

论著·实验研究

非甲基化 CpG-ODN 对卵清蛋白致食物过敏幼鼠血清 TGF- β 的影响及免疫调节作用

王本贞¹ 郑成中^{1,2}

(1. 安徽医科大学解放军 306 临床学院儿科, 安徽 合肥 230032; 2. 解放军 306 医院儿科, 北京 100101)

[摘要] **目的** 探讨非甲基化胞嘧啶鸟嘌呤寡核苷酸 (CpG-ODN) 对卵清蛋白 (OVA) 致食物过敏幼鼠血清转化生长因子 β (TGF- β) 的影响及免疫调节作用。**方法** 将 30 只 2~3 周龄 BALB/c 雌性小鼠随机分为对照组、模型组及非甲基化 CpG-ODN 干预组 (CpG-ODN 组), 每组 10 只。采用 OVA 致敏建立幼鼠食物过敏动物模型, 对照组小鼠以等量生理盐水替代, CpG-ODN 组小鼠在每次 OVA 激发致敏前 1 h 腹腔注射非甲基化 CpG-ODN 溶液。观察各组过敏症状并评分; 苏木精-伊红 (HE) 染色对空肠组织行病理检查; ELISA 法检测小鼠血清 OVA-IgE 含量, CBA 法检测小鼠血清中 IL-4、IFN- γ 、TGF- β 含量。**结果** 模型组小鼠出现过敏症状, 空肠组织表现为 I 型变态反应病理特点; 模型组和 CpG-ODN 组小鼠过敏症状评分高于对照组 ($P < 0.01$); 模型组血清中 OVA-IgE、IL-4 及 TGF- β 均高于对照组和 CpG-ODN 组 ($P < 0.05$), 且 CpG-ODN 组上述指标仍高于对照组 ($P < 0.05$); 模型组血清中 IFN- γ 水平低于对照组和 CpG-ODN 组 ($P < 0.05$)。**结论** OVA 致食物过敏幼鼠血清 TGF- β 升高, TGF- β 可能参与了过敏机制; 非甲基化 CpG-ODN 可降低食物过敏幼鼠血清 TGF- β 水平, 其在食物过敏中可能起到免疫调节作用。
[中国当代儿科杂志, 2015, 17(8): 864-868]

[关键词] 食物过敏; TGF- β ; 卵清蛋白; 非甲基化 CpG-ODN; 小鼠

Effect of non-methylated CpG-ODN on serum TGF- β and immune regulation in ovalbumin-sensitized young mice

WANG Ben-Zhen, ZHENG Cheng-Zhong. Department of Pediatrics, 306th Clinical College of People's Liberation Army, Anhui Medical University, Hefei 230032, China (Zheng C-Z, Email: zcz3066@126.com)

Abstract: Objective To explore the effect of non-methylated cytosine-phosphate-guanine oligodeoxynucleotides (CpG-ODN) on serum transforming growth factor (TGF)- β and immune regulation in ovalbumin (OVA)-sensitized young mice. **Methods** Thirty female BALB/c mice (2-3 weeks old) were randomly divided into control, model, and CpG-ODN intervention groups. A young mouse model of food allergy was established by OVA sensitization. Normal saline of the same volume was used for replacement in the control group. The mice in the intervention group were intraperitoneally injected with CpG-ODN solution 1 hour before every OVA sensitization. Allergic symptoms were observed and scored for each group. The jejunal tissue was histopathologically examined with hematoxylin-eosin staining. Serum OVA-IgE level was measured using ELISA. Serum concentrations of interleukin (IL)-4, interferon (IFN)- γ , and TGF- β were determined by CBA. **Results** Allergic symptoms were observed in the model group and the jejunal tissue showed the pathological characteristics of type I allergic reaction. The allergic symptom scores in the model and CpG-ODN intervention groups were significantly higher than in the control group ($P < 0.01$). The serum levels of OVA-IgE, IL-4, and TGF- β were significantly higher in the model group than in the control and CpG-ODN intervention groups ($P < 0.05$). The CpG-ODN intervention group had significantly higher serum levels of OVA-IgE, IL-4, and TGF- β than the control group ($P < 0.05$). Compared with the control and CpG-ODN intervention groups, the model group had a significantly reduced IFN- γ level ($P < 0.05$). **Conclusions** The serum TGF- β level is increased in the young mouse model of OVA-sensitized food allergy and is involved in the allergy mechanism. Non-methylated CpG-ODN can reduce the serum TGF- β level in sensitized young mice and play an immunoregulatory role in food allergy.
[Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(8): 864-868]

Key words: Food allergy; TGF- β ; Ovalbumin; Non-methylated CpG-ODN; Mice

[收稿日期] 2015-06-22; [接受日期] 2015-07-17

[作者简介] 王本贞, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 郑成中, 男, 主任医师, 教授。

食物介导的变态反应(食物过敏)发病率日益攀升,是儿童时期尤其是婴幼儿期常见的变态反应性疾病之一,已经成为儿童时期重要的公共健康问题。Th1/Th2细胞比例和功能失衡, Th2反应占优势是过敏性疾病的重要机制之一,亦有研究认为过敏性疾病是肠道黏膜疾病,是与食物抗原所致口服耐受被打破有关的异常Th2型免疫反应。

随着人们生活环境改善,暴露微生物的机会减少,微生物表面的脂多糖(LPS)和胞嘧啶鸟嘌呤(CpG)等病原相关分子通过Toll样受体刺激机体免疫调节细胞减少,调节性T细胞成熟不良,转化生长因子 β (TGF- β)分泌减少,从而失去了对Th1和Th2免疫应答的平衡作用。现有研究认为TGF- β 是一种多功能细胞因子,有抑炎与致炎双重作用,在过敏反应中的作用报道也不一致。流行病学调查显示TGF- β 作为一种抑制性细胞因子在降低过敏性疾病风险中可能起了决定性作用^[1]。非甲基化CpG-寡核苷酸(ODN)作为免疫调节剂能够诱导Th1型免疫反应,抑制Th2型反应,进而在过敏反应中起调节作用^[2]。TGF- β 在过敏性疾病中可能起抑制作用,因啮齿动物免疫调节与人类相似^[3],为探索非甲基化CpG-ODN对食物过敏幼鼠模型TGF- β 的影响,本研究以2~3周BALB/c幼鼠模拟婴幼儿期,通过OVA基础和激发致敏建立食物过敏幼鼠动物模型,于激发致敏前予非甲基化CpG-ODN干预,观察非甲基化CpG-ODN对致敏幼鼠血清中TGF- β 的影响,探讨非甲基化CpG-ODN作为免疫调节剂在食物过敏中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

2~3周龄BALB/c雌性小鼠30只购自北京维通利华实验动物技术有限公司,体重8~11g,饲养于中国科学院动物研究所,条件为清洁级环境,室温22~26℃,湿度40%~70%,自由饮水,以不含卵清蛋白(OVA)的饲料自由进食,实验前所有小鼠均适应性饲养1周。

1.2 药品及试剂

OVA(V级,美国Sigma公司),OVA-IgE试剂盒(Biolegend公司),氢氧化铝[Al(OH)₃],美国

Sigma公司],IL-4、干扰素(IFN)- γ 、TGF- β 检测试剂盒(BD Biosciences公司),非甲基化CpG-ODN1826(上海生工生物工程股份有限公司北京合成部)。

1.3 食物过敏模型制备及分组

将30只小鼠随机分为对照组、模型组及非甲基化CpG-ODN干预组(简称CpG-ODN组),每组10只。食物过敏动物模型制作方法参照文献^[4-5]。基础致敏:于实验第0、14天给予小鼠腹腔注射OVA(50 μ g/只)致敏液0.2mL,OVA浓度根据前期预实验结果确定;激发致敏:自第17天起,以OVA液0.3mL(2mg/mL)隔2d给予小鼠灌胃激发,直至第29天;CpG-ODN组小鼠在每次灌胃激发前1h均腹腔注射非甲基化CpG-ODN溶液(40 μ g/只,约0.08mL);在基础致敏和激发致敏阶段,对照组小鼠则以等量生理盐水替代。

观察致敏前后各组小鼠过敏症状;于最后一次激发3h后摘眼球取血约0.8mL,离心血清于-80℃冰箱保存待测;取空肠0.5cm做常规苏木精-伊红(HE)染色行病理观察。

1.4 食物过敏模型制备及分组

症状评分参照Li等^[6]报道的评分系统:没有症状计0分;抓、挠头和鼻子计1分;眼睛和嘴浮肿、腹泻、活动减少和/或活动减少的同时呼吸急促计2分;哮喘、呼吸缓慢、嘴和尾巴紫绀计3分;刺激或震动时没有活动计4分;死亡计5分。

1.5 血清中OVA-IgE含量测定及细胞因子检测

采用ELISA法检测小鼠血清OVA-IgE含量,CBA方法检测小鼠血清中IL-4、IFN- γ 、TGF- β 含量,具体步骤按照试剂盒说明书操作。

1.6 食物过敏模型成功建立判别标准

参考文献^[7],以模型组小鼠过敏症状评分、血清OVA-IgE \geq 对照组均数+3标准差($\bar{x}+3s$)及肠道组织病理情况作为判别模型制备成功的标准。

1.7 统计学分析

采用SPSS 17.0统计软件对数据进行统计学分析,正态分布计量资料采用均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,若方差齐,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用SNK-*q*检验;若方差不齐,多组间比较采用Kruskal-Wallis *H*检验,组间两两比较采用Nemenyi法, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 成功建立 OVA 幼鼠食物过敏模型

在预实验中发现,以 50 μg OVA 致敏效果最好,在完成 OVA 激发致敏后,模型组小鼠食物过敏症状评分(3.2 ± 2.2)明显高于对照组(0)(Z=3.75, P<0.001);模型组小鼠空肠组织病理表现为 I 型过敏反应;模型组小鼠 OVA-IgE 含量(16.50 ± 5.80) ≥ 对照组 $\bar{x}+3s$ (0.24 ± 0.07)。根据上述实验结果判定食物过敏小鼠模型构建成功。

2.2 非甲基化 CpG-ODN 对小鼠过敏症状评分及病理情况的影响

对照组小鼠肠黏膜完整,无明显炎性细胞浸润;模型组可见淋巴细胞及少量嗜酸性粒细胞浸润,血管扩张明显,绒毛结构破坏不明显;CpG-ODN 组绒毛结构较完整,炎性细胞浸润少(图

1)。以上 3 组过敏症状评分比较差异有统计学意义($H=17.53, P<0.001$);模型组食物过敏症状评分(3.2 ± 2.2)高于对照组(0)(Z=3.75, P<0.001),与 CpG-ODN 组(2.2 ± 1.8)比较差异无统计学意义(Z=1.04, P=0.301);CpG-ODN 组过敏症状评分高于对照组(Z=3.75, P<0.001)。

2.3 非甲基化 CpG-ODN 对小鼠血清中 OVA-IgE 及细胞因子水平的影响

与对照组比较,模型组血清中 OVA-IgE、IL-4 及 TGF-β 水平均升高,IFN-γ 水平降低(P<0.05)。与模型组比较,CpG-ODN 组血清中 OVA-IgE、IL-4 及 TGF-β 均降低,但仍高于对照组(P<0.05);而 IFN-γ 水平升高(P=0.014),与对照组比较差异无统计学意义(P>0.05)(表 1)。提示非甲基化 CpG-ODN 可促进 Th1 型细胞因子 IFN-γ 产生,抑制 Th2 细胞因子 IL-4 及 TGF-β、OVA-IgE 分泌。

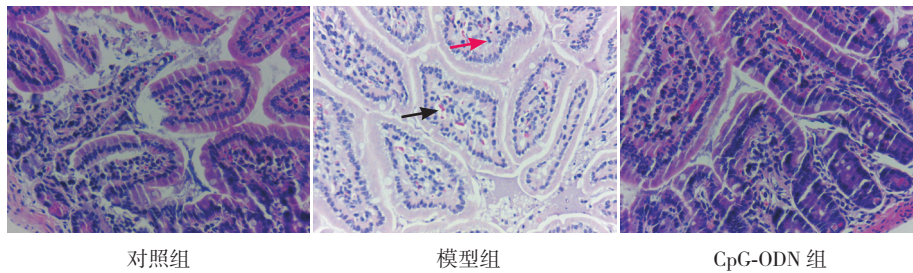


图 1 小鼠空肠黏膜形态及结构 HE 染色(×400) 对照组小鼠肠黏膜结构完整,无明显炎性细胞浸润。模型组小鼠淋巴细胞(红色箭头所示)及少量嗜酸性粒细胞浸润,血管扩张明显(黑色箭头所示)。CpG-ODN 组小鼠绒毛结构较完整,炎性细胞浸润少。

表 1 各组血清中 OVA-IgE 及细胞因子水平变化 (n=10, $\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	OVA-IgE	IL-4	IFN-γ	TGF-β
对照组	0.24 ± 0.07	4.7 ± 0.6	13.5 ± 1.2	9.0 ± 1.7
模型组	16.50 ± 5.80 ^a	11.1 ± 5.3 ^a	11.1 ± 1.3 ^a	16.0 ± 1.6 ^a
CpG-ODN 组	7.54 ± 0.87 ^{a,b}	6.1 ± 0.8 ^{a,b}	12.8 ± 1.6 ^b	14.1 ± 1.8 ^{a,b}
H(F) 值	25.81	22.82	(7.40)	(44.54)
P 值	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注: a 示与对照比较, P<0.05; b 示与模型组比较, P<0.05。

3 讨论

食物过敏是主要由摄入的食物过敏原扰乱机体免疫系统,造成免疫失调引起的高敏状态,可引起机体各系统受累^[8]。大多数人对环境中过敏原的免疫反应在生命早期即已开启^[9],蛋白食物(牛奶、鸡蛋等)成为婴幼儿期最常见的过敏原^[10]。

研究发现 TGF-β 作为一种抑制性细胞因子在降低过敏性疾病风险中可能起了决定性作用。近来,免疫调节剂在过敏性疾病中的作用越来越受到重视,具有免疫刺激作用的非甲基化 CpG-ODN 作为一种新型免疫佐剂诱导以 Th1 型为主的免疫应答,在过敏性疾病中可能起到免疫调节作用,那么两者在食物过敏中的作用如何。本实验采用 OVA 诱

导2~3周龄幼鼠制备过敏模型来模拟婴幼儿期食物过敏,研究非甲基化 CpG-ODN 对食物过敏幼鼠模型血清中 TGF- β 的影响,探索给予非甲基化 CpG-ODN 后其在过敏幼鼠体内的免疫调节作用。

依据前期预实验结果发现 50 μ g OVA 致敏效果较好,故本实验干预组选取此剂量。该模型经过过敏症状临床评分、血清特异性 IgE 水平及空肠病理结果显示制备成功。关于剂量摸索的预实验中,参照了 Chen 等^[11]、湛孝东等^[12]及 Sakamoto 等^[13]成年鼠(BALB/c)剂量,同时依据小鼠的周龄及体重进行调整。Th1/Th2 平衡向 Th2 偏移是产生过敏的关键免疫机制,并且在致敏和激发阶段都发挥着重要作用。Th2 相关细胞因子如 IL-4、IL-5 等分泌增多,而 Th1 型细胞因子分泌减少。且 IL-4 可促使 Th0 细胞分化为 Th2 细胞,刺激 B 细胞分化为浆细胞诱导 IgE 的产生^[14]。本实验中,模型组及干预组 IL-4 及 OVA-IgE 水平均较对照组明显升高,与上述观点一致。

TGF- β 是一种具有调节细胞生长、分化、凋亡、迁移和发育的多功能细胞因子,能够调节多种免疫细胞,尤其是调节性 T 淋巴细胞及辅助性 T 淋巴细胞的增殖、分化及免疫应答,作为负性调节因子,可以抑制或下调 Th1/Th2,维持机体免疫平衡。通过 TGF- β 受体激活后与 R-Smad 蛋白特定区域结构特异性结合,识别和活化下游信号分子 Smad 蛋白,启动胞内信号级联反应,在过敏反应中起调节作用。这种作用的产生可能与抑制 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞及其表达在抗原提呈细胞表面 MHC2 分子的增殖有关,另有研究发现,TGF- β 作为抑制性细胞因子抑制嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞及肥大细胞的致炎作用,进而抑制 Th2 细胞相关细胞因子 IL-4 的分泌及特异性 IgE 的产生,调节失衡的 Th1/Th2 反应,直接抑制变态反应。近年来,关于 TGF- β 在过敏性疾病中的研究发现,既有 TGF- β 在过敏小鼠肠黏膜中降低的研究,亦有在食物过敏患儿体内 TGF- β 水平明显升高的报道。其对过敏患者的效应细胞作用呈现复杂矛盾的结果,既可诱导肥大细胞的趋化作用,阻滞 Fc ϵ RI 表达,又能促使幼稚的 CD4⁺CD25⁺T 细胞转化为功能性 Treg 细胞,这一机制通过诱导 Foxp3 表达对免疫耐受发挥重要作用,TGF- β 增高对组织纤维化和重塑发挥作用,应用抗 TGF- β 抗

体或中和 Smad3 可显著降低平滑肌增生和炎症反应。另有研究发现 OVA-CD4⁺T 细胞中 TGF- β 高表达能消除小鼠模型 OVA-Th2 细胞诱导的气道高反应性和炎症反应^[15-16]。

本研究则将其作为一种细胞因子了解其在食物过敏幼鼠中的分泌情况,发现模型组小鼠血清 TGF- β 水平较对照组水平升高,与 Cardoso 等^[17]报道一致,我们推测 TGF- β 在疾病早期升高是机体启动的以控制过度炎症反应、诱导 T 细胞耐受的结果。尽管在不同的过敏性疾病研究中发现 TGF- β 或升高或降低,没有一致性结论,TGF- β 作为多功能性细胞因子,在过敏性疾病病程的不同时期 TGF- β 都会参与,不同时期所发挥的作用不同(双重作用),一方面,它可以控制过度炎症反应(负反馈作用)并诱导 T 淋巴细胞耐受(保护作用),另一方面,由于其自愈修复机制,诱导组织纤维化和重塑,当然,TGF- β 在过敏性疾病免疫调节中的相互矛盾现象仍需进一步研究澄清。

非甲基化 CpG-ODN 作为细胞内 TLR9 配体与益生菌有着相似的作用,两者特异性结合后能够启动细胞信号通路,最终激活 NF- κ B 信号通路而发挥作用^[18],可刺激浆细胞样树突状细胞诱导抗原特异性 Th1 和细胞毒 T 淋巴细胞产生^[19],激活单核/巨噬细胞、NK 细胞及 B、T 细胞活化,诱导分泌多种细胞因子、趋化因子、粘附分子等^[20-21],作为强有力的 Th1 型免疫应答增强剂,不仅可以降低 Th2 型免疫应答的发生,同时可以将已经发生的 Th2 型反应转向 Th1 型,具有特异性免疫记忆效应。本实验中,CpG-ODN 组较 50 μ g 组显著降低了血清 OVA-IgE、IL-4 及 TGF- β 水平,诱导 Th1 型免疫反应,使失衡的 Th1/Th2 得以纠正。对于 TGF- β 水平的降低可能与非甲基化 CpG-ODN 交联的 NF- κ B 信号通路有关,有报道称 TGF- β 除了 Smad 信号通路外,还有其他的信号通路包括丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、细胞外信号调节激酶(ERK)、JNK、P38 通路^[22],及与 Smad7 交联的 NF- κ B 通路^[23]。而这些信号通路同时也是 TLR9 与非甲基化 CpG-ODN 结合后激活的通路。Volpi 等^[24]研究发现,使用高剂量非甲基化 CpG-ODN 刺激小鼠浆细胞样树突细胞,发现高剂量非甲基化 CpG-ODN 与浆细胞样树突细胞 TLR9 识别后,通过干扰素调节因子 3 (TLR9-IRF3) 信号通路,而非

TLR9-NF- κ B 信号通路, 激活下游 TGF- β , 由此可猜测降低的 TGF- β 水平可能与非甲基化 CpG-ODN 交联的 NF- κ B 信号通路有关。那么体内给予非甲基化 CpG-ODN 后是如何影响 TGF- β 分泌的, 影响程度如何还需要进一步研究来阐述。

综上所述, 本研究显示 OVA 所致食物过敏动物模型中 TGF- β 含量升高。非甲基化 CpG-ODN 在 2~3 周龄食物过敏幼鼠模型中可诱导 Th1 型免疫应答, 扭转 Th1/Th2 紊乱, 减轻过敏反应, 降低 TGF- β 水平, 但如何降低, 或与致敏反应产生的炎症程度是否相关还需进一步的研究来证实。

[参 考 文 献]

- [1] Li F, Wang L, Jin XM, et al. The immunologic effect of TGF-beta 1 chitosannanoparticle plasmids on ovalbumin-induced allergic BALB/c mice[J]. Immunobiology, 2009, 214(2): 87-99.
- [2] Pali-Schöll I, Szöllösi H, Starkl P, et al. Protamine nanoparticles with CPG-oligodeoxynucleotide prevent an allergen-induced Th2-response in BALB/c mice[J]. Eur J Pharm Biopharm, 2013, 85(3 Pt A): 656-664.
- [3] Oyoshi MK, Oettgen HC, Chatila TA, et al. Food allergy: Insights into etiology, prevention, and treatment provided by murine models[J]. J Allergy Clin Immunol, 2014, 133(2): 309-317.
- [4] Shin HS, Bae MJ, Jung SY, et al. Preventive effects of skullcap (*Scutellaria baicalensis*) extract in a mouse model of food allergy[J]. J Ethnopharmacol, 2014, 153(3): 667-673.
- [5] Knippels LM, Penninks AH, Spanhaak S, et al. Oral sensitization to food proteins: a brown norway rat model[J]. Clin Exp Allergy, 1998, 28(3): 368-375.
- [6] Li XM, Schofield BH, Huang CK, et al. A murine model of IgE-mediated cow's milk hypersensitivity[J]. J Allergy Clin Immunol, 1999, 103(2 Pt 1): 206-214.
- [7] 王本贞, 郑成中. CPG 寡核苷酸对致敏幼鼠血清 Th1/Th2 细胞因子及肥大细胞趋化蛋白 1 的影响[J]. 军医进修学院学报, 2015, 36(5): 505-509.
- [8] Ben-Shoshan M, Clarke AE. Anaphylaxis: past, present and future[J]. Allergy, 2011, 66(1): 1-14.
- [9] Toomer OT, Ferguson M, Pereira M, et al. Maternal and postnatal dietary probiotic supplementation enhances splenic regulatory T helper cell population and reduces ovalbumin allergen-induced hypersensitivity responses in mice[J]. Immunobiology, 2014, 219(5): 367-376.
- [10] Lin YT, Wu CT, Huang JL, et al. Correlation of ovalbumin of egg white components with allergic diseases in children[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2014: S1684-S1182.
- [11] Chen C, Sun NN, Li YN, et al. A BALB/c mouse model for assessing the potential allergenicity of proteins: comparison of allergen dose, sensitization frequency, timepoint and sex[J]. Food Chem Toxicol, 2013, 62(62): 41-47.
- [12] 湛孝东, 姜玉新, 李良怿. 不同浓度卵蛋白变应原对小鼠哮喘模型建立的影响[J]. 中国实验动物学报, 2012, 20(4): 16-20.
- [13] Sakamoto Y, Ueno K, Yofu S, et al. The expression of IL-4, IL-6 and TNF-a in food sensitized mice after oral challenge[J]. Int Arch Allergy Immunol, 1999, 118(4): 226.
- [14] Sicherer SH, Sampson HA. Food allergy[J]. J Allergy Clin Immunol, 2010, 125(2 Suppl 2): S116-S125.
- [15] Palomares O, Martin-fontecha M, Lauener R, et al. Regulatory T cell and immune regulation of allergic diseases: roles of IL-10 and TGF- β [J]. Genes Immun, 2014, 24: 1-10.
- [16] Midence NG, Arias K. TGF- β regulates house dust mite-induced allergic airway inflammation but not airway remodeling[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 177(6): 593-603.
- [17] Cardoso CR, Provinciatto PR, Godoi DF, et al. B cells are involved in the Modulation of pathogenic gut immune response in food-allergic enteropathy[J]. Clin Exp Immunol, 2008, 154(2): 153-161.
- [18] Jassies-van der Lee A, Rutten V, Spiering R, et al. The immunostimulatory effect of CpG oligodeoxynucleotides on peripheral blood mononuclear cells of healthy dogs and dogs with atopic dermatitis[J]. Vet J, 2014, 200(1): 103-108.
- [19] Asanuma H, Zamri NB, Sekine S, et al. A novel combined adjuvant for nasal delivery elicits mucosal immunity to influenza in aging[J]. Vaccine, 2012, 30(4): 803-812.
- [20] Cheng Q, Xu C, Zhang L, et al. Administered CpG oligodeoxynucleotide induces mRNA expression of CXC and CC chemokines at the intestinal mucosa and PBMCs in piglets[J]. Int Immunopharmacol, 2010, 10(5): 611-618.
- [21] Nishida A, Lau C, Mizoguchi E, et al. Regulatory B cells in mouse models of intestinal inflammation[J]. Methods Mol Biol, 2014, 1190: 227-241.
- [22] Cuschieri J, Maier RV. Mitogen-activated protein kinase (MAPK)[J]. Crit Care Med, 2005, 33(12 Suppl): S417-S419.
- [23] Dupont J, McNeilly J, Vaiman A, et al. Activin signaling pathways in ovine pituitary and LbetaaT2 gonadotrope cells[J]. Biol Reprod, 2003, 68(5): 1877-1887.
- [24] Volpi C, Fallarino F, Pallotta MT, et al. High doses of CpG oligodeoxynucleotides stimulate a tolerogenic TLR9-TRIF pathway[J]. Nat Commun, 2013, 4: 1852.

(本文编辑: 万静)