (IFN- γ) 的影响。**方法** 从健康志愿者外周血中分离纯化 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞, 并用外源性 TGF- β_1 、脂多糖 (LPS) 刺激 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞, 分为 4 组培养: 空白对照组、LPS 组、LPS+TGF- β_1 组、TGF- β_1 组。培养 12 d 后采用酶联免疫吸附法检测淋巴因子 IFN- γ 、IL-2 的表达, Western blot 检测 TLR-4 蛋白的表达, PCR 检测 TLR-4 基因的转录。**结果** 与空白对照组相比, LPS 组、LPS+TGF- β_1 组 TLR-4 蛋白的转录及表达水平升高 ($P < 0.05$), 淋巴因子 IL-2 和 IFN- γ 的表达增加; TGF- β_1 组 TLR-4 蛋白的表达、转录及 IL-2 的表达降低 ($P < 0.05$)。与 LPS 组相比, LPS+TGF- β_1 组 TLR-4 蛋白的转录及表达、淋巴因子 IL-2 和 IFN- γ 的表达降低 ($P < 0.05$)。**结论** TGF- β_1 能抑制 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞 TLR-4 蛋白的表达, 降低 $\gamma\delta$ T 淋巴细胞分泌 IFN- γ 、IL-2 淋巴因子的水平。

关键词: TGF- β_1 ; $\gamma\delta$ T 淋巴细胞; TLR-4; IL-2; IFN- γ

中图分类号: R392

文献标识码: A

TGF- β_1 down-regulates expression of TLR-4 and reduces secretion of IL-2 and IFN- γ in $\gamma\delta$ T cells

Fa-wang Du¹, Hong-mei Liu¹, Zheng-guang He¹, Xian-zhi Du², Xiao-bin Luo¹

(1. Department of Respiratory Medicine, Suining Central Hospital, Suining, Sichuan 629000, China;

2. Department of Respiratory Medicine, the Second Affiliated Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400010, China)

Abstract: **Objective** To research the influence of exogenous TGF- β_1 on the expression of TLR-4 and inflammatory cytokines (IL-2 and IFN- γ) in the $\gamma\delta$ T cells. **Methods** Peripheral $\gamma\delta$ T cells were collected from healthy human blood, the exogenous TGF- β_1 and LPS were co-cultured with $\gamma\delta$ T cells which were divided into four groups including blank control group, LPS group, LPS+TGF- β_1 group and TGF- β_1 group. After 12 days the expressions of TLR-4 were detected by PCR and Western blot, the expression levels of IL-2 and IFN- γ were determined by ELISA. **Results** Compared with the blank control group, the expressions of TLR-4 and the levels of IL-2 and IFN- γ were markedly higher in the LPS and LPS+TGF- β_1 groups ($P < 0.05$), but the expressions of TLR-4 and IL-2 were lower in the TGF- β_1 group ($P < 0.05$). Compared with the LPS group, the expressions of TLR-4 and the levels of IL-2 and IFN- γ were significantly lower in the LPS+TGF- β_1 group ($P < 0.05$). **Conclusions** TGF- β_1 can down-regulate the expression of TLR-4 protein and reduce the secretion of IL-2 and IFN- γ in $\gamma\delta$ T cells.

Keywords: TGF- β_1 ; $\gamma\delta$ T cell; TLR-4; IL-2; IFN- γ

收稿日期: 2017-04-26

[通信作者] 罗晓斌, E-mail: 278139440@qq.com

糖尿病患者血清转化生长因子 β_1 (transforming growth factor- β_1 , TGF- β_1) 浓度高于健康人群^[1-2]。TGF- β_1 能抑制免疫细胞的增殖与分化,介导炎症反应与机体免疫应答,但作用机制仍不明确^[1-3]; $\gamma\delta$ T 细胞除直接杀死病原菌外,还能分泌多种淋巴因子,在机体的细胞免疫、体液免疫中发挥重要作用^[4-5]。为探讨 TGF- β_1 对 $\gamma\delta$ T 细胞功能的影响,本研究采用脂多糖 (Lipopolysaccharide, LPS) 作用于 $\gamma\delta$ T 细胞,加入 TGF- β_1 干预,检测 $\gamma\delta$ T 细胞分泌淋巴因子干扰素 γ (Interferons- γ , IFN- γ)、白细胞介素 2 (Interleukin 2, IL-2) 的变化,观察 TGF- β_1 对 $\gamma\delta$ T 细胞 Toll 样受体 4 (Toll like receptor 4, TLR-4) 表达的影响,从细胞信号通路的角度探讨 TGF- β_1 抑制细胞炎症反应的可能机制。

1 材料与方法

1.1 材料

RPMI 1640 干粉剂 (美国 Gibco 公司),胎牛血清、LPS、TGF- β_1 、酶联免疫吸附法 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒购自美国 Sigma 公司, RNA 提取、cDNA 制取、逆转录聚合酶链反应 (reverse transcription-polymerase chain reaction, RT-PCR) 等相关试剂购自日本 TaKaRa 公司, PCR 引物 (大连宝生生物工程有限公司), Western blot 检测相关试剂盒 (上海碧云天生物技术有限公司),淋巴细胞分离 (中国生命科学研究院), Anti-human $\gamma\delta$ T-TCR - FITC、阴性空白对照试剂 Mouse IgG1 K Isotype Control 购自美国 eBioscience 公司, TLR-4 抗体 (美国 Abcom 公司)。

1.2 方法

1.2.1 $\gamma\delta$ T 细胞的获取 取健康志愿者外周血 100 ml, 使用肝素抗凝, 采用 Ficoll 密度梯度离心法分离出单个核细胞^[3], 将所得的外周血单个核细胞细胞用 PBS 调整细胞浓度至 1×10^8 个/ml, 加入 Anti-human $\gamma\delta$ T-TCR - FITC 抗体标记的 $\gamma\delta$ T 细胞, 恒温培养箱孵育 30 min 后离心, 以 Mouse IgG1 K Isotype Control 为阴性空白对照, 使用流式细胞仪分离、纯化 $\gamma\delta$ T 细胞。

1.2.2 不同浓度的 TGF- β_1 刺激 $\gamma\delta$ T 细胞 将分离纯化的 $\gamma\delta$ T 细胞培养于 6 孔板中, 每组设置 3 个复孔, 重复 3 次。在 6 孔板中分别加入不同浓度的 TGF- β_1 , 使 TGF- β_1 终浓度分别为 0、5、10、20 和 50 mmol/L。在每孔中加入浓度为 300 pg/ml 的唑来膦酸, 并将 6 孔板置于 37℃、5%CO₂ 恒温培养箱, 换细胞培养液 1 次/2 d。第 12 天, 采用 ELISA 法检测上清培养液中 IFN- γ 、IL-2 的含量, 并用 Western blot 和 PCR 检测 TLR-4 的蛋白表达及基因转录。

1.2.3 LPS、TGF- β_1 刺激 $\gamma\delta$ T 细胞 将分离纯化的 $\gamma\delta$ T 细胞培养于 6 孔板中, 每组设置 3 个复孔, 重复 3 次, 分 4 组培养: ①空白对照组; ② LPS 组 (LPS 100 ng/ml); ③ LPS+TGF- β_1 组 (LPS 100 ng/ml+TGF- β_1 20 mmol/L); ④ TGF- β_1 组 (TGF- β_1 20 mmol/L)。并在每孔中加入浓度为 300 pg/ml 的唑来膦酸, 并将 6 孔板置于 37℃、5%CO₂ 恒温培养箱, 换细胞培养液 1 次/2 d。第 12 天, 采用 ELISA 法检测上清培养液中 IL-2、IFN- γ 的含量, 并用 Western blot 和 PCR 检测 TLR-4 的蛋白表达及基因转录。

1.2.4 RT-PCR RT-PCR 检测 TLR-4 的转录。将 $\gamma\delta$ T 细胞按 1.2.2、1.2.3 中的实验步骤培养 12 d 后, 参照说明书步骤提取总 RNA、制取 cDNA、配制 PCR 反应液及 Real time 反应体系, 设置好扩增条件, 最后绘制出熔解曲线 (每组实验重复 3 次)。TLR-4 正向引物: 5'-CCTGTCCCTGAACCCATATGA-3', 反向引物: 5'-TCTAAACCAGCCAGACCTTGA-3'; 内参 GAPDH 正向引物: 5'-TGTTTCGTCATGGGTGTGAACC-3', 反向引物: 5'-CATGAGTCCTTCCACGATACC-3'。

1.2.5 Western blot 检测 Western blot 检测 TLR-4 蛋白的变化。将 $\gamma\delta$ T 细胞按照 1.2.2、1.2.3 中的实验步骤培养 12 d 后, 参照说明书提取总蛋白、检测蛋白浓度, 并调整好浓度 ($4 \mu\text{g}/\mu\text{l}$), 在沸水中加热 5 min。进行 SDS-PAGE 电泳 (加入蛋白样品 $15 \mu\text{l}$ /孔), 用 5% 脱脂奶粉封闭 1 h, 再加入按照稀释一抗 (1 : 1 200) 或内参 (1 : 3 000), 4℃恒温冰箱封闭 12 h, 次日再次洗膜 3 次, 加入 5% 脱脂奶粉加辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔二抗 (1 : 5 000), 37℃孵育 1 h, 再次洗涤后显影成像, 并用 Quantity One 软件分析各条带灰度值, 每组实验重复 3 次。

1.2.6 ELISA 法 收集 TGF- β_1 、LPS 处理的各实验组上清液, 按照 ELISA 双抗体夹心法试剂盒说明书测定上清液中 IL-2、IFN- γ 的浓度。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 16.0 统计软件, 计量资料以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 用方差分析, 方差分析的两两比较用 LSD- t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 $\gamma\delta$ T 细胞的纯度

从外周血 PBMC 中用流式细胞仪分离出的 $\gamma\delta$ T 细胞, 其纯度可达 92.54%, 该纯度可以满足 $\gamma\delta$ T 细胞的功能研究。图 1A 为同型阴性对照, 图 1B 为 $\gamma\delta$ T 细胞在外周血中占的比例 (6.25%)。见图 1。

2.2 $\gamma\delta$ T 细胞 TLR-4 mRNA 的表达

不同浓度 TGF- β_1 组 TLR-4 mRNA 的转录水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 6.826$, $P = 0.018$), TGF- β_1 对 $\gamma\delta$ T 细胞的 TLR-4 基因转录有抑制作用, 且随 TGF- β_1 浓度增加, TLR-4 mRNA 的表达呈梯度下降; 20 和 50 mmol/L TGF- β_1 组与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 2。

分组培养后, 各实验组 TLR-4 基因转录水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 8.191$, $P = 0.035$), 进一步两两比较经 LSD- t 检验, LPS 组 TLR-4 基因转录水平与空白对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); LPS+TGF- β_1 组与空白对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 但较 LPS 组 TLR-4 基因转录水平下降 ($P < 0.05$)。见图 3。

2.3 $\gamma\delta$ T 细胞 TLR-4 蛋白的表达

不同浓度 TGF- β_1 组 TLR-4 蛋白的表达水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 5.312$, $P = 0.023$), TGF- β_1 对 $\gamma\delta$ T 细胞 TLR-4 蛋白的表达有抑制作用, 且随 TGF- β_1 浓度增加, TLR-4 蛋白的表达水平呈梯度下降; 进一步两两比较经 LSD- t 检验, 20 和 50 mmol/L TGF- β_1 组与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

分组培养后, 各实验组 TLR-4 蛋白的表达水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 6.215$, $P = 0.016$), 进一步两两比较经 LSD- t 检验, LPS 组 TLR-4 蛋白表达较空白对照组升高 ($t = 4.893$, $P = 0.008$), TGF- β_1 组 TLR-4 蛋白表达较空白对照组降低 ($P < 0.05$), LPS+TGF- β_1 组 TLR-4 蛋白表达较空白对照组升高 ($P < 0.05$), 但较 LPS 组 TLR-4 蛋白表达水平下降 ($P < 0.05$)。见图 5。

2.4 IFN- γ 水平比较

不同浓度 TGF- β_1 组的 IFN- γ 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 11.298$, $P = 0.033$), TGF- β_1 抑制 IFN- γ 的表达, 且随 TGF- β_1 浓度增加, IFN- γ 水平越低; 进一步两两比较经 LSD- t 检验, 20 和 50 mmol/L TGF- β_1 组与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 6。

分组培养后, 各实验组的 IFN- γ 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 11.319$, $P = 0.039$), 进一步两两比较经 LSD- t 检验, LPS 组的 IFN- γ 表达较空白对照组增加 ($P < 0.05$), TGF- β_1 组的 IFN- γ 表达较空白对照组降低 ($P < 0.05$), LPS+TGF- β_1 组的 IFN- γ 表达较空白对照组增加 ($P < 0.05$), 但较 LPS 组的 IFN- γ 表达水平下降 ($P < 0.05$)。见图 7。

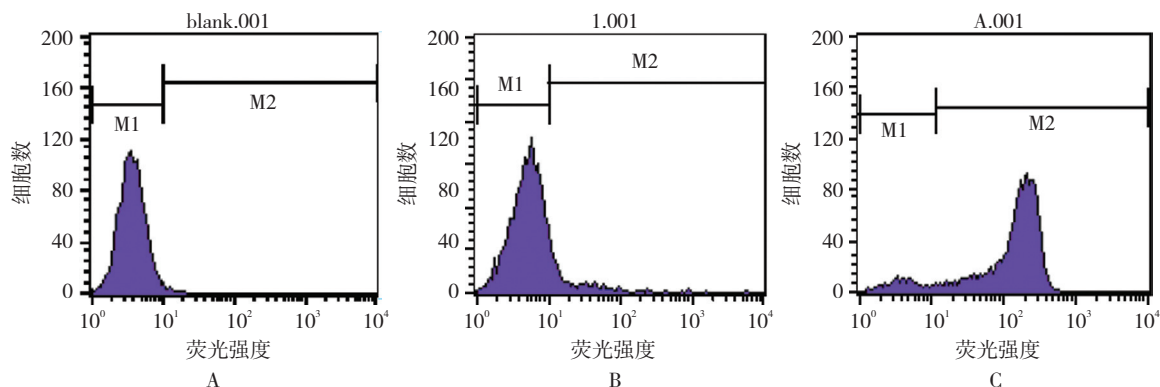
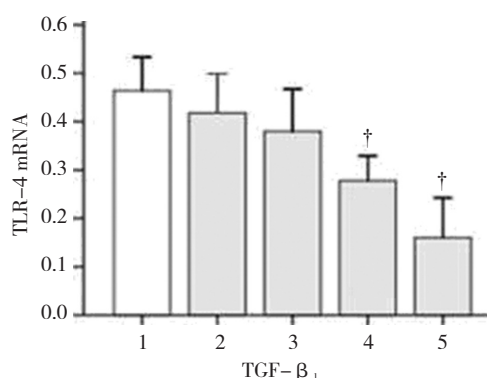
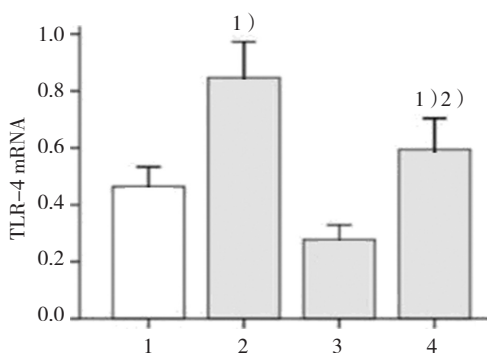


图 1 $\gamma\delta$ T 细胞的纯度



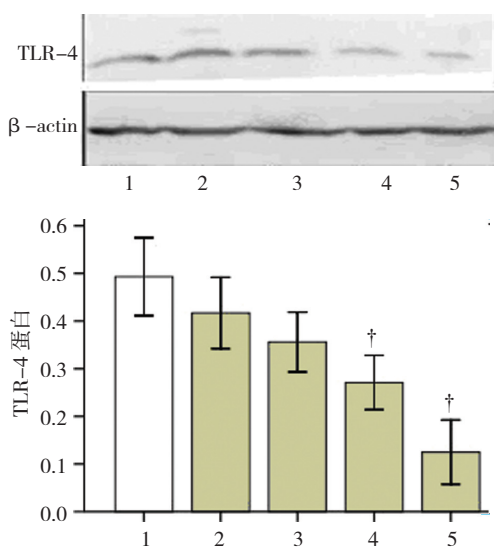
1: 0 mmol/L TGF- β_1 ; 2: 5 mmol/L TGF- β_1 ; 3: 10 mmol/L TGF- β_1 ; 4: 20 mmol/L TGF- β_1 ; 5: 50 mmol/L TGF- β_1 。† 与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, $P < 0.05$

图 2 不同浓度 TGF- β_1 对 $\gamma \delta$ T 细胞 TLR-4 mRNA 表达的影响 ($\bar{x} \pm s$)



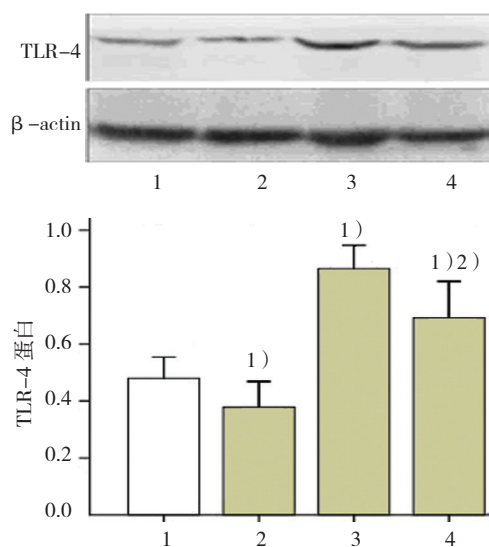
1: 空白对照组; 2: LPS 组; 3: TGF- β_1 组; 4: LPS+TGF- β_1 组。
1) 与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 LPS 组比较, $P < 0.05$

图 3 各实验组 TLR-4 基因转录水平比较 ($\bar{x} \pm s$)



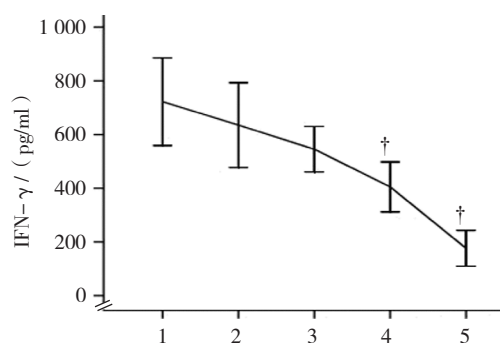
1: 0 mmol/L TGF- β_1 ; 2: 5 mmol/L TGF- β_1 ; 3: 10 mmol/L TGF- β_1 ; 4: 20 mmol/L TGF- β_1 ; 5: 50 mmol/L TGF- β_1 。† 与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, $P < 0.05$

图 4 不同浓度 TGF- β_1 对 $\gamma \delta$ T 细胞 TLR-4 蛋白表达的影响



1: 空白对照组; 2: TGF- β_1 组; 3: LPS 组; 4: TGF- β_1 +LPS 组。
1) 与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 LPS 组比较, $P < 0.05$

图 5 各实验组 TLR-4 蛋白的表达



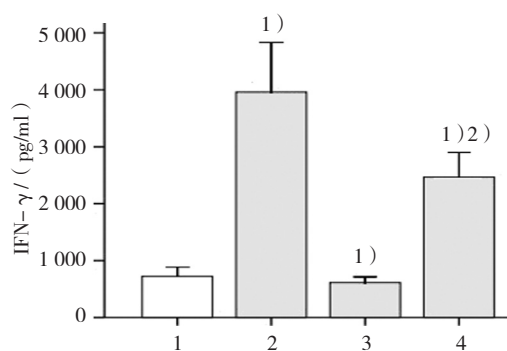
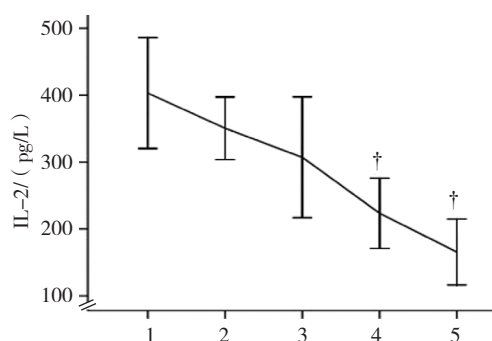
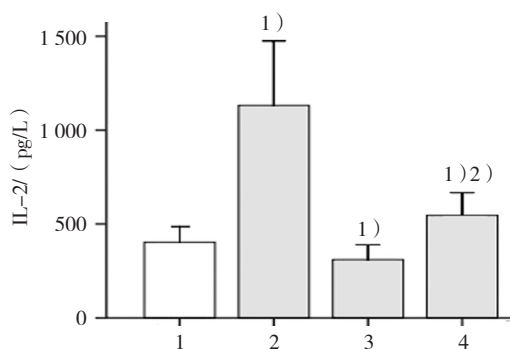
1: 0 mmol/L TGF- β_1 ; 2: 5 mmol/L TGF- β_1 ; 3: 10 mmol/L TGF- β_1 ; 4: 20 mmol/L TGF- β_1 ; 5: 50 mmol/L TGF- β_1 。† 与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, $P < 0.05$

图 6 不同浓度 TGF- β_1 对 IFN- γ 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)

2.5 IL-2 水平比较

不同浓度 TGF- β_1 组的 IL-2 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 8.817$, $P = 0.025$), TGF- β_1 抑制 IL-2 的表达, 且随 TGF- β_1 浓度增加, IL-2 水平越低; 进一步两两比较经 LSD- t 检验, 20 和 50 mmol/L TGF- β_1 组与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 8。

分组培养后, 各实验组的 IL-2 水平比较, 经方差分析, 差异有统计学意义 ($F = 7.948$, $P = 0.012$), 进一步两两比较经 LSD- t 检验, LPS 组 IL-2 的表达较空白对照组增加 ($P < 0.05$), TGF- β_1 组的 IL-2 表达较空白对照组降低 ($P < 0.05$), LPS+TGF- β_1 组的 IL-2 表达较空白对照组增加 ($P < 0.05$), 但较 LPS 组的 IFN- γ 表达水平下降 ($P < 0.05$)。见图 9。

1: 空白对照组; 2: LPS组; 3: TGF- β_1 组; 4: TGF- β_1 +LPS组。1) 与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 LPS 组比较, $P < 0.05$ 图 7 各实验组 IFN- γ 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)1: 0 mmol/L TGF- β_1 ; 2: 5 mmol/L TGF- β_1 ; 3: 10 mmol/LTGF- β_1 ; 4: 20 mmol/L TGF- β_1 ; 5: 50 mmol/L TGF- β_1 。† 与 0 mmol/L TGF- β_1 组比较, $P < 0.05$ 图 8 不同浓度 TGF- β_1 对 IL-2 水平的影响 ($\bar{x} \pm s$)1: 空白对照组; 2: LPS组; 3: TGF- β_1 组; 4: TGF- β_1 +LPS组。1) 与空白对照组比较, $P < 0.05$; 2) 与 LPS 组比较, $P < 0.05$ 图 9 各实验组 IL-2 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

3 讨论

$\gamma\delta$ T 细胞属于 CD4⁻、CD8⁻ 双阴性细胞, 抗原的提呈及激活不受 MHC 限制, 作用介于固有免疫与适应性免疫之间, 识别抗原后, 通过一系列的信号转导机制, 活化及促进炎症因子 IFN- γ 、IL-2、

TNF- α 、IL-17 等的分泌^[4-6], 直接或间接参与机体细胞免疫及体液免疫, 在抗感染早期及启动机体免疫应答过程中发挥重要作用。

IFN- γ 、IL-2 是炎症反应及免疫反应过程中的重要因子, IFN- γ 具有很强的免疫调节作用, 能够激活及增强机体免疫细胞, 并介导相关抗炎机制, 增强对病原微生物及感染细胞的杀伤作用^[5-6], 国内外大量研究显示, $\gamma\delta$ T 细胞是机体早期产生 IFN- γ 最主要的细胞, 同时也能分泌较多的 IL-2, IL-2 具有多种生物功能, 最引人关注的是能激活 T 细胞, 并维持 T 细胞的活化及增殖, 调节机体免疫应答, 促进抗体产生, 参与炎症反应及杀灭病原微生物^[7], 本研究 ELISA 结果显示, 加入 LPS 后, IFN- γ 、IL-2 水平升高, 得出相似的结论。

TGF- β_1 属于多功能的生长调节因子, 能调节免疫细胞的增殖与分化、介导炎症反应与机体免疫应答, 改变机体的免疫能力^[8-9], 近年来研究表明, TGF- β_1 能抑制 TLR-4 受体信号传导途径及诱导免疫细胞凋亡^[10-11], 但是其具体的作用机制仍需进一步探讨。Toll 样受体是一类天然免疫受体, 能识别某些病原体或者其产物的分子结构, 然后启动炎症信号通路, 促进炎症介质的释放, 激活免疫系统。TLR-4 主要识别革兰阴性菌 LPS, 激活免疫系统相关跨膜通道, 释放大量的 IFN- γ 、IL-2、TNF- α 、IL-17 等炎症因子^[12-13]。本研究使用 LPS 刺激 $\gamma\delta$ T 细胞后, TLR-4 的转录及表达增强, 且 $\gamma\delta$ T 细胞产生 IFN- γ 、IL-2 的能力提高。加入 TGF- β_1 后, IFN- γ 、IL-2 水平较 LPS 组下降, 同时 TLR-4 在基因转录及蛋白表达水平下降, 这提示 TGF- β_1 能够下调 LPS 对 $\gamma\delta$ T 细胞的刺激作用。同时观察到, $\gamma\delta$ T 细胞总数下降, 并且 $\gamma\delta$ T 细胞的增殖向 V δ 1 $\gamma\delta$ T 细胞偏倚, 提示 TGF- β_1 可能通过某种机制抑制 $\gamma\delta$ T 细胞的增殖及改变 $\gamma\delta$ T 细胞的亚群, 对 $\gamma\delta$ T 细胞起负性调节作用, 同时也在一定程度上解释了糖尿病患者免疫低下、易感的机制, 可能与免疫细胞增殖抑制、细胞亚群改变、抗炎因子减少等有关。本实验还发现, 尽管 LPS+TGF- β_1 组 $\gamma\delta$ T 细胞分泌产生的 IFN- γ 、IL-2 及 TLR-4 转录、表达水平较 LPS 组下降, 但是仍较空白对照组增加, 提示 LPS 对 $\gamma\delta$ T 细胞的刺激作用除与 TLR-4 途径密切相关外, 还可能通过其他途径对 $\gamma\delta$ T 细胞起刺激促进作用, 需进一步研究。

本实验研究发现, TGF- β_1 能减弱 $\gamma\delta$ T 细胞

分泌 IFN- γ 、IL-2 等淋巴因子,并减少 $\gamma\delta$ T 细胞 TLR-4 蛋白的转录及表达,下调 LPS 对 $\gamma\delta$ T 细胞的刺激促进作用,并改变 $\gamma\delta$ T 细胞的增殖及分化,这从一定程度解释了炎症反应、细胞免疫与细胞信号通路的关系,有助于对病原微生物的免疫逃避、机体免疫调控的理解,也从一方面解释了糖尿病患者易感染的可能机制,但其具体的抑制分子机制仍不明确,需进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] DANESHMANDI S, KARIMI M H, POURFATHOLLAH A. TGF- β_1 transduced mesenchymal stem cells have profound modulatory effects on DCs and T cells[J]. Iran J Immunol, 2017, 14(1): 13-23.
- [2] 张巧慧,李平.老年 2 型糖尿病肾病患者血清 TGF- β_1 与 IL-18 水平变化及临床意义[J].实用糖尿病杂志,2015(6): 13-14.
- [3] QIAO Y C, CHEN Y L, PAN Y H, et al. Changes of transforming growth factor beta 1 in patients with type 2 diabetes and diabetic nephropathy: a PRISMA-compliant systematic review and meta-analysis[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(15): DOI: org/10.1371/journal.pone.0583.
- [4] GU Y, HU Y, HU K, et al. Rapamycin together with TGF- β_1 , IL-2 and IL-15 induces the generation of functional regulatory $\gamma\delta$ T cells from human peripheral blood mononuclear cells[J]. J Immunol Methods, 2014, 402(1/2): 82-87.
- [5] MA H, YUAN Y, ZHAO L, et al. Association of $\gamma\delta$ T cell compartment size to disease activity and response to therapy in SLE[J]. PLoS One, 2016, 11(6): DOI: org/10.1371/journal.pone.0157772.
- [6] CORPUZ T M, STOLP J, KIM H O, et al. Differential responsiveness of innate-like IL-17- and IFN- γ -producing $\gamma\delta$ T cells to homeostatic cytokines[J]. J Immunol, 2016, 196(2): 645-654.
- [7] 韦国玉,杨莉,周红.肺炎支原体肺炎患儿治疗前后血清 IL-2, IL-10, IL-18 和 D-D 检测的临床意义[J].放射免疫学杂志,2013, 26(06): 720-722.
- [8] KUHN C, REZENDE R M, M'HAMDI H, et al. IL-6 inhibits upregulation of membrane-bound TGF- β 1 on CD4⁺T cells and blocking IL-6 enhances oral tolerance[J]. J Immunol, 2017, 198(3): 1202-1209.
- [9] HOSSEINI H, LI Y, KANELAKIS P, et al. Toll-like receptor (TLR) 4 and MyD 88 are essential for atheroprotection by peritoneal B1a B cells[J]. J Am Heart Assoc, 2016, 5(11): DOI: org/10.1371/journal.pone.002947.
- [10] AL-MULLA F, LEIBOVICH S J, FRANCIS I M, et al. Impaired TGF- β signaling and a defect in resolution of inflammation contribute to delayed wound healing in a female rat model of type 2 diabetes[J]. Mol Biosyst, 2011, 7(11): 3006-3020.
- [11] ETOH T, KIM Y P, OHSAKI A, et al. Inhibitory effect of erythraline on Toll-Like receptor signaling pathway in RAW264.7 cells[J]. Biol Pharm Bull, 2013, 36(8): 1363-1369.
- [12] KANG G D, KIM D H. Poncirin and its metabolite ponciretin attenuate colitis in mice by inhibiting LPS binding on TLR4 of macrophages and correcting Th17/Treg imbalance[J]. J Ethnopharmacol, 2016, 189: 175-185.
- [13] DING Y, YANG H L, XIANG W, et al. CD200R1 agonist attenuates LPS-induced inflammatory response in human renal proximal tubular epithelial cells by regulating TLR4-MyD88-TAK1-mediated NF- κ B and MAPK pathway[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2015, 460(2): 287-294.

(童颖丹 编辑)