

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.19.007

文章编号: 1005-8982 (2019) 19-0043-05

HBV 相关性肝病患者外周血 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平检测及意义

喻雪琴¹, 张诗琬¹, 陈芳¹, 陈星¹, 戢敏¹, 梅怡晗², 梅小平¹

(1. 川北医学院附属医院 感染科, 四川 南充 637000; 2. 首都医科大学, 北京 100069)

摘要: **目的** 分析乙型肝炎病毒 (HBV) 感染后相关肝病患者外周血单个核细胞 (PBMCs) 表面 T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3 (Tim-3)、程序性死亡受体-1 (PD-1) 表达水平变化及意义。 **方法** 选取 2017 年 1 ~ 12 月川北医学院附属医院 HBV 携带者 20 例, 慢性乙型肝炎 (CHB) 患者 30 例, 重型乙型肝炎患者 20 例, 乙肝肝硬化患者 30 例, 肝细胞癌患者 20 例, 以同期 20 例健康体检者作为健康对照组。检测各研究对象外周血 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平。 **结果** PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平在健康对照组最低, 与 HBV 携带组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 随着病情加重, PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平逐渐升高, 在重型乙型肝炎组、肝细胞癌组最高, 各组患者 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平与健康对照组、HBV 携带者组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); HBV 感染患者 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平与 HBV DNA 载量呈负相关 ($r = -0.431$ 和 -0.422 , 均 $P < 0.05$), 与 ALT、AST 水平呈正相关 ($r = 0.214$ 、 0.325 、 0.234 和 0.354 , 均 $P < 0.05$); HBV 感染患者总体 PBMCs 表面 Tim-3 的表达水平与 PD-1 表达量呈正相关 ($r = 0.967$, $P < 0.05$)。 **结论** 免疫负性调节因子 Tim-3、PD-1 与 HBV 相关性肝病患者肝组织炎症及纤维化发生相关, 对 Tim-3、PD-1 水平调节可能为其临床免疫治疗提供新思路。

关键词: 肝疾病; 肝炎病毒, 乙型; 外周血单个核细胞; T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3; 程序性死亡受体-1

中图分类号: R657.3

文献标识码: A

Detection and significance of Tim-3 and PD-1 expression levels on the surface of PBMCs in peripheral blood of patients with HBV-related liver diseases

Xue-qin Yu¹, Shi-wan Zhang¹, Fang Chen¹, Xing Chen¹, Min Ji¹, Yi-han Mei², Xiao-ping Mei¹
(1. Department of Infectious Disease, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong, Sichuan 637000, China; 2. Capital Medical University, Beijing 100069, China)

Abstract: **Objective** To analyze change and meaning of T cell immune globulin sticky protein molecules -3 (T cell immunoglobulin mucin molecule-3, Tim-3) and procedural death receptor-1 (programmed cell death protein-1, PD-1) on the surface of peripheral blood mononuclear cells (Human peripheral blood mononuclear cells, PBMCs) in patients with hepatitis B virus (hepatitis B virus, HBV) related liver disease. **Methods** From January 2017 to December 2017, 20 hepatitis B virus carriers, 30 chronic hepatitis B patients, 20 severe hepatitis B patients, 30 hepatitis B cirrhosis patients and 20 hepatitis B liver cancer patients were compared with 20 healthy subjects selected as the healthy control group, and the levels of Tim-3 and PD-1 on the surface of PBMCs in the peripheral blood of all subjects were tested. **Results** Levels of Tim-3 and PD-1 on PBMCs surface were the lowest in healthy control

收稿日期: 2019-03-18

[通信作者] 梅小平, E-mail: 1124377569@qq.com

group, compared with those in hepatitis B virus carriers group, and the difference had no statistical significance ($P > 0.05$). As the aggravating of illness, the levels of Tim-3 and PD-1 on PBMCs surface increased, which was the highest in severe hepatitis B group and hepatitis B liver cancer group. The difference among the levels of Tim-3 and PD-1 on PBMCs surface in other groups were statistically significant, compared with those in healthy group and hepatitis B virus carrier group ($P < 0.05$); the expression levels of Tim-3 and PD-1 on the PBMCs surface of patients with HBV infection were negatively correlated with the DNA load of HBV ($r = -0.431, -0.422, P < 0.05$), and positively correlated with ALT and AST levels ($r = 0.214, 0.325, 0.234$ and $0.354, P < 0.05$); there was a significant positive correlation between the expression level of Tim-3 and PD-1 on the PBMCs surface of HBV infection patients ($r = 0.967, P < 0.05$). **Conclusions** The negative immune regulatory factors Tim-3 and PD-1 are key factors for the occurrence of liver inflammation and fibrosis in HBV-related liver diseases, and the regulation of Tim-3 and PD-1 level may provide a new idea for clinical immunotherapy.

Keywords: liver diseases; hepatitis B virus; peripheral blood mononuclear cells; T cell immunoglobulin mucin molecule-3; programmed cell death 1 receptor

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 感染是我国目前面临的重大公共卫生问题之一, HBV 感染后可形成急性乙型肝炎, 部分急性肝炎会形成慢性乙型肝炎 (chronic hepatitis B, CHB), 甚至可发展为肝衰竭、肝硬化及原发性肝癌。我国年均约有 50 万人死于 HBV 感染所致肝病^[1]。研究结果显示, HBV 是通过诱导机体发生一系列免疫反应来介导肝组织炎症反应、肝纤维组织形成及肝细胞癌的发生^[2]。目前, T 细胞免疫球蛋白黏蛋白分子-3 (T cell immunoglobulin-and mucin-domain-containing molecule-3, Tim-3) 和程序性死亡受体-1 (programmed cell death protein 1, PD-1) 在免疫细胞表面的广泛表达成为对 HBV 相关性肝病研究的热点之一。PD-1 有 2 个配体, 即 PD-L1 和 PD-L2。PD-1 可广泛表达于活化的 T 淋巴细胞、单核细胞、DC 等细胞表面, 但在 NK 细胞表面一般不表达或低水平表达。研究结果显示^[3], PD-1 在病毒感染、免疫性疾病及肿瘤免疫逃逸中发挥调控作用, PD-1 在与其配体结合后可降低 T 淋巴细胞表面受体介导的抗原信号强度, 进而发挥免疫负性调控作用。PD-1 通过调控免疫应答来调控过度、持久的免疫反应, 进而减轻机体组织的免疫损伤, 但这种免疫抑制作用可衰竭 CD8⁺T 细胞的数量与功能, 造成机体对病原体的清除能力下降和病原体的持续表达^[4]。研究表明, Tim 基因共有 8 个, 编码 4 种蛋白, 在人类编码 3 种蛋白 Tim-1、Tim-3 和 Tim-4 中, Tim-3 是一种适应性免疫负性调节因子, 广泛表达于活化的 T 淋巴细胞、单核细胞及 NK 细胞, 通过与 Tim-3 配体结合参与免疫反应的调控作用^[5]。Tim-3 在 T 淋巴细胞表面表达失衡与 HBV 感染者自身免疫功能紊乱等关系密切^[6]。为此, 本研究通过检测 HBV 相关性肝病患者外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear

cells, PBMCs) 表面 Tim-3、PD-1 表达水平来探讨 Tim-3、PD-1 在其发生、发展过程中的相关性, 为 HBV 相关性肝病临床免疫治疗提供一定理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2017 年 1 ~ 12 月川北医学院附属医院 HBV 相关性肝病患者 120 例为观察组。诊断标准参照 2015 年中华医学会肝病学会制定的慢性乙型肝炎防治指南^[7]。观察组中, HBV 携带者 20 例 (HBV 携带组)。其中, 男性 12 例, 女性 8 例; 年龄 18 ~ 66 岁, 平均 (38.122 ± 15.607) 岁。CHB 患者 30 例 (CHB 组)。其中, 男性 25 例, 女性 5 例; 年龄 18 ~ 68 岁, 平均 (39.260 ± 14.981) 岁。重型乙型肝炎患者 20 例 (重型乙型肝炎组)。其中, 男性 13 例, 女性 7 例; 年龄 18 ~ 60 岁, 平均 (37.766 ± 15.450) 岁。乙肝肝硬化患者 30 例 (乙肝肝硬化组)。其中, 男性 19 例, 女性 11 例; 年龄 18 ~ 61 岁, 平均 (38.981 ± 15.232) 岁。肝细胞癌患者 20 例 (肝细胞癌组)。其中, 男性 14 例, 女性 6 例; 年龄 18 ~ 67 岁, 平均 (39.975 ± 14.550) 岁。以该院同期的 20 例 HBsAg (-) 健康体检者为健康对照组。其中, 男性 12 例, 女性 8 例; 年龄 18 ~ 64 岁, 平均 (37.980 ± 14.418) 岁。观察组与健康对照组在年龄、性别构成比等方面差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 纳入与排除标准

纳入标准: ①患者需知情同意; ② HBV 感染后肝病诊断需符合中华医学会制定的 2015 年版的慢性乙型肝炎防治指南标准; ③入院时未接受免疫调节与抗病毒治疗。排除标准: ①合并其他嗜肝病毒感染及其他原因所致的肝组织炎症; ②合并其他疾病。

1.3 仪器与试剂

ADVIA 2400 型全自动生化分析仪购自美国 Beckman-Coulter 公司, BIO-Rad 实时荧光定量 PCR 仪购自美国 Bio-Rad 公司, FACS Calibur 流式细胞仪购自美国 Becton Dickinson 公司。HBV 感染标志物试剂盒购自美国雅培公司, PBS 溶液购自美国 Hyclone 公司, 多聚甲醛试剂盒购自美国 Sigma 公司, PD-1 试剂盒购自美国 eBioscience 公司, 鼠抗人 Tim-3-PE 荧光素标记单克隆抗体购自美国 BioLegend 公司, 肝功能检测试剂盒购自上海蓝怡科技有限公司。

1.4 检测方法

1.4.1 PBMCs 分离 采用 Ficol-Hypaque 密度离心法分离 PBMCs, 取有肝素钠抗凝采血管采集患者空腹全血并离心后去血浆, 然后用 PBS 稀释一倍, 加至淋巴细胞分离液上层, 2 500 r/min 离心 25 min, 取中间白膜层 (单核细胞和淋巴细胞富集层), PBS 再洗涤 2 次可获取 PBMCs。

1.4.2 PBMCs 表面 PD-1 表达水平检测 取 3 MIU PBMCs 加入 40 μ l FcR Blocking Reagent, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 20 min, 以流式洗液洗涤细胞 1 次, 加入 lin 1-FITC、HLA-DR-perCP、CD11c-APC、PD-L1-PE 或其相应的同型流式着色, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 20 min, 用流式洗液洗涤细胞 1 次, 用 1% 的多聚甲醛溶液固定, mDCs 表面特征性标志为 CD11c high HLA-DR lin-1。

1.4.3 PBMCs 表面 Tim-3 表达水平检测 取 3 MIU PBMCs 加入流式 CD16、CD56 和 Tim-3 以及单标和同型对照标志物, 取 4% 多聚甲醛溶液 500 μ l 固定后上机检测。

1.4.4 HBV 感染标志物及肝功能检测 HBV 感染标志物的检测采用化学发光法; 实时荧光定量 PCR 检测血清 HBV DNA 水平; 采用 ADVIA 2400 全自动生化分析仪检测肝功能指标。

1.5 统计学方法

数据分析采用 SPSS 22.0 统计软件。计量资料以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用方差分析, 进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验; 计数资料以例表示, 比较采用 χ^2 检验; 采用 Pearson 分析 PD-1、Tim-3 与其他指标间的关系, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平比较

健康对照组外周血 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1

表达水平最低, 与 HBV 携带组比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 随着病情加重, 其 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平逐渐升高, 在重型乙型肝炎组、肝细胞癌组中最高, 各 HBV 相关性肝病患者组 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平与健康对照组、HBV 携带组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

2.2 HBV 相关性肝病患者 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平与 HBV DNA 载量、ALT、AST 表达水平的相关性分析

HBV 相关性肝病患者 PBMCs 表面 Tim-3 表达水平与 HBV DNA 载量呈负相关 ($P < 0.05$), 与 ALT、AST 水平均呈正相关 ($P < 0.05$); HBV 相关性肝病患者 PBMCs 表面 PD-1 表达水平与 HBV DNA 载量呈负相关 ($P < 0.05$), 与 ALT、AST 水平呈正相关 ($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 各组 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平的相关性分析

HBV 相关性肝病患者总体 PBMCs 表面 Tim-3 的表达水平与 PD-1 表达水平呈正相关 ($r = 0.967$, $P = 0.000$)。重型乙型肝炎、CHB、乙型肝炎肝硬化患者

表 1 各组 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平比较 (ng/ml, $\bar{x} \pm s$)

组别	n	Tim-3	PD-1
健康对照组	20	1.675 \pm 0.488	8.330 \pm 0.965
HBV 携带组	20	1.735 \pm 0.442	8.360 \pm 4.102
CHB 组	30	6.907 \pm 0.645 [†]	44.460 \pm 5.995 [†]
乙型肝炎肝硬化组	30	8.890 \pm 1.189 [†]	59.267 \pm 7.422 [†]
重型乙型肝炎组	20	11.410 \pm 3.037 [†]	68.335 \pm 5.724 [†]
肝细胞癌组	20	11.210 \pm 1.998 [†]	68.340 \pm 9.147 [†]
F 值		649.651	1 617.655
P 值		0.000	0.000

注: [†] 与健康对照组、HBV 携带组比较, $P < 0.05$ 。

表 2 HBV 相关性肝病患者 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平与 HBV DNA 载量、ALT、AST 表达水平的相关性分析

项目	Tim-3		PD-1	
	r 值	P 值	r 值	P 值
HBV DNA	-0.413	0.000	-0.422	0.000
ALT	0.214	0.011	0.234	0.005
AST	0.325	0.000	0.354	0.000

PBMCs 表面 Tim-3 表达水平与 PD-1 表达水平差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

表 3 各组 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平的相关性分析

Tim-3	PD-1	
	r 值	P 值
健康对照组	-0.140	0.557
HBV 携带组	0.437	0.054
重型乙型肝炎组	-0.050	0.985
肝细胞癌组	0.015	0.950
乙型肝炎肝硬化组	-0.050	0.794
CHB 组	-0.046	0.811

3 讨论

HBV 相关性肝病患者存在特异性免疫功能紊乱或处于免疫耐受状态, 导致机体不能及时清除 HBV 而发生感染慢性化, 激活的特异性淋巴细胞才能清除 HBV, 树突状细胞的抗原呈递作用是激发免疫反应发生的重要环节^[8-9]。HBV 相关性肝病患者的发病主要通过肝细胞的免疫损伤来完成, 机体免疫调节主要通过 T 淋巴细胞亚群、B 淋巴细胞等及其分泌的细胞因子来实现, 而 CD4⁺T 淋巴细胞和 CD8⁺T 淋巴细胞数量和功能改变影响着 HBV 相关性肝病患者机体的免疫应答能力。研究结果显示^[8], T 淋巴细胞表面存在双信号通路, 在受到 HBV 等信号刺激后被激活: ① T 细胞识别树突状细胞的 MHC 及 MHC 结合的抗原肽产生第一信号; ② T 细胞的受体 CD28 与树突状细胞上的 B7 结合产生第二信号, 即共刺激信号, 是 T 细胞抗原特异性激活的关键信号通路。在多共刺激信号通路中, 负向协同的共刺激分子 PD-1 在与其相应配体结合后, 抑制 T 细胞增殖、活化与分化。Tim-3 在 HBV 感染后的 HBV 相关性肝病患者中发挥着对免疫功能负向调控作用, Tim-3 与半乳糖凝素-9 结合, 为 T 淋巴细胞提供负性共刺激信号受体与信号通路, 介导 Th1 细胞凋亡或抑制 Th1 细胞活性, 从而降低促炎因子产生, 同时通过对 Th17 细胞的抑制达到调控适应性炎症反应^[6]。

本研究结果显示, HBV 相关性肝病患者 PBMCs 表面 Tim-3 的表达水平与 HBV DNA 载量呈负相关, 与 ALT、AST 表达水平呈正相关, HBV 相关性肝病

患者 PBMCs 表面 PD-1 的表达水平与 HBV DNA 载量呈负相关, 与 ALT、AST 表达水平均呈正相关。与王琳等^[1]研究结果相似。安仲武等^[10]的研究结果中显示, 在 ALT>2×ULN, Tim-3 表达水平升高, 提示机体免疫细胞分泌的促炎因子可能处于较高的表达水平, PBMCs 诱导分泌的促炎因子 Tim-3、PD-1 的表达水平也增加, 表明 Tim-3、PD-1 参与诱导、促进 HBV 相关性肝病患者炎症反应过程所致的肝细胞损伤。

本研究资料结果显示, 健康对照组外周血 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平最低, 与 HBV 携带组比较差异无统计学意义, 随着病情加重, 其 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平逐渐升高, 在重型乙型肝炎组、肝细胞癌组水平最高, 各 HBV 相关性肝病患者组 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平与健康对照组、HBV 携带组比较差异有统计学意义。表明 Tim-3、PD-1 高表达与机体感染 HBV 后的炎症和纤维化程度相关, 且 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 的表达水平与 HBV 相关性肝病患者病情程度呈正相关, 提示 Tim-3、PD-1 参与肝组织炎症的发生、发展过程, 表明 CHB 患者外周单核细胞 Tim-3 上调可能参与 HBV 感染慢性化过程, 可为 HBV 感染患者的免疫治疗提供一定理论基础, 这与其他学者研究结果相似^[11]。NEBBIA 等^[12]实验结果提示, 阻断 PD-1 通路可减轻肝组织炎症程度和阻止肝组织肝纤维化的发生, 在阻断 Tim-3/天然配体半乳糖凝素-9 通路后, 可对增强 HBV 特异性 T 淋巴细胞免疫应答反应起到明显调控作用, 表明 Tim-3、PD-1 两条信号通路对机体的免疫抑制具有协同作用。本研究发现, HBV 相关性肝病患者 PBMCs 表面 Tim-3 与 PD-1 表达水平呈正相关, 提示负性共刺激因子 Tim-3 和负向的协同共刺激分子 PD-1 间具有高度的协同性, 可相互协同促进、参与 HBV 感染后相关性肝病患者体内的炎症反应的发生与免疫逃逸过程, 同时增强机体的免疫耐受能力。

本研究发现, HBV 相关性肝病患者 PBMCs 表面 Tim-3 表达水平与 HBV DNA 载量呈负相关, PD-1 表达水平与 HBV DNA 载量也呈负相关。这与赵小瑜等^[11]研究结果相似, 提示 CHB 患者 Tim-3 表达水平与 HBV DNA 载量呈负相关, PD-1 的表达水平与血清 HBV DNA 载量呈负相关, 但差异无统计学意义。NEBBIA^[12]在对 18 例接受抗乙型肝炎病毒治疗的 CHB 患者研究发现, PD-1 表达水平与 HBV DNA 载量呈正相关, 在抗病毒治疗后患者外周血 PD-1 水平下降明显。同时 PENG

等^[13]研究发现, CHB 患者 HBV 特异性 CD8⁺T 淋巴细胞表面 PD-1 水平与 HBV DNA 载量呈正相关。本研究结果提示, HBV 相关性肝病患者外周血 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平高低与 HBV DNA 载量呈负相关, 表明 Tim-3、PD-1 表达水平可能会影响 HBV DNA 的复制, 笔者认为, 通过调节 Tim-3、PD-1 表达水平可能会对 HBV 相关性肝病患者肝组织的炎症程度有一定调控作用, 甚至也可能对 HBV DNA 水平或肝组织纤维化发生有一定调控作用。

综上所述, HBV 相关性肝病患者外周血 PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 表达水平具有差异, 其表达水平变化与病情进展关系密切, PBMCs 表面 Tim-3、PD-1 高表达可能会降低免疫细胞的免疫状态, 诱发免疫耐受, 从而使病情呈慢性化发展, 在干预 Tim-3、PD-1 作用靶点后的肝组织炎症与纤维化程度改变如何, 尚需进一步研究证实, 这为 HBV 相关性肝病患者临床免疫治疗提供了一种新思路。

参 考 文 献:

- [1] 王琳, 赵春楠, 祁松楠, 等. HBV 慢性感染患者外周血 CD8⁺T 细胞程序性死亡受体-1 和黏蛋白结构域-3 的表达及意义[J]. 广东医学, 2014, 35(7): 1045-1047.
- [2] 赵小瑜, 朱坚胜. Tim-3, PD-1 在慢性 HBV 感染中的免疫调节作用[J]. 浙江医学, 2017, 39(1): 65-68.
- [3] 万和荷, 刘丽丽, 侯勇, 等. PD-1/PD-L1 信号通路与慢性乙型肝炎[J]. 实用肝脏病杂志, 2014, 17(6): 661-664.
- [4] 周长彬, 李智伟. PD-1/PD-L1 信号通路在乙型病毒性肝炎免疫调节作用的研究进展[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(26): 2752-2759.
- [5] 高夕阳, 李撝, 潘修成, 等. 慢性乙型肝炎患者外周血单核细胞 Tim-3 表达的检测及意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(7): 739-743.
- [6] 唐映梅, 徐加敏. Tim-3 在肝脏疾病中的调节作用[J]. 世界华人消化杂志, 2017, 25(23): 2080-2087.
- [7] 中华医学会肝病学会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎防治指南(2015 年版)[J]. 实用肝脏病杂志, 2016, 19(3): 389.
- [8] 彭国平, 孙雯, 孙箴, 等. HBV 感染患者外周血 T 细胞 PD-1 基因表达水平的变化与意义[J]. 浙江大学学报(医学版), 2007, 36(6): 554-560.
- [9] 彭建平, 孙克伟, 伍玉南, 等. 慢性乙型肝炎患者树突状细胞诱导的 HBV 特异性细胞毒性 T 淋巴细胞 PD-1 的表达[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(12): 926-929.
- [10] 安仲武, 王波, 戴善梅, 等. 不同状态的乙肝病毒感染者血清 Tim-3 水平与疾病进展关系研究[J]. 中国实验诊断学, 2017, 21(11): 1901-1903.
- [11] 赵小瑜, 周妮, 汤永志, 等. HBV 相关肝病患者外周血 NK 细胞 PD-1, Tim-3 表达及意义[J]. 医学研究杂志, 2017, 46(5): 51-59.
- [12] NEBBIA G, PEPPA D, SCHURICH A, et al. Upregulation of the Tim-3/galectin-9 pathway of T cell exhaustion in chronic hepatitis B virus infection[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47648.
- [13] PENG G, LI S, WU W, et al. PD-1 Upregulation is associated with HBV-specific T cell dysfunction in chronic hepatitis B patients[J]. Mol Immunol, 2008, 45(4): 963-970.

(张西倩 编辑)