

乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的特点和意义

范振平, 张玲霞, 杨斌, 施明, 张晖, 王福生

范振平, 杨斌, 施明, 张晖, 王福生, 中国人民解放军第 302 医院生物治疗研究中心 北京市 100039

张玲霞, 中国人民解放军第 302 医院专家组 北京市 100039

范振平, 男, 1969-06-09 生, 河北省行唐人, 汉族, 1993 年重庆第三军医大学本科毕业, 2000 年解放军军医进修学院硕士研究生毕业, 2002 年解放军军医进修学院博士, 主治医师, 主要从事慢性肝炎的发病机理和免疫治疗的研究。

国家自然科学基金资助项目, No. 30271230

项目负责人: 王福生, 100039, 北京市西四环中路 100 号, 中国人民解放军第 302 医院传染病研究所生物治疗研究中心. fswang@public.bta.net.cn

电话: 010-66933332 传真: 010-63831870

收稿日期: 2004-10-11 接受日期: 2004-11-22

Characteristics of peripheral blood T-lymphocyte subsets in hepatitis B patients

Zhen-Ping Fan, Ling-Xia Zhang, Bin Yang, Ming Shi, Hui Zhang, Fu-Sheng Wang

Zhen-Ping Fan, Bin Yang, Ming Shi, Hui Zhang, Fu-Sheng Wang, Research Center of Biological Therapy, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of Chinese PLA, Beijing 100039, China

Ling-Xia, Zhang, Group of Specialists, 302 Hospital of Chinese PLA, Beijing 100039, China

Supported by National Natural Science Foundation of China, No. 30271230

Correspondence to: Fu-Sheng Wang, Research Center of Biological Therapy, Institute of Infectious Diseases, 302 Hospital of Chinese PLA, 100039, China. fswang@public.bta.net.cn

Received: 2004-10-11 Accepted: 2004-11-22

Abstract

AIM: To characterize the T-lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with acute and chronic hepatitis B, and to explore their relations with the disease state.

METHODS: Peripheral blood were collected from patients with acute ($n = 17$) and chronic ($n = 29$) hepatitis B and healthy individuals ($n = 20$). After marked with the specific fluorescent antibodies, CD4⁺ and CD8⁺ lymphocytes were detected using two or three-color flow cytometry. Meanwhile, serum ALT and hepatitis B virus (HBV) viral loads, as well as the peripheral lymphocyte counts were examined.

RESULTS: The percentage and the absolute number of CD8⁺CD28⁺ and CD8⁺CD38⁺ T lymphocyte subsets were significantly increased in acute HBV-infected patients than those in chronic patients and healthy controls [CD8⁺CD28⁺T: $59.6 \pm 16.4\%$, $66.8 \pm 15.1\%$ vs $64.0 \pm 10.0\%$;

$(0.29 \pm 0.07) \times 10^9$, $(0.38 \pm 0.14) \times 10^9$ vs $(0.22 \pm 0.10) \times 10^9/L$; $P < 0.05$. CD8⁺CD38⁺T: $57.4 \pm 12.3\%$, $65.0 \pm 12.8\%$ vs $55.6 \pm 10.0\%$; $(0.28 \pm 0.09) \times 10^9/L$, $(0.37 \pm 0.15) \times 10^9/L$ vs $(0.39 \pm 0.10) \times 10^9/L$; $P < 0.05$]. The number of CD8⁺CD28⁺ T cells, but not CD8⁺CD38⁺ T cells, was significantly higher in chronic hepatitis B patients than that in the healthy individuals ($P < 0.05$). Furthermore, the CD4/CD8 ratio in acute, but not chronic, hepatitis B patients was remarkably higher than that in the healthy individuals (1.19 ± 0.34 vs 1.50 ± 0.54 , $P < 0.05$). None of the lymphocyte subset exhibited significant relationship with HBeAg or serum viral loads.

CONCLUSION: The activated CD8⁺CD28⁺ and CD8⁺CD38⁺ T lymphocyte subsets may play important roles in the clearance of the virus in HBV-infected patients.

Key Words: T-Lymphocyte subsets; Hepatitis B; Peripheral blood

Fan ZP, Zhang LX, Yang B, Shi M, Zhang H, Wang FS. Characteristics of peripheral blood T-lymphocyte subsets in hepatitis B patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;13(2):194-197

摘要

目的: 探讨急性乙肝(AHB)和慢性乙型(CHB)外周血淋巴细胞各亚群的特点及与肝病病情的关系。

方法: 采集 17 例 AHB、27 例 CHB 和 20 名健康人的外周抗凝血, 用淋巴细胞亚群的特异性荧光抗体标记后, 通过流式细胞仪对淋巴细胞亚群进行二色或者三色荧光抗体检测, 同时检测 3 组人群的肝功能、乙肝病毒标志和血常规。

结果: AHB 的外周血中 CD8⁺CD28⁺T 细胞和 CD8⁺CD38⁺T 细胞的百分比和绝对数比正常人和 CHB 都有明显的升高($P < 0.05$), 而 CHB 与正常人相比, CD8⁺CD28⁺T 细胞明显的下降($P < 0.05$), CD8⁺CD38⁺T 细胞改变不明显。而且, AHB 和正常人相比, CD4/CD8 的比值有明显的降低(1.19 ± 0.34 vs 1.50 ± 0.54 , $P < 0.05$)。这 3 组其他细胞亚群没有统计学差异。各 T 细胞亚群和患者的 HBeAg 和 HBVDNA 之间没有明显的关联性。

结论: 某些 T 细胞亚群, 如 CD8⁺CD28⁺T 或 CD8⁺CD38⁺T 细胞的激活可能导致乙肝患者清除病毒。

关键词: T淋巴细胞亚群; 乙型肝炎; 外周血

范振平, 张玲霞, 杨斌, 施明, 张晖, 王福生. 乙型肝炎患者外周血T淋巴细胞亚群的特点和意义. 世界华人消化杂志 2005;13(2):194-197
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/194.asp>

0 引言

HBV感染是非细胞病变性的, 导致的肝脏炎症是由于机体对抗免疫反应的结果^[1]. 在感染了病毒的肝细胞表面上表达的病毒可以引起细胞毒性T细胞(CTL)反应, 这些反应在乙肝患者的外周血和肝脏中都有所体现^[2-4]. 因此, 研究HBV免疫病理机制的一个重要方法就是分析慢性感染患者的外周血或者肝脏来源的淋巴细胞亚群的组成^[5]. 但是, 已有的研究数据相互矛盾, 特别是在外周血淋巴细胞的组成上: 有人认为在慢性肝炎中CD4/CD8比值下降^[6], 而有些人认为没有变化^[7]. 最新免疫学研究将T淋巴细胞的分为纯真T细胞亚群、功能T细胞亚群、激活T细胞亚群及凋亡T细胞亚群, 根据这种分类, 我们对健康人、慢性乙肝免疫清除期的患者和急性乙肝患者外周血的T淋巴细胞的组成进行了分析.

1 材料和方法

1.1 材料 慢性乙型病毒性肝炎轻-中度27例, 男19例, 女8例, 平均年龄 30.3 ± 10.2 岁, ALT 72.96 ± 14.04 nkat/L, 病毒载量水平在 2.09×10^7 - 1.96×10^{11} copies/L, 其中HBeAg阳性21例. 对照组I组为急性乙肝17例, 男12例, 女5例, 年龄 31.2 ± 10.9 岁, ALT 853.82 ± 464.2 nkat/L, HBVDNA均为阴性, 抗-HBcIgM阳性, 治疗后HBsAg转为阴性. 诊断符合2000年第六届传染病和寄生虫病会议(西安)制定的肝炎诊断标准. 入选患者的HCV, HDV和HIV抗体阴性, 排除酒精性肝病, 自身免疫性肝炎等疾病. 对照II组正常人20名, 男12名, 女8名, 平均年龄 25.9 ± 4.3 岁. T细胞亚群的检测共使用14组抗体, 抗体组合1-4分别使用2色荧光进行检测, 所用mAb组合为: PE-CD14/FITC-CD45(1组), PE-IgG2a/FITC-IgG1(2组), PE-CD4/FITC-CD3(3组), PE-CD8/FITC-CD3(4组). 使用软件Simultestv3.1进行分析. CD4细胞和CD8细胞亚群使用三色荧光进行检测, 其中CD4CD45RO, CD4CD28, CD4CD25, CD4HLADR, CD8CD28, CD8CD38, CD8HLADR中CD3为PerCP标记, CD4和CD8为FITC-标记, 其他使用PE标记; CD4CD45RA, CD4CD95, CD8CD95中CD3为PerCP标记, CD4和CD8为PE标记, 其余为FITC标记, 使用软件Cellquest进行分析. 所有抗体均购自BD公司. FACScalibur流式细胞仪购自美国BD公司. 血常规检测采用日本生产的

SF3000五分类全自动血液分析仪, HBV-DNA定量检测采用美国应用生物系统生产的GeneAMPsystem9600检测仪. HBVM检测使用ELISA方法进行. 肝功能检测使用奥林帕斯7500全自动生化分析仪.

1.2 方法 患者在入院1 wk内取EDTA抗凝血3 mL, 一部分通过全自动血液分析仪进行白细胞计数和分类; 另一部分通过流式细胞仪进行淋巴细胞亚群检测. 同时采集普通非抗凝管进行肝功能, HBVDNA和HBVM检测. 外周血淋巴细胞亚群的检测: 样品测定管中各加入50 μ L抗凝血, 然后每管中加入相应的抗体10 μ L, 振荡混匀, 室温避光孵育20 min, 加入1 mL溶血素, 振荡混匀, 室温避光放置10 min, 1 200 r/min离心4 min弃上清液, 加入PBS1 mL, 1 200 r/min离心4 min弃上清液, 加入PBS400 μ L, 混匀后上机检测. 将样品中的白细胞计数和淋巴细胞计数百分比相乘, 得出淋巴细胞计数. CD4, CD8细胞计数为表1中淋巴细胞计数分别与CD4, CD8细胞百分比的乘积, CD4, CD8细胞中各亚群的计数分别为各自的百分比与CD4或CD8细胞计数的乘积.

统计学处理 采用软件SPSS10.0进行统计学分析, 每组之间使用ANOVA比较. 在慢性乙肝患者, T细胞各亚群与患者HBeAg关系的比较采用 χ^2 检验, 和HBVDNA的关系使用相关性分析.

2 结果

正常人, 急性乙肝和慢性乙肝的CD8⁺CD28⁺T细胞的百分比分别是 $59.6 \pm 16.4\%$, $66.8 \pm 15.1\%$ 和 $64.0 \pm 10.0\%$; 绝对数分别是 0.29 ± 0.07 , 0.38 ± 0.14 和 0.22 ± 0.10 ($\times 10^9$ /L). 急性乙肝与慢性乙肝和健康人相比, CD8⁺CD28⁺T细胞的绝对数和百分比升高($P < 0.05$). 而慢性乙肝患者的CD8⁺CD28⁺T细胞与健康人相比下降($P < 0.05$). 正常人, 急性乙肝和慢性乙肝CD8⁺CD38⁺T细胞的百分比分别是: $57.4 \pm 12.3\%$, $65.0 \pm 12.8\%$ 和 $55.6 \pm 10.0\%$; 绝对数分别是: 0.28 ± 0.09 , 0.37 ± 0.15 和 0.39 ± 0.10 ($\times 10^9$ /L). 急性乙肝与慢性乙肝和健康人相比, CD8⁺CD38⁺T细胞的百分比和绝对数都升高($P < 0.05$), 而慢性乙肝和健康人相比差异不显著(表1). 此外, CD4/CD8的比值, 急性乙肝(1.19 ± 0.34)和正常人(1.50 ± 0.54)相比下降($P < 0.05$), 而慢性乙肝(1.29 ± 0.42)与正常人相比虽然下降, 但是没有统计学意义. 急性乙肝, 慢性乙肝和正常人的CD3⁺CD4⁺T, CD4⁺CD45RA⁺T, CD4⁺CD45RO⁺T, CD4⁺CD28⁺T, CD4⁺HLA-DR⁺T, CD4⁺CD25⁺T, CD4⁺CD95⁺T, CD3⁺CD8⁺T, CD8⁺CD38⁺T, CD8⁺HLA-DR⁺T, CD8⁺CD95⁺T细胞的百分比和绝对数没有明显的统计学意义的变化. 在我们所研究的27例慢

表1 乙型肝炎患者T淋巴细胞各亚群的百分比和细胞计数(mean \pm SD)

淋巴细胞亚群	正常人($n = 20$)		急性肝炎患者($n = 17$)		慢性肝炎患者($n = 27$)	
	百分比	绝对数($10^9/L$)	百分比	绝对数($10^9/L$)	百分比	绝对数($10^9/L$)
白细胞		5.46 ± 1.70		5.04 ± 0.83		5.49 ± 1.16
淋巴细胞	32.6 ± 5.5	1.8 ± 0.3	35.8 ± 9.1	1.8 ± 0.6	35.6 ± 8.7	2.0 ± 0.5
CD3 ⁺	66.2 ± 9.8	1.2 ± 0.3	71.8 ± 10.9	1.3 ± 0.5	69.6 ± 6.7	1.4 ± 0.4
CD3 ⁺ CD4 ⁺	38.9 ± 6.3	0.6 ± 0.2	38.9 ± 5.5	0.7 ± 0.3	36.7 ± 6.2	0.7 ± 0.2
CD4 ⁺ CD45RA ⁺	40.8 ± 7.5	0.3 ± 0.1	40.6 ± 9.8	0.3 ± 0.1	39.7 ± 10.8	0.3 ± 0.1
CD4 ⁺ CD45RO ⁺	59.2 ± 8.2	0.4 ± 0.1	63.6 ± 12.6	0.5 ± 0.2	60.4 ± 11.5	0.4 ± 0.1
CD4 ⁺ CD28 ⁺	94.0 ± 3.7	0.6 ± 0.1	93.9 ± 3.4	0.6 ± 0.2	92.2 ± 3.4	0.7 ± 0.2
CD4 ⁺ HLA-DR ⁺	19.0 ± 5.1	0.1 ± 0.0	25.2 ± 8.5	0.2 ± 0.1	26.2 ± 14.2	0.2 ± 0.1
CD4 ⁺ CD25 ⁺	37.7 ± 9.4	0.2 ± 0.1	36.3 ± 8.4	0.3 ± 0.1	31.4 ± 4.8	0.2 ± 0.1
CD4 ⁺ CD95 ⁺	53.1 ± 10.1	0.43 ± 0.1	54.5 ± 10.0	0.4 ± 0.2	51.9 ± 14.3	0.4 ± 0.1
CD3 ⁺ CD8 ⁺	27.8 ± 8.3	0.5 ± 0.2	31.2 ± 4.8	0.6 ± 0.2	29.7 ± 5.3	0.6 ± 0.2
CD8 ⁺ CD28 ⁺	59.6 ± 16.4	0.29 ± 0.1	66.8 ± 15.1^{ac}	0.4 ± 0.1^{ac}	54.0 ± 10.0^a	0.2 ± 0.1^a
CD8 ⁺ HLA-DR ⁺	20.2 ± 7.1	0.1 ± 0.1	23.1 ± 8.2	0.1 ± 0.1	24.2 ± 10.6	0.1 ± 0.1
CD8 ⁺ CD38 ⁺	57.4 ± 12.3	0.3 ± 0.1	65.0 ± 12.8^{ac}	0.4 ± 0.2^{ac}	55.8 ± 10.0	0.3 ± 0.1
CD8 ⁺ CD95 ⁺	19.4 ± 10.1	0.1 ± 0.1	22.1 ± 10.8	0.1 ± 0.1	21.2 ± 7.2	0.1 ± 0.1
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.5 ± 0.5		1.2 ± 0.3^a		1.3 ± 0.4	

^a $P < 0.05$ vs 正常人; ^c $P < 0.05$ vs 慢性乙肝.

性乙肝患者中, HBeAg 阳性者 20 例, 阴性者 7 例; 根据患者 HBVDNA 复制水平的高低, 将患者分为高复制水平组 (15 例, HBVDNA = 10^9 copies/L) 和低水平复制组 (12 例, HBVDNA < 10^9 copies/L). 将各 T 细胞亚群, CD4/CD8 比值与 HBeAg 阳性或者阴性之间进行 χ^2 检验, 没有发现统计学意义. 与 HBVDNA 的水平相比较, 也没有统计学意义. 在高复制组患者, 将 HBVDNA 水平的高低与各亚群和 CD4/CD8 比值进行相关性比较, 也没有统计学意义.

3 讨论

最新的免疫学将 T 淋巴细胞亚群分为: CD4 细胞 (CD3⁺CD4⁺), CD8 细胞 (CD3⁺CD8⁺), CD4 纯真细胞亚群 (CD4⁺CD45RA⁺), CD4 记忆亚群 (CD4⁺CD45RO⁺), CD4 功能亚群 (CD4⁺CD28⁺), CD4 激活亚群 (CD4⁺HLA-DR⁺, CD4⁺CD25⁺), CD4 凋亡亚群 (CD4⁺CD95⁺), CD8 功能亚群 (CD8⁺CD28⁺), CD8 激活亚群 (CD8⁺HLA-DR⁺, CD8⁺CD38⁺), CD8 凋亡亚群 (CD8⁺CD95⁺). 在巨细胞病毒 (CMV) [8], 单纯疱疹病毒感染 (HSV-1) [9] 和爱滋病毒 (HIV) [10] 感染中, 都可以检测到激活, 记忆和细胞毒性 T 细胞亚群. 国外资料表明, CD4 纯真细胞亚群和表达 CD28⁺ 分子的 CD4 和 CD8 细胞亚群减少的个体容易发生机会性感染, 在抗 HIV 感染的鸡尾酒治疗中, 这些亚群的变化已经作为判断疗效的重要指标 [11]. 在慢性乙肝患者的外周血中有 HBVDNA, HBsAg, HBeAg 等

抗原存在, 这就必然在该部位发生一定形式的抗原提呈和免疫激活, 因此我们用 14 组不同的 T 细胞亚群抗体研究了正常人, 急性乙肝和慢性乙型肝炎患者的外周血中淋巴细胞的表型变化发现, 患者 T 细胞亚群的变化主要表现在 CD8 细胞的功能亚群 CD8⁺CD28⁺ T 细胞和激活亚群 CD8⁺CD38⁺ T 细胞上, 急性乙肝患者的 CD4/CD8 也有一定意义的变化. 急性乙肝患者外周血 CD8⁺CD28⁺ 细胞呈现明显的升高, 而慢性乙肝与正常人相比, 绝对数还有轻度下降, 尽管这种下降没有明显的统计学意义. 体外的实验研究证明, CD28 是 T 细胞正常激活所必须的第二信号, 与 IL-2 分子的产生密切相关. 不表达 CD28 分子的 CD4 和 CD8 细胞接受抗原刺激后, 无法正常激活, 往往处于正常无应答状态, 或者发生细胞凋亡 [12]. 因此提示慢性肝炎患者 CD8⁺CD28⁺ 的 T 细胞可能有异常, 已经有人通过激活慢性乙肝患者的 CD28 受体来刺激体外的淋巴细胞增生, 力争使乙肝的免疫治疗达到一个新的高度. CD8⁺CD38⁺ T 细胞与病毒感染的免疫反应有关, 在 HIV 感染中, 可以观察到 CD8⁺CD38⁺ T 细胞的升高 [13-15], 因此, 急性乙肝和慢性乙肝患者外周血的这类细胞的升高可能与乙肝病毒的感染有关. 在我们所研究的急性乙肝患者中, CD3⁺CD8⁺ T 细胞有轻度的升高, 而 CD4 没有明显的改变, 所以, 这些急性肝炎患者 CD4/CD8 的下降与正常人相比, 有明显的下降, 提示 CD4/CD8 细胞与乙肝病毒的清除有一定的关系. 杨斌 *et al* [16] 对

于HBV感染患儿外周血T淋巴细胞亚群研究发现:与正常儿童相比,慢性乙肝患儿也主要是CD8⁺ T淋巴细胞的异常,其中CD8⁺CD28⁺T, CD8⁺CD38⁺T有明显升高,但是患儿CD8⁺CD95⁺T也有明显升高,所以成人和儿童HBV感染患者的外周血免疫有一定的差异。

国外Sing *et al*对于处于免疫清除期的不同阶段的慢性乙肝患者的外周血的某些T淋巴细胞亚群进行了研究^[17],发现不同阶段的乙肝患者的CD45RA, CD45RO, CD38, HLA-DR或者CD57没有变化,而 $\alpha\beta$ CD4细胞有轻度的下降。但是该作者没有与正常人和急性乙肝相比,而且研究的病例数较少实际上,在慢性乙肝中,CD8⁺细胞所起的作用是控制病毒的复制,而且可能在决定是否能清除病毒的过程中起到关键的作用。我们对于外周血CD8⁺的T细胞的组成进行的研究也发现CD8⁺CD28⁺T细胞,CD4/CD8所起的关键作用证实了这一点。Shimada *et al*^[18]使用HLA-A2-HBc18-27 tetramer研究了慢性乙肝患者的外周血HBc18-27-特异性的CD8⁺T细胞发现:患者肝脏组织中的这些细胞的数量是18-1.28%,主要表达CCR和HLADR标志,而外周血中这些细胞的数量仅仅是0.02%。如果能获得肝组织内的T淋巴细胞,结合功能研究,对于阐述慢性乙肝的发病机制和治疗可能会有积极意义。

总之,某些T细胞亚群,如CD8⁺CD28⁺T和CD8⁺CD38⁺T细胞,如果在乙肝体内激活与否可能决定乙肝的转归。在免疫治疗中,激活这些细胞可能是治疗慢性乙肝的一个有效途径。

4 参考文献

- 1 Chisari FV, Ferrari C. Hepatitis B virus immunopathology. *Springer Semin Immunopathol* 1995;17:261-281
- 2 Bertolotti A, Ferrari C, Fiaccadori F, Penna A, Margolske R, Schlicht HJ, Fowler P, Guilhot S, Chisari FV. HLA class I-restricted human cytotoxic T cells recognize endogenously synthesized hepatitis B virus nucleocapsid antigen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1991;88:10445-10449
- 3 Nayersina R, Fowler P, Guilhot S, Missale G, Cerny A, Schlicht HJ, Vitiello A, Chesnut R, Person JL, Redeker AG. HLA A2 restricted cytotoxic T lymphocyte responses to multiple hepatitis B surface antigen epitopes during hepatitis B virus infection. *J Immunol* 1993;150:4659-4671
- 4 Rehmann B, Fowler P, Sidney J, Person J, Redeker A, Brown M, Moss B, Sette A, Chisari FV. The cytotoxic T lymphocyte response to multiple hepatitis B virus polymerase epitopes during and after acute viral hepatitis. *J Exp Med* 1995;181:1047-1058
- 5 Chu CM, Liaw YF. Peripheral T-cell subsets in asymptomatic hepatitis B-virus carriers. *Cell Immunol* 1986;98:533-537
- 6 Alexander GJ, Mondelli M, Naumov NV, Nouriaria KT, Vergani D, Lowe D, Eddleston AL, Williams R. Functional characterization of peripheral blood lymphocytes in chronic HBsAg carriers. *Clin Exp Immunol* 1986;63:498-507
- 7 Regenstein FG, Roodman ST, Perrillo RP. Immunoregulatory T cell subsets in chronic hepatitis B virus infection:the influence of homosexuality. *Hepatology* 1983;3:951-954
- 8 Wang EC, Taylor-Wiedeman J, Perera P, Fisher J, Borysiewicz LK. Subsets of CD8⁺, CD57⁺ cells in normal, healthy individuals:correlations with human cytomegalovirus (HCMV) carrier status, phenotypic and functional analyses. *Clin Exp Immunol* 1993;94:297-305
- 9 Yamamoto T, Osaki T, Yoneda K, Ueta E. Immunological investigation of adult patients with primary herpes simplex virus-1 infection. *J Oral Pathol Med* 1993;22:263-267
- 10 Levacher M, Hulstaert F, Tallet S, Ullery S, Pocidalo JJ, Bach BA. The significance of activation markers on CD8 lymphocytes in human immunodeficiency syndrome:staging and prognostic value. *Clin Exp Immunol* 1992;90:376-382
- 11 Autran B, Carcelain G, Li TS, Blanc C, Mathez D, Tubiana R, Katlama C, Debre P, Leibowitch J. Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4⁺ T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science* 1997;277:112-116
- 12 June CH, Bluestone JA, Nadler LM, Thompson CB. The B7 and CD28 receptor families. *Immunol Today* 1994;15:321-331
- 13 Landay A, Ohlsson-Wilhelm B, Giorgi JV. Application of flow cytometry to the study of HIV infection. *AIDS* 1990;4:479-497
- 14 Salazar-Gonzalez JF, Moody DJ, Giorgi JV, Martinez-Maza O, Mitsuyasu RT, Fahey JL. Reduced ecto-5'-nucleotidase activity and enhanced OKT10 and HLA-DR expression on CD8 (T suppressor/cytotoxic) lymphocytes in the acquired immune deficiency syndrome:evidence of CD8 cell immaturity. *J Immunol* 1985;135:1778-1785
- 15 Sing G, Butterworth L, Chen X, Bryant A, Cooksley G. Composition of peripheral blood lymphocyte populations during different stages of chronic infection with hepatitis B virus. *J Viral Hepat* 1998;5:83-93
- 16 杨斌, 张鸿飞, 范振平, 王福生. HBV感染患儿外周血T淋巴细胞亚群检测的分析与临床意义. *世界华人消化杂志* 2004;12:1295-1298
- 17 Rehmann B. Intrahepatic T cells in hepatitis B:viral control versus liver cell injury. *J Exp Med* 2000;191:1263-1268
- 18 Shimada N, Yamamoto K, Kuroda MJ, Terada R, Hakoda T, Shimomura H, Hata H, Nakayama E, Shiratori Y. HBcAg-specific CD8 T cells play an important role in virus suppression, and acute flare-up is associated with the expansion of activated memory T cells. *J Clin Immunol* 2003;23:223-232

编辑 潘伯荣 审读 张海宁