

组蛋白去乙酰化酶抑制剂 Belinostat 对髓源性树突状细胞免疫功能的作用研究

贾文华 毛慧 陈婉如 岳晓彤 魏鑫鑫 李德鹏 徐开林 黄一虹

【摘要】 目的 探讨组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂 Belinostat 对小鼠骨髓来源树突状细胞(DC)免疫功能的影响及初步机制。方法 体外诱导培养C57BL/6小鼠骨髓来源的DC,诱导培养第5天为未成熟DC(imDC)组,设0、50、100 nmol/L Belinostat 作用组;imDC以脂多糖作用24 h为成熟DC(mDC),设0、50、100 nmol/L Belinostat 作用组。从细胞形态、超微结构、免疫表型进行鉴定。流式细胞术检测各组DC免疫表型及趋化因子受体CCR7表达水平,趋化实验检测DC的体外迁移率。单向混合淋巴细胞培养法检测各组DC刺激下异基因淋巴细胞增殖率。ELISA法检测各组DC培养上清中TNF- α 、IL-12及IL-10的表达水平。RQ-PCR检测 Belinostat 对DC中RelB mRNA表达水平的影响。结果 成功诱导培养出imDC及mDC并鉴定。50和100 nmol/L Belinostat+imDC组CCR7表达水平均低于imDC组[(25.82 \pm 7.25)%对(50.44 \pm 5.61)%、(18.71 \pm 2.00)%对(50.44 \pm 5.61)%];50 nmol/L Belinostat+mDC组CCR7表达水平高于mDC组[(71.14 \pm 1.96)%对(64.90 \pm 1.47)%]。Belinostat 作用下imDC和mDC的迁移率均下降,但在imDC中组间比较差异无统计学意义。当刺激细胞:反应细胞比例为1:2时,100 nmol/L Belinostat+imDC刺激下淋巴细胞增殖率低于imDC组[(227.09 \pm 13.49)%对(309.49 \pm 53.69)%]。Belinostat 作用下mDC所分泌的TNF- α 、IL-12和IL-10较mDC组均明显下降,差异均有统计学意义(P 值均 $<$ 0.01)。Belinostat+imDC及Belinostat+mDC中RelB mRNA表达水平较imDC组及mDC组均有降低(P 值均 $<$ 0.05)。结论 Belinostat可调节DC迁移、抑制T淋巴细胞增殖及细胞因子分泌,一定程度上抑制DC成熟,可能与其下调DC中NF- κ B的转录因子RelB mRNA水平有关。

【关键词】 组蛋白去乙酰化酶抑制剂; Belinostat; 树突细胞; 免疫耐受

基金项目:江苏省卫生科研项目(H201427);徐州市科技计划(KC16SH016);江苏省2015-2016年度普通高校研究生科研创新计划(SJLX15_0722、SJZZ16_0288)

Study on the immune functions of dendritic cells regulated by histone deacetylase inhibitor Belinostat Jia Wenhua*, Mao Hui, Chen Wanru, Yue Xiaotong, Wei Xinxin, Li Depeng, Xu Kailin, Huang Yihong*. *Department of Hematology, the Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou 221002, China

Corresponding author: Huang Yihong, Email: hxr1583@sina.com

【Abstract】 Objective To explore effects of histone deacetylase inhibitor Belinostat on the immunologic function of dendritic cells (DC) and its possible mechanism. **Methods** Cultured mouse bone marrow-derived DC from C57BL/6 mouse *in vitro*. The experiments were divided into 0, 50, 100 nmol/L Belinostat + immature DC (imDC) group, and 0, 50, 100 nmol/L Belinostat mature DC (mDC). The changes of the ultrastructure of DC were observed by transmission electron microscope (TEM). Immunophenotype and CCR7 expression rate were detected by FCM, and the migration rate was observed by chemotaxis assay. The proliferation of lymphocytes stimulated by different DC was detected by mixed lymphocyte culture reaction. The cytokines in the culture supernatant, including TNF- α , IL-12 and IL-10, were examined by ELISA. RQ-PCR was used to examine the relative expression of mRNA in RelB. **Results** Successful cultured and identified the qualified imDC and mDC. Belinostat decreased the expression of CCR7 on imDC [(25.82 \pm 7.25)% vs (50.44 \pm 5.61)% and (18.71 \pm 2.00)% vs (50.44 \pm 5.61)%],

DOI:10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2018.01.009

作者单位:221002 徐州医科大学附属医院血液科[贾文华(现在西安医学院第一附属医院血液科,710077)、岳晓彤、李德鹏、徐开林、黄一虹(现在徐州医科大学附属第三医院血液科,221003)];徐州医科大学血液病研究所(毛慧、陈婉如、魏鑫鑫)

通信作者:黄一虹,Email:hxr1583@sina.com

meanwhile increased the rate on mDC [(71.14±1.96)% vs (64.90±1.47)%]. Chemotaxis assay showed that the migration rate of Belinostat+imDC and Belinostat+mDC group were both decreased, but the difference in imDC was not significant. T lymphocyte proliferation rate stimulated by 100 nmol/L Belinostat+imDC group was lower than imDC group in condition irritation cell: reaction cell = 1: 2 [(227.09±13.49)% vs (309.49±53.69)%]. Belinostat significantly suppressed the secretion of cytokines TNF- α , IL-12 and IL-10 (all $P < 0.01$). The relative expression of mRNA in RelB was slightly decreased in Belinostat+imDC and Belinostat+mDC group (all $P < 0.05$). **Conclusion** Belinostat could effectly suppress DC maturation and regulate immune tolerance of DC, which may be due to the down-regulation of mRNA level of RelB in DC.

【Key words】 Histone deacetylase inhibitor; Belinostat; Dendritic cells; Immune tolerance

Fund program: Health Research Project of Jiangsu (H201427); Science and Technology Program of Xuzhou (KC16SH016); 2015-2016 Research Innovation Program in Graduate of Ordinary University of Jiangsu (SJLX15_0722, SJZZ16_0288)

免疫抑制剂是防治移植物抗宿主病(GVHD)的主要手段,传统认为淋巴细胞是免疫抑制药物作用的主要靶点^[1-2],但最新证据表明树突状细胞(DC)扮演着GVHD始动和促发的重要角色^[3-4]。我们课题组前期研究证实未成熟DC(imDC)、调节性DC及基因修饰DC均可诱导骨髓移植物免疫耐受^[5-7]。Belinostat是一类新型的羟肟酸型泛组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂,2015年被美国FDA批准用于治疗难治或复发性外周T细胞淋巴瘤^[8]。目前涉及Belinostat对DC功能调节作用的研究甚少。本研究我们通过观察Belinostat对DC形态、超微结构、免疫表型和免疫功能的影响,初步探讨其调节DC功能的分子机制,为HDAC抑制剂靶向调节DC功能、应用于临床防治GVHD提供一定的实验依据。

对象与方法

1. 研究对象:SPF级雄性C57BL/6及BALB/c小鼠,8~10周龄,体重22~25 g,购自上海斯莱克实验动物有限公司[SCXK(沪)2012-0002],饲养于徐州医科大学实验动物中心恒温恒湿屏障系统。根据实验所需DC数目,每次实验需2~10只小鼠。实验过程中对动物的处置符合动物伦理学标准。

2. 主要试剂:Belinostat购自美国Selleck公司;重组小鼠GM-CSF(rmGM-CSF)、重组小鼠IL-4(rmIL-4)购自美国Perprotech公司;RPMI 1640培养基购自美国Gibco公司;胎牛血清购自美国Minipore公司;脂多糖购自美国Sigma公司;CD11c-PE、CD80-FITC、I-A/I-E-APC、CCR7-APC购自德国Miltenyi公司;Annexin V/7AAD凋亡试剂盒购自美国eBioscience公司;丝裂霉素C购自大连美仑生物技术有限公司;小鼠淋巴细胞分离液购自达科为生物技术股份有限公司;ELISA试剂盒购自美国R&D

公司。

3. DC的诱导培养及分组:本室常规法收集C57BL/6小鼠骨髓细胞悬液并制备骨髓单个核细胞^[6-7],调整细胞密度为 2×10^6 /ml铺于6孔板中,以RPMI 1640完全培养基(含终浓度20 ng/ml的rmGM-CSF、10 ng/ml的rmIL-4和10%的胎牛血清)于37℃、5% CO₂培养箱中进行培养。48 h后保留贴壁细胞,全量换液后继续培养。第2个48 h后行半量换液时,分别加入不同体积的1 μ mol/L Belinostat工作液使其终浓度分别为0、50、100 nmol/L,培养24 h后收集的悬浮细胞即为imDC组及不同浓度Belinostat+imDC组;未收集孔内加入终浓度为1 μ g/ml的脂多糖继续培养24 h后收集的悬浮细胞即为成熟DC(mDC)组及不同浓度Belinostat+mDC组。

4. 光镜观察DC形态:于倒置显微镜下观察培养不同时间DC的生长情况并拍照。

5. 透射电镜观察DC结构:将培养所得的各组DC细胞洗涤、固定、漂洗,参照文献[5]方法制片,透射电镜下观察各组DC超微结构特征。

6. DC凋亡检测:收集各组DC各 2×10^6 个,按照Annexin V/7AAD试剂盒说明书进行操作,上流式细胞仪检测细胞凋亡情况。

7. DC免疫表型的检测:收集各组DC加入抗小鼠-CD11c-PE、CD80-FITC、I-A/I-E-APC抗体进行标记后,上流式细胞仪检测CD11c、CD80、I-A/I-E表达情况,采用Cell-quest软件进行分析。

8. DC趋化迁移能力的检测:收集各组DC加入抗小鼠CD11c-PE、CCR7-APC抗体标记后,上流式细胞仪检测,采用Cell-quest软件分析趋化因子受体CCR7的表达情况。DC的体外趋化实验在Transwell小室内进行,方法参见文献[5]。

9. DC对异基因淋巴细胞增殖的作用检测:取BALB/c小鼠脾脏培养同种异基因T淋巴细胞,参照文献[3,5]方法,应用单向混合淋巴细胞培养法进行检测,以淋巴细胞为反应细胞,各比例所需的DC为刺激细胞,刺激细胞:反应细胞分别为1:2、1:5、1:10。

10. DC培养上清细胞因子的检测:参照ELISA试剂盒说明书,测定各组DC培养上清中炎症细胞因子(TNF- α 、IL-12、IL-10)的浓度。

11. RQ-PCR法检测DC中RelB mRNA表达:TRIzol法提取各组DC总RNA,逆转录合成cDNA后,采用RQ-PCR法进行检测,RelB引物序列:上游引物:5'-CTACAATGCTGGCTCCCTGA-3',下游引物:5'-CTCCGATGTGTTGGTGGACT-3', β -actin引物序列:上游引物:5'-CTGAGAGGGAAATCGTGC-GT-3',下游引物:5'-AACCGCTCGTTGC-CAATAGT-3'。引物均由上海生工生物工程有限公司合成。反应条件:95℃ 5 min;95℃ 20 s,60℃ 10 s,72℃ 15 s,共40个循环;95℃ 15 s,70℃ 1 s,40℃ 30 s。采用瑞士Roche公司Light Cycler 480型荧光定量PCR仪自动分析计算Ct值。相对表达量用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 表示。

12. 统计学处理:采用SPSS 16.0软件进行统计分析,每组设3个复孔,实验重复3次,符合正态分布的定量资料用均数 \pm 标准差表示,两组间比较采用 t 或 t' 检验;多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用LSD- t 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. DC的形态观察及免疫表型:小鼠骨髓单个核细胞培养24 h大量细胞开始贴壁生长,培养48 h时贴壁细胞出现半黏附细胞集落(图1A),培养4 d后出现典型的集落生长,部分细胞表面出现长短不一毛刺样突起,可见单个悬浮典型imDC(图1B)。经脂多糖刺激24 h逐渐成为mDC,突起状结构逐渐延长、伸起。imDC的毛刺状突起结构较mDC稀疏、短少(图1C、图1D)。

imDC组的CD11c⁺细胞表达率为(90.93 \pm 4.04)%,mDC组为(91.00 \pm 3.97)%,差异无统计学意义($t = -0.021, P = 0.984$)。同时,两组DC表面均可检测到CD80、组织相容性复合物(MHC) II表达。mDC组中MHC II类分子表达率为(88.55 \pm 1.76)%,明显高于imDC的(79.03 \pm 1.72)%($t = 6.700, P = 0.001$)。

2. Belinostat对DC超微结构的影响:透射电镜下imDC突起呈丘状隆起于细胞表面,胞内电子密度低,细胞器不发达,mDC表面突起增长、密集,细胞褶皱增多,内质网扩大,线粒体肿胀。100 nmol/L Belinostat作用下mDC表面突起结构有回缩现象,而100 nmol/L Belinostat作用下imDC表面仍为丘状、粗短的突起,无明显变化。Belinostat作用后imDC及mDC内均可见滑面内质网增多(图2)。

3. Belinostat对DC免疫表型的影响:100 nmol/L

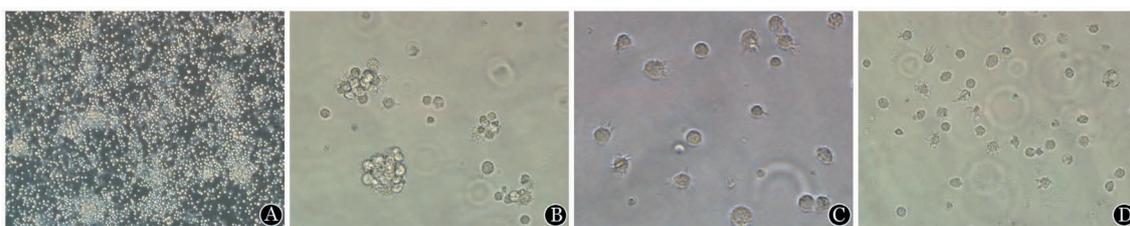


图1 光学显微镜下观察小鼠骨髓单个核细胞诱导培养不同时间的形态
A:培养48 h后所见集落(低倍);B:培养4 d后所见集落边缘毛刺样细胞(高倍);C:培养第5天所见未成熟树突状细胞(高倍);D:经1 μ g/ml脂多糖刺激24 h后(培养第6天)所见成熟树突状细胞(高倍)

图1 光学显微镜下观察小鼠骨髓单个核细胞诱导培养不同时间的形态

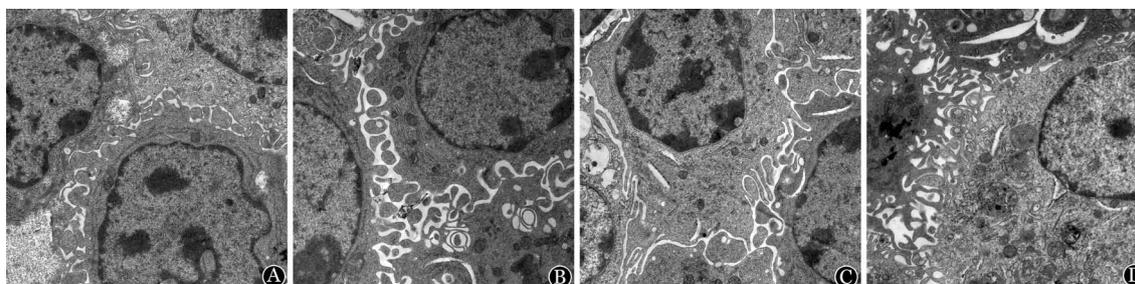


图2 透射电镜观察Belinostat作用下树突状细胞(DC)超微结构
A:未成熟DC(imDC);B:100 nmol/L Belinostat+imDC;C:成熟DC(mDC);D:100 nmol/L Belinostat+mDC

图2 透射电镜观察Belinostat作用下树突状细胞(DC)超微结构

Belinostat 作用下 mDC 表面共刺激分子 CD80 及 MHC II 类分子的表达率分别为 (75.89±4.32)% 和 (66.66±3.56)%，均明显低于 mDC 组的 (83.91±2.68)% 和 (73.35±2.50)% (*t* 值分别为 -2.732、-2.664, *P* 值分别为 0.041、0.045)。在 imDC 组, Belinostat 对其免疫表型作用的影响不明显 (图 3)。

4. Belinostat 对 DC 趋化迁移能力的影响: 见表 1。0、50、100 nmol/L Belinostat 作用的 imDC 表面 CCR7 表达水平组间比较差异有统计学意义 (*F* = 28.344, *P* = 0.001)。两两比较结果显示 50、100 nmol/L Belinostat 作用的 imDC 表面 CCR7 表达水平均明显低于 imDC 组。0、50、100 nmol/L Belinostat 作用的 mDC 表面 CCR7 表达水平组间比较差异有统计学意义 (*F* = 10.050, *P* = 0.012)。两两比较结果显示 50 nmol/L Belinostat+mDC 组明显高于 mDC 组。mDC 组 CCR7 的表达水平高于 imDC 组, 差异有统计学意义 (*t* = 4.319, *P* = 0.008)。体外趋化实验结果表明, Belinostat 可下调 CCL19 对 imDC 及 mDC 的迁移率, 但在 imDC 中差异无统计学意义。

5. Belinostat 对 DC 刺激异基因淋巴细胞增殖能力的影响: 结果详见表 2。当刺激细胞: 反应细胞为 1:2 时, 100 nmol/L Belinostat+imDC 刺激下淋巴细胞增殖率低于 imDC 组, 差异有统计学意义。而 Belinostat-mDC 刺激下淋巴细胞增殖率的变化无统计学意义。

6. Belinostat 对 DC 分泌细胞因子能力的影响: 随着药物浓度的增加, Belinostat 抑制 mDC 分泌细胞因子的作用越明显 (表 3)。

7. Belinostat 对 DC 中 RelB mRNA 表达水平的

表 1 不同浓度 Belinostat 对树突状细胞(DC)趋化迁移能力的影响 (% , $\bar{x}\pm s$)

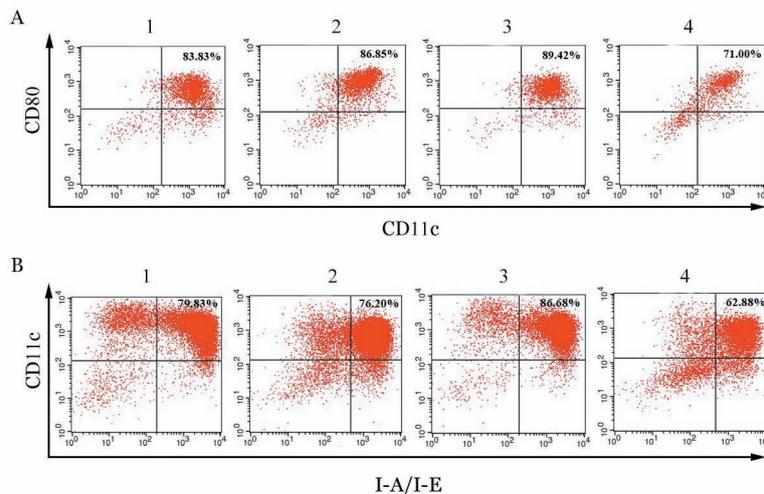
组别	CCR7 表达水平	细胞迁移率
imDC 组	50.44±5.61	16.61±9.09
50 nmol/L Belinostat+imDC 组	25.82±7.25 ^a	13.15±7.62
100 nmol/L Belinostat+imDC 组	18.71±2.00 ^a	10.65±6.35
<i>F</i> 值	28.344	0.445
<i>P</i> 值	0.001	0.660
mDC 组	64.90±1.47	23.36±6.47
50 nmol/L Belinostat+mDC 组	71.14±1.96 ^b	14.54±1.49
100 nmol/L Belinostat+mDC 组	68.18±1.65	12.42±1.77
<i>F</i> 值	10.050	6.417
<i>P</i> 值	0.012	0.032

注: imDC: 未成熟 DC; mDC: 成熟 DC。与 imDC 组比较, ^a*P* < 0.05; 与 mDC 组比较, ^b*P* < 0.05。每组设 3 个复孔, 实验重复 3 次

影响: 以 imDC 和 mDC 的 RelB mRNA 表达水平分别为 1, 50 和 100 nmol/L Belinostat+imDC 组 RelB mRNA 相对表达水平分别为 0.84±0.17、0.73±0.15, 均低于 imDC 组, 但组间比较差异无统计学意义 (*F* = 3.228, *P* = 0.112)。50 和 100 nmol/L Belinostat+mDC 组 RelB mRNA 相对表达水平分别为 0.89±0.07、0.88±0.05, 组间比较差异有统计学意义 (*F* = 5.838, *P* = 0.039); 两两比较结果显示 50 和 100 nmol/L Belinostat+mDC 组 RelB mRNA 相对表达水平均低于 mDC 组 (*P* 值均 < 0.05)。

讨 论

DC 是目前已知功能最强大的专职抗原递呈细胞, 可以引起初始 T 细胞活化、分化或者耐受, 这种不同的作用与 DC 的成熟状态有关, mDC 能刺激免疫应答, 而 imDC 则介导特异性的免疫耐受^[9]。阻止



1: 未成熟 DC(imDC); 2: 100 nmol/L Belinostat+imDC; 3: 成熟 DC(mDC); 4: 100 nmol/L Belinostat+mDC

图 3 Belinostat 对各组树突状细胞表面共刺激分子 CD80(A)、MHC II 类分子(B)的影响

表2 混合淋巴细胞反应中树突状细胞(DC)刺激淋巴细胞增殖情况(% , $\bar{x}\pm s$)

组别	刺激细胞:反应细胞		
	1:2	1:5	1:10
imDC组	309.49±53.69	231.83±63.57	145.17±55.59
50 nmol/L Belinostat+imDC组	242.26±34.32	161.98±34.70	126.72±32.84
100 nmol/L Belinostat+imDC组	227.09±13.49 ^a	160.65±31.09	119.21±35.56
F值	2.328	1.915	1.107
P值	0.179	0.227	0.390
mDC组	346.05±51.58	239.74±77.90	154.97±37.63
50 nmol/L Belinostat+mDC组	391.42±50.69	264.70±70.37	208.24±68.76
100 nmol/L Belinostat+mDC组	320.93±37.04	257.22±96.71	147.52±38.12
F值	0.304	0.054	1.023
P值	0.748	0.948	0.415

注:imDC:未成熟DC;mDC:成熟DC。与imDC组相比,^a $P < 0.05$ 。每组设3个复孔,实验重复3次

表3 Belinostat作用下mDC培养上清中细胞因子浓度(pg/ml, $\bar{x}\pm s$)

组别	TNF- α	IL-12	IL-10
mDC组	113.83±10.99	110.91±3.32	20.87±1.56
50 nmol/L Belinostat+mDC组	86.59±4.72	58.07±3.00	15.56±0.43
100 nmol/L Belinostat+mDC组	65.07±4.36 ^a	39.41±2.23 ^a	9.57±1.11 ^a
F值	33.159	495.244	74.702
P值	0.001	<0.001	<0.001

注:mDC:成熟树突状细胞。与mDC组相比,^a $P < 0.05$ 。每组设3个复孔,实验重复3次

DC细胞成熟或维持其不成熟状态是诱导免疫耐受的关键^[10-11],调节DC免疫功能有可能成为诱导免疫耐受新的有效手段。随着对HDAC在基因转录调控中作用机制认识的深入,HDAC抑制剂显示出的免疫调节作用逐渐倍受关注^[12-13]。HDAC抑制剂是否能够通过调节DC功能治疗GVHD及免疫性疾病,为此,我们进行了Belinostat对DC生物学功能变化及影响的相关研究。

过往HDAC抑制剂对DC的研究仅限于免疫表型和光镜下形态^[13-14],我们首次通过透射电镜从超微结构上观察到随着DC的成熟而逐渐增多的突起状结构在Belinostat作用下有回缩现象,同时Belinostat对mDC表面的共刺激分子CD80、MHC II类分子表达也有下调,提示Belinostat可能从超微结构上影响DC的成熟进程从而调节其免疫表型。在DC成熟过程中,其细胞膜上CCR7表达上调,通过与其配体CCL21(SLC)和CCL19(MIP-3B)结合,在趋化DC从外周组织迁移至次级淋巴器官中起关键作用^[15-16]。本研究中,Belinostat能够下调imDC中CCR7的表达,趋化迁移能力亦有下降,而对mDC的影响主要是抑制其迁移作用,推测Belinostat对阻止imDC趋化、成熟起一定的作用。这与Kim等^[17]报道的曲古抑菌素A、丁酸钠通过降低imDC细胞表面CCR1的表达而抑制迁移的作用

意义相一致。此外,Belinostat可减弱imDC刺激异基因T淋巴细胞增殖的能力,imDC表面缺乏共刺激分子,不能提供T淋巴细胞活化必需的第二信号,导致T淋巴细胞无能或凋亡,因而表现为一定的致耐受性。

当接受抗原刺激后,DC可分泌一些促炎症反应和T细胞分化的细胞因子,如IL-12、IL-6、TNF- α 、IFN- γ 等,尤其是IL-12,其分泌水平是DC成熟的重要标志,它可以刺激Th0细胞向Th1细胞分化,对诱导初始T细胞产生Th1型免疫应答有重要影响^[18]。我们的研究结果显示,50 nmol/L Belinostat即可下调mDC分泌IL-12、IL-10和TNF- α ,随着药物浓度的增加,Belinostat抑制mDC分泌TNF- α 、IL-10等细胞因子的作用越明显。这与Nencioni等^[13]研究证实的Entinostat和丙戊酸能够减少DC分泌IL-12的结果一致。提示Belinostat通过下调DC分泌细胞因子、抑制炎性细胞因子的释放在调节T细胞分化、抑制NK细胞激活及炎症反应中发挥重要作用。Entinostat、Dacinostat和丙戊酸可抑制DC介导的Th1效应细胞的活化与迁移,而对Th2细胞无作用^[13,19]。不同的是,本研究Belinostat反而抑制了Th2类细胞因子IL-10的产生,这可能与IL-10变化时相的检测时间点不同有关,可取多个时间点检测以进一步了解Belinostat对IL-10等分泌水平的影

响。也说明IL-10的作用是非常复杂的,仅认为IL-10具有免疫抑制性或抗炎效应并不全面。

HDAC抑制剂可影响转录因子的活化,目前发现很多炎症相关因子的表达都受到NF- κ B转录因子的调控^[20]。NF- κ B是一种多效转录因子,NF- κ B家族中的RelB基因与DC成熟关系最为密切^[21-22],是决定DC功能状态的关键因子。HDAC是一个重要的分子开关,控制着核内由NF- κ B引发的生物过程^[23]。本研究我们发现Belinostat对不同成熟状态DC中NF- κ B通路的RelB基因表达均产生影响,即能够降低RelB mRNA的表达水平,提示Belinostat对脂多糖诱导DC成熟的影响与NF- κ B通路有关。表明Belinostat可能通过其对HDAC的抑制作用来调控NF- κ B通路的转录活性,进而影响DC的免疫学功能。

参考文献

- [1] Heinrichs J, Bastian D, Veerapathran A, et al. Regulatory T-cell therapy for graft-versus-host disease [J]. *J Immunol Res Ther*, 2016, 1(1):1-14.
- [2] Huang Y, Feng S, Tang R, et al. Efficacy of pretreatment of allografts with methoxypolyethylene glycol- succinimidyl-propionic acid ester in combination with an anti- OX40L monoclonal antibody in relieving graft-versus-host disease in mice [J]. *Int J Hematol*, 2010, 92(4):609-616. DOI: 10.1007/s12185-010-0701-y.
- [3] Jin Y, Fuller L, Ciancio G, et al. Antigen presentation and immune regulatory capacity of immature and mature-enriched antigen presenting (dendritic) cells derived from human bone marrow [J]. *Hum Immunol*, 2004, 65(2): 93-103.
- [4] Chorny A, Gonzalez-Rey E, Fernandez-Martin A, et al. Vasoactive intestinal peptide induces regulatory dendritic cells that prevent acute graft-versus-host disease while maintaining the graft-versus-tumor response [J]. *Blood*, 2006, 107(9): 3787-3794.
- [5] 谷红红, 黄一虹, 武家庆, 等. 小鼠骨髓来源调节性树突状细胞的体外培养及鉴定 [J]. *国际输血及血液学杂志*, 2014, 37(1): 5-10. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1673-419x.2014.01.002.
- [6] Huang Y, Feng S, Xu Y, et al. Suppression of graft-versus-host disease and retention of graft-versus-tumour reaction by murine genetically engineered dendritic cells following bone marrow transplantation [J]. *Mol Med Rep*, 2015, 11(5): 3820-3827. DOI: 10.3892/mmr.2014.3123.
- [7] 李德鹏, 武家庆, 黄一虹, 等. 趋化因子受体7基因修饰的未成熟树突细胞对小鼠移植植物抗宿主病的作用研究 [J]. *中华血液学杂志*, 2013, 34(9): 782-787. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2013.09.010.
- [8] Lee HZ, Kwitkowski VE, Del Valle PL, et al. FDA Approval: Belinostat for the treatment of patients with relapsed or refractory peripheral T-cell lymphoma [J]. *Clin Cancer Res*, 2015, 21(12):2666-2670. DOI: 10.1158/1078-0432.CCR-14-3119.
- [9] Cools N, Ponsaerts P, Van Tendeloo VF, et al. Balancing between immunity and tolerance: an interplay between dendritic cells, regulatory T cells, and effector T cells [J]. *J Leukoc Biol*, 2007, 82(6): 1365-1374.
- [10] Fukaya T, Takagi H, Taya H, et al. DCs in immune tolerance in steady-state conditions [J]. *Methods Mol Biol*, 2011, 677: 113126. DOI: 10.1007/978-1-60761-869-0_8.
- [11] Maldonado RA, von Andrian UH. How tolerogenic dendritic cells induce regulatory T cells [J]. *Adv Immunol*, 2010, 108:111-165. DOI: 10.1016/B978-0-12-380995-7.00004-5.
- [12] Tao R, de Zoeten EF, Ozkaynak E, et al. Deacetylase inhibition promotes the generation and function of regulatory T cells [J]. *Nat Med*, 2007, 13(11): 1299-1307.
- [13] Nencioni A, Beck J, Werth D, et al. Histone deacetylase inhibitors affect dendritic cell differentiation and immunogenicity [J]. *Clin Cancer Res*, 2007, 13(13): 3933-3941.
- [14] Frikeche J, Peric Z, Brissot E, et al. Impact of HDAC inhibitors on dendritic cell functions [J]. *Exp Hematol*, 2012, 40(10):783-791. DOI: 10.1016/j.exphem.2012.06.008.
- [15] Seth S, Oberdörfer L, Hyde R, et al. CCR7 essentially contributes to the homing of plasmacytoid dendritic cells to lymph nodes under steady-state as well as inflammatory conditions [J]. *J Immunol*, 2011, 186(6): 3364-3372. DOI: 10.4049/jimmunol.1002598.
- [16] Marsland BJ, Böttig P, Bauer M, et al. CCL19 and CCL21 induce a potent proinflammatory differentiation program in licensed dendritic cells [J]. *Immunity*, 2005, 22(4): 493-505.
- [17] Kim YH, Lee JK. Histone deacetylase inhibitors suppress immature dendritic cell's migration by regulating CC chemokine receptor 1 expression [J]. *Cell Immunol*, 2017, 316:11-20. DOI: 10.1016/j.cellimm.2017.02.006.
- [18] Koyama M, Hashimoto D, Aoyama K, et al. Plasmacytoid dendritic cells prime alloreactive T cells to mediate graft-versus-host disease as antigen-presenting cells [J]. *Blood*, 2009, 113(9):2088-2095. DOI: 10.1182/blood-2008-07-168609.
- [19] Brogdon JL, Xu Y, Szabo SJ, et al. Histone deacetylase activities are required for innate immune cell control of Th1 but not Th2 effector cell function [J]. *Blood*, 2007, 109(3):1123-1130.
- [20] Larghi P, Porta C, Riboldi E, et al. The p50 subunit of NF- κ B orchestrates dendritic cell lifespan and activation of adaptive immunity. *PLoS One*, 2012, 7(9):e45279.
- [21] Schoppet M, Henser S, Ruppert V, et al. Osteoprotegerin expression in dendritic cells increases with maturation and is NF- κ B-dependent [J]. *J Cell Biochem*, 2007, 100(6): 1430-1439.
- [22] Koski GK, Lyakh LA, Cohen PA, et al. CD14+ monocytes as dendritic cell precursors: diverse maturation-inducing pathways lead to common activation of NF- κ B/RelB [J]. *Crit Rev Immunol*, 2001, 21(1-3):179-189.
- [23] Aarenstrup L, Flindt EN, Otkjaer K, et al. HDAC activity is required for p65/RelA-dependent repression of PPAR δ -mediated transactivation in human keratinocytes [J]. *J Invest Dermatol*, 2008, 128(5): 1095-1106.

(收稿日期:2017-06-01)

(本文编辑:刘爽)