

DOI: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.06.008

不同病毒载量慢性乙型肝炎患者树突状细胞 B7-H1 表达及对免疫功能的影响 *

汪 云 李红霞 冯 涛 王媛媛 白 璐 宋 波 梅夏齐

(哈尔滨医科大学附属第四医院感染科 黑龙江 哈尔滨 150001)

摘要 目的:观察慢性乙型肝炎患者外周血树突状细胞表面共刺激分子 B7-H1 的表达及对免疫功能的影响。**方法:**检测慢性乙型肝炎患者肝功能、HBV-DNA 水平,将患者分为高病毒载量高 ALT 组(A 组)、高病毒载量低 ALT 组(B 组)、低病毒载量组(C 组)及正常对照组(D 组)。流式细胞术检测各组患者外周血树突状细胞表面 HLA-DR、CD80、CD86、CD83、CD1a、B7-H1 表达,酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 DC 培养上清液和混合淋巴细胞培养上清液中细胞因子 IL-12、IL-10 水平。**结果:**慢性乙肝患者的树突状细胞膜表面分子 HLA-DR、CD80、CD86、CD83、CD1a 的表达均明显降低 (A、B、C 组与 D 组比较分别为 $42.3 \pm 4.9\%$ 、 $46.7 \pm 7.0\%$ 、 $52.5 \pm 6.3\%$ vs $94.5 \pm 3.5\%$; $34.5 \pm 5.3\%$ 、 $39.9 \pm 6.4\%$ 、 $45.6 \pm 5.2\%$ vs $90.6 \pm 6.5\%$; $38.2 \pm 8.6\%$ 、 $36.1 \pm 5.4\%$ 、 $42.5 \pm 6.8\%$ vs $87.7 \pm 5.1\%$; $28.3 \pm 6.5\%$ 、 $25.6 \pm 3.4\%$ 、 $33.5 \pm 4.3\%$ vs $82.6 \pm 4.8\%$; $32.3 \pm 5.8\%$ 、 $29.3 \pm 5.3\%$ 、 $48.3 \pm 4.9\%$ vs $68.2 \pm 5.2\%$ $P < 0.05$), B7-H1 表达水平明显升高($27.48 \pm 21.4\%$ 、 $21.83 \pm 20.2\%$ 、 $15.43 \pm 10.32\%$ vs $4.23 \pm 2.2\%$ $P < 0.05$)。B7-H1 表达水平与 ALT 呈正相关,与 IL-12 水平呈负相关。**结论:**慢性乙型肝炎患者树突状细胞功能低下,其机制可能与树突状细胞高表达 B7-H1 有关。B7-H1 高表达抑制了淋巴细胞的功能,导致乙型肝炎病毒持续感染。

关键词:慢性乙型肝炎;树突状细胞;共刺激分子 B7-H1;白细胞介素-12;免疫功能

中图分类号:R512.62 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)06-1029-04

The Expression of B7-H1 on Dendritic Cell and its Effects on Immune Functions in Patients with Different HBV DNA Loads *

WANG Yun, LI Hong-xia, FENG Tao, WANG Yuan-yuan, BAI Lu, SONG Bo, MEI Xia-qi

(Department of Infectious disease of The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin, Heilongjiang, 150001, China)

ABSTRACT Objective: To observe the expression of B7-H1 on dendritic cell and its effects on immune functions in patients with chronic hepatitis B. **Methods:** 60 patients with chronic hepatitis B were enrolled and divided into three groups according to the level of HBV-DNA and ALT. Twenty healthy people were enrolled and served as controls. The expressions of CD80, CD83, CD86, HLA-DR, CD1a and B7-H1 on myeloid dendritic cells (mDC) in the peripheral blood were analyzed by flow cytometry. The level of IL-10, IL-12 in the supernatants of mixed lymphocytes reaction were detected by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). T-test was used for the statistical analysis. **Results:** The expressions of CD80, CD83, CD86, HLA-DR, CD1a on mDC in CHB patients were significantly lower than those in healthy controls and the B7-H1 expression on mDC were higher than controls. The differences were significant ($P < 0.05$). The expression level of B7-H1 was positively correlated with ALT level. **Conclusions:** The expression of B7-H1 on mDC in CHB patients is higher than those of healthy people and results in immune suppression. It may be one of the reasons for chronic HBV infection.

Key words: Chronic hepatitis B; Myeloid dendritic cells(mDC); B7-H1; IL-12; Immune functions

Chinese Library Classification(CLC): R512.62 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2014)06-1029-04

前言

乙型肝炎病毒(HBV)感染慢性化的机制至今尚未明确。研究认为,HBV 持续感染与体内树突状细胞(dendritic cell, DC)的功能下调密切相关^[1-3],但对其功能下调的发生机制尚无一致认识。B7- H1 (B7-homolog1)是新发现的重要的共刺激分子之一,也称为程序死亡分子 1 配体 -1 (programmed death -1 ligand-1, PD-L1),主要表达于树突状细胞、B 细胞、T 细胞、单核细胞和

肿瘤细胞。B7-H1 主要和程序死亡分子 -1(programmed death-1, PD-1)结合传递负调节信号,导致 T 细胞免疫功能降低^[4]。在对 HIV-1^[5]及 HBV^[6]感染者研究中发现树突状细胞表面 B7-H1 表达水平升高与细胞免疫功能低下有关,其发生机制尚不明确。本文通过研究慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者外周血 DC 细胞功能及表面 B7-H1 的表达对免疫功能的影响,探讨慢性乙型肝炎患者病毒免疫逃逸的分子机制。

* 基金项目:黑龙江省自然科学基金项目(D201076);黑龙江省教育厅基金项目(11551250)

作者简介:汪云(1966-),女,硕士生导师,副主任医师,主要研究方向:慢性乙型肝炎的发病机制,药物性肝炎的研究,

E-mail: wangyun85939563@163.com

(收稿日期:2013-09-07 接受日期:2013-10-04)

1 材料与方法

1.1 材料

巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、荧光标记的抗人 CD1a、CD80、CD83、CD86、人类白细胞抗原 HLA-DR 单克隆抗体、白细胞介素 -4 (IL-4)、肿瘤坏死因子 TNF- α 、干扰素 IFN- γ (购自美国 Chemicon 公司, 哈尔滨医科大学第四医院生物治疗中心提供); IL-12、IL-10 酶联免疫吸附试剂盒(美国 Dia-clon 公司); 淋巴细胞分离液(上海恒信化学试剂有限公司产 基 品); RPMI 1640 培养基、异硫氰酸荧光素(FITC)-Dextran(美国 Sigma 公司产品); 鼠抗人单克隆抗体 B7-H1-PE 及其同型 IgG1PE(美国 e-Biosciences 公司); 人 AB 血清(哈尔滨市市中心血站提供), FACS Clibur 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.2 研究对象

2011-02 至 2012-12 哈尔滨医科大学附属第四医院感染科门诊及住院慢性乙型肝炎患者, 年龄 18~60 岁, 诊断标准符合 2000 年修订的病毒性肝炎防治方案^[7], 除外甲、丙、戊型肝炎病毒感染, 除外自身免疫性疾病, 除外 HIV 感染及其他慢性病。近六个月内未使用干扰素、核苷类似物、免疫调节剂。

1.3 方法

1.3.1 一般指标检测 全自动生化仪检测肝功能, 酶联法检测 HBV 血清学标志和 R-T PCR 方法检测血清 HBV-DNA。根据检验结果将患者分高病毒载量组 A: HBV-DNA $>1 \times 10^6$ copy $\cdot$ mL $^{-1}$, ALT >400 U $\cdot$ L $^{-1}$; 高病毒载量组 B: HBV-DNA $>1 \times 10^6$ copy $\cdot$ mL $^{-1}$, ALT <80 U/L; 低病毒载量组 C: HBV-DNA $<1 \times 10^3$ copy $\cdot$ mL $^{-1}$, ALT <80 U $\cdot$ L $^{-1}$; 对照组 D: 健康志愿者。A、B、C、D 组每组入选 20 人。

1.3.2 PBMC 的分离 采集四组患者外周血 50 mL, 肝素抗凝 (40 U/mL)。采集后 2 h 内用密度梯度离心法获取单个核细胞以无血清 RPMI1640 悬浮沉淀细胞、计数, 调整细胞浓度到 $(4-9) \times 10^6$ mL $^{-1}$, 置于 6 孔板中, 在 37 $^{\circ}$ C、体积分数 5% 的 CO $_2$ 孵箱中温育 2 h, 去除未贴壁细胞, 获得单个核细胞。

1.3.3 DC 体外定向诱导分化和培养 按照 Roman 等^[8]分离培养 DC 的方法稍作修改。单核细胞用预温至 37 $^{\circ}$ C 的无血清 RPMI1640 清洗 3 次, 弃洗液。加入完全培养基 RPMI 1640(含

10% 胎牛血清)中, 按含 rhGM-CSF 1000 U $\cdot$ mL $^{-1}$ 和 rhIL-4 1000 U $\cdot$ mL $^{-1}$ 的终浓度加入细胞因子, 置 37 $^{\circ}$ C、体积分数 5% 的 CO $_2$ 温箱中培养。隔日半量换液 1 次 (含细胞因子 rhGM-CSF 500 U $\cdot$ mL $^{-1}$ 、rhIL-4 500 U $\cdot$ mL $^{-1}$), 第 5 天补加 TNF- α 20 μ g $\cdot$ L $^{-1}$, 共培养 7 d, 于培养第 7 天收集 DC。

1.3.4 DC 表型检测 收集培养第 7 天的 DC, PBS 洗涤, 完全培养基调整细胞浓度至 0.5×10^6 mL, 分若干管。加入荧光标记抗体及相应同型对照抗体 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 45 min, 待 DC 表面抗原抗体反应结束后 PBS 洗涤细胞 3 次, 调整终体积为 0.5 mL, 上流式细胞仪检测 CD80、CD83、CD86、HLA-DR、CD1a 和 B7-H1。

1.3.5 DC 刺激混合淋巴细胞反应 (mixed lymphocyte reaction, MLR) 取同时培养 7 d 的四组患者 DC, 用 50 mg $\cdot$ L $^{-1}$ 的丝裂霉素 C 37 $^{\circ}$ C 处理 45 min 后, PBS 洗涤 3 次, 悬浮于完全 RPMI1640 培养基中, 细胞浓度为 5×10^5 mL $^{-1}$, 分别以 5×10^3 个每孔、 1×10^4 个每孔和 5×10^4 个每孔, 加入 96 孔圆底培养板。用正常人 PBMC 作对照组, 每组各 3 个复孔, 每孔再加入同种 T 细胞 2×10^5 个, 终体积 200 μ l 每孔, 37 $^{\circ}$ C、体积分数 5% 的 CO $_2$ 条件下培养 96 h。培养结束后, 沉淀细胞吸出上清液, -20 $^{\circ}$ C 保存备检。

1.3.6 ELISA 法检测 DC 培养上清液及 MLR 上清液中细胞因子的表达水平 分别收集纯的 DC 培养上清液和 MLR 上清液, -20 $^{\circ}$ C 保存备检。按照试剂盒提供的操作步骤检测细胞因子 IL-12、IL-10。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计量资料结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组一般情况、肝功能及 HBV-DNA 水平

高病毒载量组 A 肝功能 ALT、AST、HBV-DNA 水平明显高于低病毒载量组及正常对照组, 组间比较差异显著 ($P < 0.05$)。高病毒载量组 B 肝功能 ALT、AST 与低病毒载量组 C 比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), HBV-DNA 水平与低病毒载量组 C 比较差异显著 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组一般临床资料
Table 1 General clinical data

Group	Age(year)	ALT(U/L)	AST(U/L)	HBV-DNA(copy/mL)
High group A	37.35 $\pm$ 12.36	563.26 $\pm$ 143.58	345.59 $\pm$ 223.12	(135.63 $\pm$ 127.32)10 ^{6*}
High group B	35.74 $\pm$ 9.02	45.32 $\pm$ 35.25	54.67 $\pm$ 23.36	(158.55 $\pm$ 165.87)10 ^{6*}
Low group C	32.54 $\pm$ 13.12	43.35 $\pm$ 35.27	35.25 $\pm$ 28.38	$<1 \times 10^3$
Control D	31.34 $\pm$ 8.68	23.87 $\pm$ 13.35	25.42 $\pm$ 12.41	$<1 \times 10^3$

Note: * compared with Low group C, control D $P < 0.05$.

2.2 各组外周血树突状细胞功能及 B7-H1 的表达

不同 HBV DNA 载量组慢性乙型肝炎患者 HLA-DR、CD1a、CD86、CD80 和 CD83 表达均明显低于正常人群 ($P < 0.05$)。低载量病毒组 C、高载量病毒组 B、高载量病毒组 A 树突状细胞 HLA-DR、CD1a、CD86、CD80 和 CD83 表达呈逐渐下

降趋势, 但组间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。低病毒载量组 (C 组) 患者 HLA-DR、CD1a、CD86、CD80 和 CD83 表达高于高病毒载量组 A 组、B 组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。CHB 三组患者共刺激分子 B7-H1 的表达水平明显高于正常人群, 差异有显著意义 ($P < 0.05$); 高载量病毒伴 ALT 升高组 B7-H1 表

达最高,与正常对照组及低载量病毒组比较具有统计学意义。B7-H1 水平与 ALT 水平成正相关。见表 2。

2.3 不同 HBV-DNA 载量组 CHB 患者 DC 刺激 T 细胞增殖的能力

不同 HBV DNA 载量组 CHB 患者 DC 刺激 T 细胞增殖的能力差异无统计学意义($P>0.05$),但均低于健康人刺激 T 淋巴细胞增殖的能力,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3、图 1。

表 2 CHB 患者外周血树突细胞表面 HLA-DR、CD80、CD86、CD83、CD1a、B7-H1 表达(%)

Table 2 The expressions of HLA-DR, CD80, CD86, CD83, CD1a, B7-H1 on DC in patients with CHB (%)

group	n	HLA-DR	CD80	CD86	CD83	CD1a	B7-H1
High group A	20	42.3± 4.9	34.5± 5.3	38.2± 8.6	28.3± 6.5	32.3± 5.8	27.48± 21.4*
High group B	20	46.7± 7.0	39.9± 6.4	36.1± 5.4	25.6± 3.4	29.3± 5.3	21.83± 20.2*
Low group C	20	52.5± 6.3	45.6± 5.2	42.5± 6.8	33.5± 4.3	48.3± 4.9	15.43± 10.32*
Control group D	20	94.5± 3.5	90.6± 6.5	87.7± 5.1	82.6± 4.8	68.2± 5.2	4.23± 2.2

Note: * ompared with control D $P<0.05$.

表 3 不同 DC / T 淋巴细胞时混合淋巴细胞反应中 T 细胞增殖的吸光度值($aT\pm s$)

Table 3 Absorbance value of DC/T lymphocytes MLR($aT\pm s$)

Group	DC/T lymphocyte culture supernatant			
	0.025	0.050	0.100	0.200
High group A	0.21± 0.10*	0.36± 0.08*	0.38± 0.05*	0.41± 0.16*
High group B	0.28± 0.11*	0.39± 0.14*	0.50± 0.04*	0.52± 0.13*
Low group C	0.32± 0.12	0.43 ± 0.13	0.51± 0.13	0.62± 0.15
Control group D	0.56± 0.26	0.71± 0.12	0.83± 0.23	0.85± 0.12

Note: * compared with control group D $P<0.05$.

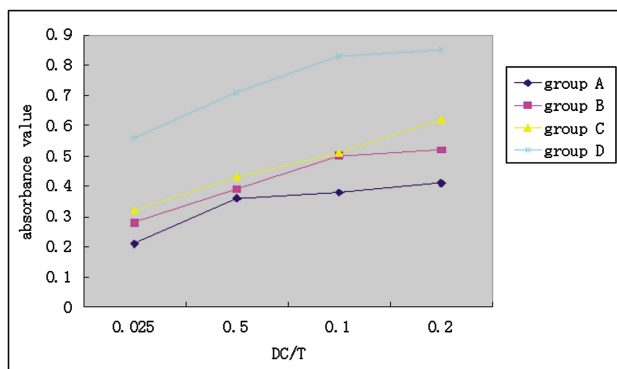


图 1 不同 DC / T 淋巴细胞时混合淋巴细胞反应中 T 细胞增殖的吸光度值

Fig.1 Absorbance value of DC/T lymphocytes MLR

3 结果

DC 是至今发现的人体内功能最强的专职抗原提呈细胞,也是惟一能激活纯真 T 淋巴细胞(naive T cells)的抗原递呈细胞^[9]。近年来,大量研究表明,CHB 患者外周血 DC 数量减少、表型不成熟、功能下降,外周血 HBV DNA 载量明显升高,而针对 HBV 的特异性 CTL 应答很弱,甚至检测不到^[10]。慢性乙型肝炎患者自身 DC 功能低下是乙型肝炎病毒感染免疫耐受的原因之一^[11,12]。患者体内树突状细胞抗原递呈功能缺陷,不能把

2.4 IL-10 和 IL-12 的水平

MLR 上清液中 IL-10 的量在三组实验对象间差异无统计学意义(P 值均 >0.05);高载量组和低载量组 IL-12 的水平则均明显低于对照组 D,差异有统计学意义($P<0.05$)。在纯 DC 培养上清液中,CHB 患者的 IL-12 水平也明显低于正常对照组,差异有统计学意义($P<0.01$),见表 4。

表 4 DC 培养上清液与混合淋巴细胞反应上清液中 IL-10 和 IL-12 浓度($\bar{x}\pm s, \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Table 4 The level of IL-10,IL-12 in DC/T lymphocytes culture in supernate($\bar{x}\pm s, \mu\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$)

Group	MLRsupernatant		DC supernatant
	IL-10	IL-12	IL-12
High group A	14.37± 6.39*	115.32± 41.26	45.59± 23.18**
High group B	21.74± 9.02	124.32± 52.78*	54.67± 23.36**
Low group C	24.53± 5.02	128.35± 55.27*	61.25± 28.28**
Control group D	28.67± 6.45	312.25± 113.47	120.35± 52.37

Note: *compared with control D $P<0.05$;

**compared with control D $P<0.05$.

病毒抗原的信号传递给机体的免疫系统,患者仅产生弱的或检测不到的针对 HBV 特异的 CTL 反应,所以不能清除体内的病毒,造成感染的慢性化^[13]。而 HBV 引起 DC 功能下降的机制尚不十分明确。

针对慢性乙型肝炎患者研究发现,淋巴细胞上 B7-H1 和 PD-1 的表达水平与患者疾病状态密切相关。李永刚等^[14]对 B7-H1 和 PD-1 的表达与 ALT 的水平及 HBV DNA 载量进行了相关分析,发现 B7-H1 和 PD-1 的表达与 ALT 的水平及 HBV-DNA 载量均呈正相关,与本研究结果一致。提示 B7-H1

表达增加可以促进炎症反应,抑制 T 淋巴细胞对病毒的清除。外周血 mDC 和 T 淋巴细胞上的抑制性共刺激分子 B7-H1 和 PD-1 信号途径的高水平表达可能是导致树突细胞功能障碍及特异性 T 淋巴细胞耗竭的原因之一,可导致病毒持续感染^[4]。B7-H1 在体外可通过其抑制性受体 PD-1 抑制 Th1 为主的免疫反应,从而在诱导 T 细胞凋亡和肿瘤免疫逃逸中发挥重要作用^[15]。HIV 和 EB 病毒特异性 T 淋巴细胞高水平表达 B7-H1,而相比一些不能造成持续感染的病毒,如牛痘病毒、流感病毒等,其特异性 T 淋巴细胞上 B7-H1 表达水平较低。所以认为,PD-1 的表达与 T 淋巴细胞功能耗竭密切相关,PD-1 的高水平表达是耗竭性 T 淋巴细胞的一个重要标志^[16-18]。CD8⁺T 淋巴细胞可产生高水平的 IFN- γ ,而 IFN- γ 又可上调细胞表面 PD-L1 的表达。而 B7-H1 和 PD-1 表达的上调,一定程度上又可降低 T 淋巴细胞的功能,从而减轻肝脏的炎症反应。对防止肝细胞大量破坏而引起功能衰竭具有积极作用。这些研究均说明,B7-H1 和 PD-1 信号途径对抗病毒免疫效应具有双面性,在一些情况下能限制过多浸润性 T 淋巴细胞引起的组织损伤,具有一定保护性;但同时也下调 T 淋巴细胞功能,不利于病毒清除,可能参与了病毒感染慢性化的过程。监测 B7-H1 和 PD-1 表达水平改变这些协同刺激分子的表达以调控免疫的方向和强度,也许可以作为指导临床治疗的依据^[4,19]。王永华^[20]等发现 B7-H1 阻断后 CD3AK 细胞分泌 IFN- γ 和 TNF- α 的水平明显提高,而分泌 IL-10 的水平明显下降,这提示 B7-H1 阻断后可以通过改变 CD3AK 细胞分泌细胞因子的水平,间接促进 CD3AK 细胞增殖活化,增强 CD3AK 细胞的免疫功能,同时也可通过 IFN- γ 和 TNF- α 等细胞因子增强 CD3AK 细胞对肿瘤细胞的间接杀伤作用。B7-H1 通路在负调 T 淋巴细胞免疫反应和 DC 功能上发挥重要作用^[21,22]。从我们的实验结果发现,慢性 HBV 感染时机体细胞免疫应答的削弱与 DC 功能的缺陷有密切关系。

慢性乙型肝炎患者 DC 表面 CD80、CD86、CD1a 及 HLA-II 类分子表达和 DC 培养上清液 IL-12 水平明显低于正常人。CHB 患者 DC 功能下调,并且高表达 B7-H1。在高病毒载量组 B7-H1 表达水平最高,而且与 ALT 成正相关。高病毒载量组 DC 分泌 IL-12 水平较正常人组明显降低,而 IL-10 的分泌水平提高。这表明乙型肝炎病毒感染造成 DC 的抗原提呈能力和刺激 T 淋巴细胞增殖能力下降。B7-H1 高表达抑制了淋巴细胞的功能,导致乙型肝炎病毒持续感染。

参考文献(References)

- [1] Tavakoli S, Schwerin W, Rohwer A, et al. Phenotype and function of monocyte derived dendritic cells in chronic hepatitis B virus infection [J]. *Gen Virol*, 2004, 85: 2829-2836
- [2] Beckebaum S, Cicinnati VR, Zhang X, et al. Hepatitis B virus-induced defect of monocyte-derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for viral immune escape [J]. *Immunology*, 2003, 109: 487-495
- [3] Horiike N, Onji M. The role of dysfunction of dendritic cells in hepatitis B virus persistent infection [J]. *Nippon Rinsho*, 2004, 62 Suppl8: 70-73
- [4] 耿楠, 马丽娜, 马冰, 等. 慢性乙型肝炎患者 B7-H1 和 PD-1 信号途径表达的特点 [J]. *中华传染病杂志*, 2009, 27(12): 742-745
- [5] Geng Nan, Ma Li-na, Ma Bing, et al. The expressions of B7-H1 and PD-1 signal pathway in patients with chronic hepatitis B [J]. *Chin J Infect Dis*, 2009, 27(12): 742-745
- [6] Trabattani D, M, Saresella M, Biasin A, et al. B7-H1 is up-regulated in HIV infection and is a novel surrogate marker of disease progression [J]. *Blood*, 2003, 101: 2514-2520
- [7] Geng L, G, Jiang Y, Fang S, et al. B7-H1 expression is upregulated in peripheral blood CD14⁺ monocytes of patients with chronic hepatitis B virus infection which correlates with higher serum IL-10 levels. [J]. *Viral Hepat*, 2006, 13: 725-733
- [8] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2000, 8: 324-329
- [9] Chinese Society of Infectious Diseases and Parasitology and Chinese Society of Hepatology of Chinese Medical Association. The programme of prevention and cure for viral hepatitis [J]. *Zhong hua Gan zangbing Zazhi*, 2000, 8: 324-329
- [10] Romani N, Gruner S, Brang D, et al. Proliferating dendritic cell progenitors in human blood [J]. *Exp Med*, 1994, 180: 83-93
- [11] Akbar SM, Horiike N, Onji M, et al. Dendritic cells and chronic hepatitis virus carriers [J]. *Inter virology*, 2001, 44: 199-208
- [12] Takaki A, Tatsukawa M, Koike K, et al. Mechanism of immune surveillance against HBV infection [J]. *Nippon Rinsho*, 2004, 9 62 Suppl8: 62-65
- [13] Hilleman MR, Critical overview and outlook. Pathogenesis, prevention and treatment of hepatitis and hepatocarcinoma caused by hepatitis B virus [J]. *Vaccine*, 2008, 21: 4626-4649
- [14] Beckebaum S, Cicinnati VR, Zhang X, et al. Hepatitis B virus-induced defect of monocyte derived dendritic cells leads to impaired T helper type 1 response in vitro: mechanisms for viral immune escape [J]. *Immunology*, 2008, 109: 487-495
- [15] Hasebe A, Akbar SM, Furukawa S, et al. Impaired functional capacities of liver dendritic cells from murine hepatitis B virus (HBV) carriers: relevance to low HBV-specific immune responses [J]. *Clin Exp Immunol*, 2005, 139: 35-42
- [16] 李永纲, 陈良恩, 陈国风, 等. B7-H1 及其受体 PD-1 在慢性乙型肝炎患者淋巴细胞上的表达及意义 [J]. *中华肝脏病杂志*, 2007, 15 (10): 738-741
- [17] Li Yong-gang, CHEN Liang-en, CHEN Guo-feng, et al. Expression and significance of B7-H1 and programmed death-1 in lymphocytes from patient with chronic hepatitis B virus infection [J]. *Chin J Hepatol*, 2007, 15(10): 738-741
- [18] Stanciu LA, Bellettato CM, Laza-Stanca V, et al. Expression of programmed death-1 ligand (PD-L) 1 PD-L2 B7-H3 and inducible costimulator ligand on human respiratory tract epithelial cells and regulation by respiratory syncytial virus and type 1 and 2 cytokines [J]. *Infect Dis*, 2006, 193: 404-412
- [19] Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, et al. Upregulation of PD-1 expression on HIV specific CD8⁺T cells leads to reversible immune dysfunction [J]. *Nat Med*, 2006, 12: 1198-1202
- [20] Day C1, Kaufmann DE, Kiepiela P, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression [J]. *Nature*, 2006, 443: 350-354
- [21] Petrovas C, Casazza JP, Brenchley JM, et al. PD-1 is a regulator of virus-specific CD8⁺T cell survival in HIV infection [J]. *J Exp Med*, 2006, 203: 2281-2292

- pathology, and laboratory diagnosis [J]. Clin Microbiol Newsl, 2005, 27: 163-169
- [2] Gryseels B, Polman K, Clerinx J, et al. Human schistosomiasis [J]. Lancet, 2006, 368: 1106-1118
- [3] Steinmann P, Keiser J, Bos R, et al. Schistosomiasis and water resources development: systematic review, meta-analysis, and estimates of people at risk [J]. Lancet Infect Dis, 2006, 6: 411-425
- [4] Zhu R, Darren JG, Trift AP, et al. A 5-year longitudinal study of schistosomiasis transmission in Shian village, the Anning River Valley, Sichuan Province, the Peoples' Republic of China [J]. Parasit Vectors, 2011, 43
- [5] 雷正龙, 郑浩, 张利娟, 等. 2010 年全国血吸虫病疫情通报 [J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2011, 23(6): 599-604
- Lei Zheng-long, Zheng Hao, Zhang Li-juan, et al. Schistosomiasis situation in People's Republic of China in 2010 [J]. Chin J Schisto Control, 2011, 23(6): 599-604
- [6] Shazly SE, Saadany SE. Schistosomiasis [J]. Tanta Med Sci J, 2006, 1: 1-10
- [7] Feldmeier H, Poggensee G. Diagnostic techniques in schistosomiasis control [J]. A review. Acta Trop, 1993, 52: 205-220
- [8] Engels D, Sinzinkayo E, Gryseels B. Day-to-day egg count fluctuation in Schistosoma mansoni infection and its operational implications [J]. Am J Trop Med Hyg, 1996, 54: 319-324
- [9] Yu JM, de Vlas SJ, Yuan HC, et al. Variations in fecal Schistosoma japonicum egg counts [J]. Am J Trop Med Hyg, 1998, 59: 370-375
- [10] Utzinger J, Booth M, N'Goran EK, et al. Relative contribution of day-to-day and intra-specimen variation in faecal egg counts of Schistosoma mansoni before and after treatment with praziquantel [J]. Parasitology, 2001, 122: 537-544
- [11] Bergquist NR. Present aspects of immunodiagnosis of schistosomiasis [J]. Mem Inst Oswaldo Cruz, 1992, 87 (Suppl 4): 29-38
- [12] Katz N, Chaves A, Pellegrino J. A simple device for quantitative stool thick-smear technique in Schistosomiasis mansoni [J]. Rev Inst Med Trop Sao Paulo, 1972, 14: 397-400
- [13] 吴玉龙, 张炜明, 刘文琪, 等. 抗 SEA 鸡卵黄抗体用于血吸虫循环抗原检测的初步研究 [J]. 现代生物医学进展, 2008, 8(12): 2416-2418.
- Wu Yu-long, Zhang Wei-ming, Liu Wen-qi, et al. Detection of circulating schistosome antigen with anti-SEA chicken immunoglobulin Y [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2008, 8(12): 2416-2418
- [14] 查任远, 沈继龙, 汪学龙. 抗 rSj14-3-3 单克隆抗体检测循环抗原及疗效考核价值的初步研究 [J]. 安徽医科大学学报, 2004, 39(3): 204-207
- Cha Ren-yuan, Shen Ji-long, Wang Xue-long. Evaluation of anti-rSj14-3-3 monoclonal antibody on detection of circulating antigen [J]. Journal of Anhui Medical University, 2004, 39 (3): 204-207
- [15] 裴丽妹, 冯正, 张永红, 等. 多克隆与单克隆抗体夹心 ELISA 法检测日本血吸虫病患者血清循环抗原 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2000, 18(2): 92-93
- Qiu Li-shu, Feng Zheng, Zhang Yong-hong, et al. Circulating antigen detection in schistosomiasis japonica by sandwich ELISA using polyclonal and monoclonal antibodies [J]. Chin J Parasitol Parasit Dis, 2000, 18(2): 92-93
- [16] Wang Xiu-zhen, Li Shi-tao, Zhou Zao-xi. A rapid one-step method of EIA for detection of circulating antigen of Schistosoma japonicum [J]. Chin Med J, 1999, 112(2): 124-128
- [17] 蒋健敏, 张素娥, 施晓华, 等. 量化检测日本血吸虫循环抗原的初步研究 [J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(1): 65-67
- Jiang Jian-min, Zhang Su-e, Shi Xiao-hua, et al. Preliminary study on quantitative determination of circulating antigens of Schistosoma japonicum [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2006, 22(1): 65-67
- [18] 朱南昌, 管晓虹, 杨小红, 等. 抗 rSjCTPI 单克隆抗体检测血吸虫循环抗原的研究 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2000, 13(4): 285-287
- Zhu Yin-chang, Guan Xiao-hong, Yang Xiao-hong, et al. Study on detection of circulating schistosome antigen with anti-rSjCTPI monoclonal antibody [J]. Chin J Parasit Dis Con, 2000, 13 (4): 285-287
- [19] Nakamura H. Thioredoxin and its related molecules: update 2005 [J]. Antioxid Redox Signal, 2005, 7(5-6): 823-828
- [20] Kohler G, Milstein C. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity [J]. Nature, 1975, 256: 495-497
- [21] Harlow E, Lane D. Monoclonal Antibodies. Harlow E, Lane D, eds. Antibodies: a laboratory manual [M]. New York: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1998: 139-312

(上接第 1032 页)

- [19] Horiike N, Md Fazle Akbar S, Ninomiya T, et al. Activation and maturation of antigen presenting dendritic cells during vaccine therapy in patients with chronic hepatitis due to hepatitis B virus [J]. Hepatol Res, 2008, 23: 38-47
- [20] 王永华, 庄乾元, 胡志全, 等. B7-H1 阻断对 CD3AK 细胞体外生物学活性的影响 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2009, 25(8): 671-673
- Wang Yong-hua, Zhuang Qian-yuan, Hu Zhi-quan, et al. Effects of B7-H1 blockade on biological activity of CD3AK cells in vitro [J]. Chin J Cell Mol Immunol, 2009, 25(8): 671-673
- [21] Nakazawa A, Dotan I, Bifman J, et al. The expression and function of costimulatory molecules B7-2 and B7-H1 on colonic epithelial cells [J]. Gastroenterology, 2004, 126: 1347-1357
- [22] Dong H, Strome SE, Salomao DR, et al. Tumor-associated B7-H1 promotes T-cell apoptosis: a potential mechanism of immune evasion [J]. Nat Med, 2002, 8: 793-800