

干扰素疗效与慢性乙型肝炎患者外周血CD8⁺ T细胞程序性死亡受体-1和T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3表达的关系

王海燕 王银铃 朱莉 陈慧 钱峰 李明 朱伟 张雪华 胥萍 朱传武

【摘要】目的 探讨干扰素抗病毒疗效与慢性乙型肝炎(CHB)患者外周血CD8⁺ T细胞程序性死亡受体1(PD-1)和T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3(Tim3)表达的关系。**方法** 以72例HBeAg阳性CHB患者作为研究对象,分别采集干扰素治疗前和治疗12个月的抗凝外周静脉血,同期以30例健康人作为研究对照,用流式细胞技术检测CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3的表达。**结果** 干扰素治疗前,CHB患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3表达的中位百分率分别为35.5%和4.8%,均显著高于健康对照组(29.3%和3.6%),差异均具有统计学意义($U = 805.0, P = 0.043, U = 741.5, P = 0.013$)。干扰素治疗12个月时,患者CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3的表达分别为32.7%和4.1%,较治疗前显著下降,差异具有统计学意义($Z = 3.305, P = 0.001, Z = 2.065, P = 0.039$);在获得HBeAg血清学转换者中,CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3表达的中位百分率均显著低于无转换者,差异均具有统计学意义($U = 209.0, P < 0.001, U = 302.0, P < 0.001$);在ALT复常与异常者之间,两项指标的中位百分率差异无统计学意义($U = 229.5, P = 0.635, U = 209.5, P = 0.405$);在HBV DNA载量低于检测下限者中,CD8⁺ T细胞PD-1表达的中位百分率显著低于病毒仍可检测的患者($U = 371.5, P = 0.011$),而CD8⁺ T细胞Tim3的表达两者差异无统计学意义($U = 558.0, P = 0.727$)。**结论** CHB患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3呈高表达状态,干扰素治疗可以下调其表达,并且其表达降低与干扰素疗效有关。

【关键词】 肝炎,乙型,慢性;干扰素;外周血CD8⁺ T淋巴细胞;程序性死亡受体-1;T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3

Relationship between interferon-alpha efficacy and the expression of programmed death 1 and T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule 3 on peripheral blood CD8⁺ T cells in patients with chronic hepatitis B Wang Haiyan, Wang Yinling, Zhu Li, Chen Hui, Qian Feng, Li Ming, Zhu Wei, Zhang Xuehua, Xu Ping, Zhu Chuanwu. Department of Hepatology, The Fifth People's Hospital of Suzhou, Suzhou 215007, China

Corresponding author: Zhu Chuanwu, Email: zhuchw@126.com

【Abstract】Objective To investigate the association of interferon-alpha (IFN- α) antiviral efficacy and the expression of programmed death 1 (PD-1) and T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule 3 (Tim3) on peripheral blood CD8⁺ T cells in patients with chronic hepatitis B (CHB). **Methods** Total of 72 CHB patients with HBeAg positive were collected, and their anti-coagulation peripheral venous blood were collected from each patient at the beginning and the end of 12 months of IFN- α therapy. Thirty cases of healthy individuals were enrolled as controls. PD-1 and Tim3 on CD8⁺ T cells were detected by flow cytometry. **Results** Before IFN- α treatment, the median percentage of PD-1 and Tim3 on peripheral blood CD8⁺ T cells was 35.5% and 4.8% in CHB, respectively, and both were higher than the corresponding index in healthy control group (29.3% and 3.6%), with

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.01.008

基金项目: 苏州市科技局和苏州市卫生局兴卫基金项目(No. KJXW2011031); 苏州市感染性疾病临床医学中心项目(No. SZZX201508); 苏州市临床重点病种诊疗项目(No. LCZX201315); 江苏省卫生计生委面上项目(No. 2017068)

作者单位: 215007 苏州市, 苏州市第五人民医院肝病科

通信作者: 朱传武, Email: zhuchw@126.com

significant differences ($U = 805.0, P = 0.043; U = 741.5, P = 0.013$). At the end of 12 months of IFN- α therapy, the median percentage of PD-1 and Tim3 on CD8⁺ T cells was 32.7% and 4.1% in CHB patients, respectively, and significantly decreased than those before treatment ($Z = 3.305, P = 0.001; Z = 2.065, P = 0.039$). The median percentage of the two molecule expression was significantly lower in patients who achieved HBeAg seroconversion than those of patients without HBeAg seroconversion, with significant differences ($U = 209.0, P < 0.001; U = 302.0, P < 0.001$). The two median percentages were without significant difference between ALT normalization and abnormalization groups ($U = 229.5, P = 0.635; U = 209.5, P = 0.405$). The median percentage of PD-1 on CD8⁺ T cells was significantly lower in patients with HBV DNA undetectable than those with detectable HBV DNA ($U = 371.5, P = 0.011$), which was not significantly different between the two groups of patients ($U = 558.0, P = 0.727$).

Conclusions A higher expression of PD-1 and Tim3 on peripheral blood CD8⁺ T cells was presented in CHB patients, which could be downregulated by IFN- α therapy, and the decreased expression was associated with the efficacy of IFN- α treatment.

【Key words】 Chronic hepatitis B; Interferon alpha; Peripheral blood CD8⁺ T lymphocyte; Programmed death 1; T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule 3

慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB) 病情迁延不愈主要是由于患者特异性免疫功能低下。由于免疫系统非常复杂, 涉及多种免疫细胞、免疫分子及其相互作用的免疫网络, 因此, 迄今尚未在特定的免疫环节上找到攻克治愈CHB的有效办法。CD8⁺ T淋巴细胞, 特别是乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 特异性细胞毒性T淋巴细胞 (cytotoxic T lymphocytes, CTLs) 在CHB发病过程中发挥着重要作用, 且与疾病转归具有密切关系。影响CD8⁺ T淋巴细胞功能的因素很多, 主要为各种正性和负性的调节因素。近年研究发现, 程序性死亡受体1 (programmed death 1, PD-1) 和T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3 (T-cell immunoglobulin and mucin domain-containing molecule 3, Tim-3) 均为参与细胞免疫应答的重要负性调节分子^[1-4], 最终导致T细胞功能耗竭。而干扰素 α (interferon- α , IFN- α) 为免疫促进剂, 可上调机体的免疫功能。但在CHB患者抗病毒治疗过程中, 关于IFN- α 对外周血CD8⁺ T淋巴细胞PD-1和Tim3表达的影响及IFN- α 疗效与其表达变化的相关性研究尚少。因此, 本研究对IFN- α 治疗前后CHB患者和健康人外周血CD8⁺ T淋巴细胞PD-1和Tim3的表达进行分析, 以期进一步探讨其相关性。

资料与方法

一、研究对象

72例CHB患者来自苏州市第五人民医院2012年6月至2015年6月的住院患者, 均为HBeAg阳性, 诊断参考2010年中国CHB防治指南的临床诊

断标准^[5]。在接受IFN- α 治疗前6个月内, 患者未接受其他免疫调节剂治疗, 其中32例接受普通IFN- α 2b治疗, 40例接受聚乙二醇化IFN- α 2a (PegIFN- α 2a) 治疗。

所有患者均排除甲型肝炎、丙型肝炎、丁型肝炎和戊型肝炎等病毒重叠感染, 也排除自身免疫性肝病、药物性肝功能损伤、酒精性和非酒精性脂肪性肝病等。

对照组30例研究对象来自本院健康体检人员和肝病科健康志愿医护人员。研究经医院伦理委员会批准, 标本采集时均获得所有参与对象的知情同意。

二、实验方法

1. IFN- α 治疗与实验室检测: 所有患者在抗病毒治疗前均常规检测肝功能、肾功能、甲状腺功能、血糖、血细胞、尿常规以及HBV血清学标志物、HBV DNA载量等。根据患者经济承受能力的不同, 选择干扰素品种分别为普通IFN- α 或PegIFN- α 。治疗的方案为: 普通IFN- α 治疗者给予IFN- α 2b 5 MU或6 MU肌肉注射, 1次/d, 连续2周后改为隔日1次; PegIFN- α 治疗者给予PegIFN- α 2a 180 μ g或者135 μ g皮下注射, 1次/周, 基本疗程均为1年。治疗期间每个月复查1次肝功能和血细胞计数, 每3个月复测HBV血清学标志物和HBV DNA载量。

2. 主要试剂: HBV血清学检测试剂为Abbott公司产品; HBV DNA Taqman荧光定量PCR试剂为上海申友生物技术有限责任公司产品 (最低检测限为 5.0×10^2 IU/ml); 单克隆抗-CD3-APC和抗-CD8-FITC、溶血素 (FACS Lysing solution) 购自美国BD公司, 单克隆抗-PD-1-PE和抗-Tim3-PE购自美

国BioLegend公司。流式细胞仪BD FACSCalibur购自美国BD公司。

3. 标本采集和流式细胞检测: 采集2 ml研究对象的抗凝外周静脉血, 其中CHB患者的标本分别采集于IFN- α 治疗前和治疗满12个月时。每个样本取2根流式管, 做好标记, 每管分别加入CD3-APC、CD8-FITC和PD-1-PE单克隆抗体, 以及CD3-APC、CD8-FITC和Tim3-PE单克隆抗体各5 μ l, 再分别加入EDTA抗凝全血50 μ l, 震荡混匀室温避光孵育15 min; 加入1 ml溶血素, 振荡混匀, 室温避光放置10 min, 1 500 r/min离心5 min (离心机半径r = 10 cm), 弃上清液; 加入PBS 1 ml, 1 500 r/min离心5 min, 弃上清液, 再加入PBS 500 μ l, 混匀后上机检测。所得数据采用BD cellquest软件分析。

三、统计学处理

采用SPSS 19.0软件进行统计分析。年龄为计量资料且呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间的比较采用t检验; 性别为计数资料, 两组率的比较用 χ^2 检验; CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3的百分率不符合正态分布, 用中位数(范围)表示; 两组间差异的比较用非参数检验, 不同对象组之间中位数百分率的比较用Mann-Whitney U检验, 同组对象治疗前后中位数百分率的比较用Wilcoxon配对符号秩检验。以P < 0.05为差异具有统计学意义。

结 果

一、IFN- α 抗病毒治疗情况

入组患者的临床基线资料见表1, 其中对性

别和年龄与健康对照组进行了比较, 差异均无统计学意义(P均> 0.05)。72例患者均完成了至少12个月的IFN- α 抗病毒疗程, 治疗期间未发生干扰素治疗中断的情况。在治疗6个月以后, 对于HBV DNA载量下降 < 2 log₁₀IU/ml的患者, 加用核苷类药物联合抗病毒治疗, 其中接受IFN- α 2b和PegIFN- α 2a治疗的患者分别有6例和8例加用了恩替卡韦 0.5 mg, 1次/d口服治疗。治疗12个月时, 获得的肝功能生物化学、HBV血清学和病毒学应答的情况是: ALT恢复正常(< 40 IU/ml)者为64例, 未恢复正常者8例; 发生HBeAg血清学转换者39例(HBeAg消失、抗-HBeAg产生); HBeAg消失、抗-HBeAg未产生者3例; HBeAg仍然未消失者30例; HBV DNA < 2.7 log₁₀IU/ml(约500拷贝/ml)患者47例, \geq 2.7 log₁₀IU/ml患者25例。

二、IFN- α 治疗前患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3表达

IFN- α 治疗前, CHB患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3表达率均显著高于健康对照组, 差异具有统计学意义(P均< 0.05), 见表2。

三、IFN- α 治疗前后患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3的表达

IFN- α 治疗12个月时, 患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3的表达比治疗前均显著下降, 差异具有统计学意义(P均< 0.05), 见表3。

四、IFN- α 疗效与患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3变化的关系

根据IFN- α 治疗12个月时ALT复常、HBeAg血清学转换和HBV DNA低于检测下限的应答状况,

表1 CHB患者和对照组的临床基线资料

组别	例数	男性 [例(%)]	年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	ALT [U/L, 中位数(范围)]	HBeAg阳性 [例(%)]	HBV DNA对数值 [IU/ml, 中位数(范围)]
CHB组	72	58 (80.6)	28.94 \pm 6.964	142.5 (83~880)	72 (100.0)	7.5 (4.8~9.4)
健康对照组	30	22 (73.3)	30.07 \pm 6.518	25.5 (9~40)	—	—
统计量		$\chi^2 = 0.653$	$t = 0.755$	$U = 0.000$	—	—
P值		0.419	0.452	0.000	—	—

注: “—”: 无相关数据

表2 CHB患者与对照组外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3的表达

组别	例数	CD8 ⁺ PD-1 ⁺ T细胞 [%, 中位数(范围)]	CD8 ⁺ Tim3 ⁺ T细胞 [%, 中位数(范围)]
健康对照组	30	29.3 (17.1~49.6)	3.6 (2.2~9.8)
CHB组	72	35.5 (12.4~78.0)	4.8 (1.5~9.8)
U值		805.000	471.500
P值		0.043	0.013

对不同应答结果的患者进行亚组分析, 结果表明患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3表达的变化在ALT正常与异常者之间差异无统计学意义 ($U = 229.5$ 、 $P = 0.635$, $U = 209.5$ 、 $P = 0.405$), 见图1A~B; 发生HBeAg血清学转换的患者中, 外周血CD8⁺ T细

胞PD-1和Tim3表达显著低于未转换患者, 两组差异具有显著统计学意义 ($U = 209.0$ 、 $P < 0.001$, $U = 302.0$ 、 $P < 0.001$), 图1C~D; 在HBV DNA低于检测下限的患者中, CD8⁺ T细胞PD-1的表达显著低于仍可检测出HBV DNA的患者 ($U = 371.5$ 、 $P <$

表3 干扰素治疗前后 CHB 患者外周血 CD8⁺ T 细胞 PD-1 和 Tim3 的表达

组别	例数	CD8 ⁺ PD1 ⁺ T细胞 [%，中位数 (范围)]	CD8 ⁺ Tim3 ⁺ T细胞 [%，中位数 (范围)]
干扰素治疗前	72	35.5 (12.4~78.0)	4.8 (1.5~9.8)
干扰素治疗12月	72	32.7 (7.6~75.2)	4.1 (1.2~8.8)
Z值		3.305	2.065
P值		0.001	0.039

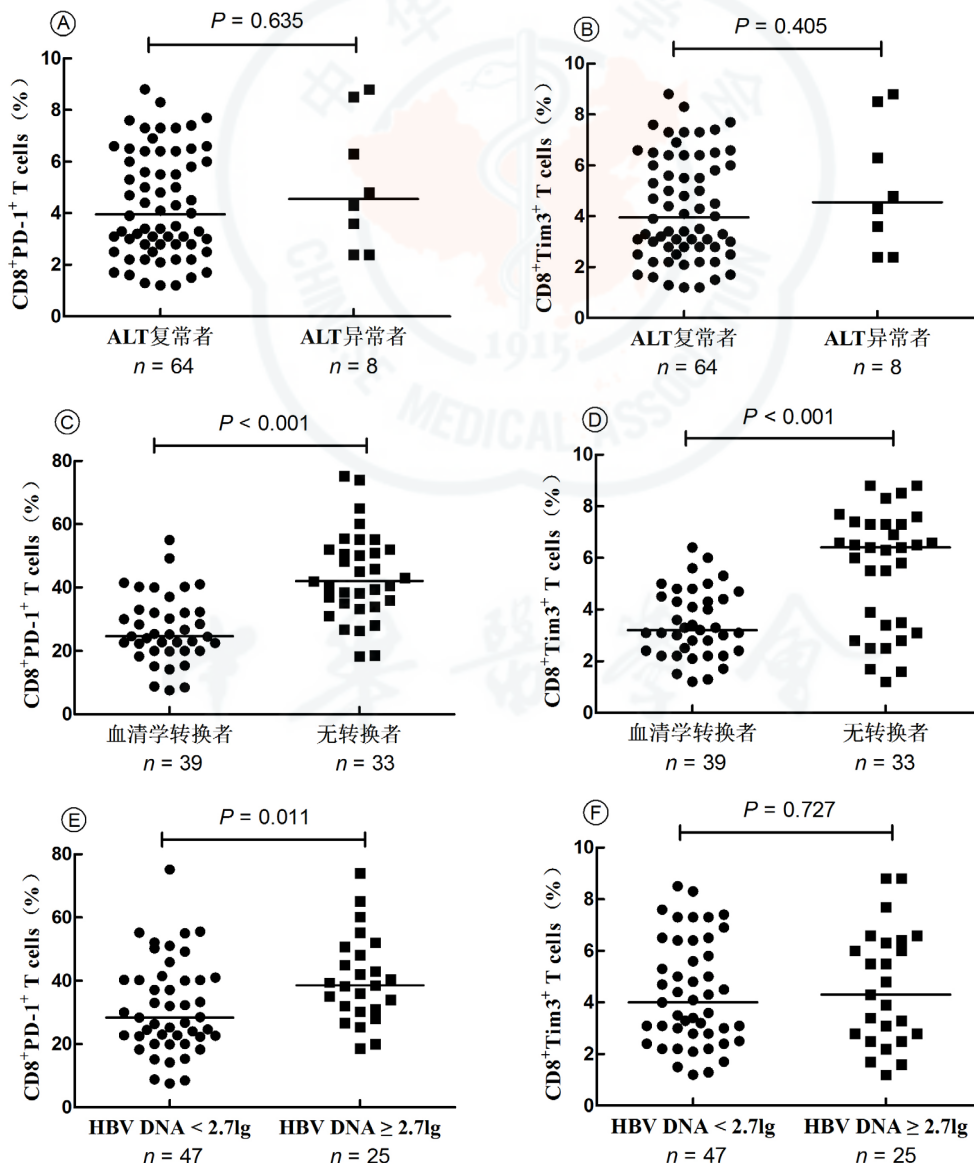


图1 CHB患者干扰素治疗不同应答患者外周血CD8⁺ T细胞PD-1和Tim3的表达

0.05), 而两者 $CD8^+$ T细胞Tim3的表达差异无统计学意义($U=558.0$ 、 $P>0.05$), 见图1E~F。

五、IFN- α 治疗后总体患者及HBeAg血清学转换者 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3的表达

IFN- α 治疗12个月时, 参与研究的总体患者外周血 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3表达的中位水平仍高于健康对照组, 但差异均无统计学意义($U=935.5$ 、 $1\ 041.5$, P 均 >0.05)。获得HBeAg血清学转换者与健康对照组比较, 结果如图2所示: 患者 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3的表达均低于健康对照组, 但差异无统计学意义($U=1\ 220.5$ 、 $1\ 218.0$, P 均 >0.05)。

讨 论

PD-1通过PD-1/PD-L1信号途径负向调节T细胞的激活、增生和细胞因子的产生^[6-7]。CHB患者不能够有效清除病毒, 很大程度上与病毒抗原特异性T细胞和抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APCs)上PD-1及其配体PD-L1/B7-H1的高表达有关^[8-11]。另一个负性调节因子Tim-3分子, 可以表达在多种免疫细胞表面, 包括 $CD4^+$ T细胞、 $CD8^+$ T细胞、Th17细胞、单核/巨噬细胞等^[12-15]。Tim-3与其配体galectin-9结合介导T细胞凋亡及免疫耐受的形成, 从而负向调节机体的免疫应答^[16-17]。自身免疫性疾病、肿瘤免疫逃逸、病毒持续感染和炎症反应等均与PD-1及Tim-3表达相关^[18]。 $CD8^+$ T细胞, 特别是CTLs细胞在CHB的发病及转归中具有重要的作用, 而患者体内 $CD8^+$ T细胞存在质和量的缺陷, 主要原因是PD-1或Tim-3表达升高导致T细胞功能耗竭^[13]。因此, 对CHB患者而言, $CD8^+$ T细胞功能低下必然导致细胞免疫应答效能不足, 最终

引起HBV持续感染。

在CHB患者中, 外周血 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3的表达显著高于健康人, 这与以往报道的结果一致^[19-20]。在IFN- α 治疗12个月后, 总体上比较, 患者 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3表达的中位百分率虽然高于健康对照组, 但差异均无统计学意义; 与IFN- α 治疗前比较, 患者PD-1和Tim3的表达则显著下降, 这与Wang等^[21]研究结果类似。说明干扰素治疗可以纠正 $CD8^+$ T细胞上负性共刺激分子的表达, 部分恢复CHB患者的细胞免疫应答水平。

根据IFN- α 治疗后患者获得的应答状况, 进一步分析IFN- α 疗效与患者外周血 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3变化的关系, 发现ALT复常者 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3表达的中位百分率均低于ALT异常者, 但两组差异均无统计学意义; 在获得HBeAg血清学转换的患者中, $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3的表达均显著低于未发生转换的患者; 在HBV DNA低于检测下限的患者中, $CD8^+$ T细胞PD-1的表达显著低于仍可检测出病毒的患者, 而Tim3的表达两组差异无统计学意义。对于HBeAg阳性CHB患者来说, 获得HBeAg血清学转换是抗病毒治疗的重要疗效指标, 意味着患者获得了免疫学控制, 病情进入炎症减轻、甚至无炎症活动状态。从研究结果中看到, 相比于仅获得生化学应答和病毒学应答的患者, 发生HBeAg血清学转换的患者 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3表达的中位百分率是最低的, 均显著低于无转换患者, 这与Ma等^[22]研究类似, 并且甚至低于健康对照组, 但差异无统计学意义。提示获得HBeAg血清学转换的患者 $CD8^+$ T细胞的功能获得了更好的恢复。但其具体机制是干扰素直接作用, 还是干扰素治疗期间通过其他免疫细胞或者细胞因子介导, 尚待进一步研究。

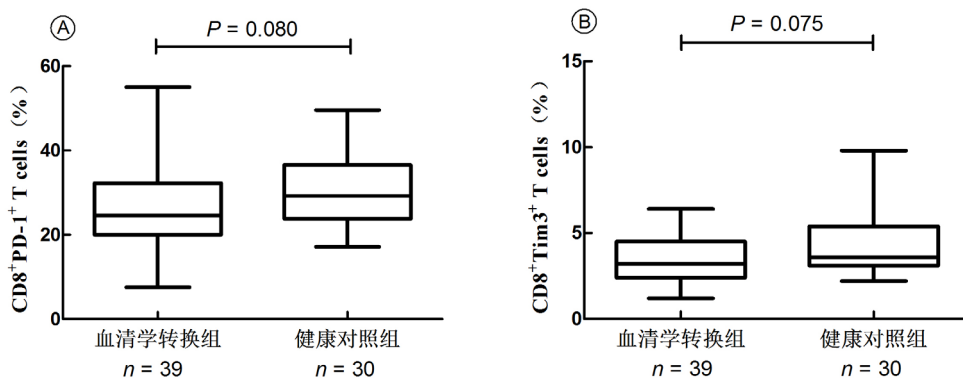


图2 HBeAg血清学转换组与健康对照组外周血 $CD8^+$ T细胞PD-1和Tim3的表达

本研究结果还显示, ALT水平的变化不能敏感地反映干扰素治疗后患者CD8⁺ T细胞功能恢复的状况; 并且, 相较于Tim3, HBV DNA水平的变化与PD-1表达的下降关系更为密切, 提示抗病毒治疗可能更容易影响CD8⁺ T细胞PD-1的表达。治疗过程中14例患者应用恩替卡韦, 这种联合抗病毒治疗更有利于获得病毒学应答, 因此, 这可能部分地影响了病毒学变化与PD-1和Tim3表达结果的分析。但研究结果提示, 对HBeAg阳性CHB患者而言, 抗病毒治疗获得HBeAg血清学转换是机体免疫功能恢复的重要指标, 其中PD-1和Tim3表达的改变是CD8⁺ T细胞免疫功能重建的重要因素。

本研究检测的是外周血CD8⁺ T细胞上PD-1和Tim-3的表达, 未进一步检测HBV特异性CD8⁺ T细胞上这两种共刺激分子表达的变化, 也未对患者肝脏组织标本进行检测。因此, 干扰素治疗的患者外周血中CD8⁺ T细胞PD-1和Tim-3表达的变化是否与HBV特异性CD8⁺ T细胞, 特别是肝组织中CD8⁺ T细胞分子表达的变化一致, 尚有待进一步研究证实。

总之, CHB患者外周血CD8⁺ T细胞上PD-1和Tim-3呈高表达状态, 干扰素治疗可以下调其表达, 尤其是获得HBeAg血清学转换的患者此两种分子表达下降的幅度更为显著, 表明干扰素抗病毒疗效与其动态变化具有密切的关系。

参 考 文 献

- [1] Xu P, Chen YJ, Chen H, et al. The expression of programmed death-1 in circulating CD4⁺ and CD8⁺ T cells during hepatitis B virus infection progression and its correlation with clinical baseline characteristics[J]. *Gut Liver*,2014,8(2):186-195.
- [2] Wu W, Shi Y, Li J, et al. Tim-3 expression peripheral T cell subsets correlates with disease progression in hepatitis B infection[J]. *Virology*,2011,8:113.
- [3] Jin HT, Anderson AC, Tan WG, et al. Cooperation of Tim-3 and PD-1 in CD8 T-cell exhaustion during chronic viral infection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,2010,107(33):14733-14738.
- [4] Li Z, Li N, Zhu Q, et al. Genetic variations of PD1 and TIM3 are differentially and interactively associated with the development of cirrhosis and HCC in patients with chronic HBV infection[J]. *Infect Genet Evol*,2013,14:240-246.
- [5] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学会. 慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J]. *中华内科杂志*,2011,50(2):168-179.
- [6] Ishida Y, Agata Y, Shibahara K, et al. Induced expression of PD-1, a novel member of the immunoglobulin gene superfamily, upon programmed cell death[J]. *EMBO J*,1992,11(11):3887-3895.
- [7] Okazaki T, Honjo T. The PD-1-PD-L pathway in immunological tolerance[J]. *Trends Immunol*,2006,27(4):195-201.
- [8] Carolina B, Paola F, Caterina V, et al. Characterization of hepatitis B virus (HBV)-specific T-cell dysfunction in chronic HBV infection[J]. *J Virol*,2007,81(8):4215-4225.
- [9] Peng G, Li S, Wu W, et al. PD-1 upregulation is associated with HBV-specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients[J]. *Mol Immunol*,2008,45(4):963-970.
- [10] Selenko-Gebauer N, Majdic O, Szekeres A, et al. B7-H1 (programmed death-1 ligand) on dendritic cells is involved in the induction and maintenance of T cell anergy[J]. *J Immunol*,2003,170(7):3637-3644.
- [11] Evans A, Riva A, Cooksley H, et al. Programmed death 1 expression during antiviral treatment of chronic hepatitis B: impact of hepatitis B e-antigen seroconversion[J]. *Hepatology*,2008,48(3):759-769.
- [12] Feng X, Feng J. Clinical significance of Tim3-positive T cell subsets in patients with multiple sclerosis[J]. *J Clin Neurosci*,2016,34:193-197.
- [13] 陈旭丹, 刘琼, 李新华, 等. 慢性HBV感染者HBV特异性CD8⁺ T细胞Tim-3和PD-1的表达水平及其与IFN- γ 产生的相关性研究[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2013,7(5):665-669.
- [14] Oomizu S, Arikawa T, Niki T, et al. Galectin-9 suppresses Th17 cell development in an IL-2-dependent but Tim-3-independent manner[J]. *Clin Immunol*,2012,143(1):51-58.
- [15] Sada-Ovalle I, Chávez-Galán L, Torre-Bouscoulet L, et al. The Tim3-galectin 9 pathway induces antibacterial activity in human macrophages infected with *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *J Immunol*,2012,189(12):5896-5902.
- [16] Sakuishi K, Jayaraman P, Behar SM, et al. Emerging Tim-3 functions in antimicrobial and tumor immunity[J]. *Trends Immunol*,2011,32(8):345-349.
- [17] Kang CW, Dutta A, Chang LY, et al. Apoptosis of tumor infiltrating effector TIM-3⁺CD8⁺ T cells in colon cancer[J]. *Sci Rep*,2015,5:15659.
- [18] Zhu C, Anderson AC, Kuchroo VK. TIM-3 and its regulatory role in immune responses[J]. *Curr Top Microbiol Immunol*,2011,350(2):1-15.
- [19] Ma L, Cai YJ, Yu L, et al. Treatment with telbivudine positively regulates antiviral immune profiles in Chinese patients with chronic hepatitis B[J]. *Antimicrob Agents Chemother*,2013,57(3):1304-1311.
- [20] 王琳, 赵春楠, 祁松楠, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血T淋巴细胞表面共刺激分子表达量变化及其意义[J]. *中华检验医学杂志*,2014,37(2):105-109.
- [21] Wang L, Zhao C, Peng Q, et al. Expression levels of CD28, CTLA-4, PD-1 and Tim-3 as novel indicators of T-cell immune function in patients with chronic hepatitis B virus infection[J]. *Biomed Rep*,2014,2(2):270-274.
- [22] Ma H, Zhang HH, Wei L. Frequency of T-cell FoxP3⁺ Treg and CD4⁺/CD8⁺ PD-1 expression is related to HBeAg seroconversion in hepatitis B patients on pegylated interferon[J]. *Chin Med J*,2013,126(2):267-273.

(收稿日期: 2017-03-20)

(本文编辑: 孙荣华)

王海燕, 王银铃, 朱莉, 等. 干扰素疗效与慢性乙型肝炎患者外周血CD8⁺ T细胞程序性死亡受体-1和T细胞免疫球蛋白黏蛋白分子3表达的关系[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2018,12(1):40-45.