

# 调节性 T 细胞在布鲁氏菌感染中的变化特点研究

刘 熔, 王昌敏, 郝立君, 卢佩佩, 李智伟

**摘要:**目的 明确调节性 T 细胞(Treg), Foxp3 基因, 白细胞介素 10(IL-10)在布鲁菌病中的变化特点及相关性。方法 收集新疆维吾尔自治区人民医院 2019 年 6 月—2019 年 12 月期间 20 例急性布鲁菌病患者、29 例慢性布鲁菌病患者和 52 例健康对照人群的外周血, 使用流式细胞术检测 Treg 细胞数量, 提取 PBMC 使用荧光定量 PCR 检测 Foxp3 的 mRNA 水平, 使用 AimPlex 法检测血浆中 IL-10 含量。对 Treg 细胞与 Foxp3 mRNA, IL-10 的相关性进行分析。结果 与正常对照组相比, 急性布病组的 Treg 细胞比例增加( $t=2.87, P=0.01$ ), Foxp3 的 mRNA 水平增高( $t=3.42, P<0.01$ ), IL-10 水平增高( $t=7.90, P<0.01$ ); 慢性布病组的 Treg 细胞数量增加( $t=10.82, P<0.01$ )、Foxp3 的 mRNA 水平增加( $t=6.89, P<0.01$ )和 IL-10 水平明显增高( $t=21.42, P<0.01$ )。与急性布病组相比, 慢性布病组的 Treg 细胞数量增加( $t=4.96, P<0.01$ ), Foxp3 的 mRNA 水平增加( $t=2.38, P=0.02$ ), IL-10 水平明显增高( $t=7.64, P<0.01$ )。布鲁菌病患者的 Foxp3 的 mRNA 表达水平与 Treg 数量呈正相关( $R=0.72, P<0.01$ ), IL-10 水平与 Treg 数量呈正相关( $R=0.71, P<0.01$ )。结论 布鲁氏菌感染后出现 Treg 细胞数量增多, Foxp3 基因表达上调以及 IL-10 水平增高的现象, 这可能是导致布鲁氏菌持续感染的原因。

**关键词:**布鲁菌病; 调节性 T 细胞; Foxp3; 白细胞介素 10

中图分类号: R392.12 文献标识码: A 文章编号: 1002-2694(2020)10-0847-05

## Study on the change characteristics of regulatory T cells in *Brucella* infection

LIU Rong, WANG Chang-min, HAO Li-jun, LU Pei-pei, LI Zhi-wei

(Clinical Laboratory Center of People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region, Urumqi 830001, China)

**Abstract:** To identify the characteristics and correlation of regulatory T cells (Treg), Foxp3 gene and interleukin 10 (IL-10) in brucellosis. The peripheral blood samples were collected from 20 patients with acute brucellosis, 29 patients with chronic brucellosis and 52 healthy controls from June 2019 to December 2019 in People's Hospital of Xinjiang Uygur Autonomous Region. Flow cytometry was used to detect the number of Treg cells, fluorescence quantitative PCR was used to measure the mRNA level of Foxp3 in extracted PBMC, and AimPlex method was used to determine the level of IL-10 in plasma. Finally, the correlation between the number of Treg cells, the level of Foxp3 mRNA and the level of IL-10 was analyzed. As results, compared with the normal control group, the proportion of Treg cells increased ( $t=2.87, P=0.01$ ), the mRNA level of Foxp3 increased ( $t=3.42, P<0.01$ ), and the IL-10 level increased ( $t=7.90, P<0.01$ ) in the acute brucellosis group; similarly, and the increased number of Treg cells ( $t=10.82, P<0.01$ ), the higher mRNA level of Foxp3 ( $t=6.89, P<0.01$ ), and the increased IL-10 level ( $t=21.42, P<0.01$ ) were also found in the chronic brucellosis group. Compared with the acute brucellosis group, the number of Treg cells increased ( $t=4.96, P<0.01$ ), the mRNA level of Foxp3 increased ( $t=2.38, P=0.02$ ), and the IL-10 level increased ( $t=7.64, P<0.01$ ) significantly in the chronic brucellosis group. The expression level of Foxp3 mRNA and the level of IL-10 in Brucellosis group were positively correlated with the number of Treg ( $r=0.72, P<0.01$ ;  $r=0.71, P<0.01$ ). Thus, the phenomenon of the increased number of Treg cells, the upregulated expression of Foxp3 gene, and the increased level of IL-10 after *Brucella* infection, which may be the reason for the sustained infection of *Brucella*.

**Keywords:** brucellosis; treg; foxp3; IL-10

新疆维吾尔自治区自然科学基金(No. 2018D01C094)

通讯作者: 李智伟, Email: 13899994455@163.com;

ORCID: 0000-0002-8298-7261

作者单位: 新疆维吾尔自治区人民医院临床检验中心, 乌鲁木齐 830001

Supported by the Natural Science Foundation of Xinjiang (No. 2018D01C094)

Corresponding author: Li Zhi-wei, Email: 13899994455@163.com

布鲁菌病是全球最常见的人兽共患病之一<sup>[1]</sup>。布鲁氏菌导致的感染如得不到及时诊断和规范治疗常会导致慢性化,有时甚至是终身的。目前关于布鲁氏菌病转变为慢性状态的原因仍不明确。T细胞介导的细胞免疫在布鲁氏菌感染中发挥关键作用<sup>[2]</sup>。Treg细胞是发挥免疫抑制的重要细胞,可以预防感染过程中的免疫病理损害和抵御过度活跃的免疫反应对宿主的伤害,Foxp3是Treg细胞的转录因子,IL-10是Treg细胞分泌产生的一种重要的抗炎免疫抑制细胞因子<sup>[3]</sup>。本文通过流式细胞术,荧光定量PCR和Aimplex方法评估Treg细胞,Foxp3的mRNA表达及IL-10水平在布鲁氏菌感染中的变化特点和相关性。为布鲁氏菌病的免疫应答机制提供一定的理论依据,为布鲁氏菌病的治疗寻找新的治疗靶点。

## 1 材料与方 法

1.1 研究对象 收集2019年6—12月在新疆维吾尔自治区人民医院就诊并明确诊断为布鲁氏菌病的患者49例,其中急性期20例,慢性期29例,分别设立急性布病组和慢性布病组。纳入标准:符合WS 269-2019《布鲁氏菌病诊断》的标准,临床表现为发热、骨关节痛、全身乏力等,虎红平板凝集试验(RBPT)进行初筛阳性和试管凝集试验(SAT)检测血清中抗布鲁氏菌特异性抗体,滴度 $\geq 1:50$ 者。同期募集52例健康体检人群作为正常对照组,性别年龄与急、慢性布病组无统计学差异。3组人员均进行了虎红平板试验和试管凝集试验,急、慢性布病组发热时进行血培养检测。3组人员均排除肿瘤、伤寒、风湿热、结核、自身免疫病和其他各种感染等疾病的人员。所有人员均签署知情同意书,本研究经过新疆维吾尔自治区人民医院医学伦理学委员会批准,患者知情同意,批准号:KY201803742。

1.2 仪器与试剂 美国BD FACS Canto plus流式细胞仪,美国Bio-Rad实时荧光定量PCR仪。美国BD的CD3 PerCP(552851, SP34-2),CD4 FITC(550628, L200),CD25 APC(555434, M-A251),CD127 PE(561028, HIL-7R-M21),溶血素(349202)。美国GE淋巴细胞分离液Ficoll-Paque密度梯度液(17-5442-02),北京全式金Transcript One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis SuperMix(AT311),凯捷T QuantiNava SYBR Green Kit(208054),爱信Trizol试剂(abs9331)。

## 1.3 方 法

1.3.1 样本处理 采集20例急性布鲁氏菌病患者、

29例慢性布鲁氏菌病患者和52例正常对照组人群的全血标本,使用EDTA抗凝。分为3管,1管直接使用流式细胞仪检测Treg细胞表型和数量;1管用淋巴细胞分离液Ficoll-Paque密度梯度液(美国GE)依照说明书操作步骤提取PBMC,加入TRLZOL冻入 $-80^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存,用于mRNA检测;另1管3000 r/min离心5 min吸取上清转移至EP管, $-80^{\circ}\text{C}$ 低温冰箱保存,用于IL-10检测。

1.3.2 流式检测 吸取全血样本100  $\mu\text{L}$ ,分别加入CD3 PerCP 20  $\mu\text{L}$ ,CD4 FITC 20  $\mu\text{L}$ ,CD25 APC 5  $\mu\text{L}$ ,CD127 PE 20  $\mu\text{L}$ 。避光室温放置15 min,加入2 mL溶血素10 min后离心去上清,加入2 mL PBS洗涤离心去上清,加入500  $\mu\text{L}$  PBS,重悬。上BD FACS canto plus流式细胞仪检测,使用FlowJo 10.0进行数据分析。

1.3.3 荧光定量PCR检测 使用qRT-PCR检测Treg转录因子Foxp3的mRNA水平。将冻存的标本取出,依照说明书步骤反转录成cDNA。扩增体系条件: $95^{\circ}\text{C}$ 预变性5 min, $95^{\circ}\text{C}$ 变性10 s, $60^{\circ}\text{C}$ 退火30 s,共40个循环,结果用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 相对定量法,分别对布鲁氏菌病组与正常对照组中的目的基因进行定量。引物序列由上海生工合成,FoxP3 5'-FGTG-GCCCGGATGTGAGAAG-3'; FoxP3 5'-RGGAG-CCCTTGTCGGATGATG-3';  $\beta$ -Actin-F-5': CAT-GTACGTTGCTATCCAGGC-3',  $\beta$ -Actin-R-5'-CT-CCTTAATGTACGCACGAT-3'。

1.3.4 IL-10检测 将冻存的EP管取出,依照Aimplex试剂盒说明书准备标准品和样品,使用BD FACS canto plus流式细胞仪检测荧光微球,保存流式细胞仪的FCS数据文件,并利用软件FCAP Array 3.0进行数据结果分析。

1.4 统计学处理 使用SPSS 20.0进行统计学分析,使用GraphPad Prism 8.01软件制图。检测的数据以 $(\bar{x} \pm s)$ 表示。检测方差齐性,若方差齐,两组间均数的比较采用独立样本 $t$ 检验,若方差不齐,则采用秩和检验。各因素之间相关性分析采用Pearson相关分析, $P < 0.05$ 差异具有统计学意义。

## 2 结 果

2.1 研究对象概况 本研究共纳入急性布鲁氏菌病患者20例,年龄26~62岁,平均年龄 $44.3 \pm 8.7$ 岁,慢性布鲁氏菌病患者29例,年龄22~71岁,平均年龄 $43.1 \pm 8.6$ 岁。正常对照组52人,年龄25~72岁,平均年龄 $44.7 \pm 7.4$ 岁。详见表1。

表 1 急慢性布病组与正常对照组的基本资料

Tab.1 Baseline of acute, chronic brucellosis group and healthy control group

项目	正常对照组 (n=52)	急性布病组 (n=20)	慢性布病组 (n=29)
性别			
男	35	12	19
女	17	8	10
年龄	44.7±7.4	44.3±8.7	43.1±8.6
发热	—	18	14
乏力	—	12	17
多汗	—	6	7
疼痛	—	7	21
肝脾肿大	—	2	6
淋巴结肿大	—	0	4
虎红平板试验阳性	0	20	29
试管凝集试验>1:50	0	20	29
细菌培养检出布鲁菌	—	9	6

“—”代表阴性。

2.2 流式细胞术检测 Treg 细胞 使用流式细胞术检测 CD<sub>3</sub><sup>+</sup>CD<sub>4</sub><sup>+</sup>CD<sub>25</sub><sup>+</sup>CD<sub>127</sub><sup>low</sup> 的 Treg 细胞数量与表型。结果见图 1 和表 2,与正常对照组相比,急性布病组的 Treg 细胞比例增加,差异有统计学意义( $t=2.87, P=0.01$ );慢性布病组 Treg 细胞比例显著增加,差异有统计学意义( $t=10.82, P<0.01$ )。与急性布病组相比,慢性布病组 Treg 细胞比例显

著增加,差异有统计学意义( $t=4.96, P<0.01$ )。

表 2 Treg、Foxp3 和 IL-10 水平( $\bar{x}\pm s$ )

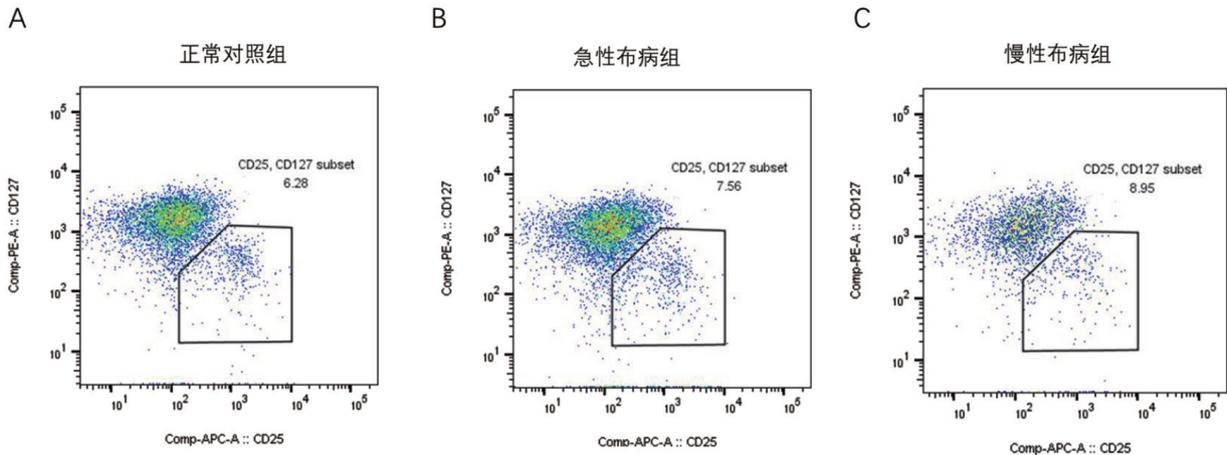
Tab.2 Level of Treg、Foxp3、IL-10

组别	Treg(%)	Foxp3 mRNA	IL-10(pg/mL)
正常对照组	6.15±1.24	0.98±0.31	4.42±0.68
急性布病组	7.20±1.73 <sup>②</sup>	1.33±0.55 <sup>③</sup>	7.37±2.49 <sup>③</sup>
慢性布病组	9.51±1.52 <sup>③⑥</sup>	1.81±0.75 <sup>⑤⑥</sup>	13.49±2.93 <sup>⑤⑥</sup>

注:与正常对照组相比:②P<0.05,③P<0.01;与急性布病组相比:⑤P<0.05,⑥P<0.01。

2.3 荧光定量 PCR 检测 Foxp3 mRNA 使用 qRT-PCR 检测 PBMC 的 Foxp3 mRNA 水平。结果显示,与正常对照组相比,急性布病组的 Foxp3 mRNA 表达增加,差异有统计学意义( $t=3.42, P<0.01$ );慢性布病组 Foxp3 mRNA 表达增加,差异有统计学意义( $t=6.89, P<0.01$ )。与急性布病组相比,慢性布病组 Foxp3 mRNA 表达增加,差异有统计学意义( $t=2.38, P=0.02$ ),如图 2 和表 2 所示。

2.4 IL-10 水平检测结果 本研究使用 Aimplex 法检测外周血浆中的 IL-10 水平。结果表明,与正常对照组相比,急性布病组的 IL-10 水平增加,差异有统计学意义( $t=7.90, P<0.01$ );慢性布病组 IL-10 水平增加,差异有统计学意义( $t=21.42, P<0.01$ )。与急性布病组相比,慢性布病组 IL-10 水平增加,差异有统计学意义( $t=7.64, P<0.01$ ),如图 2 和表 2 所示。

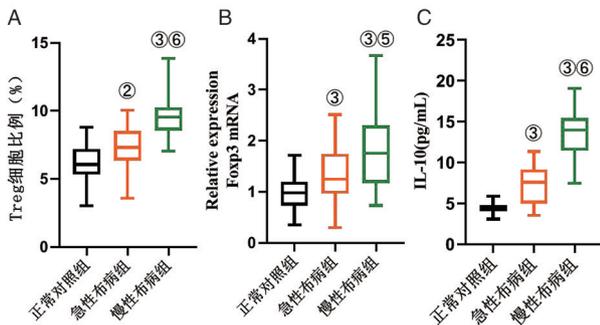


注:A 为正常对照组;B 为急性布病组;C 为慢性布病组。

图 1 Treg 细胞数量和表型

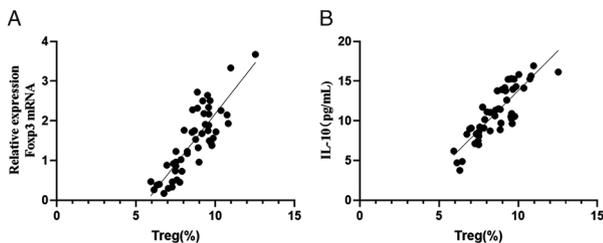
Fig.1 Treg cell number and phenotype

2.5 Treg 细胞与 Foxp3 mRNA, IL-10 的相关性分析布鲁菌病患者的 Treg 数量与 Foxp3 mRNA 表达水平的相关性以及 Treg 数量与 IL-10 表达水平的相关性。结果表明, Foxp3 mRNA 和 Treg 数量呈正相关( $R = 0.72, P < 0.01$ ), IL-10 水平与 Treg 数量呈正相关( $R = 0.71, P < 0.01$ ), 如图 3。



注: A Treg 比例, B 为 Foxp3 mRNA 相对表达水平, C 为 IL-10 水平。与正常对照组相比: ②  $P < 0.05$ , ③  $P < 0.01$ ; 与急性布病组相比: ⑤  $P < 0.05$ , ⑥  $P < 0.01$ 。

图 2 Treg、Foxp3 和 IL-10 的水平  
Fig.2 Treg, Foxp3 and IL-10 levels



注: A 为 Foxp3 与 Treg 相关性分析, B 为 IL-10 与 Treg 相关性分析

图 3 Treg 细胞与 Foxp3, IL-10 的相关分析图  
Fig.3 Correlation analysis of Treg cells and Foxp3, IL-10

### 3 讨论

布鲁菌病慢性患者较多<sup>[4]</sup>, 免疫机制不清, 给患者身体健康带来极大危害。布鲁氏菌作为胞内寄生菌, T 淋巴细胞主导的细胞免疫在抵御布鲁氏菌感染中发挥关键作用<sup>[5]</sup>。宿主无法抵御布鲁氏菌长期感染的原因可能是由于适应性免疫反应减弱而导致。CD4<sup>+</sup>T 细胞参与了适应性免疫应答的调节<sup>[6]</sup>, 可以通过分化成不同的亚型调节宿主的免疫应答, Treg 细胞是一种具有免疫抑制活性的 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群, 对于各种病理和生理学免疫应答的负调控至关重要。Treg 细胞除了可抑制外部或自身抗原的过度免疫反应, 还可防止多种自身免疫性疾病<sup>[7]</sup>, 最重要的是 Treg 细胞也与病原体感染和癌症相关的

过度免疫反应的负向控制有关, 在某些情况下可能对宿主有害, 导致慢性感染<sup>[8]</sup>。布鲁氏菌慢性化程度较高的原因可能与 Treg 细胞数量增多有关<sup>[9]</sup>。本研究结果显示, 在布鲁菌病患者的 Treg 细胞数量升高, 慢性布病患者升高更为显著, Hasanjani 等<sup>[10]</sup>也发现 Treg 细胞在布鲁菌病患者中显著增多的现象, 动物实验发现在布鲁氏菌持续感染中 Tregs 细胞保持其抑制功能<sup>[11]</sup>。因此, 研究结果表明 Treg 细胞参与了布鲁菌病的发生和发展。由于 Treg 细胞的增多可以有效抑制炎症反应, Treg 细胞可以增加免疫细胞上的抑制性表面分子如 B7 的表达, 并下调抗原提呈细胞功能, 竞争性抑制 APC 细胞上的协同共刺激分子活化。Treg 还能抑制 NK 细胞的增殖、细胞因子分泌和细胞毒作用<sup>[12]</sup>。Treg 细胞上表达的 CD25 是 IL-2 的受体, 可以有效抑制 IL-2 的生物学功能, 而 IL-2 可以促进 Th1 细胞和 NK 细胞增殖活化<sup>[13]</sup>。因此, Treg 细胞的这些生物学功能可能是导致布鲁氏菌持续感染的原因。

Foxp3 是 Treg 细胞的转录因子, 对于 Treg 细胞的发育和功能控制发挥关键作用<sup>[14]</sup>, 该转录因子已被认为是 Treg 细胞发育和功能的主开关或调节器。本研究结果发现 Foxp3 的 mRNA 水平在布鲁菌病患者特别是慢性患者中明显高于正常对照组, 说明 Foxp3 在布鲁氏菌感染后出现上调, 而 Foxp3 表达的高低变化代表了 Treg 细胞功能的强弱变化<sup>[15]</sup>。Foxp3 通过直接或间接激活和抑制数百个基因来控制 Treg 细胞发育和发挥生物学功能。

IL-10 和 TGF- $\beta$  是 Treg 细胞主要释放的 2 个发挥免疫抑制功能的细胞因子, 以避免机体产生过度的免疫反应。我们的结果发现布鲁菌病组患者的血浆中的 IL-10 的水平明显高于健康对照组, 并且 IL-10 的增高水平与 Treg 细胞数量呈正相关, 这说明 Treg 细胞增多并上调 IL-10 水平来发挥抑制功能。Treg 细胞通过产生 IL-10 来发挥负向调节效应 T 细胞的功能。Manuel RZ 等<sup>[16]</sup>曾报道 IL-10 在布鲁氏菌持续感染中增高。我们前期也报道了布鲁氏菌感染者血清中 TGF- $\beta$  的水平也显著增高<sup>[17]</sup>, 结合本文发现的 Treg 细胞比例增加的情况, 我们认为布鲁氏菌感染机体后, 细菌会诱导宿主免疫应答向负向免疫发展, 进而延缓宿主对布鲁氏菌的清除, 最终导致布病迁延不愈。

我国北方农牧地区布鲁氏菌感染者较多, 慢性患者众多。我们的研究显示 Treg 功能表达过度可能是布鲁氏菌发生持续感染的原因之一。布鲁氏菌

感染后出现 Treg 细胞数量增多, Foxp3 基因表达上调以及 IL-10 水平增高的现象, 这些结果导致了布鲁氏菌免疫应答的有害作用。通过本研究我们认为布鲁氏菌感染机体后, 布鲁氏菌会诱导宿主免疫应答向负向免疫发展, 进而延缓宿主对布鲁氏菌的清除, 最终导致布病迁延不愈。通过抑制 Treg 细胞或功能的免疫治疗手段已经尝试用于肿瘤等疾病的治疗<sup>[18]</sup>。因此, 掌握布病持续感染时 Treg 的变化特点、了解 Treg 在布鲁氏菌中的作用, 通过免疫手段抑制或阻断 Treg 数量和功能有望成为布病免疫治疗的潜在靶点, 为控制布鲁氏菌持续感染带来新的思路。

**利益冲突:** 无

**引用本文格式:** 刘熔, 王昌敏, 郝立君, 等. 调节性 T 细胞在布鲁氏菌感染中的变化特点研究[J]. 中国人兽共患病学报, 2020, 36(10): 847-851. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.142

#### 参考文献:

- [1] Zheng R, Xie S, Lu X, et al. A systematic review and meta-analysis of epidemiology and clinical manifestations of human brucellosis in China[J]. *Biomed Res Int*, 2018, 2018(4): 1-10. DOI:10.1155/2018/5712920
- [2] Zheng R, Xie S, Niyazi S, et al. Meta-analysis of the changes of peripheral blood T cell subsets in patients with brucellosis[J]. *J Immunol Res*, 2018, 2018(5): 1-10. DOI: 10.1155/2018/8439813
- [3] Shalev I, Schmelzle M, Robson S C, et al. Making sense of regulatory T cell suppressive function[J]. *Semin Immunol*, 2011, 23(4): 282-292. DOI:10.1016/j.smim.2011.04.003
- [4] Jia B, Zhang F, Lu Y, et al. The clinical features of 590 patients with brucellosis in Xinjiang, China with the emphasis on the treatment of complications[J]. *PLoS Negl Trop Dis*, 2017, 11(5): e0005577. DOI:10.1371/journal.pntd.0005577
- [5] 刘祖国, 王妙, 崔步云, 等. 布鲁氏菌胞内存活及疫苗研究进展[J]. 中国人兽共患病学报, 2019, 35(5): 430-439. DOI: 10.3969/j.issn.1002-2694.2019.00.046
- [6] De Figueiredo P, Ficht TA, Rice-Ficht A, et al. Pathogenesis and immunobiology of brucellosis: review of Brucella-host interactions[J]. *Am J Pathol*, 2015, 185(6): 1505-1517. DOI: 10.1016/j.ajpath.2015.03.003
- [7] Martini E, Giugliano S, Rescigno M, et al. Regulatory T cells beyond autoimmunity: from pregnancy to cancer and cardiovascular disease[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 509. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00509
- [8] Hasenkrug KJ, Chougnnet CA, Dittmer U. Regulatory T cells in retroviral infections[J]. *PLoS Pathog*, 2018, 14(2): e1006776. DOI:10.1371/journal.ppat.1006776
- [9] Ahmed W, Zheng K, Liu Z F. Establishment of chronic infection: Brucella's stealth strategy[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2016, 6(3): 30. DOI:10.3389/fcimb.2016.00030
- [10] Hasanjani Roushan M R, Bayani M, Soleimani Amiri S, et al. Evaluation of CD4+ CD25+ FoxP3+ regulatory T cells during treatment of patients with brucellosis[J]. *J Biol Regul Homeost Agents*, 2016, 30(3): 675-682.
- [11] Pasquali P, Thornton AM, Vendetti S, et al. CD4+ CD25+ T regulatory cells limit effector T cells and favor the progression of brucellosis in BALB/c mice[J]. *Microbes Infect*, 2010, 12(1): 3-10. DOI:10.1016/j.micinf.2009.09.005
- [12] Josefowicz SZ, Lu LF, Rudensky AY. Regulatory T cells: mechanisms of differentiation and function[J]. *Annu Rev Immunol*, 2012, 30(1): 531-64. DOI:10.1146/annurev.immunol.25.022106.141623
- [13] Abo H, Flannigan KL, Geem D, et al. Combined IL-2 immunocomplex and anti-IL-5 mAb treatment expands Foxp3+ Treg cells in the Absence of Eosinophilia and Ameliorates Experimental Colitis[J]. *Front Immunol*, 2019, 10(3): 459. DOI:10.3389/fimmu.2019.00459
- [14] Lu L, Barbi J, Pan F. The regulation of immune tolerance by FOXP3[J]. *Nat Rev Immunol*, 2017, 17(11): 703-717. DOI: 10.1038/nri.2017.75
- [15] Passerini L, Sio F R S D, Roncarolo M G, et al. Forkhead box P3: the peacekeeper of the immune system[J]. *Int Rev Immunol*, 2014, 33(2): 129-145. DOI: 10.3109/08830185.2013.863303
- [16] Rodriguez-Zapata M, Matias M J, Prieto A, et al. Human brucellosis is characterized by an intense Th1 profile associated with a defective monocyte function[J]. *Infect Immun*, 2010, 78(7): 3272-9. DOI:10.1128/IAI.01385-09
- [17] 卢佩佩, 李智伟, 王玲玲, 等. 布鲁菌感染患者血清中 sPD-1 与 Th17/Treg 细胞因子改变的相关性[J]. 中国热带医学, 2018, 18(11): 1111-1113. DOI:10.13604/j.cnki.46-1064/r.2018.11.09
- [18] Tomasz Maj, Wei Wang, Joel Crespo, et al. Oxidative stress controls regulatory T cell apoptosis and suppressor activity and PD-L1-blockade resistance in tumor[J]. *Nat Immunol*, 2017, 18(12): 1332-1341. DOI:10.1038/ni.3868

收稿日期: 2020-05-08 编辑: 王晓欢