

基础研究

DOI:10.3969/j.issn.0253-3626.2012.04.006

类风湿关节炎患者外周血 $TCR\alpha\beta^+$ $CD4^-CD8^-$ T 细胞与 FAS 介导的凋亡关系研究

王红霞¹, 裴宇容¹, 包杰¹, 李娟², 赖伟男²

(南方医科大学南方医院 1. 临床检验中心; 2. 风湿免疫科, 广州 510515)

【摘要】目的: 检测类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 患者外周血中 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^-CD8^-$ 细胞、 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞 (Double negative T cells, DNT 细胞) 及各细胞亚群表面凋亡相关蛋白 FAS 的表达情况, 探讨 RA 患者 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞与 FAS 介导的凋亡之间的关系。方法: 选取 24 例 RA 患者以及 24 例同期健康查体者作为研究对象, 检测所有研究对象外周血 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^-CD8^-$ 细胞、 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞的数量及表面凋亡相关蛋白 FAS 的表达情况, 并分析以上指标与类风湿因子 (Rheumatoid factors, RF)、白细胞数 (White blood cell, WBC)、急性时相反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 以及血沉 (Erythrocyte sedimentation rate, ESR) 之间的相关性。结果: RA 患者外周血 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^-CD8^-$ 细胞与健康对照相似, $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞数量显著高于健康对照 (0.82 ± 0.38 vs. 0.57 ± 0.26 , $P = 0.013$), $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞表面的 FAS 的表达增高 (1.23 ± 0.69 vs. 0.80 ± 0.45 , $P = 0.016$), 并与 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞数量呈显著正相关关系 ($r = 0.809$, $P = 0.000$); $TCR\alpha\beta^+$ 细胞及其表面表达的 FAS 受体、 $CD4^-CD8^-$ 细胞及其表面表达的 FAS 受体、 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞及其表面表达的 FAS 受体与 RF、WBC、CRP 以及 ESR 之间均无相关性 ($P > 0.05$)。结论: RA 患者外周血中 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞及其表面表达的 FAS 受体显著增加, 表明 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞对 FAS 介导的凋亡敏感性增加, 可能会导致免疫反应性 T 细胞的比例失调。RA 患者中 $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞及其表面表达的 FAS 受体与疾病活动性指标之间无相关关系, $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞及其表面表达的 FAS 受体在 RA 患者的发病机制中的作用还有待于进一步探讨。

【关键词】类风湿性关节炎; $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T 细胞; FAS; 细胞凋亡

【中国图书分类法分类号】R593.22

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-11-11

Relationship between peripheral $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T cells and FAS-mediated apoptosis in patients with rheumatoid arthritis

WANG Hongxia¹, QIU Yurong¹, BAO Jie¹, LI Juan², LAI Weinan²

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Rheumatism, Nanfang Hospital, Southern Medical University)

【Abstract】*Objective:* To investigate the expression of FAS receptor on idiosyncratic T cell subsets, including $TCR\alpha\beta^+$ cells, $CD4^-CD8^-$ cells and $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T cells, and to discuss the relationship between FAS-mediated apoptosis and peripheral $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T cells in patients with rheumatoid arthritis (RA). *Methods:* Totally 24 RA patients and 24 normal controls were included. Flow cytometry was used to detect the percentages of T cell subsets and the expression of FAS receptor. The relationships between the percentages of T cell subsets and the expression of FAS receptor with RF, WBC, CRP and ESR were analyzed respectively by spearman relativity analysis. *Results:* The percentages of peripheral $TCR\alpha\beta^+$ cells and $CD4^-CD8^-$ cells from RA patients were similar to those in normal controls ($P > 0.05$). Strikingly higher levels of $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T cells in the peripheral blood of RA patients were detected compared with those in normal controls (0.82 ± 0.38 vs. 0.57 ± 0.26 , $P = 0.013$). The expressions of FAS receptor on $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T cells were significantly increased in RA patients compared with those in normal controls (1.23 ± 0.69 vs. 0.80 ± 0.45 , $P = 0.016$). Positively relationship was found between $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T cells and $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ FAS⁺ cells ($r = 0.809$, $P = 0.000$). There was no significant relationship between the percentages of $TCR\alpha\beta^+CD4^-CD8^-$ T cells, the level of FAS receptor expression and RF, WBC, CRP or ESR, respectively.

$TCR\alpha\beta^+$ cells as well as $CD4^-CD8^-$ cells had no significant association with RF, WBC, CRP and ESR, respectively. *Conclusion:* The preliminary results suggest that the significantly upregulated percentages of DNT cells and its FAS receptor expression may

作者介绍: 王红霞(1985-), 女, 硕士,

研究方向: 自身免疫性疾病。

通信作者: 裴宇容, 女, 教授, Email: quiyuronggz@126.com。

基金项目: 2011 广东省自然科学基金资助项目(编号:S201101005368)。

increase the sensitivity to FAS-mediated apoptosis. It may lead to the imbalance of immune respective T cells in RA patients. There is no significant relationship between the percentages of $TCR\alpha\beta^+ CD4^- CD8^-$ T cells, FAS receptor and the indicators of disease activity, though the percentages of them are markedly increased in the Chinese RA patients. The role of $TCR\alpha\beta^+ CD4^- CD8^-$ T cells in the pathogenesis of RA patients remains to be further studied.

【Key words】rheumatoid arthritis (RA); $TCR\alpha\beta^+ CD4^- CD8^-$ T cells; FAS; apoptosis

类风湿关节炎 (Rheumatoid arthritis, RA) 是一种以关节损伤为主的慢性自身免疫性疾病。FAS, 又名 CD95 或 APO-1, 是细胞凋亡受体, 与其配体 FASL 共同组成 FAS 系统, 是调节细胞凋亡的重要调节因子。FAS 系统表达异常导致细胞的异常凋亡是类风湿性关节炎的发病机制之一^[1], 探讨 T 细胞的凋亡对于理解 RA 患者关节损害的机制有着重要意义。调节性 T 细胞在自身免疫性疾病中发挥着重要的免疫调节作用, $TCR\alpha\beta^+ CD4^- CD8^-$ T 细胞是一种调节性 T 细胞, 在自身免疫、移植耐受和免疫缺陷性疾病中起着重要作用^[2~4]。目前, 有关 RA 患者外周血中 DNT 细胞与 FAS 介导的凋亡以及疾病活动性指标之间的关系尚未见报道。本研究采用流式细胞术检测 RA 患者外周血 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^- CD8^-$ 细胞、DNT 细胞的数量及其表面 FAS 受体的表达, 探讨 RA 患者外周血中 DNT 细胞与 FAS 介导的凋亡之间的关系, 并进一步探讨 DNT 细胞及其表面 FAS 受体的表达与疾病活动性指标之间的相关性。

1 对象与方法

1.1 对象

1.1.1 RA 患者组 选取 2011 年 6 月至 2012 年 1 月期间南方医科大学南方医院 24 例 RA 确诊患者, 所有入选患者诊断均符合 1997 年美国风湿学会修订的 RA 诊断标准, 排除标准包括原发性心、肝、肾等器质性病变、感染以及其他自身免疫性疾病的 RA 患者。平均年龄为 (44.04 ± 11.00) 岁, 其中男性 1 例, 女性 23 例。

1.1.2 对照组 选取 2011 年 7 月至 2012 年 1 月期间南方医科大学南方医院 24 例健康查体者, 平均年龄为 (36.38 ± 10.52) 岁, 其中男性 1 例, 女性 23 例, 除外感染、原发性心、肝、肾等器质性病变以及自身免疫病史等。

1.2 主要试剂和仪器

Anti-human $TCR\alpha\beta$ -PE, anti-human FAS (CD95)-APC 及相应的同型对照 IgG1-PE, IgG1-APC 均购于德国美天旎公司, anti-human CD4-FITC, anti-human CD8-FITC 以及相应的同型对照 IgG1-FITC 均购于 Beckman Coulter, 溶血剂 (cytolysis) 购于美国 Beckman Coulter 公司, PBS 缓冲液 (美国 Gibco 公司), 多聚甲醛 (PFA) (凯基公司), BD FACS-Calibur 流式细胞仪 (美国 BD 公司)。

1.3 标本收集

分别抽取 RA 患者以及健康对照组静脉血 2 ml, EDTA

抗凝, 4 h 之内完成检测。

1.4 外周血 T 细胞亚群及各细胞亚群表面 FAS 受体的检测

取 anti-human CD4-FITC、anti-human CD8-FITC、anti-human $TCR\alpha\beta$ -PE 以及 anti-human FAS (CD95)-APC 各 10 μ l 分别置于流式管底部, 同时设立同型对照, 分别加入 100 μ l 全血, 轻轻混匀, 4 $^{\circ}$ C 避光孵育 15 min, 每管加溶血剂 500 μ l, 混匀, 室温避光溶血 10 min, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清, 1 ml PBS 洗涤细胞两遍, 离心后弃上清, 500 μ l PBS 重悬细胞, 采用 BD FACS-Calibur 流式细胞仪进行检测, 计数至少 10 万个细胞, 分别检测 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^- CD8^-$ 细胞、DNT 细胞以及各个细胞亚群表面 FAS 受体的表达情况, 以 FSA/SSC 二维散射光设门圈定淋巴细胞群, 利用 Cell Quest 软件 (BD 公司) 进行参数获取和数据分析。

1.5 统计学分析

应用 SPSS13.0 统计学软件进行统计学分析。所有计量资料均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态分布计量资料两样本均数比较采用独立样本 t 检验, 方差不齐采用 t' 检验, 相关分析采用 Pearson 相关进行分析。偏态分布的计量资料两样本均数比较采用 Mann-Whitney U 检验, 相关性采用 Spearman 相关进行分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 RA 患者组及对照组外周血中 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^- CD8^-$ 细胞、DNT 细胞的表达

与对照组相比, RA 患者组的淋巴细胞百分数 (Lym)、 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞以及总的 $CD4^- CD8^-$ 细胞差异无统计学意义 ($P > 0.05$); RA 患者组外周血中 DNT 细胞在淋巴细胞中所占的比例显著高于对照组 (0.82 ± 0.38 vs. 0.57 ± 0.26 , $P = 0.013$) (见表 1)。

表 1 RA 患者组与对照组外周血 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^- CD8^-$ 细胞、DNT 细胞的表达 (% , $\bar{x} \pm s$)

Tab. 1 Expression of $TCR\alpha\beta^+$, $CD4^- CD8^-$ and DNT cells in the peripheral blood of RA patients

and normal controls (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	Lym	$TCR\alpha\beta^+$	$CD4^- CD8^-$	DNT
RA 患者组	30.29 ± 10.07	54.75 ± 16.20	28.48 ± 13.03	$0.82 \pm 0.38^*$
对照组	32.84 ± 6.47	57.92 ± 9.97	29.05 ± 7.52	0.57 ± 0.26
P	0.304	0.206	0.353	0.013

注: *, 与对照组相比 $P < 0.05$

2.2 RA 患者组及对照组外周血中 $TCR\alpha\beta^+$ 细胞、 $CD4^- CD8^-$ 细胞、DNT 细胞表面 FAS 受体的表达

与对照组相比, RA 组 DNT⁺ FAS⁺ 细胞比例显著升高,

(1.23 ± 0.69 vs. 0.80 ± 0.45 , $P = 0.016$) ; RA 患者组外周血 TCR $\alpha\beta^+$ FAS $^+$ 细胞与对照组相比, 差异无统计学意义 (37.58 ± 10.09 vs. 36.95 ± 11.24 , $P = 0.446$) ; CD4 $^-$ CD8 $^-$ FAS $^+$ 细胞比例与对照组相比差异亦无统计学意义 (10.56 ± 6.21 vs. 13.49 ± 4.19 , $P = 0.062$)。RA 患者外周血 DNT 细胞与其表面 FAS 受体的表达之间存在显著地正相关关系 ($r = 0.809$, $P = 0.000$) ; TCR $\alpha\beta^+$ 细胞与其表面 FAS 受体的表达之间无相关关系 ($r = 0.392$, $P = 0.071$) ; CD4 $^-$ CD8 $^-$ 细胞与其表面 FAS 受体的表达之间无相关关系 ($r = 0.053$, $P = 0.806$) (见表 2, 图 1,2)。

表 2 RA 患者组与对照组外周血 TCR $\alpha\beta^+$ 细胞、CD4 $^-$ CD8 $^-$ 细胞、DNT 细胞表面 FAS 的表达(%, $\bar{x} \pm s$)

Tab. 2 Expression of TCR $\alpha\beta^+$ FAS $^+$, CD4 $^-$ CD8 $^-$ FAS $^+$ and DNT $^+$ FAS $^+$ cells in the peripheral blood of RA patients and normal controls(%, $\bar{x} \pm s$)

	TCR $\alpha\beta^+$ FAS $^+$	CD4 $^-$ CD8 $^-$ FAS $^+$	DNT $^+$ FAS $^+$
RA 患者组	37.58 ± 10.95	10.56 ± 6.01	$0.82 \pm 0.38^*$
对照组	36.95 ± 11.24	13.49 ± 4.19	0.57 ± 0.26
P	0.446	0.062	0.016

注: *, 与对照组相比 $P < 0.05$

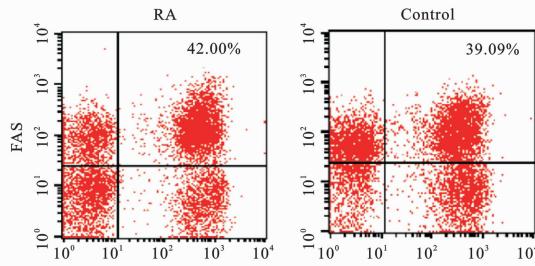


图 1 RA 患者以及对照者外周血 TCR $\alpha\beta^+$ FAS $^+$ 细胞流式分析图

Fig. 1 Expression of TCR $\alpha\beta^+$ FAS $^+$ cells in the peripheral blood of RA patients and normal controls

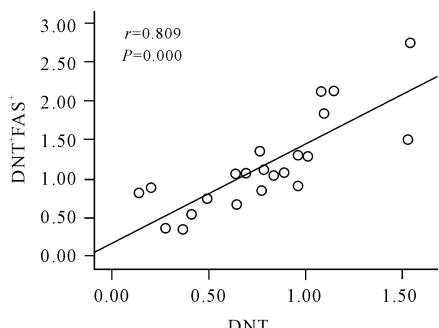


图 2 RA 患者 DNT 细胞与其表面 FAS 受体表达的相关性分析

Fig. 2 Correlation between DNT cells and FAS receptor in RA patients

2.3 RA 患者 TCR $\alpha\beta^+$ 细胞、CD4 $^-$ CD8 $^-$ 细胞和 DNT 细胞表面 FAS 受体的表达与 WBC、CRP、ESR 以及 RF 之间的相关性

RA 患者外周血中 TCR $\alpha\beta^+$ 细胞及其表面表达的 FAS 受体分别与白细胞数 (White blood cell, WBC) 、急性时相反应蛋白 (C-reactive protein, CRP) 、血沉 (Erythrocytesedimentation

rate, ESR) 和类风湿因子 (Rheumatoid factors, RF) 之间无相关关系 ($P > 0.05$) ; CD4 $^-$ CD8 $^-$ 细胞及其表面表达的 FAS 受体分别与 WBC、CRP、ESR 和 RF 之间也没有相关关系 ($P > 0.05$) ; DNT 细胞及其表面表达的 FAS 受体与 WBC、CRP、ESR 和 RF 之间亦无相关关系 ($P > 0.05$)。

3 讨 论

免疫细胞比例失衡在类风湿性关节炎的发病机制中起着重要作用。调节性 T 细胞是一类具有免疫调节作用的功能性 T 细胞, 为今后自身免疫性疾病以及风湿性疾病的生物治疗提供了重要的理论基础^[5]。目前的研究发现调节性 T 细胞具有多种表型, 如 CD69 $^+$ CD4 $^+$ CD25 $^+$ T^[6]、CD4 $^+$ CD25 $^+$ FOXP3 $^+$ T 细胞^[7]、CD4 $^+$ CD25 $^+$ CD127 $^+$ ^[8]、CD4 $^+$ CD25highCD127low/T 细胞^[9]以及 CD4 $^-$ CD8 $^-$ TCR $\alpha\beta^+$ 细胞^[10]等。有报道显示调节性 T 细胞在 RA 以及 SLE 等自身免疫性疾病的免疫调节中起重要作用^[10,11]。

TCR $\alpha\beta^+$ CD4 $^-$ CD8 $^-$ T 细胞是一种调节性 T 细胞, 在正常人和小鼠中仅占外周血 T 淋巴细胞的 1% ~ 3% , 在移植免疫以及自身免疫性疾病中发挥着重要的作用^[12~15]。Crispin 等^[16]的研究发现 DNT 细胞在系统性红斑狼疮患者外周血中显著升高, 在狼疮肾炎患者发病机制中扮演着重要角色。然而, DNT 细胞在 RA 患者中的作用至今尚未明确。有研究报道在 RA 患者的外周血和关节滑液中, TCR $\alpha\beta^+$ CD4 $^-$ CD8 $^-$ 细胞的比例分别为 (0.82 ± 0.68)% 和 (0.81 ± 0.62)%^[17]。本研究结果表明, 与健康对照组相比, DNT 细胞在 RA 患者中显著升高 ($0.82\% \pm 0.38\%$ vs. $0.57\% \pm 0.26\%$, $P = 0.013$), 但升高的 DNT 细胞数量与 RF、CRP、WBC 以及 ESR 等疾病活动性指标之间并无显著相关性 ($P > 0.05$)。在以往的研究中, DNT 细胞在造血干细胞移植免疫调节中主要是发挥着重要的免疫抑制作用, 可以预防移植物抗宿主反应的发生^[12], 但是在系统性红斑狼疮中却可以分泌炎性细胞因子并且浸润狼疮肾脏^[16], 提示 DNT 细胞免疫调节发挥作用与局部微环境密切相关。本研究结果表明 RA 患者外周血中的 DNT 细胞显著高于对照组, 提示 DNT 细胞在 RA 的发病机制中起一定的作用, 但 DNT 细胞在 RA 免疫调节中的作用及机制, 还有待于进一步研究。

FAS 是一种凋亡相关蛋白, FAS 系统功能的紊乱在自身免疫性疾病的发病机制中起着重要作用, 维持机体内稳态及适应性免疫应答, 免疫系统凋亡相关基因的调节异常能够导致免疫性疾病的发生^[18]。近年来, 有研究发现细胞的异常凋亡与系统性红斑狼疮以及 RA 疾病的发生和发展密切相关^[19,20]。FAS 系统的失衡以及功能的异常可以导

致 RA 患者关节滑液组织细胞的异常增殖以及炎症反应^[21]。Chou 等^[1]研究表明在 RA 患者外周血中 FAS/FASL 的水平较骨关节炎患者显著增高, 提示 FAS 系统在调节 T 淋巴细胞凋亡过程中发挥着重要作用。本研究结果显示, RA 患者外周血 TCR $\alpha\beta^+$ 细胞、CD4 $^-$ CD8 $^-$ 双阴性细胞、DNT 细胞表面 FAS 受体表达各不相同, 表明不同的 T 细胞亚群所处的凋亡状态不同, 对 FAS 介导的凋亡敏感性也不同; 随着 RA 患者外周血中的 DNT 细胞增多, 其表面 FAS 受体的表达也随之增加, DNT 细胞表面的 FAS 受体的高度表达表明其对 FAS 介导的凋亡的敏感性增加, 然而, 细胞是否发生凋亡还受许多相关基因以及一系列级联分子的影响^[22]。WBC、RF、CRP 以及 ESR 是与 RA 患者病情发展密切相关的一些临床指标, 为临床 RA 患者疾病的诊断和治疗效果的监测提供了有力的证据。我们的研究结果表明 RA 患者的 TCR $\alpha\beta^+$ 细胞、CD4 $^-$ CD8 $^-$ 细胞和 DNT 细胞及其表面 FAS 受体的表达与 WBC、RF、CRP 以及 ESR 之间均无显著相关性, 提示 DNT 细胞数量的多少及其表面表达的 FAS 受体可能不是影响类风湿关节炎患者的疾病活动性的主要因素, 这可能与小样本以及相关药物治疗干预有关, 后续的研究尚需加大样本量和排除药物干扰加以证实。

综上所述, 免疫调节性 T 细胞比例失调与细胞表面 FAS 的表达水平有一定相关性, DNT 细胞对 FAS 介导的凋亡的敏感性增加, 然而, 细胞是否发生凋亡与周围的微环境密切相关。RA 患者中 DNT 细胞及其表面表达的 FAS 受体与疾病活动性指标之间无相关关系, DNT 细胞及其表面表达的 FAS 受体在 RA 患者的发病机制中的作用还有待于进一步探讨。研究 RA 患者外周血调节性 T 细胞亚群及其凋亡状态有助于我们更加深入地了解免疫稳态, 从而为 RA 患者的发病机制的研究提供新的实验基础。

参 考 文 献

- [1] Chou C T, Yang J S, Lee M R. Apoptosis in rheumatoid arthritis-expression of Fas, Fas-L, p53, and Bcl-2 in rheumatoid synovial tissues [J]. *J Pathol*, 2001, 193(1): 110-116.
- [2] Thomson C W, Lee B P, Zhang L. Double-negative regulatory T cells: non-conventional regulators [J]. *Immunol Res*, 2006, 35(1-2): 163-178.
- [3] Duncan B, Nazarov-Stoica C, Surls J, et al. Double negative (CD3 $^+$ 4 $^-$ 8 $^-$) TCR alphabeta splenic cells from young NOD mice provide long-lasting protection against type 1 diabetes [J]. *PLoS One*, 2010, 5(7): e11427.
- [4] Petitjean G, Chevalier M F, Tibaudi F, et al. Level of double negative T cells, which produce TGF-beta and IL-10, predicts CD8 T-cell activation in primary HIV-1 infection [J]. *AIDS*, 2012, 26(2): 139-148.
- [5] Takakubo Y, Kontinen Y T. Immune-regulatory mechanisms in systemic autoimmune and rheumatic diseases [J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012: 941346.
- [6] Han Y, Guo Q, Zhang M, et al. CD69 $^+$ CD4 $^+$ CD25 $^-$ T cells, a new subset of regulatory T cells, suppress T cell proliferation through membrane-bound TGF-beta 1 [J]. *J Immunol*, 2009, 182(1): 111-120.
- [7] Buckner J H. Mechanisms of impaired regulation by CD4(+)CD25(+)FOXP3(+) regulatory T cells in human autoimmune diseases [J]. *Nat Rev Immunol*, 2010, 10(12): 849-859.
- [8] Fazekas D S G B, Zhu E, Asad S, et al. Flow cytometric detection of human regulatory T cells [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 707: 263-279.
- [9] Kawashiri S Y, Kawakami A, Okada A, et al. CD4 $^+$ CD25 high CD127 low/-Treg cell frequency from peripheral blood correlates with disease activity in patients with rheumatoid arthritis [J]. *J Rheumatol*, 2011, 38(12): 2517-2521.
- [10] Boissier M C, Assier E, Biton J, et al. Regulatory T cells (Treg) in rheumatoid arthritis [J]. *Joint Bone Spine*, 2009, 76(1): 10-14.
- [11] Miyara M, Amoura Z, Parizot C, et al. Global natural regulatory T cell depletion in active systemic lupus erythematosus [J]. *J Immunol*, 2005, 175(12): 8392-8400.
- [12] Ye H, Chang Y, Zhao X, et al. Characterization of CD3 $^+$ CD4 $^-$ CD8 $^-$ (double negative) T cells reconstitution in patients following hematopoietic stem-cell transplantation [J]. *Transpl Immunol*, 2011, 25(4): 180-186.
- [13] Zhang Z X, Young K, Zhang L. CD3 $^+$ CD4 $^-$ CD8 $^-$ alphabeta-TCR $^+$ T cell as immune regulatory cell [J]. *J Mol Med (Berl)*, 2001, 79(8): 419-427.
- [14] Fischer K, Voelkl S, Heymann J, et al. Isolation and characterization of human antigen-specific TCR alpha beta + CD4(-)CD8- double-negative regulatory T cells [J]. *Blood*, 2005, 105(7): 2828-2835.
- [15] Zhang Z X, Yang L, Young K J, et al. Identification of a previously unknown antigen-specific regulatory T cell and its mechanism of suppression [J]. *Nat Med*, 2000, 6(7): 782-789.
- [16] Crispin J C, Oukka M, Bayliss G, et al. Expanded double negative T cells in patients with systemic lupus erythematosus produce IL-17 and infiltrate the kidneys [J]. *J Immunol*, 2008, 181(12): 8761-8766.
- [17] Liu M F, Yang C Y, Chao S C, et al. Distribution of double-negative (CD4 $^-$ CD8 $^-$, DN) T subsets in blood and synovial fluid from patients with rheumatoid arthritis [J]. *Clin Rheumatol*, 1999, 18(3): 227-231.
- [18] Hsu A P, Dowdell K C, Davis J, et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome due to FAS mutations outside the signal-transducing death domain: molecular mechanisms and clinical penetrance [J]. *Genet Med*, 2012, 14(1): 81-89.
- [19] Sano H, Asano K, Minatoguchi S, et al. Plasma soluble fas and soluble fas ligand in chronic glomerulonephritis [J]. *Nephron*, 1998, 80(2): 153-161.
- [20] Liu H, Pope R M. The role of apoptosis in rheumatoid arthritis [J]. *Curr Opin Pharmacol*, 2003, 3(3): 317-322.
- [21] Catrina A I, Trollmo C, Af K E, et al. Evidence that anti-tumor necrosis factor therapy with both etanercept and infliximab induces apoptosis in macrophages, but not lymphocytes, in rheumatoid arthritis joints: extended report [J]. *Arthritis Rheum*, 2005, 52(1): 61-72.
- [22] Oliveira J B, Gupta S. Disorders of apoptosis: mechanisms for autoimmunity in primary immunodeficiency diseases [J]. *J Clin Immunol*, 2008, 28(S1): 20-28.

(责任编辑:关蕴良)