

孕鼠给予葡萄球菌肠毒素 B 对新生子代鼠脾脏淋巴细胞体外增殖的影响

陈 杰^{1,2}, 李慧慧¹, Mohsin Raza kashif¹, 高淑娴¹, 周 平¹, 郑庆委¹, 韦 莉¹, 申 林³, 管俊昌¹

[摘要] 目的: 观察妊娠期孕鼠给予葡萄球菌肠毒素 B (SEB) 对其新生子代鼠脾脏淋巴细胞体外增殖的影响。方法: 在 SD 大鼠妊娠第 16 天给予尾静脉注射 15 μg SEB, 同时设立磷酸盐缓冲液 (PBS) 对照组。获取出生后 3 d 的新生鼠脾脏并分离淋巴细胞, 将淋巴细胞与 ConA 或 SEB 共培养 3 d, 流式细胞仪检测新生鼠脾脏淋巴细胞亚群, 液体闪烁仪测定细胞的增殖能力。结果: SEB 组新生鼠脾脏中 CD4⁺T 细胞比例在 ConA 或 SEB 刺激第 1 天分别较 PBS 组明显增加, 但在第 2~3 天却明显降低 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$); 而 SEB 组新生鼠脾脏中 CD4⁺TCR V β 8.2⁺T 细胞比例在 ConA 或 SEB 刺激的第 1 天及 CD8⁺TCR V β 8.2⁺T 细胞比例分别较 PBS 组明显增加 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。SEB 组新生鼠脾脏淋巴细胞在 ConA 或 SEB 刺激后第 1 天增殖能力明显强于 PBS 组, 但在第 2~3 天的增殖能力却又明显低于 PBS 组 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。结论: 妊娠期孕鼠给予 SEB 可以影响新生鼠脾脏淋巴细胞的体外增殖。

[关键词] 葡萄球菌肠毒素 B; 妊娠; 脾脏; 淋巴细胞

[中图分类号] R 378.11

[文献标志码] A

DOI: 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2018.08.001

Effect of maternal SEB administration on proliferation of splenic lymphocytes of the newborn offspring rats *in vitro*

CHEN Jie^{1,2}, LI Hui-hui¹, Mohsin Raza kashif¹, GAO Shu-xian¹, ZHOU Ping¹, ZHENG Qing-wei¹, WEI Li¹, SHEN Lin³, GUAN Jun-chang¹

(1. Anhui Key Laboratory of Infection and Immunity, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030;

2. Department of Internal Medicine, The First People's Hospital of Jiande, Jiande Zhejiang 311600;

3. Scientific Research Center, Bengbu Medical College, Bengbu Anhui 233030, China)

[Abstract] Objective: To investigate the effects of maternal staphylococcal enterotoxin B (SEB) administration on proliferation of splenic lymphocytes of the newborn offspring rats *in vitro*. **Methods:** Pregnant rats on gestational day 16 were injected i. v. 15 μg SEB, and the control group was injected using the same volume of PBS. The spleens of newborn offspring rats on the third day after delivery were acquired, and the splenic lymphocytes were separated. The splenic lymphocytes were co-cultured with ConA or SEB for 3 days *in vitro*. The subpopulation of splenic lymphocytes and its proliferation were detected using the flow cytometry and liquid scintillation analyzer, respectively. **Results:** After co-cultured with ConA or SEB *in vitro*, the percentage of CD4⁺T cells of splenic lymphocytes in SEB group significantly increased compared with the PBS group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). The percentages of CD4⁺TCR V β 8.2⁺T cells on the first day of culture, and CD8⁺TCR V β 8.2⁺T cells on the three day of culture in SEB group significantly increased compared with the control group ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). Compared with PBS group, the stimulation of ConA or SEB significantly increased the proliferation ability of splenic lymphocytes in SEB group on the first day of culture, and significantly decreased on the second and third day of culture ($P < 0.05$ to $P < 0.01$). **Conclusions:** Maternal SEB administration during pregnancy can affect the proliferation of splenic lymphocytes in the newborn offspring rats *in vitro*.

[Key words] staphylococcal enterotoxin B; gestation; spleen; lymphocyte

[收稿日期] 2018-03-15 [修回日期] 2018-06-25

[基金项目] 国家自然科学基金项目 (81571454, 81070506); 安徽省感染与免疫创新团队 (2015-4); 国家级大学生创新训练项目 (201510367013); 蚌埠医学院研究生创新项目 (Byycxz1703)

[作者单位] 1. 蚌埠医学院 感染与免疫重点实验室, 安徽 蚌埠 233030; 2. 浙江省建德市第一人民医院 内科, 311600; 3. 蚌埠医学院 科研中心, 安徽 蚌埠 233030

[作者简介] 陈 杰 (1991-), 男, 硕士研究生。

[通信作者] 管俊昌, 硕士研究生导师, 博士, 教授。E-mail: gjc-2003@sohu.com

葡萄球菌肠毒素 B (staphylococcal enterotoxin B, SEB) 是由金黄色葡萄球菌产生的既具有外毒素特性又具有超抗原特性的致病物质。SEB 作为一种常见的超抗原, 已成为免疫学领域的研究热点之一^[1-3]。SEB 主要通过与其抗原递呈细胞上的 MHC-II 类分子及 T 细胞的 TCR V β 链交联结合, 导致大量 T 细胞的活化、增殖并释放大量的细胞因子。我们前期研究^[4]表明, 妊娠期孕鼠静脉给予 SEB 可影响其新生鼠脾脏 T 淋巴细胞亚群的构成比例, 但妊

娠期孕鼠静脉给予 SEB 对新生鼠脾脏 T 淋巴细胞的功能影响,目前国内外尚无报道。本研究通过体外培养新生鼠脾脏淋巴细胞,观察 ConA 和 SEB 刺激对体外新生鼠脾脏淋巴细胞亚群及增殖能力的影响,为阐明 SEB 的致病性及优生优育提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物 清洁级 SD 大鼠,雄性 280 ~ 300 g,雌性 220 ~ 250 g,购于浙江省实验动物中心,许可证号为 SCXK(浙)20080033。

1.2 主要试剂和仪器 SEB(Sigma 公司);荧光标记抗体小鼠抗大鼠 CD3-FITC、CD4-APC、CD8a-PE(eBioscience 公司)及 TCR V β 8.2/8.4-Alexa Fluor 488(Biolegend 公司);Percoll 淋巴细胞分离液(Gibco 公司)。流式细胞仪 FACS Calibur(BD 公司);低温离心机(Sigma 公司);液体闪烁仪 FJ-2017P(上海精密仪器仪表有限公司);超净工作台(上海浦东物理光学仪器厂)。

1.3 实验分组及处理 每天 18:00 点雌雄大鼠以 1:1 合笼,次日晨观察鼠笼底盘是否有乳白色的阴栓出现,如发现阴栓即认为已经受孕,并记为妊娠第 1 天,将孕鼠随机分为 SEB 组及磷酸盐缓冲液(PBS)对照组,每组 8 只。在妊娠期第 16 天 2 组孕鼠行尾静脉注射,实验组每只孕鼠给予 0.2 mL 含 15 μ g SEB 的 PBS,对照组给予同等体积的 PBS。待孕鼠自然分娩后,取出生后第 3 天新生鼠进行研究。

1.4 脾脏淋巴细胞的分离 用 75% 乙醇对新生鼠体表进行消毒 3 次,无菌条件下打开新生鼠腹腔,分离出脾脏,放入 4 $^{\circ}$ C 预冷的无菌 PBS 中漂洗 3 次,将脾脏放在无菌的 200 目不锈钢筛网上,采用网搓法制备成脾脏单细胞悬液。在无菌玻璃试管中加入大鼠淋巴细胞分离液 3 mL,然后用吸管缓缓加入等体积的脾脏单细胞悬液,25 $^{\circ}$ C 1 500 rpm 离心 25 min,用吸管吸取中间白色薄雾状的细胞层即为脾脏淋巴细胞,再用无菌的 RPMI 1640 培养液洗涤单个核细胞 2 ~ 3 次,计数并调整细胞密度为 1×10^6 个/mL,以待细胞培养。

1.5 脾脏淋巴细胞体外培养及增殖指数检测 将 SEB 组及 PBS 组新生鼠的脾脏淋巴细胞按 2×10^5 个/孔接种于无菌的 96 孔板,用 RPMI 1640 培养液在 37 $^{\circ}$ C 的 CO₂ 培养箱中连续培养 3 d。每组淋巴细胞分别在培养时给予有丝分裂原 ConA(5 μ g/mL)或 SEB(100 ng/mL)进行刺激,相应的组别标记

为:对照组的分别为 PBS + ConA、PBS + SEB,实验组的分别为 SEB + ConA、SEB + SEB,每组设 3 个复孔。在培养第 1、2、3 天(标记为 D1、D2、D3)的每一时间点结束前 4 h,在每孔中加入 1 mCi/L 的 ³H-TdR 10 μ L 共培养至各时间点结束,分别收集各孔细胞至滤纸上,滤纸烘干后通过液体闪烁仪测定细胞的增殖能力。

1.6 脾脏淋巴细胞亚群检测 将 SEB 组及 PBS 组新生鼠的脾脏淋巴细胞按 2×10^5 个/孔接种于无菌的 6 孔板,培养处理同 1.5,在培养的第 1、2、3 天(标记为 D1、D2、D3)分别收集 6 孔板内的细胞,用 RPMI 1640 培养液洗涤 2 次,4 $^{\circ}$ C 1 500 r/min 离心 5 min 后弃去上清液,将底部细胞加入 100 μ L 的 PBS 充分混匀。加入荧光标记的 CD3、CD8、CD4 及 V β 8.2 单抗进行细胞表面分子染色,4 $^{\circ}$ C 避光孵育 30 min,然后向每孔加入 200 μ L PBS,在 4 $^{\circ}$ C 下,以 1 500 r/min 离心 5 min,记为洗涤 1 次,共洗涤 3 次,最后用 0.5 mL 2% 多聚甲醛固定后通过 FACS Calibur 型流式细胞仪进行检测,每份样本收集约 10 万个细胞,用 WinMDI2.8 软件进行细胞比例分析。

1.7 统计学方法 采用方差分析和 *q* 检验。

2 结果

2.1 孕鼠给予 SEB 对体外新生鼠脾脏 T 淋巴细胞亚群增殖的影响 出生第 3 天新生鼠的脾脏淋巴细胞体外与 ConA 或 SEB 共培养 3 d 后,SEB 组新生鼠脾脏中 CD4⁺T 细胞比例在 ConA 或 SEB 刺激第 1 天分别较 PBS 组的明显增加,但在第 2 ~ 3 天却明显降低($P < 0.05 \sim P < 0.01$),但 2 组的 CD8⁺T 细胞比例差异无统计学意义(见表 1)。而 SEB 组新生鼠脾脏中 CD4⁺TCR V β 8⁺T 细胞比例在 ConA 或 SEB 刺激的第 1 天及 CD8⁺TCR V β 8⁺T 细胞比例分别较 PBS 组的明显增加($P < 0.05 \sim P < 0.01$),但在 ConA 或 SEB 刺激的第 2 ~ 3 天,2 组新生鼠脾脏中 CD4⁺TCR V β 8⁺T 细胞比例无差异性(见表 2)。

2.2 孕鼠接触 SEB 对体外新生鼠脾脏淋巴细胞增殖指数的影响 出生第 3 天新生鼠的脾脏淋巴细胞体外与 ConA 或 SEB 共培养 3 d 后,³H 掺入法检测结果见表 3,发现 SEB 组新生鼠脾脏淋巴细胞在 ConA 或 SEB 刺激后第 1 天增殖能力明显强于 PBS 组,但在第 2 ~ 3 天的增殖能力却又明显低于 PBS 组($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。

3 讨论

我们前期研究^[4]发现妊娠期孕鼠静脉给予 SEB

表 1 孕鼠给予 SEB 对新生鼠脾脏 CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比例的影响 ($n_i = 3; \bar{x} \pm s$)

分组	培养时间/d		
	D1	D2	D3
CD4 ⁺ T 细胞比例/%			
PBS + ConA	29.04 ± 2.4	35.50 ± 2.29	48.77 ± 5.88
PBS + SEB	32.91 ± 4.43	42.83 ± 2.48	41.73 ± 5.58
SEB + ConA	38.36 ± 4.18 *	30.00 ± 3.11 ** *	18.83 ± 3.21 *
SEB + SEB	45.80 ± 7.24 [#]	36.91 ± 1.98 ^{##}	18.99 ± 3.16 [#]
<i>F</i>	15.82	17.81	44.55
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01
<i>MS</i> 组内	13.35	6.24	21.50
CD8 ⁺ T 细胞比例/%			
PBS + ConA	14.20 ± 2.44	15.36 ± 3.22	15.54 ± 3.79
PBS + SEB	16.01 ± 2.96	15.45 ± 3.51	14.35 ± 1.39
SEB + ConA	15.47 ± 3.40	13.80 ± 4.00	15.95 ± 5.35
SEB + SEB	16.26 ± 2.97	15.05 ± 2.98	14.97 ± 1.35
<i>F</i>	0.38	0.20	0.17
<i>P</i>	>0.05	>0.05	>0.05
<i>MS</i> 组内	8.77	11.90	11.68

q 检验:与 SEB + ConA、PBS + ConA 比较 * $P < 0.01$; ** $P < 0.05$, 与 SEB + SEB、PBS + SEB 比较[#] $P < 0.01$,^{##} $P < 0.05$

表 2 孕鼠给予 SEB 对新生鼠脾脏 CD4⁺/CD8⁺ TCR Vβ8⁺ T 细胞比例的影响 ($n_i = 3; \bar{x} \pm s$)

分组	培养时间/d		
	D1	D2	D3
CD4 ⁺ TCR Vβ8 ⁺ T 细胞比例/%			
PBS + ConA	2.92 ± 0.28	2.76 ± 0.78	2.59 ± 0.61
PBS + SEB	2.75 ± 0.22	2.23 ± 0.73	2.57 ± 0.52
SEB + ConA	3.79 ± 0.38 *	3.00 ± 0.21	2.79 ± 0.53
SEB + SEB	3.84 ± 0.52 [#]	2.64 ± 1.27	2.51 ± 0.88
<i>F</i>	9.52	0.61	0.14
<i>P</i>	<0.01	>0.05	>0.05
<i>MS</i> 组内	0.14	0.70	0.43
CD8 ⁺ TCR Vβ8 ⁺ T 细胞比例/%			
PBS + ConA	4.53 ± 0.41	2.70 ± 0.17	1.72 ± 0.20
PBS + SEB	3.43 ± 0.89	2.53 ± 0.19	1.97 ± 0.25
SEB + ConA	5.68 ± 0.49 ** *	3.85 ± 0.26 *	3.01 ± 0.60 *
SEB + SEB	6.40 ± 1.02 [#]	3.73 ± 0.68 [#]	2.72 ± 0.31 [#]
<i>F</i>	11.56	12.73	10.38
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01
<i>MS</i> 组内	0.59	0.15	0.14

q 检验:与 SEB + ConA、PBS + ConA 比较 * $P < 0.01$; ** $P < 0.05$, 与 SEB + SEB、PBS + SEB 比较[#] $P < 0.01$

可改变其新生鼠脾脏 T 淋巴细胞亚群的构成比例,但其对新生鼠脾脏 T 淋巴细胞功能的影响尚不清楚。本研究通过体外培养脾脏淋巴细胞,观察其对抗原刺激的活化增殖能力,发现在 ConA 或 SEB 抗

表 3 孕鼠给予 SEB 对新生鼠脾脏淋巴细胞增殖指数的影响 ($n_i = 3; \bar{x} \pm s$)

分组	培养时间/d		
	D1	D2	D3
PBS + ConA	1 157.89 ± 258.57	1 697.42 ± 165.18	2 394.83 ± 159.88
PBS + SEB	2 004.58 ± 175.89	2 523.17 ± 210.34	2 854.78 ± 221.74
SEB + ConA	2 951.08 ± 76.90 *	1 610.17 ± 133.00 ** *	1 116.33 ± 136.91 *
SEB + SEB	2 963.00 ± 221.62 [#]	2 094.67 ± 164.04 ^{##}	1001.44 ± 159.68 [#]
<i>F</i>	71.98	23.79	90.81
<i>P</i>	<0.01	<0.01	<0.01
<i>MS</i> 组内	35 601.56	29 224.55	29 277.78

q 检验:与 SEB + ConA、PBS + ConA 比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;与 SEB + SEB、PBS + SEB 比较[#] $P < 0.01$,^{##} $P < 0.05$

原体外刺激的第 1 天实验组(妊娠期 SEB 处理组)新生鼠脾脏淋巴细胞增殖指数明显增强,这是因为 SEB 作为一种超抗原,不需要经过抗原递呈细胞的识别和加工,就能直接通过桥联抗原递呈细胞的 MHC II 类分子结合槽外侧区与 T 淋巴细胞 TCR 的 Vβ 区结合,刺激机体免疫系统的大量 T 细胞活化增殖^[5-6],通常 SEB 刺激淋巴细胞的活化能力比普通抗原强千倍。而本研究发现在 ConA 或 SEB 抗原体外刺激的第 2~3 天又出现脾脏淋巴细胞过度增殖后的明显降低,与大量研究报道^[6-8]一致,认为 SEB 的刺激初期可短暂激活 Vβ8⁺ T 细胞并诱发大量增殖,继而过度增殖的细胞发生凋亡导致克隆清除或耐受。同时,通过分析体外脾脏淋巴细胞亚群发现,实验组新生鼠脾脏中 CD4⁺ T 细胞比例的变化与增殖指数变化趋势一致,但 CD8⁺ T 细胞比例无变化,揭示 CD4⁺ T 细胞可能是导致脾脏淋巴细胞增殖的主要细胞群体。

SEB 主要与 TCR Vβ 链(包括 Vβ3、Vβ6、Vβ7、Vβ8 等)结合,而在啮齿类主要是作用于 TCR Vβ8 链^[9],故本实验选择 TCR Vβ8.2⁺ T 细胞作为研究对象并分析其构成变化。通过研究发现实验组新生鼠脾脏中 CD4⁺ Vβ8.2⁺ T 细胞比例在 ConA 或 SEB 刺激的第 1 天及 CD8⁺ Vβ8.2⁺ T 细胞比例分别较 PBS 对照组的明显增加,与本课题组前期报道^[4]的孕鼠妊娠期 SEB 处理后新生鼠体内脾脏 Vβ8.2⁺ T 细胞的变化趋势完全不同,可能与妊娠期孕鼠给予 SEB 处理形成印迹效应,改变了脾脏淋巴细胞的应答方式有关^[10],但导致这种 ConA 或 SEB 刺激后 TCR Vβ8.2⁺ T 细胞比例增加的具体机制还有待进一步研究。

响其下游 p21、Bax、Bcl-2 基因表达,最后阻滞细胞周期在 S 期并促进细胞凋亡。不断深入研究 L-OHP 作用过程中的相关分子机制,可为 HCC 治疗策略提供坚实的理论基础,L-OHP 作用的分子通路及其交互作用仍有待深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] FERLAY JSI, ERVIK M, DIKSHIT R, *et al.* 2013. GLOBOCAN 2012 v1. 0, Cancer Incidence and Mortality Worldwide; IARC Cancer Base No. 11. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. Available from: <http://globocan.iarc.fr>.
- [2] ECKE TH, SCHLECHTE HH, SCHIEMENZ K, *et al.* TP53 gene mutations in prostate cancer progression [J]. *Anticancer Res*, 2010, 30(5):1579.
- [3] QIN S, BAL Y, LIM HY, *et al.* Randomized, multicenter, open-label study of oxaliplatin plus fluorouracil/leucovorin versus doxorubicin as palliative chemotherapy in patients with advanced hepatocellular carcinoma from Asia [J]. *J Clin Oncol*, 2013, 31(28):3501.
- [4] YEN Y, LIM DW, CHUNG V, *et al.* Phase II study of oxaliplatin in patients with unresectable, metastatic, or recurrent hepatocellular cancer: a California Cancer Consortium Trial [J]. *Am J Clin Oncol*, 2008, 31(4):317.
- [5] LOUAFI S, BOIGE V, DUCREUX M, *et al.* Gemcitabine plus oxaliplatin (GEMOX) in patients with advanced hepatocellular carcinoma (HCC): results of a phase II study [J]. *Cancer*, 2007, 109(7):1384.
- [6] LIU Y, CAO Y, ZHANG W, *et al.* A small-molecule inhibitor of glucose transporter 1 downregulates glycolysis, induces cell-cycle

arrest, and inhibits cancer cell growth in vitro and in vivo [J]. *Mol Cancer Ther*, 2012, 11(18):1672.

- [7] BI L, Yan XJ, Chen WP, *et al.* Antihepatocellular carcinoma potential of tetramethylpyrazine induces cell cycle modulation and mitochondrial-dependent apoptosis: regulation of p53 signaling pathway in HepG2 cells in vitro [J]. *Integr Cancer Ther*, 2016, 15(2):226.
- [8] MARCOS M, MARIANO B. Cell cycle, CDKs and cancer: a changing paradigm [J]. *Nature Rev Cancer*, 2009, 9(3):153.
- [9] 高洁, 吴穷, 杨清玲, 等. 奥沙利铂对肝癌细胞 HuH-7 细胞周期的影响 [J]. *华中科技大学学报(医学版)*, 2012, 41(4):445.
- [10] 高洁, 汪蕊, 杨清玲, 等. 奥沙利铂对肝癌细胞 HepG2 细胞周期的影响 [J]. *浙江大学学报(医学版)*, 2013, 42(4):437.
- [11] TAIRA N, YOSHIDA K. Post-translational modifications of p53 tumor suppressor: determinants of its functional targets [J]. *Histol Histopathol*, 2012, 27(4):437.
- [12] ZHANG F, KONG DS, ZHANG ZL, *et al.* Tetramethylpyrazine induces G0/G1 cell cycle arrest and stimulates mitochondrial-mediated and caspase-dependent apoptosis through modulating ERK/p53 signaling in hepatic stellate cells in vitro [J]. *Apoptosis*, 2013, 18(2):135.
- [13] WARFEL NA, EL-DEIRY WS. p21 WAF1 and tumorigenesis: 20 years after [J]. *Curr Opin Oncol*, 2013, 25(1):52.
- [14] 祝峙, 冯真, 张晶, 等. 生长抑制因子 1 剪接变异体调控 p53 信号通路诱导肝癌细胞凋亡 [J]. *肿瘤基础与临床*, 2013, 26(5):369.

(本文编辑 刘畅)

(上接第 983 页)

[参 考 文 献]

- [1] HUDSON REICHENBERG LC, GARG R, FERNALLD R, *et al.* Systemic cytokine and chemokine responses in immunized mice challenged with staphylococcal enterotoxin B [J]. *Toxicon*, 2017, 133(10):82.
- [2] MIAO BP, ZHANG RS, SUN HJ, *et al.* Inhibition of squamous cancer growth in a mouse model by Staphylococcal enterotoxin B-triggered Th9 cell expansion [J]. *Cell Mol Immunol*, 2017, 14(4):371.
- [3] JANIK DK, LEE WT. Staphylococcal enterotoxin B (SEB) induces memory CD4 T cell anergy in vivo and impairs recall immunity to unrelated antigens [J]. *Clin Cell Immunol*, 2015, 6(4):1.
- [4] ZHOU P, ZHANG XS, XU ZB, *et al.* Staphylococcal enterotoxin B administration in pregnant rats alters the splenic lymphocyte response in adult offspring rats [J]. *BMC Microbiol*, 2017, 17(1):1.
- [5] KAWABE Y, OCHI A. Programmed cell death and extrathymic reduction of Vbeta 8⁺ CD4⁺ T cells in mice tolerant to

Staphylococcus aureus enterotoxin B [J]. *Nature*, 1991, 349(6306):245.

- [6] RELLAHAN BL, JONES LA, KRUISBEEK AM, *et al.* In vivo induction of anergy in peripheral V beta 8 + T cells by staphylococcal enterotoxin B [J]. *J Exp Med*, 1990, 172(4):1091.
- [7] LIU T, LIANG X, LI TL, *et al.* Staphylococcal enterotoxin B compromises the immune tolerant status in the airway mucosa [J]. *Clin Exp Allergy*, 2012, 42(3):375.
- [8] AROEIRA LS, MOUTON CG, TORAN JL, *et al.* Anti-Vbeta8 antibodies induce and maintain staphylococcal enterotoxin B-triggered Vbeta8 + T cell anergy [J]. *Eur J Immunol*, 1999, 29(2):437.
- [9] PULLEN AM, MARRACK P, KAPPLER JW. The T-cell repertoire is heavily influenced by tolerance to polymorphic self-antigens [J]. *Nature*, 1988, 335(6193):796.
- [10] ZHANG T, YU FL, YANG WX, *et al.* Staphylococcal enterotoxin B administration during pregnancy imprints the increased CD4: CD8 T-cell ratio in the peripheral blood from neonatal to adult offspring rats [J]. *J Med Microbiol*, 2015, 64(10):1.

(本文编辑 姚仁斌)