

IL-37b 通过抑制树突状细胞相关的免疫应答 缓解感染性休克

李梦媛¹, 燕正强², 韦荣飞¹, 杨星九¹, 朱瑞敏¹, 高 苒^{1*}

(1. 中国医学科学院医学实验动物研究所, 北京协和医学院比较医学中心, 北京 100021;

2. 定西市中医院骨伤一科, 甘肃 定西 743000)

【摘要】 目的 表达 IL-37b 重组蛋白, 研究其在调节机体免疫应答方面的作用机制。**方法** 构建原核表达载体 pET28/IL-37b, 诱导表达的 IL-37b 重组蛋白由 Ni^{2+} -NTA 凝胶进行纯化。将 IL-37b 作用于 C57BL/6 J 小鼠, 注射 LPS 诱导感染性休克, 检测小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、IFN- γ 的表达水平。分离并培养小鼠树突状细胞, 用 IL-37b 处理, 经 LPS 诱导活化, 检测细胞表面 CD40、CD80、MHCII 等标志物分子表达情况, 以及培养上清中 IL-1 β 、IL-10、IL-12、TNF- α 的表达水平。分离小鼠 CD4⁺ T 细胞, 检测 IL-37b 对 LPS 诱导的 T 细胞培养上清中 IFN- γ 、TNF- α 、IL-10 的抑制作用。**结果** IL-37b 能够降低感染性休克的小鼠血清中促炎性细胞因子的表达; 并抑制小鼠树突状细胞共刺激分子和促炎性细胞因子的表达, 以及 CD4⁺ T 细胞表达促炎性细胞因子。**结论** 纯化的 IL-37b 具备生物学活性, 能够通过抑制树突状细胞活化及相关的 T 细胞免疫应答缓解机体感染性休克。

【关键词】 IL-37b; 纯化; 树突状细胞; 免疫应答; 感染性休克

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2017) 11-0044-06

doi: 10. 3969. j. issn. 1671 - 7856. 2017. 11. 009

IL-37b alleviates septic shock through inhibition of immune responses related to dendritic cells

LI Meng-yuan¹, YAN Zheng-qiang², WEI Rong-fei¹, YANG Xing-jiu¹, ZHU Rui-min¹, GAO Ran^{1*}

(1. Institute of Laboratory Animal Sciences, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS) & Comparative Medicine

Center, Peking Union Medical College (PUMC), Beijing 100021, China; 2. Department of Orthopedics,

Dingxi Hospital of Traditional Chinese Medicine, Dingxi 743000, China)

【Abstract】 Objective To express the recombinant IL-37b protein and to investigate its role in the regulation of immune responses. **Methods** The prokaryotic expression vector pET28/IL-37b was constructed. The recombinant IL-37b protein was induced to be expressed and was purified using Ni^{2+} -NTA gel column. C57BL/6 J mice were treated with IL-37b and injected with lipopolysaccharide (LPS) to induce septic shock, and the expression levels of IL-1 β , IL-6, IFN- γ in the serum of the mice were detected. Dendritic cells from bone marrow of the mice were isolated and cultured, and were treated with IL-37b. After LPS-induced activation, the expression levels of marker molecules such as CD40, CD80 and MHCII on the cell surface, and cytokines such as IL-1 β , IL-10, IL-12 and TNF- α in the culture supernatants were detected by flow cytometry. The CD4⁺ T cells from mice were isolated and the inhibitory effects of IL-37b on the expression

【基金项目】 中国医学科学院医学与健康科技创新工程 - 重大协同创新项目 - 协同创新团队资助(编号: 2016 - I2M - 3 - 019)。

【作者简介】 李梦媛(1988 -), 女, 研究方向: 免疫学。E-mail: limengyuan767@126.com

【通讯作者】 高苒(1980 -), 女, 研究方向: 肿瘤学、免疫学。E-mail: gaoran26@hotmail.com

of IFN- γ , TNF- α and IL-10 in the culture supernatants of T cells after induction by LPS were detected. **Results** IL-37b reduced the expression levels of proinflammatory cytokines in the serum of septic shock mice. IL-37b also inhibited the expression of co-stimulatory molecules and proinflammatory cytokines of the mouse dendritic cells, and suppress the activation of CD4⁺ T cells *in vitro*. **Conclusions** Purified recombinant IL-37b protein has high bioactivity, and can alleviate septic shock in organisms through inhibiting the activation of dendritic cells and related T cell immune responses.

【Key words】 IL-37b; Purification; Dendritic cells; Immune responses; Septic shock

细胞因子 IL-37 属 IL-1 家族成员,曾经被命名为 IL-1F7^[1],其在人体多种组织、器官中都有表达^[2-4],但小鼠体内并没有被发现有其同类细胞因子的表达^[5]。IL-37 的基因序列包含 6 个外显子,外显子 1~3 编码 IL-37 前体蛋白的 N 末端,外显子 4~6 编码 C 末端 IL-1 样细胞因子结构^[6]。IL-37 的编码产物有 a、b、c、d、e 共 5 种亚型,其中 IL-37b 是五种亚型中序列最长的一个,共有 218 个氨基酸,含有外显子 1、2、4、5、6^[7]。近年来,大量研究已证实 IL-37b 具有生物学活性,能够作为炎症抑制因子在多种炎症性疾病中发挥功能,调节固有免疫应答^[8-11]。树突状细胞(dendritic cells, DCs)表面具有丰富的抗原递呈分子,是机体功能最强的专职抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APC),能够高效地摄取、加工处理和递呈抗原。成熟的 DCs 能够激活初始型 T 细胞,启动并调控免疫应答,是机体免疫反应的关键调控者^[12]。

本实验通过构建原核表达载体大量表达 IL-37b 重组蛋白,研究 IL-37b 对 DCs 活化及其相关的免疫应答的影响,并进一步研究 IL-37b 对机体炎症反应发挥抑制作用的机制。

1 材料和方法

1.1 实验动物与原核表达质粒

7~8 周龄 SPF 级雌性 C57BL/6 J 小鼠 18 只购自北京华阜康生物科技股份有限公司[SCXK(京)2014-0004],饲养于中国医学科学院医学实验动物研究所动物实验室[SYXK(京)2014-002]。该实验研究经由实验动物使用与管理委员会批准(IACUC:GR16002)。

含有全长 IL-37b 基因的重组质粒 pET28/IL-37b 由本实验室制备并保存。

1.2 主要试剂与用品

酵母提取物、干粉蛋白胨、琼脂粉购自 Oxoid 公司;质粒提取试剂盒购自 Qiagen 公司;Ni²⁺-NTA 凝胶购自 Novagen 公司;尿素、Tris-HCl、NaH₂PO₄、考马斯亮蓝等化学试剂购自 Amresco 公司;PBS、RPMI-1640 培养基、胎牛血清、青链霉素双抗溶液、胰蛋白酶等购

自 Gibco 公司;脂多糖(lipopolysaccharide, LPS)购自 Sigma 公司;重组小鼠粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子(granulocyte-macrophage colony stimulating factor, GM-CSF)和白细胞介素 4(interleukin-4, IL-4)购自 Peprotech 公司;无菌细胞筛网、红细胞裂解液、流式 CBA 细胞因子检测试剂盒购自 BD 公司;荧光标记的细胞表面标志分子检测抗体购自 eBioscience 公司;预染蛋白分子量 Marker、BCA 蛋白浓度检测试剂盒购自 Thermo 公司。引物合成及测序等服务由英潍捷基(上海)公司提供。

1.3 实验方法

1.3.1 蛋白纯化

将制备好的能够稳定表达重组质粒 pET28/IL-37b 的大肠杆菌甘油菌冻存液均匀涂布于具有卡那霉素抗性的 LB 平板表面,于 37℃ 培养箱中倒置培养过夜,复苏菌种。次日,挑取单个菌落接种至 3~4 mL LB 液体培养基中,37℃,200 r/min 振荡培养 8 h。将培养的菌液按 1:500 的体积比接种到 1 L LB 液体培养基中,继续 37℃,200 r/min 振荡,扩大培养。培养至菌液 A600 值达到 0.5~0.6 时,加入终浓度 1 mmol/L 的 IPTG 诱导菌体表达蛋白,继续培养。16~18 h 后,以 4℃、4000 r/min 条件离心 30 min,收集菌体沉淀。用 PBS 溶液重悬沉淀,超声破碎菌体,12 000 r/min 再次离心 20 min,分别取裂解产物的上清与沉淀进行 SDS-PAGE 电泳,电泳结果显示菌体裂解产物的上清和沉淀中都有外源性重组蛋白表达的条带,表明重组 IL-37b 具有可溶性和包涵体两种表达形式,其中沉淀中的目的重组蛋白较多,故收集菌体沉淀进行纯化^[13]。

因重组 IL-37b 蛋白带有 6 个 His 标签,故采用 Ni²⁺-NTA 凝胶进行变性条件下的亲和层析纯化。变性结合缓冲液为 8 mol/L 尿素,0.1 mol/L NaH₂PO₄,0.01 mol/L Tris-HCl,pH 8.0;变性漂洗缓冲液为 8 mol/L 尿素,0.1 mol/L NaH₂PO₄,0.01 mol/L Tris-HCl,pH 6.3;变性洗脱缓冲液为 8 mol/L 尿素,0.1 mol/L NaH₂PO₄,0.01 mol/L Tris-HCl,pH 4.5。纯化完成后,对收集到的重组蛋白溶液进行透析复性,并除去其中的尿素,于 4℃ 环境透析 24 h,

每 2~3 h 更换一次透析液。

将蛋白纯化过程中收集的各组分溶液样品进行 SDS-PAGE 电泳。电泳结束后,小心地将有条带的分离胶部分切下来,用考马斯亮蓝染色 30 min~1 h,至能明显观察到 marker 与蛋白条带后,将其放入乙酸脱色液中洗涤脱色至蛋白条带清晰。在紫外显影仪下观察蛋白条带大小位置并拍照记录。

1.3.2 IL-37b 重组蛋白对 LPS 诱导的机体感染性休克的抑制作用

LPS 是革兰氏阴性菌细胞壁外表层的内毒素脂多糖,能够引起发热、微循环障碍、感染性休克等症状^[14]。将 C57BL/6 J 小鼠分为实验组与对照组两组,每组 6 只;实验组按照体重腹腔注射 10 mg/kg 的 IL-37b 重组蛋白溶液,对照组注射相同体积的 PBS 溶液;2 h 后按体重给每只小鼠腹腔注射 10 mg/kg 的 LPS。注射 18~20 h 后,进行眼眶取血,将全血室温静置 1~2 h,待血凝后离心收集血清。采用 CBA 细胞因子检测试剂盒检测小鼠血清中 IL-1 β 、IL-6、IFN- γ 的表达水平。按照试剂盒说明书进行操作,配制含有上述 3 种细胞因子对应的捕获微球混合溶液,每个血清样品取 50 μ L,与同体积的微球混合液混匀,室温作用 1 h;配制含有上述 3 种细胞因子对应的 PE 标记的荧光抗体混合溶液,取 50 μ L,逐一加入上一步的样品中并混匀,室温避光继续作用 1 h;1500 r/min 离心 5 min,洗涤一次,将样品重悬后通过流式细胞仪检测血清中 IL-1 β 、IL-6、IFN- γ 3 种细胞因子的表达量。

1.3.3 小鼠骨髓树突状细胞的分离与培养

取 3 只 C57BL/6 J 小鼠,颈椎脱臼处死后,浸入 75% 乙醇中灭菌,在生物安全柜中解剖分离股骨与胫骨,用注射器抽取 PBS 溶液吹洗骨髓腔得到骨髓悬液;将骨髓悬液流过 70 μ m 孔径的细胞筛网,收集细胞悬液,以 1500 r/min 离心 5 min,弃去上清溶液;加入 5 mL 配制好的红细胞裂解液,重悬细胞,4 $^{\circ}$ C 静置 5 min,去除红细胞;随后 1500 r/min 离心 5 min,弃去上清溶液,用 PBS 溶液以相同的条件离心洗涤细胞,再次弃去上清溶液;用 RPMI-1640 完全培养基重悬细胞,接种于无菌培养皿中;DCs 半贴壁生长,用工作浓度 20 ng/mL 的 GM-CSF 与 10 ng/mL IL-4 共同诱导培养,37 $^{\circ}$ C 培养 6 d,每 3 d 更换一次培养基,补充细胞因子。GM-CSF 能够诱导 DCs 扩增分化,并在体外环境下维持其生存;IL-4 可抑制巨噬细胞克隆形成,诱导 DCs 生长成熟。该方法得到的 DCs 可达到细胞总数的 90% 以上^[15]。

1.3.4 IL-37b 重组蛋白对小鼠树突状细胞活化的

抑制作用

将培养 6 d 的 DCs 制成浓度为 2×10^6 个/mL 的细胞悬液,接种于 24 孔细胞培养板,37 $^{\circ}$ C 继续培养。LPS 能够促进 DCs 活化或进一步成熟,实验组细胞先采用工作浓度 500 ng/mL 的 IL-37b 单独作用,2 h 后加入工作浓度为 500 ng/mL 的 LPS,与重组蛋白共同作用于细胞;对照组细胞则采用与重组蛋白溶液同体积的 PBS 溶液与 500 ng/mL 的 LPS 共同作用。37 $^{\circ}$ C 培养 18~20 h 后,分别收集细胞与培养上清。

1.3.5 流式细胞术检测树突状细胞表面的标志物分子表达情况

通过流式细胞仪检测 DCs 表面标志分子 CD40、CD80、MHCII 的表达情况。配制含有不同荧光标记的 CD40(PE)、CD80(PE-Cyanine5)、MHCII(FITC)抗体混合溶液,加入离心收集到的细胞沉淀中并将其重悬,4 $^{\circ}$ C 避光反应 30 min;1500 r/min 离心 5 min,弃去上清,加入 PBS 溶液离心洗涤细胞一次,再将细胞重悬;用 200 目筛网过滤细胞,通过流式细胞仪检测 DCs 表面 CD40、CD80、MHCII 的表达水平。

1.3.6 流式细胞术检测树突状细胞培养上清中的细胞因子表达水平

采用 CBA 细胞因子检测试剂盒检测 1.3.4 中收集的 DCs 培养上清中 IL-1 β 、IL-10、IL-12、TNF- α 的表达量。按照试剂盒说明书进行操作,步骤同 1.3.2。

1.3.7 分离小鼠脾脏 CD4 $^{+}$ T 细胞

取 3 只 C57BL/6 J 小鼠,颈椎脱臼处死后,浸入 75% 乙醇中灭菌,在生物安全柜中解剖取脾脏,浸入 PBS 溶液。用无菌注射器活塞研磨至细胞释出,将细胞悬液流过 70 μ m 孔径的细胞筛网,收集细胞悬液,以 1500 r/min 离心 5 min,弃去上清溶液;加入红细胞裂解液去除红细胞,步骤同 1.3.3。配制 CD4 $^{+}$ (FITC)抗体溶液,加入离心后的细胞沉淀中并将其重悬,避光反应 30 min;反应结束后离心去除上清,并加入 PBS 溶液离心洗涤细胞一次,再将细胞重悬;用 200 目筛网过滤细胞,通过流式细胞仪对细胞悬液中的 CD4 $^{+}$ T 细胞进行分选。

1.3.8 IL-37b 重组蛋白对小鼠 CD4 $^{+}$ T 细胞活化的抑制作用

将分选后的小鼠 CD4 $^{+}$ T 细胞接种于 24 孔细胞培养板,实验组与对照组分别采用工作浓度 500 ng/mL 的 IL-37b 与同体积的 PBS 溶液单独作用,2 h 后加入工作浓度为 500 ng/mL 的 LPS,共同孵育培

养。37℃培养 18 h 后,离心收集细胞培养上清,采用 CBA 细胞因子检测试剂盒检测培养上清中 IFN- γ 、TNF- α 、IL-10 的表达量。按照试剂盒说明书进行操作,步骤同 1.3.2。

1.4 统计学方法

应用 GraphPad Prism V.5.0 软件对实验数据进行 *t* 检验及统计学分析,计量资料以平均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,*P* < 0.05 为差异有显著性。

2 结果

2.1 蛋白纯化

SDS-PAGE 电泳结果如图 1 所示,在 25 $\times 10^3$ 左右处有一条高表达的外源性蛋白条带,与预期 IL-37b 重组蛋白的分子量相符合;并且纯化后的蛋白溶液中除该目的条带外未见其他条带。

2.2 小鼠血清中促炎性细胞因子的表达

通过流式细胞仪检测经 LPS 诱导感染性休克的小鼠血清中细胞因子表达水平。与 PBS 对照组比较,经 IL-37b 重组蛋白预处理后,小鼠血清中的 IL-1 β 、IL-6 与 IFN- γ 的表达水平均显著下降,如图 2

所示。表明纯化的重组 IL-37b 蛋白具备生物学活性,能够抑制 LPS 引起的机体炎症反应。

2.3 小鼠树突状细胞表面标志物分子的表达

通过流式细胞仪检测经 LPS 作用后的小鼠 DCs 表面 CD40、CD80、MHCII 等表面标志物分子的表达水平。实验结果显示,在相同数量的细胞中,经 IL-37b 预处理的 DCs 表面 CD40、CD80 与 MHCII 所占的百分比低于未经蛋白作用的组别,其中 CD40、CD80 的下降趋势差异有显著性,如图 3 所示。

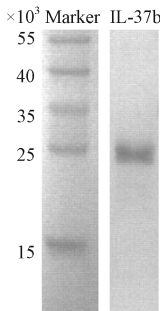
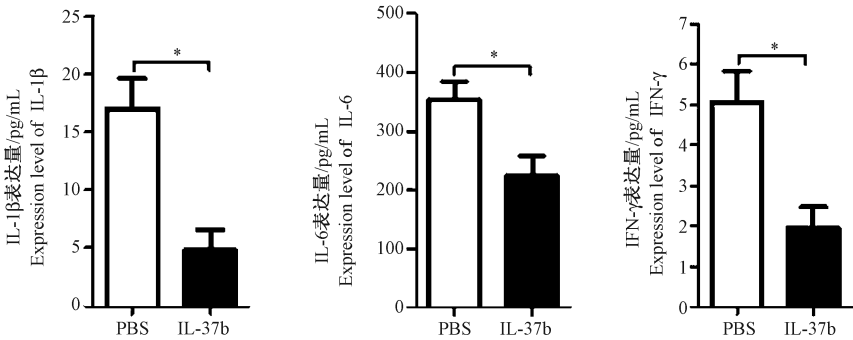
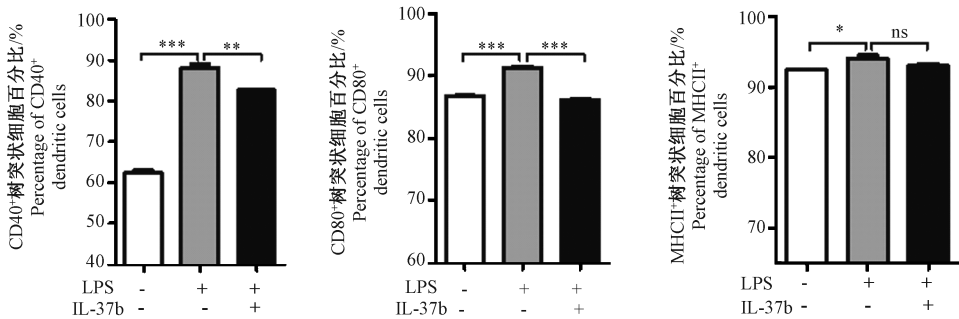


图 1 IL-37b 纯化的 SDS-PAGE 分析
Fig.1 SDS-PAGE analysis of IL-37b purification and identification



注:*n* = 6;与 PBS 对照组比较,* *P* < 0.05。
图 2 血清中促炎性细胞因子的表达

Note. *n* = 6; Compared with the PBS control group, * *P* < 0.05.
Fig.2 Expression levels of proinflammatory cytokines in the serum of mice with LPS-induced septic shock



注:*n* = 3; * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, ****P* < 0.001。
图 3 树突细胞表面抗原的表达
Note. *n* = 3; * *P* < 0.05, ** *P* < 0.01, ****P* < 0.001.

Fig.3 Surface antigen expression on dendritic cells

2.4 小鼠树突状细胞培养上清中促炎性细胞因子的表达

通过流式细胞仪检测经 LPS 作用后小鼠 DCs 培养上清中 IL-1 β 、IL-10、IL-12、TNF- α 的表达水平。实验结果显示,与未经蛋白预处理的对照组相比,经 IL-37b 作用的细胞培养上清中,上述 4 种细胞因子的表达量全部降低,其中 IL-1 β 、IL-12 与 TNF- α 显著下降,如图 4 所示。

2.5 小鼠 CD4⁺ T 细胞培养上清中细胞因子的表达

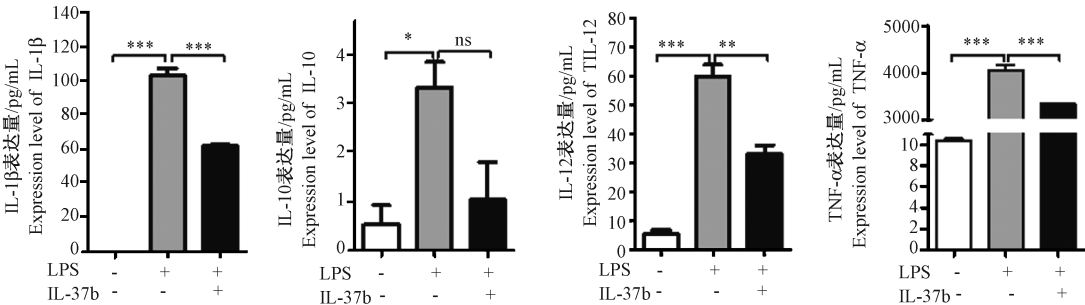
通过流式细胞仪检测经 LPS 作用后小鼠脾脏 CD4⁺ T 细胞培养上清中 IFN- γ 、TNF- α 、IL-10 的表达水平。实验结果显示,与未经 IL-37b 预处理的对照组相比,经 IL-37b 作用的细胞培养上清中,上述 3 种细胞因子的表达量明显下降,如图 5 所示。

3 讨论

人 DCs 起源于造血干细胞,DCs 表面具有丰富的抗原递呈分子,如组织相容性复合物 MHC I 与 MHC II,共刺激因子 CD80/B7-1、CD86/B7-2、CD40/CD40L,以及粘附因子 ICAM-1、ICAM-2、ICAM-3 等。未成熟的 DCs 具有较强的迁移能力

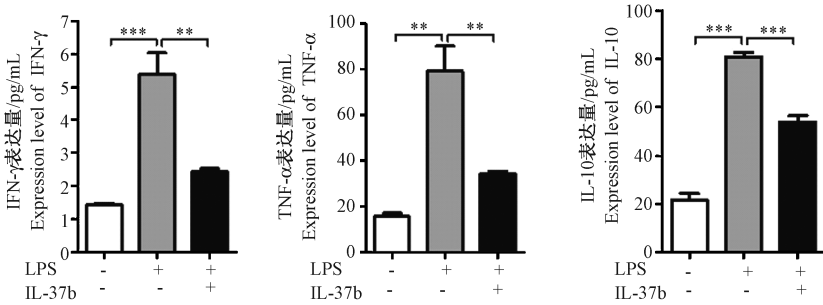
与抗原吞噬能力,而成熟的 DCs 表面高表达共刺激分子与粘附因子,处于启动、调控、维持免疫应答的中心环节^[12]。DCs 使 T 细胞活化需要三个信号:第一个信号是 DCs 表面高表达 MHC I 或 MHC II 分子,其与被捕获并加工处理后的抗原肽结合后,共同递呈给 T 细胞;第二个信号是 DCs 表面高表达的共刺激分子 CD80、CD86、CD40 等,能够促进 T 细胞活化,启动免疫应答;第三个信号即活化的 DCs 大量分泌的 IL-1 β 、IL-12、TNF- α 、IL-10 和 IL-6 等细胞因子,这些细胞因子能够激活 T 细胞分化增殖并影响其分化方向^[16],故 DCs 能够介导 T 细胞免疫应答。

Nold^[17]等用 IL-37 转基因小鼠进行实验,证实 IL-37 能够抑制 LPS 引起的机体感染性休克;并且,IL-37 也能够体外抑制 LPS 刺激引起的人外周血单核细胞和上皮细胞促炎性细胞因子的表达。本实验采用 IL-37b 重组蛋白对野生型(wild type, WT)小鼠进行预处理,随后通过 LPS 诱导其感染性休克,证实 IL-37b 重组蛋白能够明显抑制血清中的 IL-1 β 、IL-6 与 IFN- γ 等促炎性细胞因子的表达,说明原核表达的 IL-37b 具备生物学活性,能够抑制机体感染性休克。



注: $n=3$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。
图 4 树突细胞培养上清中细胞因子的表达
Note. $n=3$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Fig. 4 Expression of cytokines in culture supernatants of dendritic cells



注: $n=3$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。
图 5 CD4⁺ T 细胞培养上清中细胞因子的表达
Note. $n=3$; * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Fig. 5 Expression of cytokines in culture supernatants of CD4⁺ T cells

LPS 能够促进 DCs 进一步活化并分泌大量促炎性细胞因子,从而促进 T 细胞免疫应答^[18]。Nold^[17] 等通过流式细胞术检测了感染性休克小鼠脾脏 DCs 中 CD86 和 MHCII 分子双阳性细胞所占的比例,这些表面分子的大量表达可以引发 T 细胞免疫应答。实验中,WT 小鼠 CD86 和 MHCII 分子双阳性细胞所占的比例是 73%,而 IL-37 转基因小鼠 CD86 和 MHCII 分子双阳性细胞所占的比例仅为 47%,表明 IL-37 能够抑制 LPS 引起的 DCs 活化。CD4⁺ T 细胞是免疫调节的核心细胞群体,不同的 CD4⁺ T 细胞通过分泌不同的细胞因子,对免疫系统的整体功能具有重要的调控作用^[19]。成熟的 DCs 是 IL-1 β 的重要来源,在某些情况下,DCs 可通过分泌以 IL-1 β 为主的细胞因子,促进 T 细胞活化。IL-12 和 TNF- α 是促进辅助性 T 细胞(T helper cells, Th)向 Th1 分化的主要细胞因子,IL-6 和 IL-10 则促进 Th 向 Th2 分化,这些细胞因子表达量的变化对 Th0 的分化起着重要作用^[12, 20]。Th1 与 Th2 同属于 CD4⁺ T 细胞亚群,Th1 能够分泌 TNF- α 、IFN- γ 等细胞因子,促进炎症介质的进一步合成;而 Th2 可产生 IL-10 等细胞因子,这些细胞因子的适量表达有利于控制、阻断急性炎症的发展,因而对体内的炎症反应起下调作用^[21]。本实验中,经 IL-37b 预处理的小鼠 DCs 培养上清中的 IL-1 β 、IL-10、IL-12、TNF- α 表达量全部降低,DCs 表面的共刺激分子表达下降,证实 IL-37b 能够抑制 DCs 活化,且抑制其传达使 T 细胞活化的信号;并且,IL-37b 能够降低 CD4⁺ T 细胞表达的 IFN- γ 、TNF- α 、IL-10 等细胞因子,抑制 T 细胞免疫应答反应的进程。

综上,IL-37b 能够抑制 T 细胞的活化与其向 Th1、Th2 分化的进程,从而抑制 T 细胞免疫应答。证实 IL-37b 能够通过抑制 DCs 活化及相关的 T 细胞免疫应答反应缓解 LPS 引起的机体感染性休克。

参考文献:

- [1] Dinarello C, Arend W, Sims J, et al. IL-1 family nomenclature [J]. Nat Immunol, 2010, 11(11): 973.
- [2] Akdis M, Burgler S, Cramer R, et al. Interleukins, from 1 to 37, and interferon- γ : receptors, functions, and roles in diseases [J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 127(3): 701 – 721, e1 – e70.
- [3] Gao W, Kumar S, Lotze MT, et al. Innate immunity mediated by the cytokine IL-1 homologue 4 (IL-1H4/IL-1F7) induces IL-12-dependent adaptive and profound antitumor immunity [J]. J Immunol, 2003, 170(1): 107 – 113.
- [4] Kumar S, Hanning CR, Brigham-Burke MR, et al. Interleukin-1F7B (IL-1H4/IL-1F7) is processed by caspase-1 and mature

- IL-1F7B binds to the IL-18 receptor but does not induce IFN- γ production [J]. Cytokine, 2002, 18(2): 61 – 71.
- [5] Boraschi D, Lucchesi D, Hainzl S, et al. IL-37: a new anti-inflammatory cytokine of the IL-1 family [J]. Eur Cytokine Netw, 2011, 22(3): 127 – 147.
- [6] Kumar S, McDonnell PC, Lehr R, et al. Identification and initial characterization of four novel members of the interleukin-1 family [J]. J Biol Chem, 2000, 275(14): 10308 – 10314.
- [7] Sharma S, Kulk N, Nold MF, et al. The IL-1 family member 7b translocates to the nucleus and down-regulates proinflammatory cytokines [J]. J Immunol, 2008, 180(8): 5477 – 5482.
- [8] McNamee EN, Masterson JC, Jedlicka P, et al. Interleukin 37 expression protects mice from colitis [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2011, 108(40): 16711 – 16716.
- [9] Zhao PW, Jiang WG, Wang L, et al. Plasma levels of IL-37 and correlation with TNF- α , IL-17A, and disease activity during DMARD treatment of rheumatoid arthritis [J]. PLoS One, 2014, 9(5): e95346.
- [10] Bulau AM, Fink M, Maucksch C, et al. *In vivo* expression of interleukin-37 reduces local and systemic inflammation in concanavalin A-induced hepatitis [J]. ScientificWorldJournal, 2011, 11: 2480 – 2490.
- [11] Lunding L, Webering S, Vock C, et al. IL-37 requires IL-18R α and SIGIRR/IL-1R8 to diminish allergic airway inflammation in mice [J]. Allergy, 2015, 70(4): 366 – 373.
- [12] 杨文博, 赵堃. 树突状细胞的研究进展 [J]. 医学综述, 2011, 17(15): 2279 – 2281.
- [13] Gu J, Gao X, Pan X, et al. High-level expression and one-step purification of a soluble recombinant human interleukin-37b in *Escherichia coli* [J]. Protein Expr Purif, 2015, 108: 18 – 22.
- [14] 郭萌, 李冠民, 黄清泉. 细菌内毒素研究进展 [J]. 中国实验动物学报, 2009, 17(5): 397 – 401.
- [15] 马东霞, 赵越, 向莹, 等. 小鼠骨髓源性树突状细胞的体外诱导扩增和鉴定 [J]. 华中科技大学学报(医学版), 2013, 42(4): 386 – 390.
- [16] 夏清, 谭洪毅, 潘频华, 等. 神经生长因子在诱导树突状细胞分化中的作用 [J]. 中南大学学报(医学版), 2015, 40(8): 829 – 836.
- [17] Nold MF, Nold-Petry CA, Zepp JA, et al. IL-37 is a fundamental inhibitor of innate immunity [J]. Nat Immunol, 2010, 11(11): 1014 – 1022.
- [18] 陈松, 卢利莎, 王伟强, 等. 脂多糖通过调控树突状细胞存活和分泌细胞因子促进 CD4⁺ T 细胞增殖 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(9): 1153 – 1157, 1163.
- [19] 周洲, 冯娟, 王宪. 调节性 T 细胞的分化及其影响因素 [J]. 生物物理学报, 2012, 28(2): 93 – 111.
- [20] Lombardi V, Akbari O. Dendritic cell modulation as a new interventional approach for the treatment of asthma [J]. Drug News Perspect, 2009, 22(8): 445 – 451.
- [21] 郝钰, 赵斌, 郭钰琪, 等. 脂多糖诱导小鼠内皮损伤早期 T 细胞亚群的变化 [J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(6): 488 – 491.