

非酒精性脂肪肝病大鼠肝脏 SOCS-3 的表达与吡格列酮干预研究

曹彦¹ 易艳荣²

(1 湖南省人民医院急诊科 湖南 长沙 410005 2 长沙市中心医院消化内科 湖南 长沙 410004)

摘要 目的 探讨 SOCS-3 在非酒精性脂肪肝病(NAFLD)发病中的作用以及吡格列酮的干预作用。方法 29 只雄性 SD 大鼠随机分为正常对照组(8 只) 高脂饮食组(21 只)。饲养 8 周后 从高质饮食组随机抽取 5 只大鼠证实造模成功后 将该组余下的 16 只大鼠继续以高脂饲料喂养 并随机分为 NAFLD 对照组(8 只) 吡格列酮干预组(8 只) ,予以吡格列酮 3mg·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃。16 周末 处死所有大鼠 检测血糖、血胰岛素、血脂、肝脏 SOCS-3mRNA 和 SREBP-1c mRNA 表达及肝脏病理学。结果 :与正常对照组相比 , NAFLD 组血糖、血胰岛素、血脂、肝脏脂肪变水平及肝组织 SOCS-3mRNA、SREBP1c mRNA 表达显著上调。吡格列酮干预组 SOCS-3mRNA、SREBP-1cmRNA 表达较 NAFLD 组下调 ,且血糖、血胰岛素、血脂、肝脏脂肪变水平下降。SOCS-3mRNA 表达水平与胰岛素抵抗指数、SREBP-1c mRNA 表达水平、肝脂肪变成显著正相关。结论 :SOCS-3 可能通过胰岛素抵抗及上调肝组织 SREBP-1c mRNA 表达参与 NAFLD 发病 吡格列酮能抑制肝脏 SOCS-3 的表达 对 NAFLD 有一定治疗作用。

关键词 非酒精性脂肪肝病 ;SOCS-3 ;吡格列酮

中图分类号 :R575.5 文献标识码 :A 文章编号 :1673-6273(2011)10-1817-04

Expression of SOCS-3 in the Liver of Rats with Nonalcoholic Fatty Liver Disease and Therapeutic Effects of Pioglitazone

CAO Yan¹, YI Yan-rong²

(1 Department of Emergency, Hunan Province People's Hospital, 410005, Changsha, China;

2 Department of Digestion , Changsha Central Hospital, 410004, Changsha, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the role of suppressors of cytokine signaling protein(SOCS-3) in the pathogenesis of patients with nonalcoholic fatty liver as well as the effects of pioglitazone. **Methods:** Twenty-nine male SD rats were randomized into normal control group (n=8, fed with normal food), high fat diet group (n=21, fed with fat-rich food). Killed 5 rats of high fat diet group after 8 weeks, and confirmed that the model of NAFLD was successfully established. Then the remaining 16 rats were divided into 2 subgroups: NAFLD control group (n=8, fed with continuously with fat-rich food), pioglitazone intervention group (n=8, fed with continuously with fat-rich food and pioglitazone 3 mg·kg⁻¹·d⁻¹ by gastric perfusion). By the end of 16th week , all rats were killed to isolate the serum to test the levels of FBG, FINS, TG and TC. The SOCS-3 mRNA and SREBP-1c mRNA expression of rat liver were analyzed by RT-PCR. **Results:** Compared with control group, the serum levels of FBG, FINS, TC, TG and the liver SOCS-3 and SREBP-1c expression levels, liver fatty degeneration grades of NAFLD group were all up-regulated (P<0.05). The serum levels of FBG, FINS, TC, TG of pioglitazone intervention group were significantly lower than NAFLD control group (P<0.05); the liver SOCS-3 and SREBP-1c expression levels of pioglitazone intervention group were also lower than NAFLD control group(P<0.05). Meanwhile, the fatty degeneration grades of liver of pioglitazone intervention group was lower than NAFLD control group (P<0.05). The liver SOCS-3 mRNA expression levels positively correlated with HOMA-IR, the liver SREBP-1c mRNA expression levels and the fatty degeneration grades(P<0.05). **Conclusion:** SOCS-3 might be involved in nonalcoholic fatty liver through insulin resistance and up-regulating SREBP-1c mRNA expression, and pioglitazone therapy could decrease the SOCS-3mRNA expression and effectively treat nonalcoholic fatty liver.

Key Words: Nonalcoholic fatty liver; SOCS-3; Pioglitazone

Chinese Library Classification (CLC): R575.5 **Document Code:** A

Article ID:1673-6273(2011)10-1817-04

前言

非酒精性脂肪肝病 (Nonalcoholic fatty liver disease, NAFLD)是一类肝组织学改变与酒精性脂肪肝病相似但无过量饮酒史的临床病理综合症 ,包括单纯性脂肪肝、脂肪性肝炎和脂肪性肝硬化三种主要类型^[1]。随着生活水平的提高和饮食结

构的改变 ,NAFLD 已经成为现代社会最常见的肝病之一^[2]。目前普遍认为 NAFLD 是胰岛素抵抗综合症的组成部分 ,改善胰岛素抵抗对 NAFLD 有一定的治疗作用^[3]。近年来研究发现细胞因子信号转导抑制物 -3 (suppressors of cytokine signaling protein ,SOCS-3)在胰岛素抵抗和 NAFLD 的发生发展中起到非常重要的作用^[4]。本实验以高脂饲料建立 NAFLD 大鼠模型 ,以胰岛素增敏剂吡格列酮进行干预 ,通过对该动物模型的 SOCS-3 因子研究 探讨其在 NAFLD 形成及治疗中的作用。

1 材料和方法

作者简介 :曹彦(1981-) ,硕士 ,医师 ,主要从事消化系统疾病和急诊医学相关研究 ,

电话 :15116485862, E-mail: viviancao1981@163.com

(收稿日期 2011-02-25 接受日期 2011-03-15)

1.1 材料

1.1.1 动物 雄性 SD 大鼠 37 只 ,体重(150± 10)g。
1.1.2 主要试剂 胆固醇(分析纯级)购自北京鼎国生物有限公司 ;猪油、白砂糖为市售 ;胰岛素放免试剂盒购自北方原子高科 ;Trizol 试剂为 Takara 产品 ;逆转录试剂盒为 Fermentas 产品 ;大鼠 SOCS-3、SREBP-1c 及内参 β -actin 引物均由上海生工合成 ;DNA marker 为 Qigen 产品。

1.2 方法

1.2.1 动物分组及模型建立 29 只雄性 SD 大鼠 ,正常喂养 1 周后 随机分为 2 组 (1)正常对照组 8 只 ,饲以普通饲料 (2)高脂饮食组 21 只 ,饲以高脂饲料(10%熟猪油 ,2%胆固醇 ,88%普通饲料)^[5] 8 周后随机处死 5 只 取肝脏进行病理学检查证实 NAFLD 造模成功后 ,将余下的 16 只大鼠随机分为两组 :NAFLD 对照组 8 只 继续饲以高脂饲料 ,并以生理盐水灌胃 ,吡格列酮干预组 8 只 继续饲以高脂饲料 ,并以吡格列酮 3mg·kg⁻¹·d⁻¹ 灌胃。16 周末 禁食 12 小时处死所有大鼠 ,采血分离血清 ,取部分肝组织于液氮速冻后保存于 -80℃ 冰箱 ,用于提取总 RNA ,另取部分肝组织以 10%多聚甲醛固定用于病理学检查。

1.2.2 血清学指标检测 甘油三酯(TG)、总胆固醇(TC)、空腹血糖(FBG)采用全自动生物分析仪检测 ;空腹胰岛素(FINS)用放免法测定 ,计算胰岛素抵抗指数(HOMA-IR)=[空腹血糖(FBG)× FINS]/22.5。

1.2.3 肝指数 称量肝重及体重 ,计算肝 / 体比值 ,即为肝指数。

1.2.4 肝组织 SOCS-3mRNA 和 SREBP-1c mRNA 表达 取冻存于液氮中的肝组织 ,按 Trizol 试剂盒说明提取总 RNA ,测定 RNA 的浓度及纯度。采用 RT-PCR 技术进行逆转录和扩增 ,以 β -actin 作为内参照。引物 :SOCS-3 上游 :CACAGCAAGTTT-CCGCGCCG ;下游 :GTGCACCAGCTTGAGTACACA (产物 366bp)。SREBP-1c 上游 :GGAGCCATGGATTGC-ACATT ;下游 :AGGAAGGCTTCCAGAGAAGA (产物 191bp)。内参 β -actin 上游 :CCCTGAAGTACCCATTGAA ;下游 :TCTCCAG-GGAGGAAGAGGAT(产物 516bp)。反应条件 (1)预变性 94℃ 5min (2)变性 94℃ 30s (3)退火 β -actin 59℃ 30s ,SOCS-3 61℃ 30s ,SREBP-1c 56℃ 30s ;(4)延伸 72℃ β -actin 30 个循环 ,SOCS-3 30 个循环 ,SREBP-1c 34 个循环 ,每个循环 40s ;(5)72℃再延伸 7min。PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳 ,目标条带用 VDS 凝胶成像系统拍照,通过软件分析其光密度值。 β -actin 为内参照 ,目的基因条带相对表达量=目的基因条带信号密度值/ β -actin 条带信号密度值。

1.3 统计学处理

数据采用 SPSS13.0 统计学软件处理 ,数据以均数± 标准差表示 ,各组间比较采用方差分析。并以相关分析对 SOCS-3 相对表达量与胰岛素抵抗指数、SREBP-1c 相对表达量、肝脂肪变程度的相关性进行评价 ,以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般情况

与正常对照组相比 ,NAFLD 组大鼠性情较为温顺 ,皮毛蓬乱无光泽 ,各组动物均无死亡发生。至 16 周末 ,NAFLD 大鼠体重、肝指数均显著高于正常对照组(P<0.05) ,吡格列酮干预组体重及肝指数均低于 NAFLD 对照组(P<0.05) ,与正常对照组的差异无统计学意义(P>0.05)(表 1)。

2.2 肝脏病理学改变

至 16 周末 ,正常对照组大鼠肝脏色泽鲜红 ,边缘锐利 ,光镜下可见肝索结构正常 ,无肝细胞脂肪变性和炎症细胞浸润。NAFLD 对照组大鼠肝脏肉眼观体积增大 ,呈暗黄色 ,切面油腻 ,与周围组织粘连明显 ,光镜下可见肝细胞变大 ,胞质内脂滴大小不一 ,以大泡性脂滴为主 ,伴有大量炎性细胞浸润及点片状坏死。吡格列酮干预组肝脏色泽接近正常对照组 ,与周围组织无明显粘连 ,光镜下见少量肝细胞呈脂肪变及少量炎性细胞浸润 ,与 NAFLD 组比较 ,脂肪变性程度显著减轻(P<0.05) , (图 1、表 1)。

2.3 血脂

至 16 周末 ,NAFLD 组血清 TG、TC 显著高于正常对照组(P<0.05) ;吡格列酮干预组血清 TG、TC 显著低于 NAFLD 组(P<0.05) ,但仍高于正常对照组(P<0.05)(表 1)。

2.4 胰岛素抵抗

NAFLD 组 FBG、FINS、HOMA-IR 显著高于正常对照组(P<0.05) ;吡格列酮干预组 FBG、FINS、HOMA-IR 显著低于 NAFLD 组(P<0.05) ,除 FINS 外其余指标仍高于正常对照组(P<0.05)(表 2)。

2.5 肝组织 SOCS-3 和 SREBP-1c mRNA 表达水平

正常对照组肝组织仅有少量 SOCS-3 和 SREBP-1c mRNA 表达 ;NAFLD 对照组肝组织 SOCS-3 和 SREBP-1c mRNA 表达显著增强 (P<0.05) ;吡格列酮干预组肝组织 SOCS-3 和 SREBP-1c mRNA 表达较 NAFLD 对照组明显下调(P<0.05) ,但仍高于正常对照组(表 2 图 2)。

2.6 肝组织 SOCS-3mRNA 表达水平与胰岛素抵抗、SREBP-1c mRNA 表达水平、肝脂肪变的相关分析

SOCS-3mRNA 表达水平与胰岛素抵抗指数、SREBP-1c

表 1 各组大鼠体重、肝指数、血脂及肝脂变程度($\bar{X} \pm S$)
Table1 Weight, HSI, TG, TC, fatty degeneration grades of three groups

Group	Weight (g)	HSI($\times 10^{-3}$)	TG(mmol/L)	TC(mmol/L)	Fatty degeneration grades
Control group	465.7± 27.6	25.6± 2.5	0.57± 0.18	1.53± 0.28	0
NAFLD group	559.8± 29.8 ^a	48.6± 2.8 ^a	0.91± 0.13 ^a	4.80± 1.09 ^a	2.8± 0.2 ^a
Intervention group	493.9± 23.3 ^b	32.3± 4.8 ^b	0.66± 0.13 ^{ab}	2.93± 0.95 ^{ab}	0.8± 0.6 ^{ab}

表 2 各组大鼠 FBG、FINS、HOMA-IR 及肝组织 SOCS-3、SERBP-1cmRNA 表达($\bar{X} \pm S$)

Table 2 FBG, FINS, HOMA-IR, SOCS-3mRNA,SERBP-1cmRNA of three groups

Group	FBG(mmol/L)	FINS(mU/L)	HOMA-IR	SOCS-3 mRNA	SREBP-1cmRNA
Control group	4.2± 0.7	22.8± 3.6	6.9± 1.8	0.35± 0.03	0.58± 0.02
NAFLD group	6.8± 1.3 ^a	44.2± 6.3 ^a	11.7± 3.1 ^a	0.63± 0.02 ^a	0.88± 0.03 ^a
Intervention group	4.7± 0.8 ^{ab}	24.6± 1.8 ^b	8.9± 3.0 ^{ab}	0.49± 0.06 ^{ab}	0.81± 0.05 ^{ab}

Note :^aP<0.05 compared with control group;^bP<0.05 compared with NAFLD group.

表 3 肝组织 SOCS-3mRNA 表达水平与胰岛素抵抗指数、SREBP-1c mRNA、肝脂肪变的相关系数

Table 3 Correlation coefficient of SOCS-3mRNA and HOMA-IR, SREBP-1c mRNA, fatty degeneration grades

	HOMA-IR	SREBP-1c mRNA	Fatty degeneration grades
SOCS-3 mRNA	0.668 ^c	0.832 ^c	0.829 ^c

Note :^cP<0.05

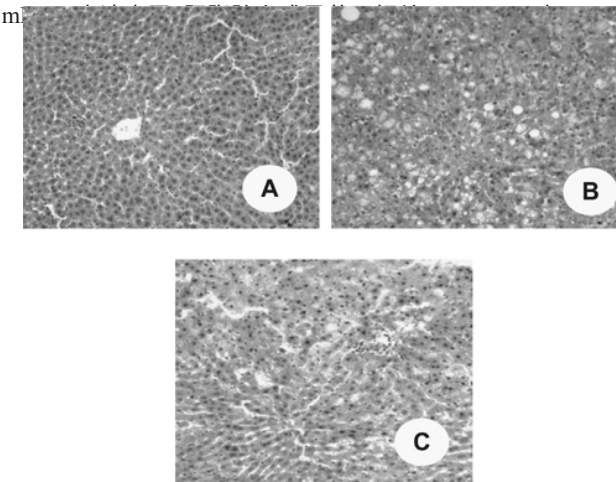


图 1 各组大鼠肝组织病理学改变(HE× 100) A. 正常对照组
B. NAFLD 组 C.吡格列酮干预组
Fig.1 Pathological change of hepatic tissue(HE× 100) A. Control group;
B. NAFLD group; C. Intervention group

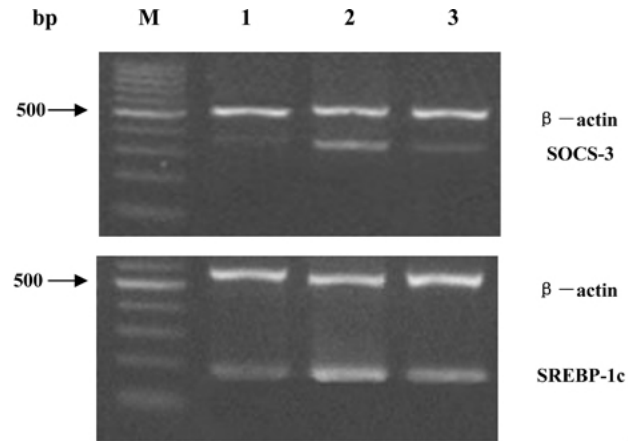


图 2 各组 SOCS-3、SREBP-1c、β -actin 凝胶电泳图
M. 分子量标准 ;1. 正常对照组 2. NAFLD 组 3. 吡格列酮干预组
Fig.2 Gel electrophoresis of SOCS-3mRNA, SREBP-1c mRNA, β -
actin mRNA
M. Marker ;1. Control group 2. NAFLD group ;
3. Intervention group

3 讨论

NAFLD 的发病机制尚未完全明确 ,但与胰岛素抵抗的相关性已经被肯定 ,周围组织和肝脏的胰岛素抵抗几乎存在于所有 NAFLD 的患者中 ,其严重程度与 NAFLD 的进展相关。升高的胰岛素通过促脂肪细胞脂解 ,使更多的游离脂肪酸转运至肝脏 ,并阻碍甘油三酯转运出肝脏 ,导致脂肪在肝细胞内沉积^[7]。SOCS 是具有抑制 JAK-STAT(Janus 类激酶 - 信号转导与转录活化子) 信号转导通路的一类蛋白 ,JAK- STAT 信号转导的瀑布级联效应是许多细胞因子的胞内信号转导通路^[8]。近年来研究发现 SOCS 家族的亚型之一 SOCS-3 参与了胰岛素抵抗和 NAFLD 的发病过程。在正常情况下 ,细胞内 SOCS-3 表达水平很低 ,但许多细胞因子 ,如 IL-6、IFN-γ 等均可通过 JAK-STAT 通路诱导 SOCS-3 的表达^[9]。上调的 SOCS-3 可能通过以下途径影响胰岛素信号的转导并诱导胰岛素抵抗 : (1)竞争性结合胰岛素受体的 960 位酪氨酸残基 ,从而占据了胰岛素受体底物的锚着位点 ,使下游的胰岛素信号转导受阻 ;(2)作为接头蛋白 ,结合胰岛素受体底物并使之泛素化 ,从而易于被蛋白酶体识别和降解 ,降低了胰岛素受体底物的水平^[10-11]。本实验以高脂饲料诱导 NAFLD 大鼠模型 ,该模型与人类 NAFLD(尤其是高脂血症性脂肪肝) 的相似度较高且造模方法简便易行 ,重复性好 ,成功率高 ,为后续研究的开展奠定了良好的基础。随着造模时间的延长 ,大鼠肝脏脂肪变性逐渐加重 ,血糖、胰岛素水平、胰岛素抵抗指数、肝脏 SOCS-3 mRNA 表达较正常对照组显著增加 ,SOCS-3mRNA 表达水平与胰岛素抵抗指数、肝脂肪变成显著正相关。

近年来研究发现 SOCS-3 参与 NAFLD 发病不仅与胰岛素抵抗有密切联系 ,也可能通过上调肝脏类固醇条件元件结合蛋白 -1c(Sterol regulatory element binding proteins -1c ,SREBP-1c) 的表达使脂肪酸合成增加及肝脏脂肪沉积^[12]。SREBPs 有三种亚型 :SREBP-1a、SREBP-1c、SREBP-2。其中 SREBP-1c 和 SREBP-2 主要在肝脏中表达 ,SREBP-1c 被称为脂肪细胞定向和分化因子 ,在正常情况下非脂肪组织中脂肪含量的稳定性主要依赖于 SREBP- 1c 对脂肪合成的节^[13-14]。由于 SOCS-3 是 JAK-STAT 通路的反馈抑制因子 ,STAT 又是抑制 SREBP-1c 启动子活性的分子 ,当 SOCS-3 表达增加时 ,STAT-3 介导的阻

抑作用减弱,SREBP-1c 启动子的活性增强,导致 SREBP-1c 的表达上调,激活脂肪酸合成途径中多种基因转录子,启动合成程序,从而使肝脏脂质尤其是甘油三酯含量增加^[12]。本实验中 NAFLD 组大鼠肝脏 SOCS-3 和 SREBP-1c 的 mRNA 表达为均较正常对照组增加,且两者之间呈显著正相关。

由于 SOCS-3 参与了多种激素或大分子引起的胰岛素抵抗及 NAFLD 的形成过程,我们可以推测 SOCS-3 作为靶分子在 NAFLD 治疗中具有一定的应用前景。吡格列酮是噻唑烷二酮类口服降糖药,为高选择性的过氧化物酶体增殖物激活受体- γ (Peroxisome proliferator-activated receptor- γ , PPAR- γ)的激动剂,通过提高胰岛素敏感性而控制血糖水平。而随着研究的深入,人们发现吡格列酮除降糖外还具有抑制肝组织 SOCS-3 表达和抗炎性细胞浸润的作用^[15]。因此,本实验以吡格列酮为干预药物,对 NAFLD 大鼠进行干预。与 NAFLD 对照组相比,吡格列酮干预组的大鼠肝脏 SOCS-3 mRNA 和 SREBP-1c mRNA 的表达均下调,并且血糖、胰岛素抵抗指数、血脂、肝脏脂肪变程度也显著下降。这提示吡格列酮可能是通过抑制 SOCS-3 mRNA 的表达,改善胰岛素抵抗,并且降低 SREBP-1c 启动子的活性,减少脂肪酸和甘油三酯的生成,从而对 NAFLD 具有治疗作用,但吡格列酮抑制 SOCS-3 表达的作用机制尚不明确,仍有待深入探讨。

目前国内外关于 SOCS-3 与 NAFLD 之间的关系以及作用机制的研究报道甚少,将此研究进一步完善和深入,将为 NAFLD 的临床研究和药物开发提供一个新的方向。

参考文献(References)

- [1] BrunT EM, Tiniakos DG. Histopathology of nonalcoholic fatty liver disease[J]. *World J Gastroenterol*, 2010, 16(42): 5286-5296
- [2] Erickson, SK. Nonalcoholic fatty liver disease [J]. *J Lipid Res*, 2009, 50(Supplement): S412-S416
- [3] Krawczyk M, Bonfrate L, Portincasa P.. Nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Best Pract Res Clin*, 2010, 24(5): 695-708
- [4] Bloomgarden ZT. Second World Congress on the insulin resistance syndrome: insulin resistance syndrome and fatty liver disease [J].

Diabetes Care, 2005, 28: 1518-1523

- [5] Ueki K, Tatsuya kondo, Tseng YH, et al. Control role of suppressor of cytokine signaling proteins in hepatic steatosis, insulin resistance, and the metabolic syndrome in the mouse [J]. *PNAS*, 2004, 101 (28): 10422-10427
- [6] 范建高, 钟岚, 王国良等. 胰岛素抵抗在高脂饮食大鼠非酒精性脂肪肝发病中的作用[J]. *胃肠病学*, 2000, 3: 169-170
Fan Jian-gao, Zhong Lan, Wang Guo-liang, et al. Insulin Resistance in the Pathogenesis of Non-alcoholic Steatohepatitis in Rats Induced by High Fat Diet[J]. *Gastroenterology*, 2000, 3:169-170
- [7] Samuel VT, Liu ZX, Qu X, et al. Mechanism of hepatic insulin resistance in non-alcoholic fatty liver disease [J]. *J Biol Chem*, 2004, 279:32345-32353
- [8] Leonard WJ. Role of JAK kinase and STATs in cytokine signal transduction [J]. *INT J Hematl*, 2001, 73(3): 271-277
- [9] Lebrun P, Van Obberghen E. SOCS proteins causing trouble in insulin action[J]. *Acta Physiol (Oxf)*, 2008, 192(1): 29-36
- [10] Farrell GC. Signalling links in the liver: knitting SOCS with fat and inflammation[J]. *J Hepatol*, 2005 Jul; 43(1): 193-196
- [11] Kievit P, Howard JK, Badman MK, et al. Enhanced leptin sensitivity and improved glucose homeostasis in mice lacking suppressor of cytokine signaling-3 in POMC-expressing cells [J]. *Cell Metab*, 2006, 2: 123-132
- [12] Ueki K, Kadowaki T, Kahn CR.. Role of suppressors of cytokine signaling SOCS-1 and SOCS-3 in hepatic steatosis and the metabolic syndrome[J]. *Hepatol Res*, 2005, 33(2):185-192
- [13] Shimano, H. SREBPs: physiology and pathophysiology of the SREBP family[J]. *FEBS J*, 2009, 276:616-621
- [14] Ahmed, M H.; Byrne, C. D. Modulation of sterol regulatory element binding proteins (SREBPs) as potential treatments for non-alcoholic fatty liver disease[J]. *Drug Discovery Today*, 2007, 12: 740-774
- [15] Massimo Collino, Manuela Aragno, Sara Castiglia, et al. Pioglitazone improves lipid and insulin levels in overweight rats on a high cholesterol and fructose diet by decreasing hepatic inflammation[J]. *British Journal of Pharmacology*, 2010, 160: 1892-1902

(上接第 1812 页)

- [11] Mrudula P, Zandiswa G, Mike D. The effect of *Dodonaea viscosa* var. *angustifolia* on *Candida albicans* proteinase and phospholipase production and adherence to oral epithelial cells[J]. *Journal of Ethnopharmacology*, 2009, 124(3): 562-565
- [12] Aldwell FE, Tucker IG, De Lisle GW, et al. Oral delivery of *Mycobacterium bovis* BCG in a lipid formulation induces resistance to pulmonary tuberculosis in mice[J]. *Infect Immun*, 2003, 71(1): 101-108
- [13] Kawahara M, Hashimoto A, Toida I, et al. Oral recombinant *Mycobacterium bovis* bacillus Calmette-Guerin expressing HIV-1 antigens as a freeze-dried vaccine induces long-term HIV-specific mucosal and systemic immunity[J]. *Clin Immunol*, 2002, 105(3): 326-331
- [14] Kelsall BL. Innate and adaptive mechanisms to control pathological inflammation[J]. *J Pathol*, 2008, 214(2):242-259
- [15] Rescigno M, Urbano M, Valzasina B, et al. Dendritic cells express tight junction proteins and penetrate gut epithelial monolayers to sample bacteria[J]. *Nature Immunol*, 2001, 2(4):361-367
- [16] Colonna M, Trinchieri G, Liu YJ. Plasmacytoid dendritic cells in im-

munity[J]. *Nat Immunol*, 2004, 5(12):1219-1226

- [17] 平晓春, 李幼生. 淋巴小结相关上皮细胞在肠粘膜屏障中的作用[J]. *肠外与肠内营养*, 2008, 15(2):110-122
PING Xiao-chun, LI You-sheng. Role of microfold cell in intestinal barrier function[J]. *Parenteral & Enteral Nutrition*, 2008, 15(2):110-122
- [18] Fukata M, Abreu MT. TLR4 signalling in the intestine in health and disease[J]. *Biochem Soc Trans*, 2007, 35(Pt 6):1473-1478
- [19] Mukai T, Maeda Y, Tamura T, et al. Induction of cross-priming of naive CD8⁺ T lymphocytes by recombinant bacillus Calmette-Guerin that secretes heat shock protein 70-major membrane protein-fusion protein[J]. *J Immunol*, 2009, 183(10):6561-6568
- [20] 史皆然, 张新海, 师长宏, 等. 胞壁表达 Der p2 的重组 BCG 对 BALB/c 小鼠 Th 细胞免疫应答的影响[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2005, 21(3):287-289
SHI Jie-ran, ZHANG Xin-hai, SHI Chang-hong, et al. The effects of rBCG expressing Der p2 in the form of lipoprotein on murine immune response[J]. *Chin J Cell Mol Immunol*, 2005, 21(3):287-289