

·基础研究·

未甲基化 CpG 寡聚脱氧核苷酸对小鼠脾细胞产生
免疫球蛋白 E 的抑制作用谢海瑞¹, 沈二霞², 李文益³, 吴长有²(1. 广州市越秀区儿童医院, 广东 广州 510115; 2. 中山大学中山医学院免疫学教研室, 广东 广州 510080;
3. 中山大学附属第二医院儿科, 广东 广州 510120)

摘要:【目的】探讨未甲基化 CpG 的寡聚脱氧核苷酸 (CpG ODN) 在体外对小鼠脾细胞和纯化 B 细胞产生免疫球蛋白 E (IgE) 的作用及其机制。【方法】在体外, 小鼠脾淋巴细胞和纯化 B 细胞与白细胞介素 4 (IL-4) + 抗 CD40 单克隆抗体 (anti-CD40) 在 CpG ODN 存在或不存在的条件下刺激 3 d 或 7 d 后, 用酶联免疫吸附试验法检测 IgE 的水平, 用流式细胞仪检测 CD19 阳性 B 细胞的分裂及活化情况。【结果】CpG ODN 呈剂量及时间依赖性地抑制由 IL-4 + anti-CD40 诱导的小鼠脾细胞 IgE 的产生, anti-IFN- γ mAb 及 anti-IL-12 mAb 不能完全拮抗 CpG ODN 对 IgE 产生的抑制作用。同样地, CpG ODN 抑制小鼠纯化 B 细胞 IgE 的产生。进一步分析结果表明, CpG ODN 促进 B 细胞活化及共刺激分子 CD80 的表达, 但抑制 B 细胞分裂。【结论】CpG ODN 直接作用于 B 细胞而发挥对 IgE 的抑制作用, 该研究为基础和临床研究提供科学理论依据。

关键词: CpG ODN; IgE; 脾细胞; 纯化 B 细胞; 小鼠

中图分类号: R392

文献标识码: A

文章编号: 1672-3554(2007)04-0361-06

Inhibitory Effect of Non-methylation CpG Oligodeoxynucleotide on Production of
Immunoglobulin E by Murine SplenocytesXIE Hai-rui¹, SHEN Er-xia², LI Wen-yi³, WU Chang-you²

(1. Yuexiu District Children's Hospital, Guangzhou 510115, China; 2. Department of Immunology, Zhongshan School of Medicine, SUN Yat-sen University, Guangzhou 510080, China; 3. Second Affiliated Hospital of SUN Yat-sen University, Guangzhou 510120, China)

Abstract: 【Objective】To evaluate the effect and mechanism of non-methylation CpG oligodeoxynucleotide (CpG ODN) on production of immunoglobulin E (IgE) by murine splenocytes and purified splenic B cells in vitro.

【Methods】Splenocytes and purified splenic B cell from BALB/c mice were prepared and stimulated at time points with IL-4 + anti-CD40 in the presence or absence of CpG ODN at different concentration. After stimulation for 3 or 7 days, the level of IgE in the culture supernatant was assayed by ELISA, and B cell activation and division was evaluated in vitro by flow cytometry.

【Results】CpG ODN inhibited the production of IgE production by IL-4 + anti-CD40 stimulated murine splenocytes or purified splenic B cells in a dose-dependent manner and in a time course way in vitro. Anti-IFN- γ mAb or anti-IL-12 mAb completely failed to abolish CpG ODN mediated inhibition of IgE production by murine splenocytes. Cellular analysis demonstrated that CpG ODN elicited the activation but inhibited division of B cells. 【Conclusion】CpG ODN may exert its inhibition on IgE production via the direct effect on B cell, our results provide an important application of CpG ODN in the clinical studies.

Keywords: CpG oligodeoxynucleotide; immunoglobulin E; splenocyte; purified splenic B cell; mouse

[J SUN Yat-sen Univ(Med Sci), 2007, 28(4): 361-366]

收稿日期: 2007-05-15

基金项目: 国家自然科学基金项目 (30671898); 广东省自然科学基金团队项目 (05200176)

作者简介: 谢海瑞 (1973-), 女, 河北吴桥人, 主治医师, 硕士研究生, 主要从事儿童哮喘研究; 吴长有, 通讯作者, 教授, 博士生导师, 课题负责人, 主要从事疫苗和免疫记忆方面的研究, E-mail: changyou_wu@yahoo.com

近来研究发现,未甲基化 CpG 的寡聚脱氧核苷酸(CpG oligodeoxynucleotide, CpG ODN)治疗变态反应性疾病取得了显著疗效^[1-4]。动物哮喘模型已证实,CpG ODN 既可以改善也可以预防变态反应急性发作时所导致的气道高反应性、黏液异常分泌、平滑肌痉挛及气道内嗜酸细胞浸润等症状^[1-3],甚至可以阻止慢性哮喘鼠的气道重塑^[4]。最近亦有报道,用豚草-CpG ODN 耦联抗原在豚草生长季节治疗过敏性鼻炎取得了一定的效果^[5]。目前,尽管 CpG ODN 在激活免疫应答方面的作用已经明确,但其作用机理仍不清楚。有研究认为,CpG ODN 是通过直接或间接激活多种免疫细胞,诱导产生 Th1 型细胞因子,如 IL-12、IFN- γ 和 TNF- α 等,从而抑制 Th2 类细胞因子 IL-4 和 IL-5 的产生,进一步抑制 B 细胞产生 IgE,抑制嗜酸细胞聚集活化^[6]。但亦有研究发现,去除 IL-12 或 IFN- γ ,CpG ODN 仍然可以抑制变态反应的发生^[8,9]。为此,我们试图研究 CpG ODN 在细胞群体水平、单个细胞水平上对 B 细胞产生 IgE 的作用。结果表明,CpG ODN 可通过细胞因子网络以外的其他途径来抑制 IgE 的产生,该结果对 CpG ODN 的生物学功能有了新的认识,为临床研究提供基础实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

正常雌性 6-8 周龄 BLAB/c 小鼠 18 只,购自中山大学实验动物中心。CpG ODN 1826 (5'-TCCATGACGTTCCCTGACGTT-3'),由上海生工生物工程公司合成,全链硫代磷酸化修饰,PAGE 纯化产品。CFSE 购自美国 Molecular probes 公司。CD19 MicroBeads 购自德国 Miltenyi 公司。Anti-CD40、anti-IFN- γ mAb、anti-IL-12 mAb、PE 标记的抗 CD80 单克隆抗体 (PE-anti-CD80) 及抗 CD25 单克隆抗体 (PE-anti-CD25)、FITC 标记的抗 CD69 单克隆抗体 (FITC-anti-CD69)、APC 标记的抗 CD19 单克隆抗体 (APC-anti-CD19) 以及相匹配的对照抗体、抗小鼠 IgE 的 ELISA 检测试剂盒均购自美国 BD 公司 (BD/Pharmingen)。IL-4、RPMI 1640 培养液和 Hank's 液购自美国 GIBCO 公司。96 或 48 孔平底培养板及流式细胞仪 (Aria) 为 BD 公司产品。ELx 800 型酶标仪为美国 BIO-TEK 公司产品。96 孔平底 ELISA 板为美国 Greiner

公司产品。

1.2 方法

1.2.1 细胞制备 处死小鼠取脾脏,制备单个细胞悬液,以 600 \times g 离心 8 min,洗涤细胞 2 次。加入红细胞裂解液裂解红细胞,用 Hank's 液洗涤 2 次后,将细胞悬浮于 RPMI 1640 完全培养液 (含 100 mL/L 灭活胎牛血清、50 g/L 谷氨酰胺、 1×10^5 U/L 青霉素及 100 mg/L 链霉素)中,计数细胞并调整细胞浓度至 4×10^6 /L。

1.2.2 细胞纯化 如上制备小鼠脾细胞悬液,按 Miltenyi 公司说明书叙述的方法加入抗 CD19⁺ B 细胞生物素磁珠,将 CD19⁺ B 细胞从小鼠脾细胞中分离出来,然后将其悬浮于 RPMI 1640 完全培养液中,并调整细胞浓度至 5×10^5 cells/mL。经由 FITC-CD19 抗生物素磁珠染色,流式细胞仪分析证明 CD19⁺ B 细胞纯度是 91% ~ 95%。

1.2.3 CFSE 标记 将小鼠脾细胞用含 0.1% 灭活牛血清白蛋白 (BSA) 的磷酸盐 (PBS) 缓冲液洗涤并悬浮,细胞浓度为 10×10^6 cells/mL。CFSE 按 1:2000 比例加入细胞悬液中,其终浓度为 10 μ mol/L,于 37 $^{\circ}$ C 环境中培养 10 min。接着用 RPMI 1640 培养液洗涤细胞 3 次,重悬细胞于 RPMI 1640 完全培养液并调整脾细胞终浓度为 4×10^6 cells/mL。之后,将 CFSE 标记的脾细胞加入 48 孔平底培养板中,每孔 1 mL,在 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 孵箱中培养 3 d。

1.2.4 细胞培养 将小鼠脾细胞悬液 (4×10^6 cells/mL)、纯化 B 细胞悬液 (5×10^5 cells/mL) 加入到 96 孔平底细胞培养板中,每孔 200 μ L,设 3 个复孔。分别给予 RPMI 1640 培养液、IL-4 (10 ng/mL) + anti-CD40 (1 μ g/mL) 和 IL-4 + anti-CD40 + 不同浓度 CpG ODN,然后将培养板置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 孵箱中培养 7 d,用 ELISA 法检测细胞培养上清液中 IgE 含量。将小鼠脾细胞与 IL-4 + anti-CD40 共同培养,并在培养的第 0、1、2、3、4、5 天,加入 CpG ODN (100 nmol/L),第 7 天收集上清液用 ELISA 法检测 IgE 含量。小鼠脾细胞加入 IL-4 + anti-CD40 + CpG ODN (100 nmol/L),或同时分别加入 anti-IFN- γ mAb (5 μ g/mL) 和 anti-IL-12 mAbs (5 μ g/mL) 培养,7 d 后收集上清液用 ELISA 法检测 IgE 含量。另将小鼠脾细胞悬液 (10×10^6 cells/mL) 用 CFSE 标记或不予标记直接加入到 48 孔平底细胞培养板中,每孔 1 mL,每组

设 3 个复孔, 给予 RPMI 1640 培养液、IL-4 (10 ng/mL) + anti-CD40 (1 μ g/mL) 和 IL-4 + anti-CD40 + CpG ODN (100 nmol/L), 培养 3 d 后收集细胞, 进行细胞表面染色, 利用流式细胞仪分析细胞分裂和活化情况。

1.2.5 ELISA 法检测 IgE 将分别收集到的不同条件下的细胞培养上清液, 按照试剂盒中的说明书进行操作。利用酶标仪进行检测分析。IgE 试剂盒检测灵敏度为 1.6 ng/mL。

1.2.6 细胞表面染色 收集培养 3 d 的 1×10^6 细胞, 重悬于 100 μ L PBS 溶液中, 加入荧光标记的抗细胞表面特异性抗原的抗体 (APC-anti-CD19, PE-anti-CD25, PE-anti-CD80, FITC-anti-CD69) 4 μ L, 避光反应 30 min, 以含 0.05% Tween 20 的冰 PBS 液洗涤 2 次, 用流式细胞仪进行检测。

1.2.7 流式细胞仪分析 应用流式细胞仪 (FACS) 进行检测。以 CD19 标记细胞群开窗, Cell quest 收集细胞 (总数 10 000 个细胞), 并分析流式结果。

1.2.8 统计学分析 本实验利用 SAS 8.1 软件在计算机上进行分析。所有计量数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示。各实验均采用对秩进行方差分析, 组间差别比较使用 Student-Newman-Keuls 法进行。检验水准取 $\alpha = 0.05$ 。

2 结 果

2.1 CpG ODN 对小鼠脾细胞 IgE 的产生的影响

为了探讨 CpG ODN 对 IgE 产生的作用, 在 IL-4 + anti-CD40 刺激小鼠脾细胞的同时加入不同浓度的 CpG ODN。结果显示, 未经任何刺激的正常小鼠脾细胞不产生 IgE, 而 IL-4 + anti-CD40 能诱导细胞产生大量 IgE, 1 nmol/L 组 IgE 产生的量较 IL-4 + anti-CD40 组增高, 但不具统计学意义 ($P > 0.05$), 10 nmol/L CpG ODN 组 IgE 产生的量较 IL-4 + anti-CD40 组明显减少 ($P < 0.05$), 以 100 nmol/L CpG ODN 组最少 ($P < 0.05$, 图 1)。

2.2 不同时间加入 CpG ODN 对小鼠脾细胞 IgE 产生的影响

为了观察 CpG ODN 在免疫应答各个阶段的作用, 我们将培养的小鼠脾细胞在 IL-4 + anti-CD40 刺激后的不同时间加入 CpG ODN, 用 ELISA

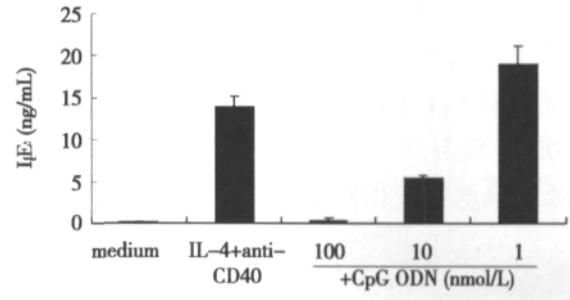


图 1 CpG ODN 剂量依赖抑制小鼠脾细胞 IgE 的产生
Fig.1 Inhibitory effects of CpG ODN on IgE production in a dose-dependent manner by murine splenocytes

Splenocytes from BALB/c mice were stimulated with IL-4 + anti-CD40 in the presence or absence of different concentrations of CpG ODN (1, 10, 100 nmol/L). After incubation for 7 days, culture supernatants were harvested and the levels of IgE were measured by ELISA. The data are representative of results obtained in 3 independent experiments. (* compared to IL-4 + anti-CD40 group. $P < 0.05$)

方法检测 IgE 产生。结果显示, 在刺激后 24 h 以内, CpG ODN 能完全抑制 IgE 的产生, 48 h 后再加入 CpG ODN, 未见有抑制作用 (图 2)。

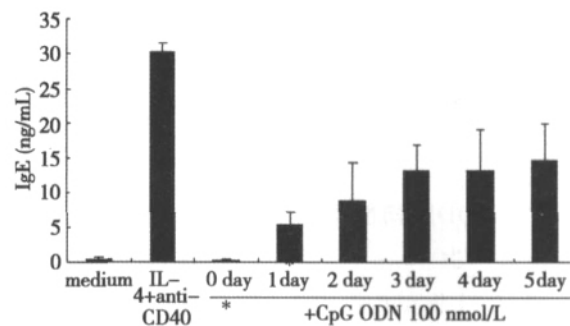


图 2 CpG ODN 呈时间依赖性抑制 IgE 的产生
Fig.2 Inhibitory effects of CpG ODN on IgE production in a time course way by murine splenocytes

Splenocytes were stimulated with IL-4 + anti-CD40 and CpG ODN (100 nM) in different time points (days 0, 1, 2, 3, 4, 5) was added to cultures. After incubation for 7 days, culture supernatants were harvested and the levels of IgE were measured by ELISA. The data represent three duplicate wells. Values are mean \pm s.e.m. (* compared to IL-4 + anti-CD40 group, $P < 0.05$)

2.3 抗 IFN- γ 和抗 IL-12 对 CpG ODN 抑制小鼠脾细胞 IgE 产生的影响

小鼠脾细胞经 IL-4 + anti-CD40 刺激后, 在加入 CpG ODN 同时分别加入抗 IFN- γ 或抗 IL-12 单克隆抗体, 用 ELISA 方法检测抗 IFN- γ 和抗

IL-12 对 CpG ODN 抑制小鼠脾细胞 IgE 产生的影响。结果发现 (图 3), 抗 IFN- γ 组和抗 IL-12 组的 IgE 水平较 CpG ODN 组高, 差异具统计学意义 ($P < 0.05$); 但与 IL-4 + anti-CD40 组比较仍明显降低, 差异具统计学意义 ($P < 0.05$)。

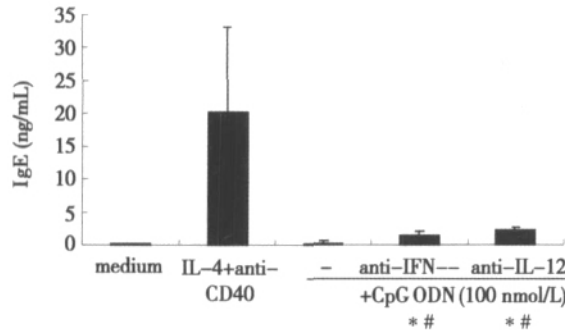


图 3 抗 IFN- γ 和抗 IL-12 mAbs 部分拮抗 CpG ODN 对 IgE 产生的抑制作用

Fig.3 Anti-IFN- γ or anti-IL-12 mAbs partially abolish CpG ODN mediated inhibition of IgE production

Splenocytes were stimulated with IL-4 + anti-CD40, and anti-IFN- γ mAb (5 μ g/mL) or anti-IL-12 mAbs (5 μ g/mL) was added to cultures in the presence of CpG ODN (100 nmol/L). After incubation for 7 days, culture supernatants were harvested and the levels of IgE were measured by ELISA. The data shown are representative of results obtained in 3 independent experiments. (* compared to IL-4 + anti-CD40 + CpG ODN group, $P < 0.05$. # compared to IL-4 + anti-CD40 group, $P < 0.05$)

2.4 CpG ODN 均能抑制小鼠脾细胞和纯化 B 细胞 IgE 的产生

用 IL-4 + anti-CD40 + CpG ODN 分别刺激小鼠脾细胞和纯化 B 细胞, 观察 CpG ODN 对 B 细胞产生 IgE 的作用。结果显示 (图 4A), CpG ODN 抑制了小鼠脾细胞 IgE 的产生, 与 IL-4 + anti-CD40 刺激组比较, 差异具统计学意义 ($P < 0.05$), 与结果 1 相一致; 在纯化 B 细胞组 (图 4B), 两种剂量 CpG ODN 亦均能抑制由 IL-4 + anti-CD40 刺激产生的 IgE, 与 IL-4 + anti-CD40 刺激组比较, 差异具统计学意义 ($P < 0.05$)。

2.5 CpG ODN 对 B 细胞表面活化抗原 CD69、CD25 及共刺激分子 CD80 的表达的影响

为了进一步探讨 CpG ODN 抑制 B 细胞 IgE 产生的作用机理, 我们检测了 B 细胞表面 CD69、CD25 以及共刺激分子 CD80 的表达。分析结果显示未经任何刺激的小鼠 B 细胞 CD69、CD25 和 CD80 只有极少表达; 经 IL-4 + anti-CD40 刺激

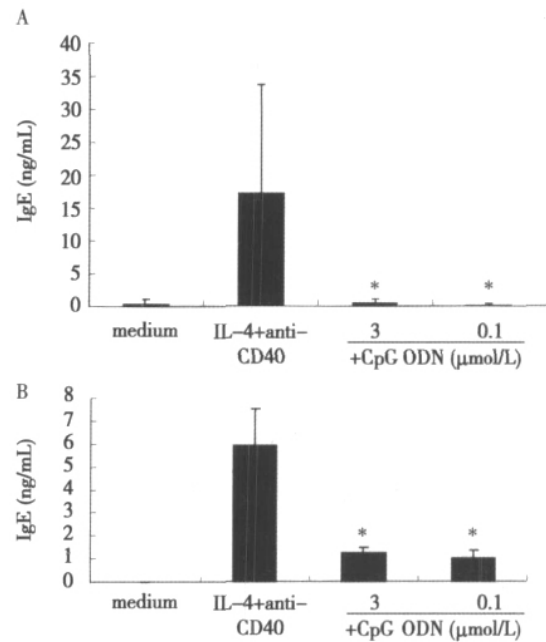


图 4 CpG ODN 抑制小鼠脾细胞及纯化 B 细胞 IgE 的产生

Fig.4 CpG ODN inhibits IgE production by both splenocytes and purified B cells

Splenocytes (A) and purified splenic B cells (B) were stimulated with IL-4 + anti-CD40 in the presence or absence of CpG ODN (0.1, 3 μ mol/L). After incubation for 7 days, culture supernatants were harvested and the levels of IgE were measured by ELISA. The data are representative of results obtained in 2 independent experiments. (* compared to IL-4 + anti-CD40 group, $P < 0.05$)

后, B 细胞表面 CD25, CD69, CD80 的表达有所增加, 而 CpG ODN 刺激组则显著地促进了 CD69、CD25 及 CD80 的表达 (图 5)。

2.6 CPG ODN 对小鼠 B 细胞分裂的影响

小鼠脾细胞经 CFSE 染色后, 用 IL-4 + anti-CD40 + CpG ODN 培养, 观察 CpG ODN 对小鼠 B 细胞分裂的影响。结果显示无刺激剂组 (medium 组) 未见 B 细胞分裂, 在 IL-4 + anti-CD40 刺激培养条件下, 脾细胞分裂 3 次, 而在加 CpG ODN 组只分裂了 1 次。这表明 CpG ODN 抑制了 B 细胞的分裂, 使大部分 B 细胞只分裂了一次 (图 6)。

3 讨论

变态反应性疾病正在成为严重危害人类生命健康的一类全球普遍性疾病, 因此了解发病机制并制定出有效的治疗方案就显得非常迫切。目前

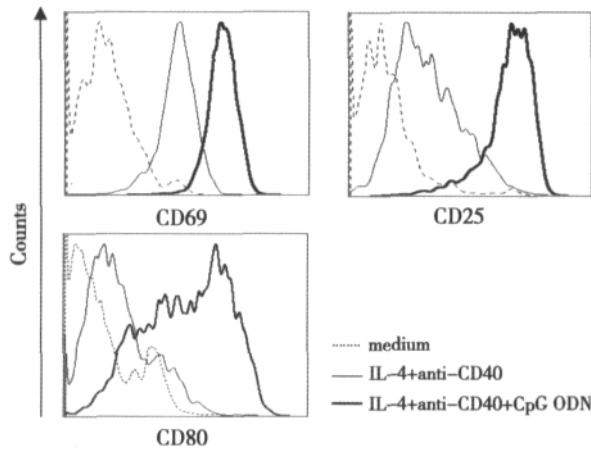


图 5 CpG ODN 诱导小鼠 B 细胞表达 CD69, CD25 及共刺激分子 CD80

Fig.5 The expression of CD69, CD25 and costimulatory molecule CD80 on murine B cells induced by CpG ODN

Splenocytes were stimulated with IL-4 + anti-CD40 in the presence or absence of CpG ODN (100 nmol/L), for 3 days stained with APC-anti-CD19, PE-anti-CD25, PE-anti-CD80, FITC-anti-CD69, and determined by FACS

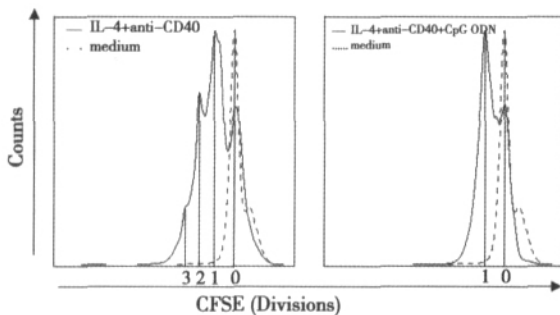


图 6 CpG 体外抑制 B 细胞分裂

Fig.6 CpG inhibited B cells division by IL-4 + anti-CD40 stimulated splenocytes in vitro

Splenocytes were labelled with CFSE and stimulated with IL-4 + anti-CD40 in the presence or absence of CpG ODN (100 nmol/L) for 3 days, and stained with APC-anti-CD19. The division of B cells was assayed by FACS

研究证明, Th1 与 Th2 免疫应答平衡失调导致 Th2 细胞增多和释放 Th2 类细胞因子是变态反应疾病发生的关键, 其特征是生成 IgE 抗体^[10]。

最近研究发现, CpG ODN 在动物哮喘模型中可以阻止变态反应症状。实验已证明, CpG ODN 可以全身用药^[1], 也可以滴鼻^[2]或口服^[3], 不但可以抑制变态反应的急性发作, 而且可以阻止慢性进程^[4]。但作用机制并不清楚。变态反应的发生是一个复杂的过程, 涉及多种免疫活性细胞和众多细

胞因子, 而且 B 细胞活化、增殖、类别转换、直至分化为浆细胞分泌 IgE 这个过程本身也很复杂。目前研究认为, CpG ODN 是通过诱导 Th1 型免疫应答, 抑制 Th2 型免疫应答来抑制 IgE 的产生, 从而阻止变态反应发生的。大量动物试验^[6, 7]也证明 CpG ODN 促使 Th1 类细胞因子 (如 IL-12、IFN-等) 的分泌, 而抑制 Th2 类细胞因子 (如 IL-4、5 等) 及 IgE 产生。但亦有研究证明 CpG ODN 对变态反应的抑制作用不依赖于 Th1 类的细胞因子^[8, 9]。因此, 我们以小鼠脾细胞 IgE 的产生为指标, 从不同角度研究了 CpG ODN 的抑制作用及其可能的机制。众所周知, IL-4 主要由 Th2 细胞产生, 能够促进 B 细胞分泌 IgE, 而 Zhang 等^[11]亦证明, IL-4 与 anti-CD40 联合可有效刺激混合淋巴细胞或纯化 B 细胞产生 IgE。在本研究中, 我们用 IL-4 + anti-CD40 刺激小鼠脾细胞或纯化 B 细胞, 结果表明, IL-4 + anti-CD40 亦均能刺激小鼠脾细胞和纯化 B 细胞产生 IgE。当加入 CpG ODN 后, CpG ODN 可以抑制 IL-4 + anti-CD40 诱导的 IgE 的产生, 而且对免疫反应过程中各个阶段的抑制作用不同。在加入刺激剂 24 h 内, CpG ODN 可显著抑制 IgE 的产生, 而此后抑制作用逐渐减弱, 与 Peng 等^[12]在致敏小鼠所获得的研究结果相符合, 即 CpG ODN 可以抑制 IgE 的产生, 但不能下调已产生的 IgE。这些结果提示在应用 CpG ODN 治疗变态反应性疾病时, 应早期应用才能发挥作用。

研究证明, TLR 9 是 CpG ODN 激活免疫细胞产生免疫应答所必需的特异性受体^[13], 而 TLR 9 主要存在于 B 淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞等效应细胞上。CpG ODN 通过与 TLR 9 结合而激活 B 淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞, 诱导其分泌 IL-6、IL-12 等细胞因子, 而 IL-12 活化 NK 细胞和 CD4⁺T 细胞, 从而产生 IFN- 和巨噬细胞活化因子等, IFN- 促进 B 细胞分化, 产生 IgG2a 抗体, 抑制 IgE 的产生。为了探讨 CpG ODN 是否仅通过该途径抑制 IgE 的产生, 我们用 anti-IL-12 和 anti-IFN- 来阻断他们的生物学活性, 结果发现, anti-IL-12 和 anti-IFN- 并不能完全逆转 CpG ODN 对 IgE 的抑制作用, 因此提示我们 CpG ODN 有可能还通过其他途径来抑制 IgE 的产生。Krieg 等^[14]研究发现, CpG ODN 在体内及体外试验中均能直接激活 B 细胞。为此, 我们取纯化的小鼠 B 细胞与 CpG ODN 共同培养, ELISA 法检测表

明 CpG ODN 呈剂量依赖式抑制 IgE 的产生,证明 CpG ODN 可以直接作用于 B 细胞抑制 IgE 的产生。

CD69、CD25 分别是在淋巴细胞活化初期和晚期表达的分子,可作为淋巴细胞活化的标志。CD80 属共刺激分子,主要表达于 B 细胞表面,可与 T 细胞表面的 CD28 或 CD152 结合,调节 T 细胞活化。我们检测的结果表明 CpG ODN 可显著刺激小鼠 B 细胞 CD69、CD25 及 CD80 的表达,因此 CpG ODN 有可能通过该途径间接激活 T 细胞,诱导 Th1 型免疫应答,从而抑制 IgE 的产生。

大量研究证实 B 细胞产生免疫球蛋白的种类与 B 细胞分裂次数有关,IgE 的产生需要 B 细胞分裂的次数要多于其他类别的免疫球蛋白^[15]。在本次试验中,IL-4 + anti-CD40 促进 B 细胞分裂,而 CpG ODN 却抑制由 IL-4 + anti-CD40 诱导的 B 细胞的分裂,表明这可能是导致 IgE 产生减少的机制之一。

总之,本研究进一步证明 CpG ODN 不但可以通过抑制 Th2 细胞因子途径而抑制 IgE 的产生,还可以通过对 B 细胞的直接作用来抑制 IgE 产生,为研究 CpG ODN 的免疫激活机理和临床研究提供了新的思路。

参考文献:

- [1] 李岩,张卓然,杨淑凤,等. CpG ODN 对呼吸道合胞病毒诱导的哮喘小鼠动物模型的免疫治疗作用 [J]. 中国微生态学杂志, 2005, 17(2): 94-96.
- [2] SUZUKI M, MATSUMOTO T, OHTA N, et al. Intranasal CpG DNA therapy during allergen exposure in allergic rhinitis [J]. Otolaryngol Head Neck Surg, 2007, 136 (2): 246-251.
- [3] KITAGAKI K, BUSINGA T R, KLINE J N. Oral administration of CpG - ODNs suppresses antigen - induced asthma in mice [J]. Clin Exp Immunol, 2006, 143 (2): 249-259.
- [4] 揭志军,金美玲,蔡映云,等. 胞嘧啶-磷酸-鸟嘌呤寡脱氧核苷酸对慢性支气管哮喘小鼠气道重塑的影响 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(9): 612-616.
- [5] PETER S, JOHN T, ROBERT G, et al. Immunotherapy with a Ragweed- TdI - Like Receptor 9 Agonist Vaccine for Allergic Rhinitis [J]. N Engl J Med, 2006, 355(14): 1445- 1455.
- [6] 杨滨燕,吴长有. IL-12 和 CpG 疫苗佐剂体内对特异性 CD4+T 细胞免疫应答的影响 [J]. 中国免疫学杂志, 2005, 21(11): 803-807.
- [7] BROIDE D H, STACHNICK G, CASTANEDA D, et al. Systemic administration of immunostimulatory DNA sequences mediates reversible inhibition of Th2 responses in a mouse model of asthma [J]. J Clin Immunol, 2001, 21(3): 175-182.
- [8] CHIARAMONTE M G, HESSE M, CHEEVER A W, et al. CpG oligonucleotides can prophylactically immunize against Th2-mediated schistosome egg-induced pathology by an IL-12-independent mechanism [J]. J Immunol, 2000, 164(2): 973-985.
- [9] BROID D H, STACHNICK G, CASTANEDA D, et al. Immunostimulatory DNA mediates inhibition of eosinophilic inflammation and airway hyperreactivity independent of natural killer cells in vivo [J]. J Allergy Clin Immunol, 2001, 108 (5): 759-763.
- [10] 麦贤弟,赵莉,檀卫平. 哮喘患儿 IL-12、IL-13 与总 IgE 水平变化 [J]. 中山医科大学学报, 2000, 21(5): 400-402.
- [11] ZHANG K, CLARK E A, SAXON A. CD40 stimulation provides an IFN-gamma-independent and IL-4-dependent differentiation signal directly to human B cells for IgE production [J]. J Immunol, 1991, 146 (6): 1836-1842.
- [12] PENG Z K, WANG H S, MAO X Y, et al. CpG oligodeoxynucleotide vaccination suppresses IgE induction but may fail to down-regulate ongoing IgE responses in mice [J]. Int Immunol, 2001, 13(1) : 3-11.
- [13] CHUANG T H, LEE J, KLINE I, et al. TdI-like receptor 9 mediates CpG DNA signaling [J]. Leukoe Biol, 2002, 71(3): 538-544.
- [14] KRIEG A M, YI A K, MATSON S, et al. CpG motifs in bacterial DNA trigger direct B cell activation [J]. Nature, 1995, 374(6522): 546-549.
- [15] TANGYE S G, FERGUSON A, AVERY D T. Isotype switching by human B cells is division-associated and regulated by cytokines [J]. J Immunol, 2002, 169(8): 4298-4306.

(编辑 徐杰)