

变应性哮喘患者外周血单个核细胞 *Tim-1* mRNA 及 *Tim-3* mRNA 表达及意义*

武其文, 浦 春, 方 芳(皖南医学院附属弋矶山医院检验科, 安徽芜湖 241001)

【摘要】 目的 研究 *Tim-1* mRNA 及 *Tim-3* mRNA 在变应性哮喘患者外周血单个核细胞(PBMC)的表达, 探讨其在变应性哮喘发病中可能的作用。方法 随机收集临床变应性哮喘患者 25 例, 以健康体检者 12 例作为对照。采用实时荧光定量反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测两组 *Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* 的 mRNA 表达, 并分析他们与哮喘临床表型之间的关系。结果 *Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* mRNA 在变应性哮喘患者 PBMC 中表达明显升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 且与患者血清总 IgE 水平和临床严重程度相关, 总 IgE 水平和临床严重程度分级越高, *Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* mRNA 表达越高($P < 0.05$)。结论 *Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* mRNA 在变应性哮喘患者中表达明显升高, *Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* mRNA 可能参与变应性哮喘的发生和发展。

【关键词】 变应性哮喘; 外周血单个核细胞; 实时荧光定量反转录-聚合酶链反应

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2012.16.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2012)16-1971-03

Expression of *Tim-1* mRNA and *Tim-3* mRNA in PBMCs from atopic asthma patients and its clinical significance*

WU Qiwen, PU Chun, FANG Fang (Department of Clinical Laboratory, Yijishan Hospital Affiliated to Wannan Medical College, Wuhu, Anhui 241001, China)

【Abstract】 Objective To explore the expression of *Tim-1* mRNA and *Tim-3* mRNA in PBMCs from atopic asthma patients, and its possible role in asthma development. Methods The expressions of *Tim-1* mRNA and *Tim-3* mRNA were detected by fluorescent quantitative real time RT-PCR in 25 atopic asthma patients and 12 healthy subjects. The association of the expression with asthma clinical phenotype was analyzed. Results The expressions of *Tim-1* mRNA and *Tim-3* mRNA in the peripheral PBMC from atopic asthma were significantly increased than these in controls ($P < 0.05$), and the expressions were associated with the serum total IgE level and clinical severity ($P < 0.05$). Conclusion The expressions of *Tim-1* mRNA and *Tim-3* mRNA in patients with atopic asthma were significantly higher, *Tim-1* mRNA and *Tim-3* mRNA may be involved in the occurrence and development of human atopic asthma.

【Key words】 atopic asthma; peripheral blood mononuclear cell; fluorescent quantitative real time RT-PCR

变应性哮喘是一种以气道反应性增高和针对环境中变应原特异性 IgE 或总 IgE 升高为特征的慢性气道炎症性疾病。患者体内增高的 IgE 与肥大细胞和嗜碱性粒细胞 IgE 受体结合, 使机体处于对变应原的致敏状态, 当机体再次被变应原刺激后可导致变应性哮喘的发生。Th1/Th2 细胞及其所分泌的细胞因子失衡在哮喘的发病中起着重要作用^[1]。*Tim-1* 和 *Tim-3* 是近年发现的 T 细胞免疫球蛋白白域黏蛋白域(T cell immunoglobulin domain and mucin domain protein, *Tim*) 基因家族中两个主要的成员, 主要表达在免疫细胞表面, 调节 Th1 和 Th2 细胞介导的免疫应答。研究表明, *Tim-1* 主要表达在 Th2 细胞表面, 在调节 Th2 细胞的增殖、分化和分泌细胞因子中发挥重要作用, 而 *Tim-3* 分子选择性地表达在活化的 Th1 细胞表面而不表达在 Th2 细胞表面, 与其配体结合后, 抑制 Th1 型免疫应答起负性免疫调节作用^[2-4]。为探讨 *Tim-1* 和 *Tim-3* 在哮喘发病中的作用, 本文利用实时定量反转录-聚合酶链反应(Real time RT-PCR) 技术对变应性哮喘患者外周血单个核细胞(PBMC) *Tim-1* mRNA 及 *Tim-3* mRNA 的水平进行了检测, 并分析两者与哮喘相关表型的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院 2011 年 1~9 月以变应性哮喘急性

发作入院患者 25 例, 其中男 15 例, 女 10 例。哮喘的诊断和严重程度分级符合 2003 年中华医学会呼吸病学分会哮喘学组制定的标准^[5]。所有患者血清总 IgE 水平高于正常参考范围, 特异性 IgE 检测呈现对一种或多种过敏原阳性, 包括吸入性或食入性过敏原。以 12 例健康者体检为对照组, 无过敏性疾病史。

1.2 方法

1.2.1 主要试剂及仪器 Ficoll 淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物制品科技有限公司; Trizol、逆转录试剂盒和 Quant qRT-PCR(SYBR Green) 试剂盒均购自 TIANGEN 生化科技公司, 引物由上海生工生物工程科技公司合成。实时荧光定量 PCR 仪为罗氏公司产品。

1.2.2 血浆总 IgE 检测和特异性 IgE 检测 采用 ELISA 法测定人血清总 IgE 水平, 试剂盒购自合肥安启生物公司。正常参考值范围为小于 120 U/mL, 根据哮喘患者升高程度, 将患者分为大于 500 U/mL 和小于 500 U/mL 两群。应用德国欧盟公司提供的过敏原特异性 IgE 抗体检测试剂盒, 以免疫印迹法检测血清中过敏原特异性 IgE 抗体。过敏原分为吸入性和食入性。实验操作方法严格按试剂盒说明书进行。根据实验膜条上出现的与参照物上的标志相对应清晰可见的条带记录, 并进行结果判定。

* 基金项目: 安徽省自然科学基金资助项目(No. 10040606Q68)。

1.2.3 Tim-1 mRNA 和 Tim-3 mRNA 表达检测 以 Ficoll 密度离心法分离 PBMC。以 Trizol 法抽提总 RNA 并逆转录为 cDNA, -80 °C 条件下贮存备用。逆转录操作按试剂说明书进行。用 Premier Primer 5.0 引物设计软件设计引物序列。Tim-1、Tim-3 实时 PCR 引物的序列参照参考文献[6-7]。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参。引物序列及退火温度见表 1。实时荧光定量 RT-PCR 扩增反应体系总体积 20 μ L, 其中上、下游引物(浓度调整为 10 μ mol)各 0.5 μ L, 20 \times

SybrGreen I 染料 0.2 μ L, cDNA 模板 1 μ L, 5 U/mL Taq DNA 聚合酶 0.2 μ L, 10 mmol/L 三磷酸脱氧核糖核酸(dNTP)混合物 0.2 μ L, 25 mmol/L Mg²⁺ 4 μ L, 1 mg/mL 牛血清清蛋白(BSA)1 μ L, 加蒸馏水至 20 μ L。扩增条件: 95 °C 预变性 3 min; 95 °C 变性 10 s; 退火延伸 10 s; 重复 40 个循环。结果各目的基因的融解曲线均为单峰, 表明无非特异性扩增。每份标本分别同时用 GAPDH、Tim-1、Tim-3 的引物进行实时荧光定量 RT-PCR, 重复 3 次, 得到 Ct 值取平均值。

表 1 Tim-1、Tim-3 和 GAPDH 实时 PCR 引物序列

基因	引物名称	引物序列	退火温度(°C)	产物大小(bp)
Tim-1	Tim-1RT-F	5'-GAACATAGTCTACTGACGGCCAATAC -3'	60	127
	Tim-1RT-R	5'-GAACCTCCTTTTTGAAGAAATACTTTTT-3'		
Tim-3	Tim-3RT-F	5'-AATTGAACTGGGACCTGCAC-3'	68	233
	Tim-3RT-R	5'-CTTTCACCTCAGCACCCAGT-3'		
GAPDH	GAPDH-F	5'-GAAGGTGAAGGTCGGAGTC-3'	61	226
	GAPDH-R	5'-GAAGATGGTGATGGGATTTC-3'		

注: F 为上游引物; R 为下游引物。

1.2.4 结果计算 根据荧光强度曲线判断标本达到阈值时所经历的循环数(Cycle of threshold, CT), 设定 CT > 40 为阴性。每次扩增均设 GAPDH 内参和阴性对照(以蒸馏水替代 cDNA)。采用比较 CT 法进行相对定量, 每份标本的 Tim-1 和 Tim-3 的相对表达量为各样本相对表达值与随机标本中相对表达值最高者的比值, 以 2^{- $\Delta\Delta$ CT} 来表示 [$\Delta\Delta$ CT = (CT_{目的基因} - CT_{管家基因})_{实验组} - (CT_{目的基因} - CT_{管家基因})_{对照组}]。

1.3 统计学处理 各项指标以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 以单因素方差分析(One way ANOVA)分析组间的差异, 两两比较采用 LSD-t 检验。采用 SPSS 13.0 分析数据, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 Tim-1 及 Tim-3 在变应性哮喘 PBMC 中 mRNA 水平的相对表达 Tim-1 mRNA 在变应性哮喘患者 PBMC 中相对表达值, 显著高于对照组, 差异有统计学意义(P < 0.01); 本研究结果还显示变应性哮喘患者 PBMC 中的 Tim-3 mRNA 的表达水平也比对照组高, 差异有统计学意义(P < 0.05); 结果见表 2。

表 2 Tim-1 mRNA、Tim-3 mRNA 在实验组与对照组的相对表达值($\bar{x} \pm s$)

基因	组别	n	Δ CT	2 ^{-$\Delta\Delta$CT}	P
Tim-1	对照组	12	6.64 \pm 0.31	0.17 \pm 0.03	0.0001
	哮喘组	25	5.37 \pm 0.57	0.44 \pm 0.19	
Tim-3	对照组	12	7.03 \pm 0.57	0.34 \pm 0.14	0.027
	哮喘组	25	6.51 \pm 0.60	0.49 \pm 0.16	

2.2 Tim-1 与 Tim-3 mRNA 在哮喘患者各组间的表达 Tim-1 和 Tim-3 在不同的性别和年龄组表达, 差异无统计学意义(P > 0.05); 但是在血清总 IgE 水平较高的患者(IgE > 500 U/mL), Tim-1 与 Tim-3 的表达水平也较高, 差异有统计学意义(P < 0.05); 同时, 不同严重程度的哮喘患者表达差异也有统计学意义(P < 0.05), 重度哮喘患者 Tim-1 和 Tim-3 的表达水平较高。结果见表 3。

表 3 Tim-1 与 Tim-3 mRNA 在哮喘各组间的表达($\bar{x} \pm s$)

临床表现	n	Tim-1	Tim-3
性别			
男	15	0.40 \pm 0.18	0.46 \pm 0.15
女	10	0.50 \pm 0.19	0.52 \pm 0.25
年龄			
>20 岁	9	0.34 \pm 0.09	0.47 \pm 0.14
\leq 20 岁	16	0.49 \pm 0.21	0.49 \pm 0.23
血清 IgE 水平			
>500 U/mL	19	0.49 \pm 0.19	0.55 \pm 0.18
\leq 500 U/mL	6	0.25 \pm 0.04	0.29 \pm 0.07
严重程度			
轻度	8	0.30 \pm 0.07	0.46 \pm 0.16
中度	12	0.44 \pm 0.16	0.42 \pm 0.13
重度	5	0.64 \pm 0.21	0.67 \pm 0.28

3 讨 论

变应性哮喘是一种以气道反应性增高和针对环境中变应原特异性 IgE 或总 IgE 升高为特征的慢性气道炎症性疾病[8]。它是由肥大细胞、嗜酸性粒细胞和 T 淋巴细胞等多种细胞参与的炎症性疾病。患者体内增高的 IgE 与肥大细胞和嗜碱性粒细胞 IgE 受体结合, 而使机体处于对变应原的致敏状态, 当机体再次被变应原刺激后可导致变应性哮喘发生。CD4⁺ 辅助性 T 淋巴细胞(Th)是变态反应性气道炎症中的主要效应细胞, 根据所分泌的细胞因子不同, 初始 CD4⁺ 的 T 细胞可分化为 Th1 和 Th2 两个亚群[9-11]。Th1/Th2 细胞彼此调节对方的克隆增殖和功能, 在正常情况下保持一个平衡状态, 是维持机体正常免疫的基础。一旦该平衡被打破则引起多种免疫相关疾病。例如, Th2 型细胞占优势的应答可介导过敏性疾病的发生如哮喘, 而 Th1 细胞占优势的应答可以引起器官特异性自身免疫病的发生[12]。变应性哮喘为 Th2 细胞偏离型疾病, 存

在 Th2 细胞及其细胞因子的升高。

Tims 基因家族是近年发现和鉴定的一类基因家族,主要表达在免疫细胞表面。*Tim-1* 和 *Tim-3* 是该基因家族两个重要的成员,研究表明 *Tim-1* 分子优势表达在 Th2 细胞表面,在调节 Th2 细胞的增殖、分化和分泌细胞因子中发挥重要作用。*Tim-3* 分子与 *Tim-1* 分子不同,其主要表达在 Th2 细胞表面,与其配体(如 galectin-9)结合后提供的是抑制性信号,结果导致 Th1 细胞的凋亡^[13]。*Tim-3* 与 *Tim-3L* 结合介导的负性免疫应答的分子机制目前还不清楚^[14-17]。*Tim-1* 和 *Tim-3* 分子在调节 Th1/Th2 型细胞平衡中扮演着重要的角色,进而可能在 Th1/Th2 细胞相关性疾病如哮喘的发病中起着重要的作用。Xu 等^[8]应用实时 PCR、流式细胞术和 Western Blot 分别对哮喘模型鼠肺组织、PBMC 及脾组织 *Tim-1* 的表达研究发现,*Tim-1* 在哮喘鼠这些组织中的表达明显上调并且与 Th2 型转录因子 GATA-3 的水平相关。Kearley 等^[19]研究发现在卵清蛋白(OVA)诱导的哮喘小鼠模型中应用 *Tim-3* 单克隆抗体可改善 Th2 型免疫应答如变态反应的发生和发展。在抗原激发前给小鼠应用抗-*Tim-3* 处理可降低气道的高反应以及局部嗜酸性粒细胞及 Th2 型细胞因子白细胞介素-5(IL-5)的水平均下降。而 Th1 型细胞因子 γ 干扰素(IFN- γ)的水平却明显升高。这些动物实验的研究,均表明 *Tim-1* 和 *Tim-3* 在小鼠哮喘的发生、发展中起重要的作用。然而,在人类 *Tim-1* 和 *Tim-3* 分子是否也与过敏性哮喘发病相关,*Tim-1* 和 *Tim-3* 分子在哮喘患者体内的表达如何,其相关报道还很少见。

本研究,运用敏感性高、特异性较强实时荧光定量 RT-PCR 技术,检测了变应性哮喘及健康对照者 PBMC 中 *Tim-1* mRNA 及 *Tim-3* mRNA 水平表达。初步探讨了 *Tims* 家族两个重要基因与人类哮喘发病的关系。结果表明 *Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* mRNA 在哮喘组与对照组之间的表达差异有统计学意义($P < 0.05$)。*Tim-1* 在哮喘患者相对表达显著高于健康对照组($P < 0.01$)。*Tim-3* 在哮喘患者相对表达值与对照组相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。进一步对哮喘患者进行分组比较显示年龄和性别对 *Tim-1* 和 *Tim-3* 的表达差异无统计学意义($P > 0.05$);但 *Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* mRNA 的表达与患者血清总 IgE 水平和临床严重程度相关,总 IgE 水平和临床严重程度分级越高,*Tim-1* mRNA 和 *Tim-3* mRNA 表达越高($P < 0.05$)。

研究结果提示,*Tim-1* 和 *Tim-3* 可能参与人类变应性哮喘的发生和发展,并在其中发挥重要的作用。其可能的机制为,初始 CD4⁺ T 细胞在抗原的刺激活化后,其表面的 *Tim-1* 或 *Tim-3* 分子表达均升高,高表达在 Th2 细胞表面的 *Tim-1* 分子,与其配体结合后转导信号,使 T 细胞向 Th2 型增殖分化,而高表达在 Th1 型细胞表面的 *Tim-3* 分子与其配体结合后,转导的是负性调节信号,使 Th1 细胞应答受到抑制,结果使免疫平衡转向 Th2 细胞优势免疫应答,进而促进哮喘的发病。de Souza 等^[20]的研究表明在 T 细胞分化的过程中,小鼠体内激活的 CD4⁺ T 细胞上表达的 *Tim-1* 分子,与其配体结合后转导信号,激活了转录因子 NFAT 或 AP-1,促使分泌白细胞介素-4(IL-4)的细胞数量明显增加。最近的几项研究成果也支持这一观点,Encinas 等^[21]给卵清蛋白诱导的哮喘模型鼠应用抗 *Tim-1* 抗体,发现可明显减少肺泡灌洗液中炎症细胞的数量和 Th2 型细胞因子白细胞介素 13(IL-13)和白细胞介素 10(IL-10)的产量。提示抗 *Tim-1* 的抗体可能为治疗哮喘提供一个新的方法。Wu 等^[22]研究表明 *Tim-1* 的表达水平在过敏性

鼻炎患者中的表达水平明显比正常健康者要高,尤其当给予变应原刺激之后,过敏性鼻炎患者表达 *Tim-1* 的 CD4⁺ T 细胞的百分比明显高于对照组。最近的 Feng 等^[23]研究表明在树突状细胞诱导的花生过敏模型中,应用抗 *Tim-1* 或抗 *Tim-4* 的抗体阻断 *Tim-1* 和其配体 *Tim-4* 的相关作用,可以减少肠道内花生过敏原特异性的 Th2 细胞的数量和过敏反应,再次证实了 *Tim-1* 可能在 Th2 型细胞相关的疾病,如过敏性疾病的发生和发展中具有重要功能。一项对 *Tim-3* 与过敏性结膜炎(EC)的研究结果也支持此的观点,在免疫激活野生型小鼠诱导实验性 EC 阶段的应用抗-*Tim-3*,可通过上调机体 IFN- γ 的水平,促使 Th1/Th2 平衡向 Th1 方向发展,从而抑制 EC 的病情的发生和发展^[24]。表明阻断 *Tim-3* 的功能可影响 Th1/Th2 细胞的平衡,抗-*Tim-3* 具有潜在的预防和治疗 EC 的作用。因此,在制定变态反应性疾病新的治疗策略时,*Tim-1* 和 *Tim-3* 分子可作为 T 辅助细胞上重要的免疫调节分子,有可能作为治疗哮喘等疾病新的治疗靶点。

本研究在 mRNA 水平上初步探讨了 *Tim-1* 与 *Tim-3* 分子在变应性哮喘中表达,更进一步的研究需要在单个细胞和蛋白质水平来探讨 *Tim-1*、*Tim-3* 以及 Th1 和 Th2 细胞相关因子在变应性哮喘中的表达情况,并对他们进行相关分析,其为进一步揭示 *Tims* 家族基因与人类哮喘的关系提供证据。

参考文献

- [1] Romagnani S. Immunologic influences on allergy and the Th1/Th2 balance [J]. Allergy Clin Immunol, 2004, 113 (3):395-400.
- [2] Kuchroo VK, Umetsu DT, De Kruffy RH, et al. The TIM gene family: emerging roles in immunity and disease [J]. Nat Rev Immunol, 2003, 3(6):454-462.
- [3] Umetsu DT, McIntire JJ, Akbari O, et al. Asthma: an epidemic of dysregulated immunity [J]. Nat Immunol, 2002, 3(8):715-720.
- [4] Sanchez-Fueyo A, Tian J, Picarella D, et al. Tim-3 inhibits T helper type 1-mediated auto- and alloimmune responses and promotes immunological tolerance [J]. Nat Immunol, 2003, 4(11):1093-1101.
- [5] 中华医学会呼吸病学分会哮喘学组. 支气管哮喘防治指南 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 26(3):132-138.
- [6] 张胜桃, 刘晓军, 何培根, 等. 类风湿关节炎患者外周血 CD4⁺ T 细胞 *Tim-3* mRNA 的表达 [J]. 中华风湿病学杂志, 2006, 10(1):30-32.
- [7] Wang Y, Meng J, Wang X, et al. Expression of human TIM-1 and TIM-3 on lymphocytes from systemic lupus erythematosus patients [J]. Scand J Immunol, 2008, 67 (1):63-70.
- [8] Gould HJ, Sutton BJ. IgE in allergy and asthma today [J]. Nat Rev Immunol, 2008, 8(3):205-217.
- [9] Abbas AK, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes [J]. Nature, 1996, 383(6603):787-793.
- [10] O'Garra A, Arai N. The molecular basis of T helper 1 and T helper 2 cell differentiation [J]. Trends Cell Biol, 2000, 10(12):542-550.
- [11] Del Prete G. The concept of type-1 and (下转第 1976 页)

者认为后者的可操作性更好。

目前,本科采用罗氏 Modular E170 和 Cobas e601 电化学发光免疫分析仪检测 AFP,为了评估两台仪器检测 AFP 的可比性,保证检验结果的准确可靠,应做好两套检测系统的方法学比对和偏倚评估。国内有研究人员对 AFP 在不同系统的比对分析采取计算医学决定水平处实验方法和比对方法的相对误差与临床可接受性能比较做可比性判断和偏倚评估^[7-8]。但作者认为在整个分析测量范围内具有恒定的不精密度的方法很少,对不具有均匀离散度的分析应采取分段残差计算各段的偏倚估计。目前,临床上常以 AFP 20 ng/mL 和 400 ng/mL 作为临床诊断的临界值^[9-10],本研究按照 CLSI EP9-A2 文件要求,对罗氏 Modular E170 和 Cobas e601 检测 AFP 的结果进行比对分析和偏倚评估,在 20 ng/mL 和 400 ng/mL 医学决定水平处其结果具有较满意的可比性。这与两台仪器检测原理一致且使用同一产家相同配套试剂、校准品有关。因此,临床实验室如有必要使用多套检测系统检测同一项目时,应尽可能在检测原理相近、试剂互通性强的检测系统中选择,以保证不同系统之间的检测结果具有较满意的可比性,以满足临床的需求。

参考文献

[1] The National Committee for Clinical Laboratory Standards. EP9-A2 Method comparison and bias estimation using patient samples[S]. Wanye,PA,NCCLS,2002.

[2] 魏昊,丛玉隆. 医学实验室质量管理与认可指南[M]. 北

京:中国计量出版社,2004:72-93.

[3] 朱豆,李宜铮,吴意. 电化学发光法与 ELISA 法检测甲胎蛋白的比较[J]. 实用预防医学,2011,18(1):145-147.

[4] 林向阳,王忠永,周武,等. 不同检测系统甲胎蛋白测定结果的可比性及偏倚评估研究[J]. 中华检验医学杂志,2008,31(8):908-909.

[5] 王治国. 临床检验方法确认与性能验证[M]. 北京:人民卫生出版社,2009:104-106.

[6] 丛玉隆,冯仁丰,陈晓东. 临床实验管理学[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004:111-114.

[7] 秦辛玲,黄立伟,石青峰,等. 罗氏 E170 与 E601 检测系统间甲状腺激素测定结果的偏倚分析及可比性研究[J]. 现代检验医学杂志,2010,25(1):109-111.

[8] 蔡新,余清,杨丽,等. 血清甲胎蛋白在两个免疫分析系统间检测的比对评估[J]. 数理医药学杂志,2008,21(2):169-173.

[9] 王桂荣,实验室诊断原发性肝癌几种方法的比较与评价[J]. 中国民康医学,2008,4(20):724-725.

[10] Trevisani FD, Intino PE, Morselli-Labate AM, et al. Serum alpha-fetoprotein for diagnosis of hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease: Influence of HBsAg and anti-HCV status[J]. J Hepatol,2006,34(4):570-575.

(收稿日期:2012-02-16)

(上接第 1973 页)

type-2 helper T cells and their cytokines in humans[J]. Int Rev Immunol,1998,16(3/4):427-455.

[12] Meiler F, Zimmermann M, Blaser K, et al. T-cell subsets in the pathogenesis of human asthma[J]. Curr Allergy Asthma Rep,2006,6(2):91-96.

[13] Zhu C, Anderson AC, Schubart A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity[J]. Nat Immunol,2005,6(12):1245-1252.

[14] Nagahara K, Arikawa T, Oomizu S, et al. Galectin-9 increases Tim-3⁺ dendritic cells and CD8⁺ T cells and enhances antitumor immunity via galectin-9-Tim-3 interactions[J]. J Immunol,2008,181(11):7660-7669.

[15] Klibi J, Niki T, Riedel A, et al. Blood diffusion and TH1-suppressive effects of galectin-9-containing exosomes released by Epstein-Barr virus-infected nasopharyngeal carcinoma cells [J]. Blood,2009,113(9):1957-1966.

[16] Frisancho-Kiss S, Nyland JF, Davis SE, et al. Cutting edge:T cell Ig Mucin-3 reduces inflammatory heart disease by increasing CTLA-4 during innate immunity [J]. J Immunol,2006,176(11):6411-6415.

[17] Geng H, Zhang GM, Li D, et al. Soluble form of T cell Ig mucin 3 is an inhibitory molecule in T cell-mediated immune response [J]. J Immunol,2006,176(3):1411-1420.

[18] Xu G, Cheng L, Lu L, et al. Expression of T-cell immunoglobulin- and mucin-domain-containing molecule-1 (TIM-1) is increased in a mouse model of asthma and relationship to GATA-3 [J]. Life Sci,2008,82(11/12):663-669.

[19] Kearley J, Mc Millan SJ, Lloyd CM. TH2-driven, allergen-induced airway inflammation is reduced after treatment with anti-Tim-3 antibody in vivo [J]. J Exp Med,2007,204(6):1289-1294.

[20] de Souza AJ, Oriss TB, O'malley KJ, et al. T cell Ig and mucin 1 (TIM-1) is expressed on in vivo-activated T cells and provides a costimulatory signal for T cell activation [J]. Proc Natl Acad Sci USA,2005,102(47):17113-17118.

[21] Encinas JA, Janssen EM, Weiner DB, et al. Anti-T-cell Ig and mucin domain-containing protein 1 antibody decreases TH2 airway inflammation in a mouse model of asthma [J]. J Allergy Clin Immunol,2005,116(6):1343-1349.

[22] Wu WK, An YF, Zhao CQ. Immunoglobulin domain and mucin domain-1 in helper T lymphocytes in allergic rhinitis[J]. Zhonghua Yi Xue Za Zhi,2008,88(48):3392-3396.

[23] Feng BS, Chen X, He SH, et al. Disruption of T-cell immunoglobulin and mucin domain molecule (TIM)-1/TIM4 interaction as a therapeutic strategy in a dendritic cell-induced peanut allergy model [J]. J Allergy Clin Immunol,2008,122(1):55-61.

[24] Fukushima A, Sumi T, Fukuda K, et al. Antibodies to T-cell Ig and mucin domain-containing proteins (Tim)-1 and-3 suppress the induction and progression of murine allergic conjunctivitis [J]. Biochem Biophys Res Commun,2007,353(1):211-216.

(收稿日期:2012-02-14)