

Tfh 与 Tfr 的研究进展及其在类风湿性关节炎发展中的作用

邹弋华, 付占威*, 陈广洁

(上海交通大学医学院 免疫学与微生物学系, 上海 200025)

摘要: 滤泡辅助性 T 细胞(follicular helper T cell, Tfh)和滤泡调节性 T 细胞(follicular regulatory T cell, Tfr)是近年新发现的两种重要的 T 细胞类型, 它们对促进生发中心(germinal center, GC)形成、B 细胞发育及高亲和抗体产生具有重要作用。类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种常见的慢性系统性自身免疫性疾病, 以关节滑囊组织炎症和关节退化为主要特征, 同时存在多种自身反应性抗体的异常表达。本文综述 Tfh 与 Tfr 的分化与分子标志及主要功能的研究进展, 阐述两种细胞在 RA 发展中的可能作用。

关键词: 类风湿性关节炎; 滤泡辅助性 T 细胞; 滤泡调节性 T 细胞

中图分类号: R392.11

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2017)02-0170-05

滤泡辅助性 T 细胞(follicular helper T cell, Tfh)是一种 CXCR5⁺ Bcl-6⁺ CD4⁺ T 细胞, 主要作用是辅助生发中心(germinal center, GC)B 细胞活化、增殖和分化为浆细胞和记忆 B 细胞。滤泡调节性 T 细胞(follicular regulatory T cell, Tfr)表型及分化过程与 Tfh 有共同之处, 但主要发挥抑制 B 细胞过度增殖、避免自身反应性抗体大量产生的作用。这两种细胞对 GC 形成、高亲和抗体产生及体液免疫功能维持具有重要的促进作用, 其数量或功能的异常会引发各种常见的免疫系统疾病, 如类风湿性关节炎(rheumatoid arthritis, RA)。RA 是一种常见的慢性系统性自身免疫性疾病, 以关节滑囊组织炎症和关节退化为主要特征。上述两种细胞在 RA 患者体内的相互作用已有一定的研究发现, 但尚需进一步深入研究。

1 滤泡辅助性 T 细胞

Tfh 是滤泡中与 GC 形成及 B 细胞发育有关的一类 CD4⁺ T 细胞^[1]。其最早发现于扁桃体中, 能表达大量 CXC 趋化因子受体 5(CXC chemokine receptor 5, CXCR5)^[2]和转录因子 B 细胞淋巴瘤

分子 6(B cell lymphoma 6, Bcl-6)^[3], 所以被定义为 CXCR5⁺ Bcl-6⁺ CD4⁺ T 细胞^[4]。Tfh 具有多种分化途径, 可表达许多分子标志物。Tfh 的功能包括辅助 GC B 细胞活化、增殖和分化为浆细胞与记忆 B 细胞, 促进 GC 形成和高亲和力抗体产生等^[1, 4]。愈来愈多的实验表明 Tfh 异常可能与 RA 的发病有关^[5-6]。

1.1 Tfh 的分化与分子标志 自 Tfh 被发现以后的十多年来, 人们对于 Tfh 的分化模型提出多种观点。主要包括以下 3 种: Tfh 细胞和 Th1、Th2、Th17 及 Treg 相似, 是由 CD4⁺ T 细胞在某些细胞因子如 IL-6/IL-21 刺激下分化产生; 与 Th1、Th2、Th17 及 Treg 不同, Tfh 细胞是由活化 CD4⁺ T 细胞在同源 B 细胞作用下分化而来; Tfh 细胞不是一种独立的 CD4⁺ T 细胞亚群, 而只是 Th1、Th2、Th17 和 Treg 的次级分化细胞。这些假设虽然都有一些实验证据支持, 却无法解释 Tfh 分化过程所具有的所有特征。在结合这些观点的基础上, Crotty 提出 Tfh 分化过程可能包括多个步骤, 受到多种因子调控^[4]。

首先, 初始 CD4⁺ T 细胞与抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)相互作用, 并受到多对信号调控之后活化为 CXCR5⁺ Bcl-6⁺ CD4⁺ T 细胞, 准备迁移到 T-B 细胞区边界。Pratama 等^[7]实验表明诱导性共刺激分子(inducible costimulatory molecule, ICOS)与配体 ICOSL 结合信号被阻断可限制 Tfh 及 GC 中的 B 细胞累积。也有实验表明 IL-21 和 IL-6^[4]可影响 Bcl-6^[3]的表达及其促使活化

收稿日期: 2016-08-30

基金项目: 上海市科委基础研究重点项目(11JC1411602); 上海市教委科研创新重点项目(12ZZ1103); 国家自然科学基金(81373208); 上海交通大学医学院 14 级 RBL 项目

作者简介: 邹弋华(1995-), 江西人(汉族), 八年制本科生; *并列第一作者

通信作者: 陈广洁(E-mail: guangjie_chen@163.com)

CD4⁺ T 细胞分化的功能。Ding 等^[8]实验发现高水平 IL-21 促进 Tfh 的同时也能抑制 Tfr 分化, 因而可能具有将 GC 的 Tfr 转化为 Tfh 的作用。

其次, 完成活化与迁移之后, CXCR5⁺ Bcl-6⁺ CD4⁺ T 细胞在 GC 中 T-B 细胞区边界处借助表面 CXCR5 与同源 B 细胞表面 CXCL13 相结合, 以帮助自身在迁移至 B 细胞聚集区的过程中维持活化状态。此时, CXCR5⁺ Bcl-6⁺ CD4⁺ T 细胞大量表达 Bcl-6 以促进自身朝 Tfh 分化, 抑制自身朝非 Tfh 方向分化。而 B 淋巴细胞诱导成熟蛋白 1 (B lymphocyte-induced maturation protein 1, Blimp-1) 的表达则发挥与 Bcl-6 相反的作用^[9]。Tfh 此时还会高表达程序性死亡蛋白 1 (programmed cell death protein 1, PD-1), 下调 CCR7 表达^[1], 其作用与提高 CXCR5 表达相似。值得注意的是, achaete-scute 家族 bHLH 转录因子受体 2 (achaete-scute family bHLH transcription factor 2, Ascl2) 能上调 CXCR5 表达, 抑制 CCR7 表达, 可能是比 Bcl-6 更重要的促进 Tfh 迁移和分化的分子标志物^[10]。

最后, 在深入 B 细胞聚集区后, Tfh 逐渐完成自身分化, 并表达多种信号分子, 发挥辅助 B 细胞增殖分化的作用。此时, 除了之前高表达的 CXCR5 和 Bcl-6, 完成分化的 Tfh 已经开始表达 B 细胞和 T 细胞弱化子 (B and T lymphocyte attenuator, BTLA)、淋巴细胞活化信号分子相关蛋白 (signaling lymphocytic activation molecule-associated protein, SAP) 等其他重要调控分子, 为同源 B 细胞提供生存与增殖辅助信号^[1]。当分化结束后, Tfh 会暂时停留在附近, 然后返回原来的 GC, 或者进入下一个 GC, 变为记忆 Tfh 细胞^[4]。

上述假设在综合了现有的各种观点基础之上, 考虑到了 Tfh 分化过程所具有的大多数特征, 但是否完整准确仍需要更多有效的实验证据加以支持。

1.2 Tfh 的功能 Tfh 是滤泡内一种特殊的辅助性 T 细胞, 主要发挥辅助功能。GC 的 B 细胞提呈抗原给滤泡亮区的 Tfh, Tfh 反过来提供生存与增殖信号给同源 B 细胞。GC B 细胞接收信号后迁移至滤泡暗区, 经历几次增殖与体细胞高频突变。能形成高亲和力抗体的 B 细胞被 Tfh 选择, 再次接受另一循环的信号^[1]。

Tfh 的辅助信号包括细胞因子与共刺激分子。

CXCR5 与 B 细胞表面 CXCL13 结合, 传递促进 T 细胞和 B 细胞分化的信号。IL-21R 信号能诱导 Bcl-6 表达, 促进 B 细胞增殖^[1]。抑制信号为保证 Tfh 细胞提供适当辅助信号及完成亲和力选择发挥重要作用。PD-1 与其配体 PD-L1/2 在重复进行的 T-B 结合刺激下表达增加, 反过来抑制 TCR 信号和 Tfh 活性^[4]。因此, 平衡的 Tfh 辅助信号需靠多种细胞因子和共刺激分子以及抑制性分子共同合作才能实现。

2 滤泡调节性 T 细胞

2011 年, 研究者发现了一类新的 Treg 细胞——滤泡 Treg 细胞。该类细胞在表型上与 Treg 细胞和 Tfh 有共同之处, 在功能上与 GC 反应的调控和高亲和力抗体的形成密切相关^[11]。近几年的研究发现, Tfr 在包括 RA 在内的自身免疫性疾病的发生与发展中起到重要作用。

2.1 Tfr 的分子标志物和分化 Tfr 在表型上与 Treg 细胞和 Tfh 都有共同之处, 但 Tfr 与 Treg 更为相似。Linterman 等^[12]通过流式细胞术和 RT-PCR 技术检测发现, Tfr 表达叉头/翼状螺旋转录因子 p3 (forkhead/winged helix transcription factor p3, Foxp3)、细胞毒 T 淋巴细胞相关抗原 4 (cytotoxic T lymphocyte-associated antigen 4, CTLA-4)、糖皮质激素诱导的肿瘤坏死因子受体 (glucocorticoid-induced tumor necrosis factor receptor, GITR)、ICOS、颗粒酶 A (granzyme A, GZMA)、颗粒酶 B (granzyme B, GZMB)、CD25 和 IL-10 等。其中 CTLA-4, GITR 的表达水平接近活化的自然调节性 T 细胞 (natural regulatory T cell, nTreg), 说明 Tfr 具有与 nTreg 相似的活跃调节功能。此外, Tfr 具有一些 Tfh 的表型特征, 如 Bcl-6、CXCR5、PD-1、ICOS 等^[12]。

Tfr 上的 CXCR5 和 CXCL13 之间的识别介导了 Tfr 向 GC 的迁移^[11]。Bcl-6 和 Blimp-1 在 Tfr 分化及功能维持过程中起到重要作用。Bcl-6 是 Tfr 形成所必须的, 而 Blimp-1 的缺失会限制 Tfr 的数量, Blimp-1 还可能是 Tfr 执行调节功能所必须的相关分子^[13]。PD-1 会抑制 Tfr 的调节功能, 并且调节 Tfr 进入血液的数量^[14]。CTLA-4 在抑制 Tfr 分化的同时, 也是介导 Tfr 抑制功能的关键分子, CTLA-4 缺陷会导致 Tfr 的抑制功能下降、B 细胞的应答水平上升^[11]。Tfr 分泌的 IL-10 和转

化生长因子 β (transforming growth factor β , TGF- β)在对 Tfh 和 B 细胞的抑制中发挥重要作用, IL-10 可以调节抗体产生, TGF- β 可以抑制 Tfh 的形成和自身反应性 B 细胞的产生^[1]。

尽管 Tfr 在表型上与 Treg 和 Tfh 都很相似, 但 Tfr 起源于外周的 nTreg 细胞。Linterman 等^[12]用 Foxp3^{GFP} CD45.2 小鼠胸腺的 Foxp3⁺ CD4^{SP} 或 Foxp3 CD4^{SP} 细胞导入 CD45.1 小鼠, 经绵羊红细胞免疫后, 只有 Foxp3⁺ CD45.2 的细胞转变为 Tfr, 而且 97% 的 Tfr 表达 Helios(只有外周的 nTreg 细胞才会表达)。说明 Tfr 起源于外周的 nTreg 细胞。

成熟的 nTreg 需要经过与 Tfh 相似的分化过程。T 细胞在此过程中起到重要作用。T 细胞上的 CD28 可以诱导 Foxp3 表达并维持 Treg 细胞的增殖和功能^[15], CD28 缺陷会导致 Tfr 数量下降^[12]。此外, TCR 信号通路可以促进 Tfr 分化^[16]。Tfr 的发育也需要 B 细胞的作用。Wallin 等^[17]的人体试验发现, B 细胞是 Tfr 功能维持的必要条件。在 Tfr 分化过程中, APC 是必不可少的条件^[11], DC 提呈抗原的过程在 Tfr 的发育过程中起到重要作用。值得注意的是, Tfh 分泌的 IL-21 可以抑制 Tfr 分化及其功能^[8]。

综上所述, Tfr 起源于 nTreg 细胞, 并经历与 Tfh 相似的发育过程, 在淋巴细胞、B 淋巴细胞、APC 等许多细胞的多种表面分子和细胞因子共同调节下发育成熟。

2.2 Tfr 的功能 Tfr 在功能上与 Treg 细胞和 Tfh 相似。与 Treg 细胞类同, Tfr 具有抑制功能。Chung 等^[13]发现, Tfr 缺陷小鼠的核衣壳蛋白(nucleocapsid protein, NP)特异性 B 细胞和 B220⁺ CD138⁺ 浆细胞数量增加。Wollenberg 等^[18]的体外实验表明小鼠中 Tfr 数量下降会引起 Tfh 和 B 细胞数量的明显升高。Tfr、Tfh 和 B 细胞混合培养, 发现 Tfh 分泌的 IL-4 和 IL-21 减少, B 细胞表面的 GL7 和 B7-1 表达下降^[19]。以上实验说明, Tfr 既可通过抑制 Tfh 来调节 B 细胞, 也可以直接抑制 B 细胞的功能。此外, Tfr 可以直接杀死 B 细胞^[20]。

Tfr 可以使 GC 的应答维持在适宜水平, 防止体液免疫产生自身反应性抗体并保证抗体的高亲和力。Tfr 缺陷会导致特异性抗体 IgG1、IgM、IgG2b 和 IgA 生成减少^[18]。Tfr 可以抑制体液免疫

中低亲和力和自身反应性 B 细胞的形成, 并且在长寿浆细胞和记忆细胞的形成中发挥重要作用^[12]。

3 Tfh、Tfr 与 RA

RA 是一种常见的慢性自身免疫性疾病, 以关节滑囊组织炎症和关节退化为特征, 表现为关节肿大、变形, 引起关节损伤和功能障碍, 甚至引起心血管系统和呼吸系统疾病, 严重影响患者的运动能力和预期寿命。

3.1 RA 的病因 关于 RA 的病因, 科学界尚没有定论。但可以认为, RA 的发病受遗传和非遗传因素的共同影响。近几年的研究发现了一系列 RA 易感基因, 包括主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex, MHC)、蛋白酪氨酸磷酸酶非受体 22 型(protein tyrosine phosphatase non-receptor type 22, PTPN22)、肽基精氨酸脱亚胺酶 4 型(peptidyl arginine deiminase type 4, PADI4)、胆碱转运体样蛋白 4(choline transporter-like protein 4, CTL4)等^[21]。而烟草、药物等非遗传因素也与 RA 的发病存在联系。在免疫学方面, 固有免疫和适应性免疫都与 RA 的发病相关。Rodriguez 等^[22]发现 RA 患者淋巴结中固有免疫细胞比例与正常人明显不同, 揭示了固有免疫在 RA 发病中的重要性。Th17 细胞与 Treg 细胞比例的失衡也在 RA 发病中起至关重要的作用。Yao 等^[23]的实验发现处于活动期的 RA 患者外周血 Th17 细胞的比例上升, 而 Treg 细胞比例下降。此外, 以类风湿因子(rheumatoid factor, RF)为代表的自身反应性抗体不仅是 RA 的标志, 也与其发病密切相关。

3.2 Tfh 在 RA 发展中的作用 Tfh 的主要功能是辅助 B 淋巴细胞增殖分化为浆细胞和记忆 B 细胞、促进高亲和力抗体产生与维持体液免疫功能。然而, Tfh 辅助信号如果过于强烈, 也可能会促使 B 淋巴细胞过度增殖。近年来不断有研究表明 Tfh 与 RA 的发病有重要联系^[5-6, 24]。RA 患者体内循环中的 Tfh 细胞数量明显增加^[5]且 ELISA 法检测到 IL-21 浓度也有所上升^[6]。Chevalier 等^[24]的研究发现, 来自 KRN(一种黑腹果蝇基因 *Keren*)转基因小鼠的血清淀粉样 P 物质(serum amyloid P component, SAP)缺陷 CD4⁺ T 细胞转移入野生株小鼠体内后没有使其产生关节炎症状。因此, RA 患者体内 Tfh 及其表达的分子标志物数量或功能异常很可能会促使 RA 的发病与发展。

3.3 Tfr 在 RA 发展中的作用 RA 患者外周的 Tfh 数目及其分泌的 IL-21 在血清中的含量增加、活化 B 细胞数目和 GC 应答水平升高且自身反应性抗体的含量也有所增加。小鼠模型研究发现, IL-21 会抑制 Tfr 的分化、降低 GC 的 Tfr 的数量并减弱 Tfr 对 Tfh 和 B 细胞的抑制功能^[8]。由此导致的 Tfr 数量的不足或功能的缺失可能与 RA 的发生、发展有关。Ding 等^[8]将 Tfr 导入模型小鼠, 发现 Tfh 和自身反应性 B 细胞的数量有所下降且 IL-21、RF 在血清中的浓度下降。Lee 等^[25]用静脉内注射免疫球蛋白(intravenous immunoglobulin, IVIG)治疗胶原诱导型关节炎小鼠, 小鼠 GC 内 Tfr 数量增加, Tfh 和自身反应性 B 细胞数量下降, 症状减轻。通过调节 Tfr 和 Tfh 的比例来治疗 RA 或将成为科学研究和临床治疗的新思路。

4 结语

Tfh 与 Tfr 在 GC 中的反应以及在对 B 细胞调控过程中起到重要作用。Tfh 可以促进 B 细胞激活、增殖和分化以及浆细胞的形成。Tfr 则可以抑制 Tfh 和 B 细胞的功能、保证抗体的高亲和力并防止自身反应性抗体的产生。RA 患者体内会出现 GC 异常 B 细胞反应, 表现为体液和关节滑囊内存在大量的自身反应性抗体, 而且 RA 患者体内 Tfh 及其分泌的 IL-21 也有相应增加, 暗示 Tfr 的调节功能存在异常, 说明了 Tfh 和 Tfr 相互作用的失衡可能在 RA 的发生发展中起到重要作用。通过某种手段调节 Tfh 与 Tfr 的发育分化过程, 进而改变在 RA 患者体内的 Tfh 与 Tfr 异常的数量和功能, 或许能缓解 RA 患者的炎症反应, 达到治疗 RA 的目的。由于 Tfh 与 Tfr 发现的时间并不长, 相关研究尚不充分, 它们的发育过程及功能还没有完全得到阐明, 有关他们在 RA 中发挥作用的具体机制尚不明确。此外, 不同的研究结果存在冲突, 有待进一步的实验探索。而通过干预 Tfr 和 Tfh 的数量和功能来治疗 RA 的思路也还需要大量实验的验证。

参考文献

- [1] Zhu Y, Zou L, Liu YC. T follicular helper cells, T follicular regulatory cells and autoimmunity[J]. *Int Immunol*, 2016, 28(4): 173-179.
- [2] Breitfeld D, Ohl L, Kremmer E, *et al.* Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(11): 1545-1552.
- [3] Nurieva RI, Chung Y, Martinez GJ, *et al.* Bcl6 mediates the development of T follicular helper cells[J]. *Science*, 2009, 325(5943): 1001-1005.
- [4] Crotty S. Follicular helper CD4 T cells (TFH)[J]. *Ann Rev Immunol*, 2011, 29: 621-663.
- [5] Chu Y, Wang F, Zhou M, *et al.* A preliminary study on the characterization of follicular helper T(Tfh) cells in rheumatoid arthritis synovium[J]. *Acta Histochem*, 2014, 116(3): 539-543.
- [6] Zhang Y, Li Y, Lv TT, *et al.* Elevated circulating Th17 and follicular helper CD4⁺ T cells in patients with rheumatoid arthritis[J]. *Apmis*, 2015, 123(8): 659-666.
- [7] Pratama A, Srivastava M, Williams NJ, *et al.* MicroRNA-146a regulates ICOS-ICOSL signalling to limit accumulation of T follicular helper cells and germinal centres[J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 6436.
- [8] Ding Y, Li J, Yang P, *et al.* Interleukin-21 promotes germinal center reaction by skewing the follicular regulatory T cell to follicular helper T cell balance in autoimmune BXD2 mice[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2014, 66(9): 2601-2612.
- [9] Johnston RJ, Poholek AC, DiToro D, *et al.* Bcl6 and Blimp-1 are reciprocal and antagonistic regulators of T follicular helper cell differentiation[J]. *Science*, 2009, 325(5943): 1006-1010.
- [10] Liu X, Chen X, Zhong B, *et al.* Transcription factor achaete-scute homologue 2 initiates follicular T-helper-cell development[J]. *Nature*, 2014, 507(7493): 513-518.
- [11] Sage PT, Sharpe AH. T follicular regulatory cells in the regulation of B cell responses[J]. *Trend Immunol*, 2015, 36(7): 410-418.
- [12] Linterman MA, Pierson W, Lee SK, *et al.* Foxp3⁺ follicular regulatory T cells control the germinal center response[J]. *Nat Med*, 2011, 17(8): 975-982.
- [13] Chung Y, Tanaka S, Chu F, *et al.* Follicular regulatory T cells expressing Foxp3 and Bcl-6 suppress germinal center reactions[J]. *Nat Med*, 2011, 17(8): 983-988.
- [14] Sage PT, Francisco LM, Carman CV, *et al.* The receptor PD-1 controls follicular regulatory T cells in the lymph nodes and blood[J]. *Nat Immunol*, 2013, 14(2): 152-161.
- [15] Tai X, Cowan M, Feigenbaum L, *et al.* CD28 costimulation of developing thymocytes induces Foxp3 expression and regulatory T cell differentiation independently of interleukin 2[J]. *Nat Immunol*, 2005, 6(2): 152-162.
- [16] Huynh A, DuPage M, Priyadarshini B, *et al.* Control of PI(3) kinase in Treg cells maintains homeostasis and lineage stability[J]. *Nat Immunol*, 2015, 16(2): 188-196.
- [17] Wallin EF, Jolly EC, Suchanek O, *et al.* Human T-follicular helper and T-follicular regulatory cell maintenance is independent of germinal centers[J]. *Blood*, 2014, 124(17): 2666-2674.

- SCID mouse/human lymphoma model to evaluate cytokine-induced killer cells with potent antitumor cell activity[J]. *J Exp Med*, 1991, 174(1): 139-149.
- [3] Guo Y, Han W. Cytokine-induced killer(CIK) cells: from basic research to clinical translation[J]. *Chin J Cancer*, 2015, 34(3): 99-107.
- [4] Schmidt-Wolf IG, Lefterova P, Johnston V, *et al.* Sensitivity of multidrug-resistant tumor cell lines to immunologic effector cells[J]. *Cell Immunol*, 1996, 169(1): 85-90.
- [5] Feng Z, Zhang G, Huang B, *et al.* Inducement of specific CTLs by antigen-peptides from human leukemia cells and their cytotoxicity to leukemia cells[J]. *J Huazhong Univ Sci Technol Med Sci*, 2002, 22(4): 265-269.
- [6] Kim HM, Lim J, Yoon YD, *et al.* Anti-tumor activity of ex vivo expanded cytokine-induced killer cells against human hepatocellular carcinoma[J]. *Int Immunopharmacol*, 2007, 7(13): 1793-1801.
- [7] Ayello J, van de Ven C, Cairo E, *et al.* Characterization of natural killer and natural killer-like T cells derived from ex vivo expanded and activated cord blood mononuclear cells: implications for adoptive cellular immunotherapy[J]. *Exp Hematol*, 2009, 37(10): 1216-1229.
- [8] Durrieu L, Gregoire-Gauthier J, Dieng MM, *et al.* Human interferon-alpha increases the cytotoxic effect of CD56⁺ cord blood-derived cytokine-induced killer cells on human B-acute lymphoblastic leukemia cell lines[J]. *Cytotherapy*, 2012, 14(10): 1245-1257.
- [9] Durrieu L, Lemieux W, Dieng MM, *et al.* Implication of different effector mechanisms by cord blood-derived and peripheral blood-derived cytokine-induced killer cells to kill precursor B acute lymphoblastic leukemia cell lines[J]. *Cytotherapy*, 2014, 16(6): 845-856.
- [10] Zhang Z, Zhao X, Zhang T, *et al.* Phenotypic characterization and anti-tumor effects of cytokine-induced killer cells derived from cord blood[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(1): 86-97.
- [11] Kim HM, Kang JS, Lim J, *et al.* Antitumor activity of cytokine-induced killer cells in nude mouse xenograft model[J]. *Arch Pharm Res*, 2009, 32(5): 781-787.
- [12] Kim JS, Kim YG, Lee HK, *et al.* Cytokine-induced killer cells hunt individual cancer cells in droves in a mouse model[J]. *Cancer Immunol Immunother*, 2016, Nov 25 [Epub ahead of print]
- [13] Zhang Z, Wang L, Luo Z, *et al.* Efficacy and safety of cord blood-derived cytokine-induced killer cells in treatment of patients with malignancies[J]. *Cytotherapy*, 2015, 17(8): 1130-1138.
- [14] Liu H, Li J, Wang F, *et al.* Comparative study of different procedures for the separation of peripheral blood mononuclear cells in cytokine-induced killer cell immunotherapy for hepatocarcinoma[J]. *Tumour Biol*, 2015, 36(4): 2299-2307.
- [15] Li GX, Zhao SS, Zhang XG, *et al.* Comparison of the proliferation, cytotoxic activity and cytokine secretion function of cascade primed immune cells and cytokine-induced killer cells in vitro[J]. *Mol Med Rep*, 2015, 12(2): 2629-2635.
- [16] 康自珍, 蔡海波, 秦晓亮, 等. 用无血清培养基体外扩增 CIK 细胞的研究[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2002, 22(1): 82.
- [17] Huang MZ, Bai J, Li FS, *et al.* Biological characteristics of PHA-induced CIK cells and its killing activity to K562 cells[J]. *Zhong Guo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2014, 22(1): 64-68.
- [18] Rutella S, Iudicone P, Bonanno G, *et al.* Adoptive immunotherapy with CIK cells generated with a new good manufacturing practice-grade protocol[J]. *Cytotherapy*, 2012, 14(7): 841-850.
- [19] 王晓珺, 余奇文. 肿瘤过继性细胞免疫治疗[J]. *现代免疫学*, 2012, 32(5): 430-433.

(上接第 174 页)

- [18] Wollenberg I, Agua-Doce A, Hernandez A, *et al.* Regulation of the germinal center reaction by Foxp3⁺ follicular regulatory T cells[J]. *J Immunol*, 2011, 187(9): 4553-4560.
- [19] Sage PT, Alvarez D, Godec J, *et al.* Circulating T follicular regulatory and helper cells have memory-like properties[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(12): 5191-5204.
- [20] Zhao DM, Thornton AM, DiPaolo RJ, *et al.* Activated CD4⁺ CD25⁺ T cells selectively kill B lymphocytes[J]. *Blood*, 2006, 107(10): 3925-3932.
- [21] Castro-Santos P, Laborde CM, Diaz-Pena R. Genomics, proteomics and metabolomics: their emerging roles in the discovery and validation of rheumatoid arthritis biomarkers[J]. *Clin Exp Rheum*, 2015, 33(2): 279-286.
- [22] Rodriguez-Carrio J, Hahnlein JS, Ramwadhoebe TH, *et al.* Altered innate lymphoid cells subsets in human lymph node biopsies during the at risk and earliest phase of rheumatoid arthritis[J]. *Arthr Rheum*, 2016, doi: 10. 1002/art. 39811. [Epub ahead of print].
- [23] 姚血明, 曹跃朋, 马武开, 等. 类风湿性关节炎患者外周血 Th17 细胞/调节性 T 细胞比例增加并与疾病活动相关[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2015, 31(1): 81-84.
- [24] Chevalier N, Macia L, Tan JK, *et al.* The role of follicular helper T cell molecules and environmental influences in autoantibody production and progression to inflammatory arthritis in mice[J]. *Arthr Rheum*, 2016, 68(4): 1026-1038.
- [25] Lee SY, Jung YO, Ryu JG, *et al.* Intravenous immunoglobulin attenuates experimental autoimmune arthritis by inducing reciprocal regulation of Th17 and Treg cells in an interleukin-10-dependent manner[J]. *Arthr Rheum*, 2014, 66(7): 1768-1778.