

内毒素打击后小鼠脾脏T淋巴细胞功能恢复动态研究

樊洋 李国力 郝禹 曹钰 李方园 王锺涛 曾辉

【摘要】目的 探讨脂多糖(LPS)打击后,小鼠脾脏T淋巴细胞亚群及功能的动态恢复过程。**方法** 采用高剂量LPS(10 mg/kg)腹腔单次注射建立小鼠脓毒症模型,在LPS打击后第0 d、7 d、14 d和28 d,使用流式细胞术动态检测脾脏CD4⁺T和CD8⁺T细胞中初始T细胞、效应记忆T细胞和中央记忆T细胞的比例以及细胞表面活化分子(CD38和CD69)和共抑制分子(PD-1和TIGIT)的表达水平,分泌细胞因子IL-2和IFN- γ 及释放颗粒酶B的能力。正态分布数据采用one-way ANOVA检验进行方差分析,Holm-Sidak's进行多重比较;偏态分布数据则采用Kruskal-Wallis检验进行分析,Bonferroni法进行多重比较。**结果** LPS打击7 d后,与基线相比,小鼠脾脏初始CD4⁺T和CD8⁺T细胞比例均显著降低($F=52.22$ 、 $P<0.0001$, $F=10.87$ 、 $P=0.0019$);效应记忆CD4⁺T和CD8⁺T细胞比例均显著增高($F=20.54$ 、 $P<0.0001$, $F=26.03$ 、 $P<0.0001$);CD4⁺CD38⁺($F=35.40$ 、 $P<0.0001$)、CD4⁺CD69⁺($F=45.65$ 、 $P<0.0001$)、CD4⁺PD-1⁺($F=20.55$ 、 $P<0.0001$)、CD4⁺TIGIT⁺($F=19.20$ 、 $P<0.0001$)、CD8⁺CD38⁺($F=56.76$ 、 $P<0.0001$)、CD8⁺CD69⁺($F=59.47$ 、 $P<0.0001$)、CD8⁺PD-1⁺($F=11.15$ 、 $P=0.0013$)和CD8⁺TIGIT⁺($F=21.21$ 、 $P<0.0001$)细胞比例均显著增高,差异均有统计学意义。与基线相比,LPS打击14 d后细胞活化水平、共抑制分子表达水平逐渐恢复,但至28 d时,初始CD4⁺T细胞($F=52.22$ 、 $P<0.0001$)、效应记忆CD4⁺T细胞($F=20.54$ 、 $P=0.0093$)、CD4⁺CD69⁺($F=45.65$ 、 $P=0.0037$)、CD4⁺PD-1⁺($F=20.55$ 、 $P=0.0255$)和CD4⁺TIGIT⁺($F=19.20$ 、 $P=0.0087$)未恢复至基线水平;CD8⁺IFN- γ ⁺T细胞比例($F=14.33$ 、 $P=0.0343$)仍高于基线水平,差异均有统计学意义。**结论** LPS打击后28 d小鼠脾脏CD4⁺T和CD8⁺T细胞恢复过程存在差异,CD4⁺T细胞功能总体恢复较CD8⁺T细胞更为缓慢。

【关键词】 脓毒症;脾脏;淋巴细胞;活化;共抑制分子

Dynamic recovery of splenic T lymphocytes function in mice with endotoxin-induced sepsis Fan Yang, Li Guoli, Hao Yu, Cao Yu, Li Fangyuan, Wang Zengtao, Zeng Hui. Institute of Infectious Diseases, Beijing Ditan Hospital, Capital Medical University; Beijing Key Laboratory of Emerging Infectious Diseases, Beijing 100015, China

Corresponding author: Zeng Hui, Email: zenghui@ccmu.edu.cn

【Abstract】Objective To investigate the dynamic recovery process of splenic T lymphocyte function and their subsets in mice after lipopolysaccharide (LPS) administration. **Methods** High dose LPS (10 mg/kg, once) was administered intraperitoneally to establish septic mouse model. On day 0, day 7, day 14, and day 28 after LPS treatment, flow cytometry was used to check the proportions of naive T cells, effector memory T cells, and central memory T cells in splenic CD4⁺ and CD8⁺ T cells. The expression of cell surface activation molecules (CD38, CD69) and co-inhibitory molecules (PD-1, TIGIT), as well as the ability of splenic CD4⁺ T cells to secrete cytokines IL-2, IFN- γ and CD8⁺ T cells to release granzyme B. Normal distribution data used one-way ANOVA test for variance analysis and used holm-Sidak's test for multiple comparison. Skewness distribution data used Kruskal-wallis test for variance analysis and used Bonferroni method for multiple comparison. **Results** On day 7 after LPS challenge, compared with the baseline, the proportions of splenic

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2023.01.006

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81772123)

作者单位: 100015 北京,首都医科大学附属北京地坛医院传染病研究所; 新发突发传染病研究北京市重点实验室

通信作者: 曾辉, Email: zenghui@ccmu.edu.cn

naive CD4⁺ and CD8⁺ T cells in mice were significantly decreased ($F = 52.22, P < 0.0001; F = 10.87, P = 0.0019$); the proportions of effector memory CD4⁺ and CD8⁺ T cells were significantly increased ($F = 20.54, P < 0.0001; F = 26.03, P < 0.0001$); the proportions of CD4⁺CD38⁺ ($F = 35.40, P < 0.0001$), CD4⁺CD69⁺ ($F = 45.65, P < 0.0001$), CD4⁺PD-1⁺ ($F = 20.55, P < 0.0001$), CD4⁺TIGIT⁺ ($F = 19.20, P < 0.0001$), CD8⁺CD38⁺ ($F = 56.76, P < 0.0001$), CD8⁺CD69⁺ ($F = 59.47, P < 0.0001$), CD8⁺PD-1⁺ ($F = 11.15, P = 0.0013$) and CD8⁺TIGIT⁺ ($F = 21.21, P < 0.0001$) cells were significantly increased. These indicators gradually recovered compared with the baseline within 14 days. On day 28 after LPS challenge, the proportions of naive CD4⁺ T cells ($F = 52.22, P < 0.0001$), effector memory CD4⁺ T cells ($F = 20.54, P = 0.0093$), CD4⁺CD69⁺ ($F = 45.65, P = 0.0037$), CD4⁺PD-1⁺ ($F = 20.55, P = 0.0255$) and CD4⁺TIGIT⁺ ($F = 19.20, P = 0.0087$) cells were not returned to the baseline level; the proportion of CD8⁺IFN- γ ⁺ T cells ($F = 14.33, P < 0.0001$) was still higher than the baseline.

Conclusions After LPS challenge, differences exist during the recovery process of splenic CD4⁺ T and CD8⁺ T cells in mice within 28 days. The overall recovery process of splenic CD4⁺ T cells function in septic mice was slower than that of CD8⁺ T cells after LPS treatment.

【Key words】 Sepsis; Spleen; Lymphocytes; Activation; Co-inhibitory molecules

脓毒症是感染导致机体反应紊乱而引起危及生命的器官功能障碍^[1-2], 促炎和抑炎反应严重失衡导致免疫功能紊乱是脓毒症的重要特征^[3-4], 影响脓毒症患者病情进展、转归和预后。即使在患者病情缓解后, 免疫系统失衡仍然会持续一段时间, 导致患者发生继发性感染等一系列后续问题^[5-6]。

T淋巴细胞直接参与机体免疫调节和免疫应答, 在脓毒症发生及发展过程中具有重要作用^[7-10]。作为适应性免疫系统的主要组成部分, CD4⁺ T细胞可分泌细胞因子, 辅助B细胞产生抗体, 而CD8⁺细胞毒性T细胞可通过释放颗粒酶B和穿孔素直接杀伤被感染的靶细胞和肿瘤细胞^[11-12]。目前已有大量文献报道感染导致T淋巴细胞发生一系列表型、功能及状态的变化^[13-15]。但脓毒症后T细胞数目和功能恢复仍需进一步研究。

脾脏是重要的外周免疫器官^[16]。成年小鼠脾脏内约有30%细胞为成熟T细胞^[17], 本研究使用脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 诱导的脓毒症小鼠模型, 动态观察LPS打击后脾脏T细胞数目、表型及功能的变化, 以证实感染后机体适应性免疫应答恢复缓慢, CD4⁺ T和CD8⁺ T细胞恢复过程中存在显著差异, 现报道如下。

材料和方法

一、实验动物

本研究使用6~8周龄、体重18~20 g、雄性SPF级C57BL/6小鼠 (北京华阜康实验动物公司, 许可证号SCXK京2019-0008)。参考相关文献与本课题组前期发表文献^[18-20], 实验组小鼠给予LPS (10 mg/kg)

腹腔注射制作脓毒症模型, 实验组小鼠出现竖毛、寒战、活动减弱、进食饮水减少等病态表示建模成功。小鼠7 d内病死率约为30%; 在LPS注射后7 d、14 d和28 d处死存活的小鼠, 取材进行实验, 每个时间点小鼠 ≥ 8 只。对照组注射同体积生理盐水, 作为0 d对照。

二、试剂和材料

抗小鼠CD45-FITC、CD3-PE、CD4-APCfire750、CD8-BV510、CD44-Pecy7、CD62L-PE、CD38-APC、CD69-PerCP-Cyanine5.5、PD-1-BV711、TIGIT-PE-Cyanine7、IFN- γ -PE、IL-2-APC和Granzyme B-PE-Cyanine7均购自美国Biolegend公司和美国eBioscience公司。LPS (*E. coli* 0111:4) 购自美国Sigma公司, 佛波酯 (PMA)、离子霉素 (ionomycin)、布雷菲德菌素 (brefeldin A) 和莫能菌素 (monensin) 均购自美国Invitrogen公司。

三、T细胞表型检测

在LPS打击0 d、7 d、14 d和28 d时脱颈处死小鼠, 分离脾脏并研磨, 将细胞悬液经过200目尼龙网过滤, 裂解红细胞后将细胞重悬于5 ml PBS。取10 μ l细胞悬液在显微镜下进行计数。取200 μ l细胞悬液 (约 4×10^6 个细胞) 参照文献染色方法进行小鼠T淋巴细胞亚群染色后^[21-22], FACS Canto II流式细胞仪检测, 应用Flowjo 7.6软件 (美国TreeStar公司) 进行数据分析。

四、细胞因子胞内染色

将 4×10^6 个脾脏细胞重悬于500 μ l含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基中, 加入刺激剂PMA (100 μ g/L)、Ionomycin (2 mg/L)、Brefeldin A (6 mg/L)、Monensin (2.8 mg/L), 37 $^{\circ}$ C、5%

CO₂培养5 h。培养完成后进行胞外染色20 min, PBS洗涤后使用BD IntraSure™ Kit试剂盒进行固定破膜及胞内染色, 使用FACS Canto II 流式细胞仪进行检测。

五、统计学处理

采用GraphPad Prism 8.0软件进行绘图及统计分析。小鼠脾脏细胞数、CD3⁺T细胞数, CD4⁺T和CD8⁺T细胞数据符合正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA)比较各组细胞数的差异; 比较各组脾脏T细胞亚群比例、活化水平, 共抑制分子表达和分泌细胞因子比例差异时, 若为正态分布, 采用单因素方差分析(One-way ANOVA), Holm-Sidak's进行多重比较; 若为偏态分布, 则采用Kruskal-Wallis检验, Bonferroni法进行多重比较。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、脓毒症小鼠脾脏T细胞亚群比例

LPS打击7 d、14 d和28 d后脾脏细胞总数及CD3⁺T细胞、CD4⁺T淋巴细胞和CD8⁺T淋巴细胞数量与基线水平差异均无统计学意义(表1)。

但在LPS打击7 d后, 小鼠脾脏初始CD4⁺T细胞($F = 52.22, P < 0.0001$)和初始CD8⁺T细胞($F = 10.87, P = 0.0019$)比例降低, 效应记忆CD4⁺T细胞($F = 20.54, P < 0.0001$)和效应记忆CD8⁺T细胞($F = 26.03, P < 0.0001$)比例显著增加, 而中央记忆CD4⁺T细胞($F = 0.9817, P = 0.4604$)和中央记忆CD8⁺T细胞($F = 10.14, P = 0.5319$)比例变化差异无统计学意义(图1)。随着各阶段细胞逐渐恢复, 至28 d时, 初始CD8⁺T细胞比例($F = 10.87, P = 0.6165$)和效应记忆CD8⁺T细胞比例($F = 26.03, P = 0.9673$)恢复至基线水平。

但CD4⁺T细胞中, 效应记忆T细胞比例($F = 20.54, P = 0.0093$)仍显著高于基线水平, 初始T细胞比例($F = 52.22, P < 0.0001$)低于基线水平(图1A), 而中央记忆CD8⁺T细胞比例($F = 10.14, P = 0.0129$)反而显著升高, 差异有统计学意义(图1B)。

二、细胞活化水平

本研究检测T细胞表面活化分子CD38和CD69水平, 发现LPS打击7 d后, 小鼠脾脏内CD4⁺CD38⁺T细胞比例($F = 35.40, P < 0.0001$)、CD4⁺CD69⁺T细胞比例($F = 45.65, P < 0.0001$)、CD8⁺CD38⁺T细胞比例($F = 56.76, P < 0.0001$)和CD8⁺CD69⁺T细胞比例($F = 59.47, P < 0.0001$)均显著增高(图2), 提示活化T细胞比例增加。28 d后, CD4⁺CD38⁺T细胞比例($F = 35.40, P = 0.0749$)、CD8⁺CD38⁺T细胞比例($F = 56.76, P = 0.8797$)和CD8⁺CD69⁺T细胞比例($F = 59.47, P = 0.9246$)恢复至基线水平(图2B), 仅有CD4⁺CD69⁺T细胞比例($F = 45.65, P = 0.0037$)仍高于基线水平(图2A)。

三、共抑制分子表达

PD-1和TIGIT是感染后T细胞表达升高的两种共抑制分子。与活化分子相似, LPS打击7 d后, CD4⁺PD-1⁺T细胞比例($F = 20.55, P < 0.0001$)、CD4⁺TIGIT⁺T细胞比例($F = 19.20, P < 0.0001$)、CD8⁺PD-1⁺T细胞比例($F = 11.15, P = 0.0013$)和CD8⁺TIGIT⁺T细胞比例($F = 21.21, P < 0.0001$)均显著增高, 差异有统计学意义。28 d后, CD4⁺PD-1⁺T细胞比例($F = 20.55, P = 0.0255$)和CD4⁺TIGIT⁺T细胞比例($F = 19.20, P = 0.0087$)仍高于基线水平, 差异有统计学意义。见图3。

四、细胞因子及颗粒酶B分泌能力变化

本研究使用PMA和离子霉素体外刺激脾脏T细胞, 检测T细胞IL-2、IFN- γ 及颗粒酶B的分泌水平。

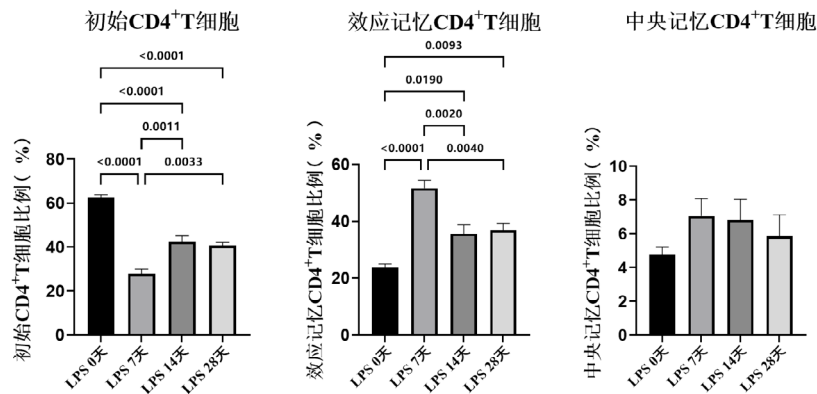
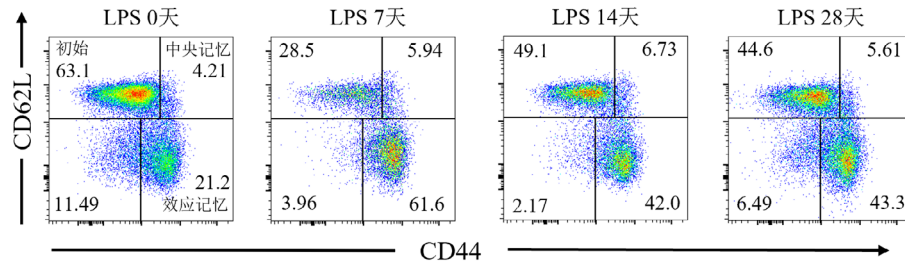
表1 脂多糖(10 mg/kg)打击后小鼠脾脏细胞数量($\bar{x} \pm s, \times 10^7$ /脾)

组别	只数	脾脏细胞数	CD3 ⁺ T细胞数	CD4 ⁺ T细胞数	CD8 ⁺ T细胞数
LPS 0 d组	8	9.81 ± 1.89	2.59 ± 0.17	1.76 ± 0.23	0.78 ± 0.27
LPS 7 d组	8	10.3 ± 1.74	2.55 ± 0.46	1.63 ± 0.24	0.79 ± 0.16
LPS 14 d组	8	11.5 ± 1.74	2.62 ± 0.54	1.69 ± 0.29	0.72 ± 0.16
LPS 28 d组	8	11.0 ± 1.78	2.42 ± 0.18	1.56 ± 0.18	0.78 ± 0.15
F值		0.28	0.19	0.62	0.27
P值		0.64	0.82	0.27	0.47

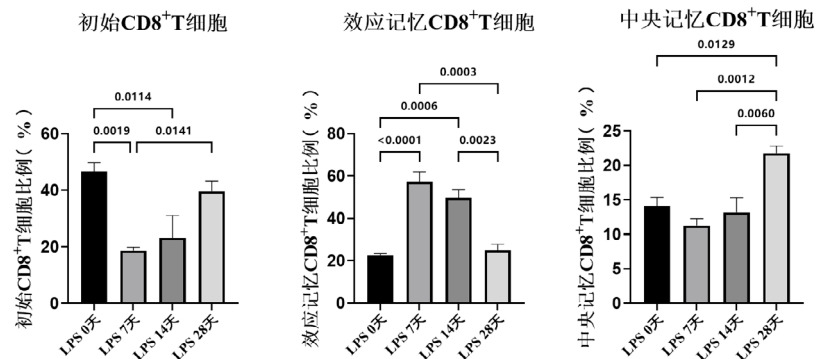
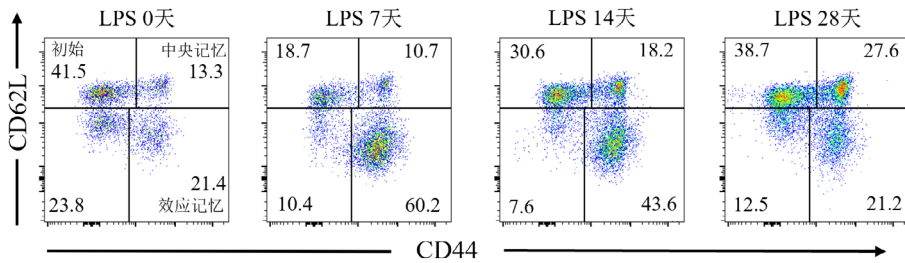
注: 多组间比较应用单因素方差分析(One-way ANOVA)

LPS打击7 d、14 d和28 d后，无论CD4⁺T淋巴细胞（ $F = 1.003$ 、 $P = 0.4398$ ）和CD8⁺T淋巴细胞（ $F = 2.485$ 、 $P = 0.1033$ ），IL-2⁺细胞比例与基线水平差异均无统计学意义（图4）。但7 d后CD4⁺IFN- γ ⁺T

A (CD3⁺CD4⁺T细胞)



B (CD3⁺CD8⁺T细胞)



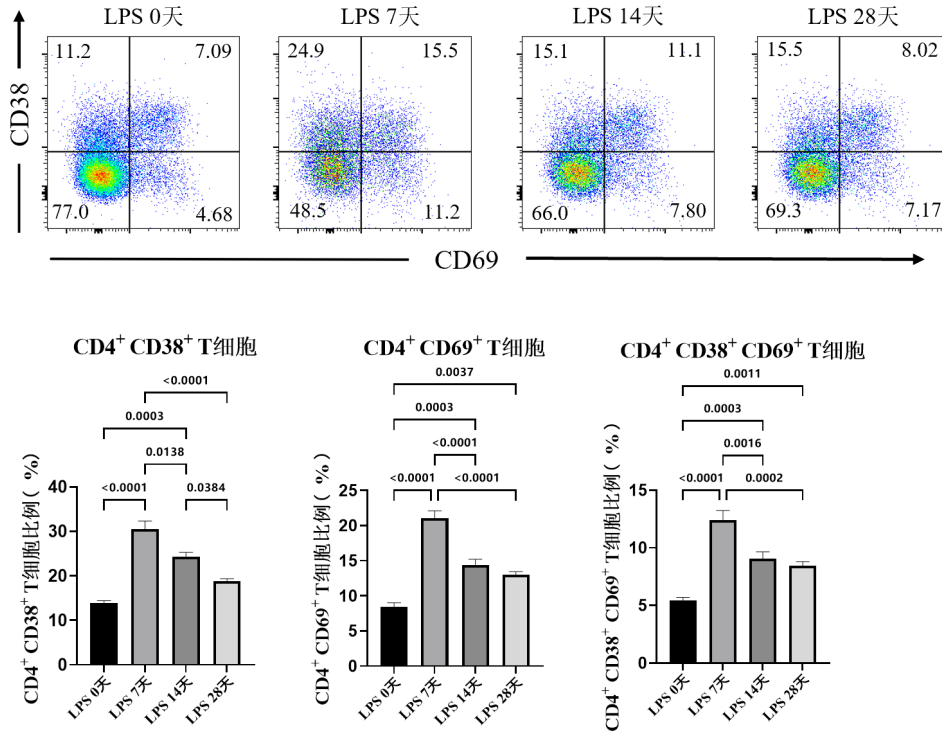
注：小鼠脾脏T细胞亚群：CD62L⁺CD44⁻初始T细胞、CD62L⁻CD44⁺效应记忆T细胞和CD62L⁺CD44⁺中央记忆T细胞。A：LPS打击7 d、14 d和28 d后CD4⁺T细胞亚群比例的变化；B：LPS打击7 d、14 d和28 d后CD8⁺T细胞亚群比例的变化

图1 LPS (10 mg/kg) 腹腔注射后小鼠脾脏T细胞亚群比例

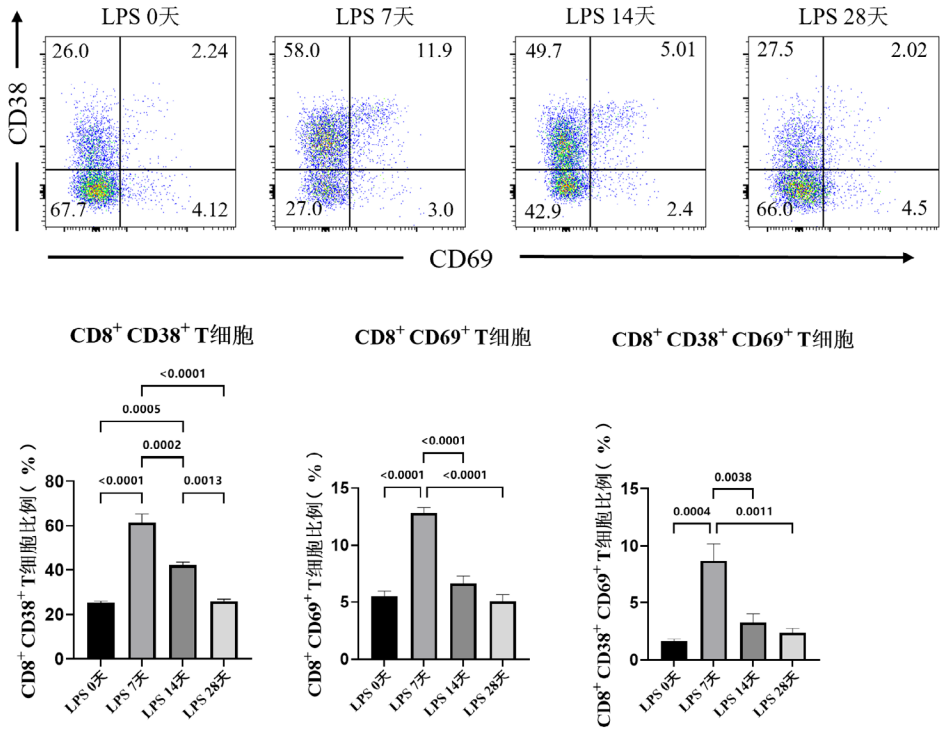
淋巴细胞比例 ($F = 7.401, P = 0.0062$) 和 $CD8^+IFN-\gamma^+$ T 淋巴细胞比例 ($F = 7.401, P < 0.0001$) 均显著增

高 (图4A和B), 且 $CD8^+$ T 淋巴细胞中颗粒酶B阳性细胞比例 ($F = 101.4, P < 0.0001$, 图4C) 显著

A ($CD3^+ CD4^+$ T 细胞)



B ($CD3^+ CD8^+$ T 细胞)



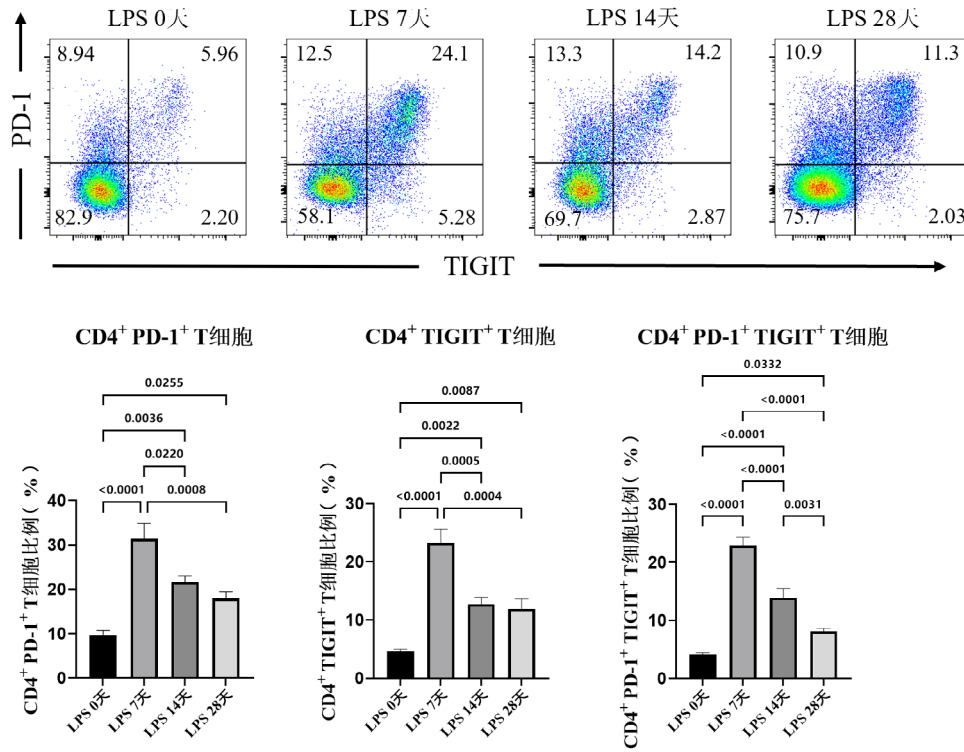
注: A: LPS 打击7 d、14 d 和 28 d 后 $CD4^+$ T 细胞 CD38 和 CD69 阳性细胞比例变化; B: LPS 打击7 d、14 d 和 28 d 后 $CD8^+$ T 细胞 CD38 和 CD69 阳性细胞比例变化

图2 LPS (10 mg/kg) 腹腔注射后小鼠脾脏T细胞表面CD38和CD69阳性细胞比例

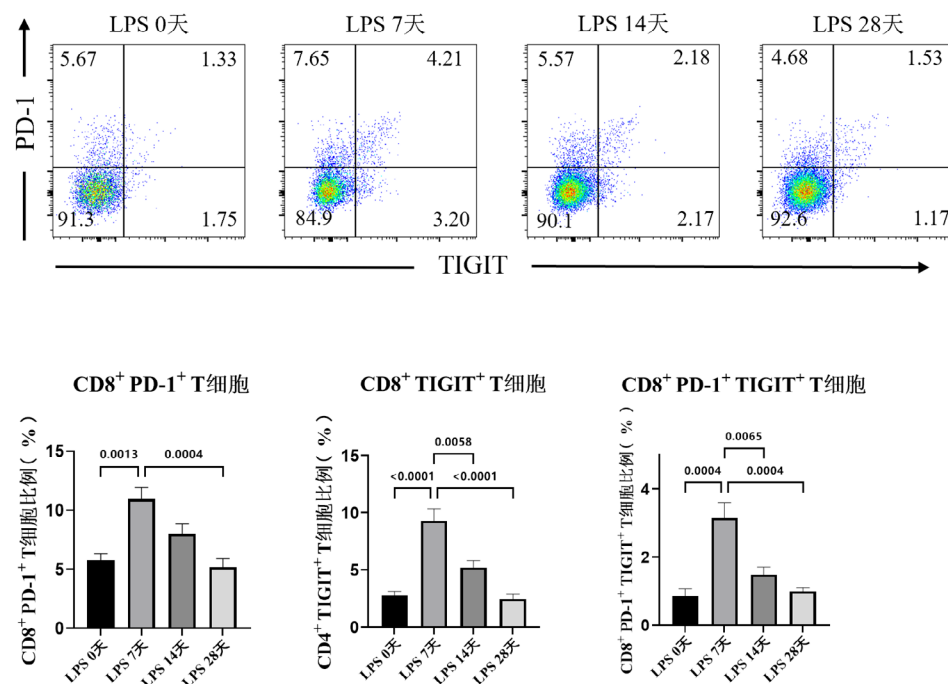
增高, 差异均有统计学意义。28 d后, $CD4^+IFN-\gamma^+$ T细胞比例 ($F = 7.401$ 、 $P = 0.9557$) 恢复至基线水平, 而

$CD8^+IFN-\gamma^+$ T细胞比例 ($F = 14.33$ 、 $P = 0.0343$) 仍高于基线水平, 差异有统计学意义 (图4A和B)。

A ($CD3^+ CD4^+$ T 细胞)

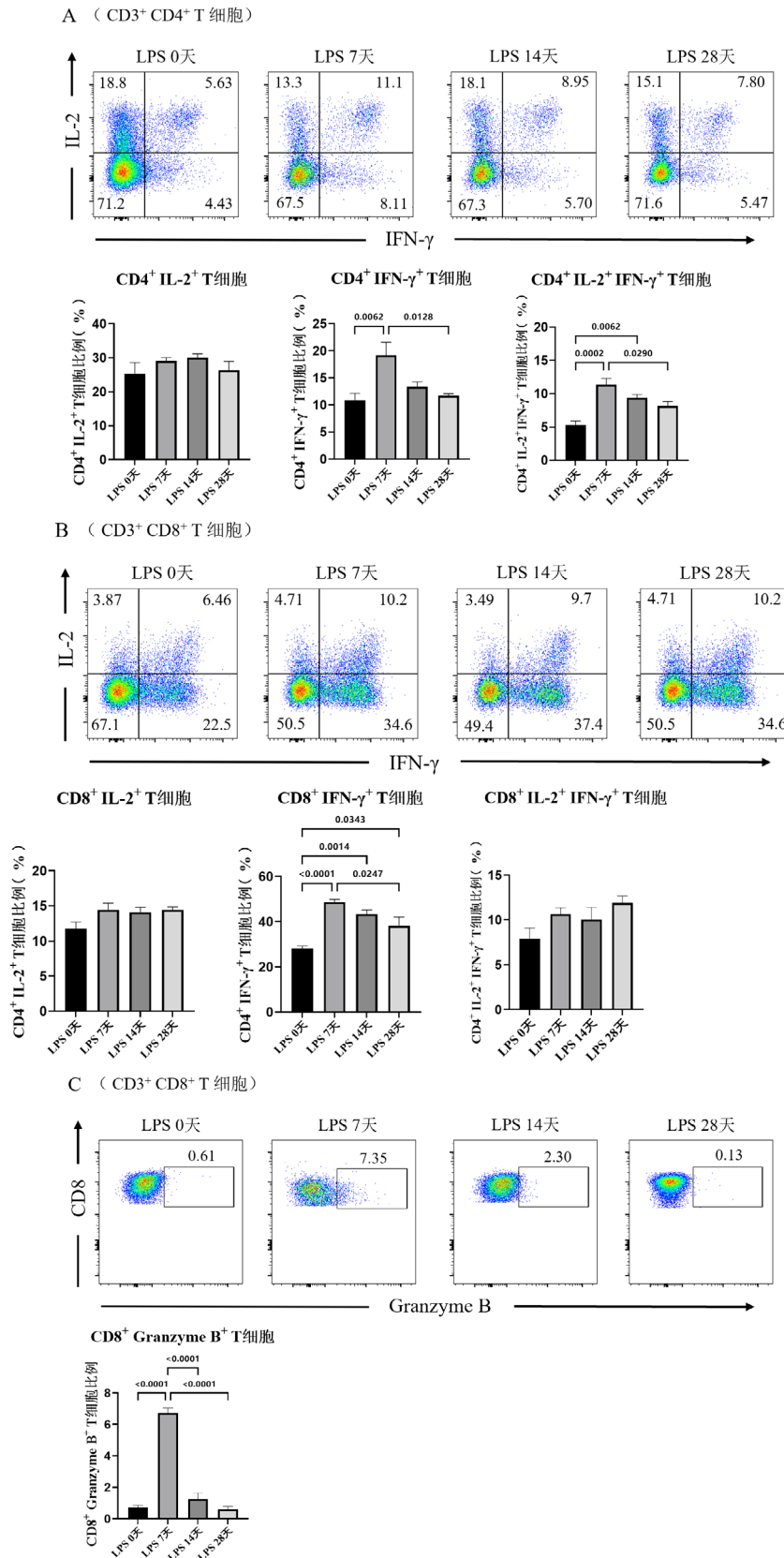


B ($CD3^+ CD8^+$ T 细胞)



注: A: LPS打击7 d、14 d和28 d后 $CD4^+$ T细胞PD-1和TIGIT阳性细胞比例变化; B: LPS打击7 d、14 d和28 d后 $CD8^+$ T细胞PD-1和TIGIT阳性细胞比例变化

图3 LPS (10 mg/kg) 腹腔注射后小鼠脾脏T细胞表面PD-1和TIGIT阳性细胞比例



注: A: LPS 打击 7 d、14 d 和 28 d 后用 PMA 和离子霉素体外刺激脾脏 CD4⁺ T 细胞, 检测分泌 IL-2 和 IFN- γ 能力的变化; B: LPS 打击 7 d、14 d 和 28 d 后用 PMA 和离子霉素体外刺激脾脏 CD8⁺ T 细胞, 检测分泌 IL-2 子 IFN- γ 能力的变化; C: LPS 打击 7 d、14 d 和 28 d 后用 PMA 和离子霉素体外刺激脾脏 CD8⁺ T 细胞, 检测释放 Granzyme B 能力的变化

图4 LPS (10 mg/kg) 腹腔注射后小鼠脾脏T细胞细胞因子分泌能力变化

讨 论

脓毒症是临床急危重症患者常见并发症之一,病理过程与全身炎症反应密切相关,促炎和抑炎反应严重失衡导致免疫功能紊乱是脓毒症的重要特征^[3, 23]。临床研究表明,脓症患者即使病原体被清除后,仍存在不同程度的免疫指标异常,提示脓毒症可能对患者免疫反应影响时间较长^[24-25]。

LPS是革兰阴性菌的细胞壁组成成分,可以诱导免疫细胞释放多种促炎介质^[26]。LPS腹腔注射模型是目前常用于脓毒症研究的动物模型之一^[27]。与既往研究一致,本研究发现LPS模型小鼠初始T细胞比例降低,效应记忆T细胞比例增高;同时CD38⁺和CD69⁺活化T细胞比例上升,共抑制分子PD-1⁺与TIGIT⁺T细胞比例增高^[28]。与活化表型一致,LPS模型小鼠T淋巴细胞在PMA刺激后分泌IFN- γ 能力也显著增强;CD8⁺T细胞分泌颗粒酶B的能力在LPS打击7 d后显著提高。上述系列变化在CD4⁺和CD8⁺T细胞中总体趋势一致,符合T细胞活化的共同特征。

但CD4⁺和CD8⁺T细胞在LPS打击恢复过程中表现出了显著差异。总体来看,在LPS刺激28 d后,CD8⁺T细胞中初始T细胞比例接近基线水平,提示T细胞生成恢复。同时,效应记忆T细胞,CD38⁺和CD69⁺活化T细胞和共抑制分子PD-1⁺与TIGIT⁺T细胞比例均恢复到了刺激前水平,提示随着炎症消退,CD8⁺T细胞活化逐渐降低。与CD8⁺T细胞不同,CD4⁺T细胞功能恢复更为缓慢,在同一时间内,上述细胞多种表型指标仍然异常。这种差异是否与感染期抗体产生有关,以及在二次感染时,T细胞免疫反应是否出现差异,尚需进一步研究。

本研究显示,LPS打击28 d后,CD4⁺T细胞分泌IFN- γ 能力恢复到基线水平。有研究报道,在脓毒症后30 d给予小鼠真菌感染模拟二次打击,但CD4⁺T细胞分泌细胞因子能力未有显著变化^[29]。与本研究结果相似。但CD8⁺T细胞却在长时间内保持具有较强分泌IFN- γ 的能力,这一现象对于机体病毒免疫的意义,需要后续研究进一步深入阐述。

既往研究多关注于脓毒症引起的急性炎症反应阶段,本研究通过脓毒症小鼠模型,关注炎症消退后机体适应性免疫功能的恢复过程,特别是T细胞表面活化分子和共抑制分子的变化。这些分子不仅仅是细胞表面标志物,而且与T细胞功能状态密切

相关。虽然本研究采用LPS单次刺激,但CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞恢复过程的差异持续了4周。CD4⁺和CD8⁺T细胞恢复过程差异,不仅反映了患者病情缓解过程中新的免疫系统失衡,而且提示即使急性感染的炎性刺激非常短暂,但免疫系统产生的影响可能更为持久。然而脓症患者免疫系统受到病原体在一定时间内的持续刺激。这种持续性刺激是否对免疫系统造成更加广泛、持久的影响,尚待进一步深入研究;导致CD4⁺T和CD8⁺T细胞恢复差异的内在因素也需进一步探索。期待这些针对脓症患者T细胞功能恢复的研究,为脓症患者免疫治疗策略提供理论指导。

参 考 文 献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3)[J]. *JAMA*,2016,315(8):801-810.
- [2] Reinhart K, Daniels R, Kissoon N, et al. Recognizing sepsis as a global health priority-A WHO resolution[J]. *N Engl J Med*,2017,377(5):414-417.
- [3] Hotchkiss RS, Monneret G and Payen D. Sepsis-induced immunosuppression: from cellular dysfunctions to immunotherapy[J]. *Nat Rev Immunol*,2013,13(12):862-874.
- [4] Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome[J]. *Immunol Rev*,2016,274(1):330-353.
- [5] van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis[J]. *Immunity*,2021,54(11):2450-2464.
- [6] Stanski NL, Wong HR. Prognostic and predictive enrichment in sepsis[J]. *Nat Rev Nephrol*,2020,16(1):20-31.
- [7] Jensen IJ, Sjaastad FV, Griffith TS, et al. Sepsis-induced T cell immunoparalysis: The ins and outs of impaired T cell immunity[J]. *J Immunol*,2018,200(5):1543-1553.
- [8] Nedeva C. Inflammation and cell death of the innate and adaptive immune system during sepsis[J]. *Biomolecules*,2021,11(7):1011.
- [9] He W, Xiao K, Fang M, et al. Immune cell number, phenotype, and function in the elderly with Sepsis[J]. *Aging Dis*,2021,12(1):277-296.
- [10] Sjaastad FV, Kucaba TA, Dileepan T, et al. Polymicrobial sepsis impairs antigen-specific memory CD4 T cell-mediated immunity[J]. *Front Immunol*,2020,11:1786.
- [11] Zhu J. T Helper cell differentiation, heterogeneity, and plasticity[J]. *Cold Spring Harb Perspect Biol*,2018,10(10):a030338.
- [12] Verdon DJ, Mulazzani M, Jenkins MR. Cellular and molecular mechanisms of CD8 T cell differentiation, dysfunction and exhaustion[J]. *Int J Mol Sci*,2020,21(19):7357.
- [13] Dong C. Cytokine regulation and function in T cells[J]. *Annu Rev Immunol*,2021,39:51-76.
- [14] Bala N, McGurk AI, Zilch T, et al. T cell activation niches-Optimizing T cell effector function in inflamed and infected tissues[J]. *Immunol Rev*,2022,306(1):164-180.
- [15] Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure[J]. *JAMA*,2011,306(23):2594-2605.
- [16] Lewis SM, Williams A, Eisenbarth SC. Structure and function of the

- immune system in the spleen[J]. *Sci Immunol*,2019,4(33):eaau6085.
- [17] Hensel JA, Khattar V, Ashton R, et al. Characterization of immune cell subtypes in three commonly used mouse strains reveals gender and strain-specific variations[J]. *Lab Invest*,2019,99(1):93-106.
- [18] Ramos MFP, Monteiro de Barros ADCM, Razvickas CV, et al. Xanthine oxidase inhibitors and sepsis[J]. *Int J Immunopathol Pharmacol*,2018,32:1-14.
- [19] Li XK, Yang SC, Bi L, et al. Effects of dexmedetomidine on sepsis-induced liver injury in rats[J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*,2019,23(Suppl 3):177-183.
- [20] Jia B, Zhao C, Li G, et al. A novel CD48-based analysis of sepsis-induced mouse myeloid-derived suppressor cell compartments[J]. *Mediators Inflamm*,2017,2017:7521701.
- [21] Lee JYM, Love PE. Assessment of T cell development by flow cytometry[M]. *Methods Mol Biol*,2016,1323:47-64.
- [22] Allman D, Sambandam A, Kim S, et al. Thymopoiesis independent of common lymphoid progenitors[J]. *Nat Immunol*,2003,4(2):168-174.
- [23] Conway-Morris A, Wilson J, Shankar-Hari M. Immune activation in sepsis[J]. *Crit Care Clin*,2018,34(1):29-42.
- [24] Trzeciak A, Pietropaoli AP, Kim M. Biomarkers and associated immune mechanisms for early detection and therapeutic management of sepsis[J]. *Immune Network*,2020,20(3):e23.
- [25] Prescott HC, Angus DC. Enhancing recovery from sepsis: A review[J]. *JAMA*,2018,319(1):62-75.
- [26] Płóciennikowska A, Hromada-Judycka A, Borzęcka K, et al. Co-operation of TLR4 and raft proteins in LPS-induced pro-inflammatory signaling[J]. *Cell Mol Life Sci*,2015,72(3):557-581.
- [27] Savi FF, de Oliveira A, de Medeiros GF, et al. What animal models can tell us about long-term cognitive dysfunction following sepsis: A systematic review[J]. *Neurosci Biobehav Rev*,2021,124:386-404.
- [28] 林涛, 孔雅娴, 贾蓓, 等. 脂多糖所致脓毒症诱导的急性肺损伤肺组织T淋巴细胞活化及共刺激分子表达的研究[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2015,9(2):272-275.
- [29] Ammer-Herrenau C, Kulkarni U, Andreas N, et al. Sepsis induces long-lasting impairments in CD4⁺ T-cell responses despite rapid numerical recovery of T-lymphocyte populations[J]. *PLoS One*,2019,14(2):e0211716.

(收稿日期: 2022-02-18)

(本文编辑: 孙荣华)

樊洋, 李国力, 郝禹, 等. 内毒素打击后小鼠脾脏T淋巴细胞功能恢复动态研究 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2023,17(1):32-40.