

## 活体供肾移植后外周血 Treg、Th17 及 Th17/Treg 比值的变化研究

欧欣<sup>1</sup> 张茜<sup>1</sup> 刘洪涛<sup>2</sup> 徐飞<sup>1</sup> 程民<sup>3</sup> 陈军<sup>1</sup> 徐晓玲<sup>1</sup>

**摘要** 目的 检测活体肾移植受者外周血调节性 T 细胞 (Treg) 和辅助性 T 淋巴细胞 17 (Th17) 的比例, 探寻肾移植术后外周血 Treg 细胞、Th17 细胞及 Th17/Treg 比值的动态变化规律。方法 采用前瞻性研究方法, 用流式细胞术分别检测活体肾移植受者术前和术后 1、2、3 周及术后 1、2、3、4、5、6 个月的外周血 Treg 细胞、Th17 细胞比例。结果 Treg 细胞比例在术后第 2 周明显下降 ( $P < 0.05$ ), 术后 2 个月降至最低, 较术前相比下降 68.6% ( $P < 0.05$ ), 术后 6 个月恢复至术前水平。Th17 细胞比例在术后 1 周至 3 周明显升高 ( $P < 0.05$ ), 术后 1 个月恢复至术前水平。移植后第 1 周

Th17/Treg 细胞比值明显升高 ( $P < 0.05$ ), 持续至术后 3 个月, 术后 6 个月恢复至术前水平。术后使用环孢素的受者 Treg 细胞比例在术后 2 个月最低, 下降 67.1% ( $P < 0.05$ ); 术后使用他克莫司的受者 Treg 细胞比例在术后 3 周最低, 下降 80.8% ( $P < 0.05$ ), 均在术后 3 个月开始缓慢上升。CD3<sup>+</sup>T 细胞比例在术后 1 周降低 ( $P < 0.05$ ), 术后 3 周恢复至术前水平。结论 活体肾移植术后免疫细胞处于动态变化。术后 2 周到 5 个月 Treg 细胞比例均明显降低, 其中以术后 2 个月最低。Th17/Treg 细胞比值在术后 1 周到 3 个月均明显升高。他克莫司和环孢素对肾移植术后 Treg 细胞都有抑制作用。

**关键词** 肾移植; 调节性 T 细胞; Th17 细胞

中图分类号 R 699.2

文献标志码 A 文章编号 1000 - 1492(2017) 11 - 1698 - 06  
doi: 10.19405/j.cnki.issn1000 - 1492.2017.11.026

2017 - 06 - 13 接收

基金项目: 安徽省自然科学基金(编号: 1608085MH216)

作者单位: 安徽医科大学附属省立医院<sup>1</sup> 呼吸内科、<sup>2</sup> 器官移植病房、<sup>3</sup> 肿瘤免疫与营养治疗安徽省重点实验室, 合肥 230001

作者简介: 欧欣, 女, 硕士研究生;

徐晓玲, 女, 教授, 主任医师, 硕士生导师, 责任作者, E-mail: xxlahh08@163.com

活体肾移植术无疑已经成为终末期肾脏疾病的最有效治疗策略, 免疫抑制剂的使用进一步提高了

## Expression of MMP-14 and CD31-MVD in colorectal carcinoma and its clinical significance

Ma Jinjiang<sup>1</sup>, Li Zhigang<sup>2</sup>, Hou Jixue<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup> School of Medicine, Shihezi University, Shihezi 832002; <sup>2</sup> Dept of Gastrointestinal and Breast Surgery, The First Affiliated Hospital of School of Medicine of Shihezi University, Shihezi 832002)

**Abstract Objective** To investigate the expression of matrix metalloproteinase-14 (MMP-14) and CD31-MVD in colorectal carcinoma and their clinical significance. **Methods** The expression of MMP-14 and CD31-MVD were detected by immunohistochemistry in 60 cases of colorectal carcinoma and 20 cases of normal tissues from resection margin. The expression of MMP-14 mRNA were detected by qRT-PCR in 20 cases of fresh colorectal carcinoma tissues and normal tissues from resection margin. **Results** ① The expression of MMP-14 and CD31-MVD in colorectal carcinoma tissues were significantly higher than those in the normal tissues from resection margin ( $P < 0.05$ ). ② The expression of MMP-14 and CD31-MVD were correlated with tumor size, depth of invasion, TNM stage and lymph node metastasis ( $P < 0.05$ ), but there was no significant correlation with gender and age of patients. ③ The expression of MMP-14 was positively correlated with CD31-MVD. ④ The expression of MMP-14 mRNA in colorectal carcinoma were significantly higher than that in the normal tissues from resection margin ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The high expression of MMP-14 and CD31-MVD in colorectal carcinoma were closely related to the occurrence, invasion and metastasis of colorectal cancer.

**Key words** colorectal cancer; MMP-14; CD31-MVD; immunohistochemistry; qRT-PCR

移植存活率。但术后并发症的发生使移植功能降低,甚至威胁患者生命。研究<sup>[1-2]</sup>报道实体器官移植术后肺部真菌感染的发病率为5%~43%,活体肾移植术后急性排斥反应的发病率为9.8%<sup>[3]</sup>。近年发现与肾移植术后感染、排斥等免疫过程密切相关的免疫细胞种类越来越多。对肾移植术后免疫细胞的变化研究有助于临床个体化应用免疫抑制药物和早期发现并发症风险。该研究通过对活体肾移植受者外周血调节性T细胞(Treg)、辅助性T淋巴细胞17(Th17)、CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞比例进行监测,旨在探讨免疫细胞的动态变化规律和临床意义,为寻找可应用于临床的免疫指标提供一定线索。

## 1 材料与方法

**1.1 病例资料** 选取2016年4月~9月安徽医科大学附属省立医院移植科接受活体肾移植手术的受者,年龄、性别不限。共有62例患者接受活体肾移植手术,其中拒绝签署知情同意书4例,未随访16例,最后纳入研究42例。其中男31例,女11例,年龄16~53(32.16±8.18)岁。术前均接受正规血液透析或腹膜透析。

纳入标准:①医学伦理学审查通过;②首次器官移植;③签署知情同意书;④使用环孢素A(cyclosporin A, CSA)或他克莫司(tacrolimus, FK506)免疫抑制方案。排除标准:①联合其他器官移植;②患恶性肿瘤和(或)自身免疫性疾病;③HIV阳性;④糖尿病患者;⑤患有支气管扩张等慢性感染性疾病;⑥接受尸体供肾的受者。

### 1.2 仪器及主要试剂

**1.2.1 仪器** 中460R高速冷冻离心机(德国Hettich科学仪器公司);KDC-2046低速冷冻离心机(安徽中科中佳公司);小5424R台式高速离心机(德国艾本公司);BD FACSCalibur流式细胞仪(美国BD公司);3111型二氧化碳培养箱(上海赛默飞世尔公司);VORTEX-5漩涡振荡仪(海门市其林贝尔仪器制造有限公司);3111型Eppendorf微量移液器(德国艾本德公司);CKX31型倒置显微镜[日本奥林巴斯(中国)有限公司];海尔冰箱(青岛海尔股份有限公司);细胞计数板(上海求精生化试剂仪器有限公司)。

**1.2.2 试剂** PE标记的CD3和CD25、FITC标记的CD4、APC标记的Foxp3和白介素(interleukin, IL)-17A、Percp-Cyanine5.5标记的CD8及各自相对

应的小鼠同型抗体均购自美国eBioscience公司;PMA/Ionomycin Mixture(250×)、BFA/monensin Mixture(250×)、FIX&PERM Kit(TH17专用固定破膜剂)购自杭州联科生物技术有限公司;Foxp3/Transcription Factor Staining Buffer Set Kit购自美国BD公司;淋巴细胞分离液购自天津灏洋生物公司;Hyclone改良型RPMI-1640培养基(GE Healthcare Life Sciences)、胎牛血清购自浙江天杭生物公司;PBS粉剂购自北京中杉金桥生物技术有限公司;用于抗原封闭的小鼠血清购自安徽医科大学实验动物中心。

**1.3 实验方法** 根据研究对象手术时间分别留取肾移植受者术前、术后第1、2、3周及第1、2、3、4、5、6个月时间点的外周血标本3~5 ml于肝素钠抗凝管4 h内用淋巴细胞分离液提取外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)并计数。分别标记CD4<sup>+</sup>T细胞和CD8<sup>+</sup>T细胞(同时加入CD3/CD4/CD8抗体)、CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>Treg细胞(先加入CD4/CD25抗体,固定破膜后加入Foxp3抗体)、Th17细胞(先加入CD3/CD4抗体,结合稳定后加入刺激阻断剂置37℃、5% CO<sub>2</sub>培养箱4~6 h,固定破膜后加入IL-17A抗体),孵育结束后洗涤重悬上机检测。

**1.4 统计学处理** 采用FLOWJO 7.6软件分析流式数据,制作Excel表录入所有实验数据及临床资料,并按公式计算CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T/CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T细胞比值和Th17/Treg细胞比值。采用SPSS 17.0软件进行统计分析,符合正态性资料的各组间及两两比较采用单因素方差分析(One-way ANOVA)和Student-Newman-Keuls检验,不符合正态性资料的比较采用非参数检验(Kruskal-Wallis和Mann-Whitney U检验),统计结果用 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。采用Graphpad 6.0软件制作统计图表。

## 2 结果

**2.1 临床资料** 所有研究对象术后免疫诱导方案使用甲强龙,术中使用500 mg,术后当天根据体重使用320 mg(体重<65 kg)或使用500 mg(体重>65 kg),术后第1天(剂量同术后当天)+术后第2天(剂量同术后当天)。联合使用CD25单克隆抗体或兔抗人胸腺淋巴细胞免疫球蛋白。免疫维持期方案分两种:34例使用“CSA+霉酚酸酯+强的松”方案,6例使用“FK506+霉酚酸酯+强的松”方案,另

表 1 肾移植受者各时间点外周血免疫细胞比例(  $\bar{x} \pm s$  )

时间点	n	Treg( % )	Th17( % )	Th17/Treg	CD4( % )	CD8( % )	CD4/CD8
术前	40	6.40 ± 0.42	1.13 ± 0.14	0.18 ± 0.02	62.95 ± 1.94	32.00 ± 1.76	2.40 ± 0.22
术后 1 周	39	6.27 ± 0.76	2.32 ± 0.30*	0.43 ± 0.05*	59.75 ± 2.55	36.00 ± 2.17	2.07 ± 0.32
术后 2 周	37	4.27 ± 0.47*	2.56 ± 0.58*	0.94 ± 0.41*	60.39 ± 3.06	35.81 ± 2.73	2.07 ± 0.23
术后 3 周	37	3.88 ± 1.07*	1.62 ± 0.51*	0.86 ± 0.36*	67.28 ± 3.71	29.70 ± 3.34	2.73 ± 0.42
术后 1 个月	42	2.20 ± 0.21*	0.94 ± 0.14	0.59 ± 0.13*	62.43 ± 1.87	33.91 ± 1.68	2.17 ± 0.18
术后 2 个月	41	2.01 ± 0.21*	1.28 ± 0.41	0.96 ± 0.35*	63.09 ± 1.73	33.36 ± 1.58	2.15 ± 0.16
术后 3 个月	36	3.83 ± 0.40*	1.10 ± 0.13	0.49 ± 0.11*	61.81 ± 1.69	33.87 ± 1.55	2.05 ± 0.16
术后 4 个月	35	5.18 ± 0.52*	1.05 ± 0.21	0.32 ± 0.11	59.81 ± 2.11	35.02 ± 1.79	1.91 ± 0.15
术后 5 个月	35	6.23 ± 0.51*	1.28 ± 0.66	0.32 ± 0.06	64.42 ± 1.90	31.85 ± 1.60	2.22 ± 0.17
术后 6 个月	36	6.40 ± 0.45	0.92 ± 0.17	0.16 ± 0.03	59.20 ± 2.91	36.66 ± 2.68	1.95 ± 0.23
F/H 值	-	15.59	33.74	59.10	0.83	0.86	0.82
P 值	-	0.00	0.00	0.00	0.59	0.56	0.60

与术前比较: \* P < 0.05

有 2 例术后使用“CSA + 霉酚酸酯 + 强的松”方案效果不佳后以“FK506 + 霉酚酸酯 + 强的松”方案替代。受者血清肌酐、尿素氮在术后明显降低,且处于相对稳定水平。术前肌酐平均值为( 931.69 ± 30.43)  $\mu\text{mol/L}$ ,术后 1 周为( 96.77 ± 5.31)  $\mu\text{mol/L}$ ,后维持在( 92 ~ 133)  $\mu\text{mol/L}$ 。术前尿素氮平均值为( 19.98 ± 0.87)  $\text{mmol/L}$ ,术后 1 周 ~ 6 个月波动于( 7.52 ~ 8.70)  $\text{mmol/L}$ 。血清白蛋白、球蛋白及白/球比值无明显变化。

**2.2 外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FOXP3<sup>+</sup> Treg 细胞、Th17 细胞分别占 PBMC 的比例和 Th17/Treg 比值的变化** Treg 细胞比例在术后各时间点变化明显(  $F = 15.59$   $P < 0.05$  ),见图 1、表 1。从移植后第 1 周开始降低,术后 2 周明显低于术前水平,术后 2 个月最低,为术前的 31.4%,见图 2;后缓慢上升但仍低于术前,在术后 6 个月恢复至术前水平。Th17 细胞比例在术后 1 周 ~ 3 周一过性升高(  $H = 33.74$   $P < 0.05$  ),自术后 1 个月开始至术后 6 个月都接近于

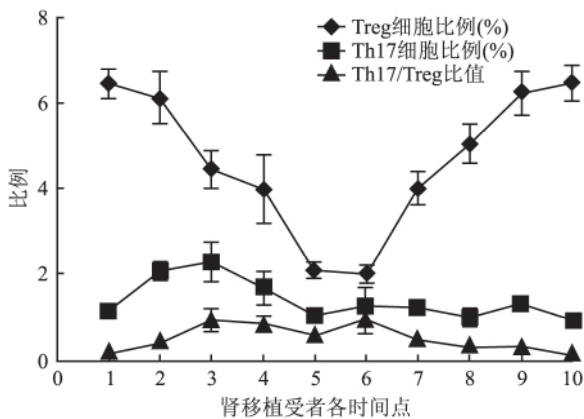


图 1 肾移植受者 Treg 细胞、Th17 细胞比例和 Th17/Treg 细胞比值变化

1: 术前; 2 ~ 4: 术后 1、2、3 周; 5 ~ 10: 术后 1、2、3、4、5、6 个月

术前水平,见表 1、图 1、3。Th17/Treg 细胞比值在移植后第 1 周明显上升,术后 4 个月开始缓慢下降,术后 6 个月接近于术前水平(  $H = 59.10$   $P < 0.05$  ),见表 1、图 1。

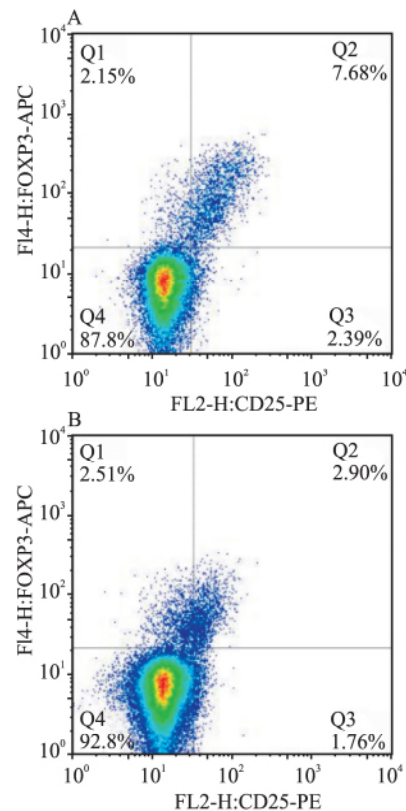


图 2 肾移植受者外周血 Treg 细胞比例  
A: 术前; B: 术后 2 个月

**2.3 外周血 CD3<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞分别占 PBMC 的比例和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值的变化** CD3<sup>+</sup> T 淋巴细胞比例变化明显(  $H = 23.14$   $P < 0.05$  ),在移植后 1 周下降,

与术前水平相比降低 25.8% ,后逐渐升高 ,至术后 3 周恢复术前水平 ,见图 4。

CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞比例和 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞比例在术前、术后各时间点均无明显波动 ,见表 1、图 4; CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞比值平稳波动于 1.95 ~ 2.73 ,见表 1。

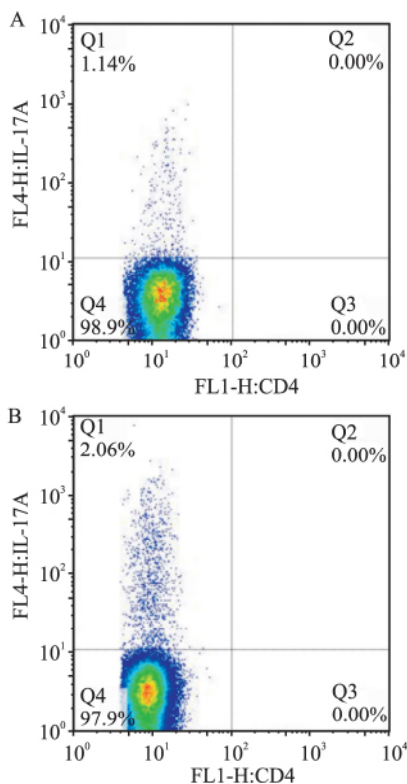


图 3 肾移植受者外周血 Th17 细胞比例  
A: 术前; B: 术后 1 周

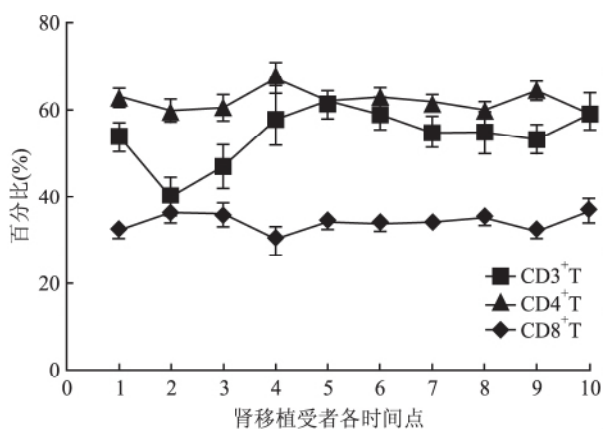


图 4 肾移植术后 T 细胞亚群的比例变化

1: 术前; 2~4: 术后 1、2、3 周; 5~10: 术后 1、2、3、4、5、6 个月

#### 2.4 两种免疫抑制方案对 Treg 细胞比例的影响

使用 FK506 的受者外周血 Treg 细胞比例明显降低 ( $H = 50.40, P < 0.05$ ) ,在术后 3 周降至最低 ,为

( $1.20 \pm 0.29$ )% ,与术前相比下降 80.8%; 使用 CSA 的受者 Treg 细胞比例也明显降低 ( $H = 122.00, P < 0.05$ ) ,术后 2 个月降至最低 ,为 ( $2.11 \pm 0.23$ )% ,与术前相比下降 67.1% ,见图 5。

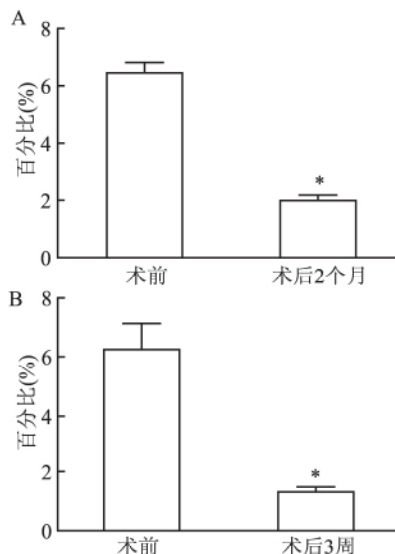


图 5 CSA 和 FK506 对 Treg 细胞的影响  
A: CSA; B: FK506; 与术前比较: \*  $P < 0.05$

### 3 讨论

活体肾移植术后 ,受者肌酐、尿素氮水平恢复正常 ,肾功能得到明显改善是无可置疑的。临床主要采用三联免疫抑制剂联合 CD25 单克隆抗体进行术后免疫治疗。免疫抑制药物所致的免疫状态变化不可忽视。近年发现急性排斥反应、肺部感染、肿瘤等严重并发症的发生皆与免疫细胞的变化有关<sup>[4-5]</sup> ,对活体肾移植术后免疫细胞的动态检测可以反映一定时期内的变化规律。

T 淋巴细胞是淋巴细胞中最庞大的家族。Treg 细胞和 Th17 细胞是近年新发现的 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚群 ,主要参与炎症反应、移植排斥、肿瘤发生等疾病免疫过程<sup>[6-7]</sup>。关于 Treg 细胞在肾移植术后的研究日渐增多。Nikouejad et al<sup>[8]</sup> 研究发现肾移植术后 2 周 Treg 细胞数显著下降 ,术后 6 个月逐渐回升至术前水平 ,并提出糖皮质激素和霉酚酸酯不影响 Treg 细胞的免疫抑制活性。Berglund et al<sup>[9]</sup> 报道 CD4<sup>+</sup>C25<sup>+</sup>CD127<sup>low</sup> Treg 比例在肾移植术后 6 个月内一直是降低的 ,术后 2 年回升至术前水平。前期横断面研究<sup>[10]</sup> 显示肾移植术后 3~6 个月组的受者较术前组和对对照组相比 CD4<sup>+</sup>C25<sup>+</sup>FOXP3<sup>+</sup>T 细胞百分比明显降低。这与本研究观察到的 Treg 细胞比例变化趋势一致。本研究中活体肾移植术后 2 个

月 Treg 细胞降至最低,仅为术前水平的 31.4%,并且在第 6 个月以前一直处于低水平。提示该时期临床上应该特别注意受者免疫功能变化,预防术后早期并发症。国外研究<sup>[11]</sup>显示外周血 Treg 细胞比例降低与 CD25 单克隆抗体的使用有直接关系,同时提出 Treg 细胞功能并不受其影响。本研究样本中的受者均使用 CD25 单克隆抗体,可能 Treg 细胞的低下与之相关,不足之处是未对 Treg 细胞的功能进行分析,后期研究将重点探讨 Treg 细胞功能。也有研究<sup>[12]</sup>报道 Treg 细胞降低与肾移植术后大剂量的钙调磷酸酶抑制剂有关,其会抑制 Treg 细胞增殖,促进 Th17 细胞增殖,进而引起肾功能下降。本研究结果显示术后接受 FK506 和 CSA 治疗的受者 Treg 细胞均降低,FK506 组 Treg 细胞比例在术后 3 周降至最低,CSA 组 Treg 细胞比例在术后 2 个月降至最低。FK506 组的下降幅度似乎比 CSA 组下降幅度更大,但由于两组样本量相差较大,故二者的抑制程度比较需进一步探讨。国外一组研究<sup>[13-14]</sup>显示,与 CSA 组相比,FK506 组的 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup> Treg 细胞比例和抑制转化生长因子(TGF)- $\beta$  水平均更低,且随着 FK506 浓度的上升明显降低,这可能与 FK506 抑制 TGF- $\beta$  这一药理作用有关;TGF- $\beta$  对 Treg 细胞的分化非常关键,是较早时期显示的一种能在外周环境下诱导 Treg 细胞分化的细胞因子。术后随着药物剂量的降低,Treg 细胞均会逐渐回升至术前水平,后期研究可结合血药浓度对 Treg 细胞增殖和活性的影响。国外研究<sup>[15]</sup>也显示肾移植术后 Treg 细胞比例和 Treg/Th17 比值降低,Th17 细胞比例升高,并推测 Treg 细胞可以通过调节 CD4<sup>+</sup>T 效应细胞在发生移植排斥等并发症时发挥作用,表现为 Treg/Th17 细胞轴的失衡。Th17 细胞术后一过性升高可能与术后大剂量免疫抑制剂的促进作用有关<sup>[11]</sup>。Treg 细胞比例的急剧降低,对 Th17 细胞增殖的抑制作用减小也会使 Th17 细胞比例增加<sup>[12]</sup>。分子水平研究<sup>[15]</sup>显示 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>Foxp3<sup>+</sup>T 细胞数与 CD4<sup>+</sup>IFN- $\gamma$ <sup>-</sup>IL-17<sup>+</sup> 细胞数呈负相关性,尽管 Th17 细胞和 Treg 细胞早期分化都需要 TGF- $\beta$ ,当 TGF- $\beta$  和 IL-6 同时存在时,Foxp3 的表达会下调,Th17 细胞会增殖。本研究结果中可以观察到术后短期 Treg 细胞比例明显降低,Th17 细胞比例升高,可能与上述研究提出的细胞之间抑制增殖作用和细胞因子促分化作用有关。但也有不同的观点指出 Treg 细胞会通过消耗 IL-2 来促进 IL-17 的产生<sup>[16]</sup>。这也说明了 Treg 细胞的调节作用是极其复

杂的。已有研究<sup>[17]</sup>提出可以利用 Treg 细胞的这一免疫调节特性探索临床的新免疫疗法。长期免疫抑制方案会导致免疫效应不足。Th17 细胞是公认的免疫效应细胞。Ma et al<sup>[15]</sup>报道肾移植术后 Th17 细胞、Th17/Treg 细胞比值升高均不明显。本研究结果显示在肾移植术后 3 周内 Th17 细胞比例短暂性升高,术后 1~6 个月 Th17 细胞比例保持平稳,但 Th17/Treg 细胞比值升高较明显,可能由于 Treg 细胞比例过于低下导致二者比值升高。因此,长期使用免疫抑制剂的受者应该特别注意物品消毒灭菌,防止与病原菌的接触。Treg 细胞与 Th17 细胞之间的作用并不是单一方向的,研究<sup>[7]</sup>显示 Th17 细胞也可以抑制 Treg 细胞的分化过程,其机制主要通过 ROR $\gamma$ t 转录蛋白降低 foxp3 的转录水平。但是 Li et al<sup>[12]</sup>推测 IL-17 的主要作用是作为一种促炎细胞因子参与中性粒细胞迁移和粒细胞生成,其本身数目变化并不明显。然而,这也不能排除 Th17 细胞功能是否变化,尚需进一步研究。

综上所述,临床上调整免疫抑制剂的同时应该注意监测免疫细胞的动态变化,Treg 细胞比例在活体肾移植术后 6 个月内持续低下,Th17/Treg 细胞比值在术后 3 个月内升高。这可能与术后短期临床并发症的发生有着密切联系,为后期进一步研究临床免疫指标提供线索。

## 参考文献

- [1] Tasaka S, Tokuda H. Pneumocystis jirovecii pneumonia in non-HIV-infected patients[J]. J Infect Chemother, 2012, 6(18): 793-806.
- [2] Struijk G H, Gijzen A F, Yong S L, et al. Risk of Pneumocystis jirovecii pneumonia in patients long after renal transplantation[J]. Nephrol Dial Transplant, 2011, 26(10): 3391-8.
- [3] 朱云松, 沈文, 聂海波, 等. 活体肾移植急性排斥反应的临床特点及转归[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2010, 44(14): 8269-72.
- [4] McKinley L, Logar A J, McAllister F, et al. Regulatory T cells dampen pulmonary inflammation and lung injury in an animal model of pneumocystis pneumonia[J]. Immunol, 2006, 177(9): 6215-26.
- [5] Iwase H, Kobayashi T, Kodera Y, et al. Clinical significance of regulatory T-cell-related gene expression in peripheral blood after renal transplantation[J]. Transplantation, 2011, 91(2): 191-8.
- [6] Liu Z, Fan H, Jiang S. CD4 T cell subsets in transplantation[J]. Immunol Rev, 2013, 252(1): 183-91.
- [7] 周洲, 冯娟, 王宪. 调节性 T 细胞的分化及其影响因素[J]. 生物物理学报, 2012, 28(2): 93-111.
- [8] Nikoueinejad H, Amirzargar A, Sarrafnejad A, et al. Dynamic chan-

- ges of regulatory T cell and dendritic cell subsets in stable kidney transplant patients[J]. *Iran J Kidney Dis*, 2014, 8(2): 130–8.
- [9] Berglund D, Korsgren O, Lorant T, et al. Isolation, expansion and functional assessment of CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> regulatory T cells and Tr1 cells from uremic patients awaiting kidney transplantation [J]. *Transpl Immunol*, 2012, 26(1): 27–33.
- [10] 朱贞贞, 欧欣, 张茜, 等. 肾移植受者早期外周血 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> FoxP3<sup>+</sup> T 细胞、Th17 细胞表达变化 [J]. *安徽医科大学学报* 2016, 51(12): 1828–31.
- [11] Zhao T, Yang C, Xue Y, et al. Impact of basilimab on the proportion of regulatory T cells and their subsets early after renal transplantation: a preliminary report [J]. *Transplant Proc*, 2012, 44(1): 175–8.
- [12] Li Y, Shi Y, Liao Y, et al. Differential regulation of Tregs and Th17/Th1 cells by a sirolimus-based regimen might be dependent on STAT-signaling in renal transplant recipients [J]. *Int Immunopharmacol*, 2015, 28(1): 435–43.
- [13] Askar M. T helper subsets & regulatory T cells: rethinking the paradigm in the clinical context of solid organ transplantation [J]. *Int J Immunogenet*, 2014, 41(3): 185–94.
- [14] Li Y, Shi Y, Huang Z, et al. CNi induced Th17/Treg imbalance and susceptibility to renal dysfunction in renal transplantation [J]. *Int Immunopharmacol*, 2011, 11(12): 2033–8.
- [15] Ma L, Zhang H, Hu K, et al. The imbalance between Tregs, Th17 cells and inflammatory cytokines among renal transplant recipients [J]. *BMC Immunology* 2015, 16: 56.
- [16] Pandiyan P, Conti H R, Zheng L, et al. CD4<sup>(+)</sup> CD25<sup>(+)</sup> Foxp3<sup>(+)</sup> regulatory T cells promote Th17 cells *in vitro* and enhance host resistance in mouse *Candida albicans* Th17 cell infection model [J]. *Immunity*, 2011, 34(3): 422–34.
- [17] Dummer C D, Carpio V N, Goncalves L F, et al. FOXP3<sup>+</sup> regulatory T cells: from suppression of rejection to induction of renal allograft tolerance [J]. *Transpl Immunol*, 2012, 26(1): 1–10.

## Changes of Treg, Th17 and Th17/Treg ratio in peripheral blood after living donor renal transplantation

Ou Xin<sup>1</sup>, Zhang Qian<sup>1</sup>, Liu Hongtao<sup>2</sup>, et al

(<sup>1</sup>Dept of Respiratory Medicine, <sup>2</sup>Dept of Organ Transplantation, The Affiliated Provincial Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230001)

**Abstract Objective** To detect the expression percentages of regulatory T cell (Treg) and T helper 17 cell (Th17) in peripheral blood of living donor renal transplant recipients (RTRs) and to investigate the dynamic change pattern of Treg cell, Th17 cell and Th17/Treg ratio after living donor renal transplantation. **Methods** The study was prospective. The expression percentages of Treg cell and Th17 cell were determined with flow cytometry before transplantation and 1, 2, 3 weeks as well as 1, 2, 3, 4, 5, 6 months after transplantation in living donor RTRs. **Results** ① The percentage of Treg cell decreased significantly in two weeks after transplantation in RTRs ( $P < 0.05$ ). The lowest proportion of Treg occurred in 2nd month after transplantation, which decreased by 68.6% compared with pre-transplantation status ( $P < 0.05$ ). Proportion of Treg cell gradually gained back to baseline in 6th month post-transplantation. The percentage of Th17 cell within 3 weeks post-transplantation significantly increased compared with the pre-transplantation status ( $P < 0.05$ ), and dropped to baseline in one month post-transplantation. The significantly increased ratio of Th17/Treg observed one week post-transplantation last for nearly 3 months ( $P < 0.05$ ) and returned to baseline in 6th month. ② The ratio of Treg in cyclosporine-a treatment RTRs demonstrated the lowest level in 2nd month post-transplantation, which decreased by 67.1% compared with baseline ( $P < 0.05$ ). However, the lowest ratio of Treg in tacrolimus-treated group which decreased by 80.8% compared with the baseline occurred in the 3rd week ( $P < 0.05$ ). Both groups demonstrated a gradual recovery of Treg ratio three months post transplantation. ③ The proportion of CD3<sup>+</sup> T cell dropped to the lowest level within 1 week after transplantation ( $P < 0.05$ ), and rapidly rose to the baseline at the 3rd week. **Conclusion** Immune cell ratio is in a fluctuating status after living donor kidney transplantation. The proportion of Treg cell significantly decreases from 2nd week to 5th month after operation, with the lowest level in 2nd month. The ratio of Th17/Treg significantly increases from 1st week to 3rd month after operation. Both tacrolimus and cyclosporine have inhibitory effects on Treg cell post-transplantation.

**Key words** renal transplantation; regulatory T cell; Th17 cell