刘洋,王超,任晓楠,等. 甲型 H1N1 流感病毒感染年轻和老年 C57BL/6 小鼠诱导肺组织 CD8⁺T 细胞特异性免疫应答的比较研究[J]. 中国实验动物学报, 2021, 29(4): 461-466.
Liu Y, Wang C, Ren XN, et al. Study of the immune responses mediated by specific CD8⁺T cells to influenza A virus H1N1 in the lungs of young and aged C57BL/6 mice [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2021, 29(4): 461-466.
Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2021.04.006

# 甲型 H1N1 流感病毒感染年轻和老年 C57BL/6 小鼠诱导肺组织 CD8⁺T 细胞特异性免疫应答的比较研究

刘洋,王超,任晓楠,李顺,秦波音,杨华,周晓辉*

(复旦大学附属公共卫生临床中心,上海 201508)

**【摘要】 目的** 比较甲型 H1N1 流感病毒 PR8 毒株感染老年和年轻 C57BL/6 小鼠诱导肺组织 CD8⁺T 细胞特异性免疫应答的能力。**方法** 使用 490 PFU 的 PR8 病毒分别滴鼻感染年轻(3 月龄)和老年(24 月龄)C57BL/6 小鼠,连续 14 d 每日记录其体重变化及死亡情况。在感染后第 8 天分离小鼠肺组织细胞,使用流式细胞术(fluorescence-activated cell sorting,FACS)技术检测病毒抗原特异性 CD8⁺T 细胞数量及功能:MHC-I 表位肽四聚体法(tetramer staining)染色流感特异性 CD8⁺T 细胞,细胞内细胞因子染色法(intracellular cytokine staining,ICS)检测 CD8⁺T 细胞经流感病毒特异性肽刺激后分泌细胞因子水平包括 TNF-α、IFN-γ、IL-2 以及与 CD8⁺T 细胞杀伤功能有关的颗粒酶 B(Granzyme B)的水平。**结果** 相同量的 PR8 流感病毒感染小鼠后,老年小鼠体重下降更多,死亡率显著高于年轻小鼠($P < 0.01$)。另一方面,老年组小鼠诱生的病毒特异性 CD8⁺T 细胞比例显著低于年轻组;同时,老年组 CD8⁺T 细胞活化后分泌细胞因子 TNF-α、IFN-γ、IL-2 的水平显著低于年轻组;此外,老年组 CD8⁺T 细胞表达 granzyme B 的水平同样显著低于年轻组。**结论** PR8 流感病毒感染老年和年轻 C57BL/6 小鼠后,老年小鼠肺组织诱导产生的特异性 CD8⁺T 细胞的数量减少且功能降低。结果表明:与年轻小鼠相比,老年小鼠肺组织 CD8⁺T 细胞特异性免疫应答功能受损。

**【关键词】** 甲型流感病毒;病毒特异性 CD8⁺T 细胞;免疫应答
**【中图分类号】** Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2021) 04-0461-06

# Study of the immune responses mediated by specific CD8⁺T cells to influenza A virus H1N1 in the lungs of young and aged C57BL/6 mice

LIU Yang, WANG Chao, REN Xiaonan, LI Shun, QIN Boyin, YANG Hua, ZHOU Xiaohui*

(Shanghai Public Health Clinical Center, Fudan University, Shanghai 201508, China)

Corresponding author: ZHOU Xiaohui. E-mail: zhouxiaohui@shphc.org.cn

**【Abstract】 Objective** To compare the immune response of specific CD8⁺T cells induced by H1N1 Influenza A virus PR8 strain in the lungs of young and aged C57BL/6 mice. **Methods** Young (3 months) and aged (24 months) mice were intranasally infected with 490 plaque-forming units of PR8, then 8 days later, they were euthanized and their lungs collected. Fluorescence-activated cell sorting was used to compare the number and functions of viral antigen-specific CD8⁺T cells between the young and aged mice. Surface staining for the influenza virus MHC-I tetramer was performed to

[**基金项目**] 国家自然科学基金(81471397, 31601908),国家重点研发计划(2016YFD0500208),国家十三五传染病重大专项(2017ZX10304402-001-012, 2017ZX10304402-001-006),上海市公共卫生临床中心院内项目(KY-GW-2019-19,KY-GW-2021-05,KY-GW-2021-38)。
Funded by the National Natural Science Foundation of China (81471397, 81471397), the National Major Projects for Science and Technology (2016YFD0500208), National Major Special Program on Infectious Diseases in the 13th Five-Year Plan (2017ZX10304402-001-012, 2017ZX10304402-001-006), Shanghai Public Health Clinical Center Hospital Project (KY-GW-2019-19, KY-GW-2021-05, KY-GW-2021-38).
[**作者简介**] 刘洋(1993—),男,在读硕士研究生,研究方向:免疫老化 CD8⁺T 细胞对流感病毒感染特异性免疫应答研究。Email: 2810273169@qq.com
[**通信作者**] 周晓辉(1973—),男,研究员,研究方向:新发传染病动物模型构建与免疫机制研究。Email: zhouxiaohui@shphc.org.cn

count the antigen-specific $CD8^+$T cells; and intracellular cytokine staining was used to quantify the cytokines secreted by $CD8^+$T cells in response to influenza-specific peptides, including tumor necrosis factor (TNF-α), interferon-γ, interleukin-2, and granzyme B, which are involved in killing by $CD8^+$T cells. **Results** The proportion of virus-specific $CD8^+$T cells in the aged mice was significantly lower than in the young mice. Moreover, the expression of interferon-γ, TNF-α, and interleukin-2 in activated $CD8^+$T cells from the aged mice was significantly lower than in the young mice. In addition, the level of granzyme B expression on $CD8^+$T cells in the aged mice was significantly lower. **Conclusions** The number of specific $CD8^+$T cells induced by PR8 influenza virus was lower, and their function was impaired in the lungs of aged C57BL/6 mice compared with young mice. This implies that the response by specific $CD8^+$T cells in the lungs of mice is impaired by aging.

【**Keywords**】 influenza A virus; virus-specific $CD8^+$T cells; immune response

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

全球人口正在迅速老龄化,根据世界卫生组织的数据,60 岁以上人口的增长速度超过了其他任何阶段人口,预计到 2050 年,60 岁及以上的人口比例预计将上升至总人口的 22%,人口总数将超过 20 亿[1-2]。衰老常伴随着多种疾病发生,更加剧了人口老龄化的严峻挑战。其中,感染性疾病(如流感等)仍然是老年人发病和死亡的主要原因[3]。当流感病毒从上呼吸道入侵宿主肺部后,往往会造成肺部的炎症病理损伤[4]。而病毒的清除依赖于宿主自身的免疫系统,$CD8^+$T 细胞在病毒清除的过程中扮演着重要角色。$CD8^+$T 细胞在病毒抗原刺激下发生持续的增殖分化,进入效应阶段并生成病毒特异性 $CD8^+$T 细胞,然后迁移至感染部位执行效应功能。特异性 $CD8^+$T 细胞一方面可通过释放穿孔素(perforin)/颗粒酶(granzymes)等直接杀伤细胞,另一方面可通过表面分子(Fas 和 FasL 相互作用)诱导靶细胞凋亡或分泌 IFN-γ 和 TNF-α 等多种细胞因子发挥效应[5-6]。

然而,在衰老过程中,机体免疫功能会发生下降,其中获得性免疫系统在老年个体中变化显著,T 细胞的改变尤为突出;胸腺输出显著减少导致外周幼稚 $CD4^+$T 细胞和 $CD8^+$T 细胞池随着年龄的增长而减少[7-10]。为了研究流感抗原特异性 $CD8^+$T 细胞随着年龄增长本质上的功能变化,本研究在流感病毒感染的靶器官即肺组织中研究了老年和年轻 C57BL/6 小鼠流感特异性免疫应答能力,结果表明了老年小鼠肺组织中产生的病毒特异性 $CD8^+$T 细胞显著减少,并且分泌细胞效应因子以及颗粒酶 B 的水平显著降低。

# 1 材料与方法

## 1.1 材料

### 1.1.1 实验动物

老年鼠(18 月龄以上)[11]:SPF 级 24 月龄 C57BL/6 小鼠 23 只,雌性,体重 28 ~ 34 g;年轻鼠:SPF 级 3 月龄 C57BL/6 小鼠 23 只,雌性,体重 18 ~ 22 g,购于上海西普尔-必凯实验动物有限公司【SCXK(沪)2018-0016】,饲养于上海市(复旦大学附属)公共卫生临床中心实验动物部 SPF 区域【SYXK(沪)2020-0019】中。饲养环境:温度控制于 18 ~ 25℃,湿度恒定,自动光控(昼夜各半交替)。在进行病毒感染前 3 d 将小鼠转移到生物安全二级实验室,对两组小鼠进行分组、标记、体重记录。所有操作均符合上海市公共卫生临床中心实验动物伦理要求(公卫伦审 2018-A60-02 号)。

### 1.1.2 病毒

甲型流感病毒毒株 A/Puerto Rico/8/34 (H1N1)(PR8),由上海兽医研究所李泽君教授赠予。流感病毒经鸡胚和 MDCK 细胞培养滴定后,分装并保存于-80℃冰箱。实验过程中包括病毒感染、感染后取材等具有感染性实验操作均在上海市(复旦大学附属)公共卫生临床中心实验动物部生物安全二级实验室(ABSL-2)中开展(注册备案号:金字第 022006005 号)。

### 1.1.3 主要试剂与仪器

流式抗体(上海优宁维科技生物股份有限公司,Biolegend),四聚体 Flu.$NP_{366-374}/D^b$、四聚体 Flu.$PB1_{703-711}/K^b$、四聚体 Flu.$PA_{224-233}/D^b$(广州好芝生物科技有限公司),BD Cytofix/Cytoperm Plus 固定破膜试剂盒(Biolegend, 555028),I 型胶原酶(Sigma 10104159001),流感肽段 $NP_{366-374}$(ASNENMETM)和 $PA_{224-233}$(SSLENFRAYV)(强耀生物公司,中国)。

流式细胞仪(LSR Fortessa, BD 公司,美国),$CO_2$ 培养箱(3111, Thermo,美国),微量移液枪(Eppendorf,德国),冷冻离心机(Micro 17R, Thermo,美国),生物安全柜(HR40-II A2, Haier,青岛海尔特

种电器有限公司,中国)。

### 1.2　方法

1.2.1　小鼠分组及感染

年轻小鼠和老年小鼠各取 20 只进行感染并进行感染后体重变化记录,在取材时间点各取老年感染组(7 只)、老年对照组(3 只)以及年轻感染组(7 只)、年轻对照组(3 只)。使用异氟烷对小鼠进行麻醉,用移液枪吸取 40 μL 病毒液缓慢滴入到小鼠一侧鼻腔中。感染完成后将小鼠放入独立送风隔离笼具(IVC)中正常饲养。

1.2.2　肺组织单细胞的制备

在感染后第 8 天,分别对感染组老年小鼠和年轻小鼠解剖取肺组织,同时未感染组小鼠各解剖 3 只,按以下方法制备单细胞:

准备干净的培养皿,向其中加入 3 mL R10 培养液,将肺组织放入培养皿中,用高压灭菌的剪刀将肺组织尽可能地剪碎,然后将其转移到 15 mL 离心管中,向管中加入 I 型胶原酶 150 μL,使得酶的工作浓度为 0.5 mg/mL,轻轻混匀后放于 37℃水浴锅中孵育 45 min,每隔 15 min 轻轻混匀 1 次。消化完全后用预冷的 PBS 洗两次,4℃,2000 rpm,离心 5 min,弃上清,收集细胞。

1.2.3　流式细胞术检测病毒特异性 $CD8^+$T 细胞

取上述方法制备的肺组织单细胞,以每个样本表面染色用 $5 \times 10^5 \sim 1 \times 10^6$ 个细胞加样,染色抗体包括 CD8-FITC(1 ∶ 200)、CD44-APC-Cy7(1 ∶ 200)、Flu. $NP_{366}$-PE(1 ∶ 100), Flu. $PB1_{703}$-PE(1 ∶ 200), Flu. $PA_{224}$-PE(1 ∶ 200)。20 μL 染色体系,4℃避光染色30 min,PBS 清洗 2 次,200 μL 染色 buffer 重悬后等待上机;细胞内细胞因子染色:以每孔 $2 \times 10^6$ 个细胞进行铺孔,向细胞中加入流感肽段 $NP_{366-374}$(ASNENMETM)和 $PA_{224-233}$(SSLENFRAYV)按照各 2.5 μg/mL 的浓度与之混匀,按照 1 μL/mL 的比例加入高尔基体阻断剂,混匀后放置于 37℃,5% $CO_2$ 细胞培养箱中培养 5 h,按照各抗体以及 BD Cytofix/Cytoperm Plus 固定破膜试剂盒使用说明书的建议进行染色,流式抗体包括 CD8-FITC(1 ∶ 200)、CD44-APC-cy7(1 ∶ 100)、TNF-α-PE-cy7(1 ∶ 100)、IFN-γ-PE(1 ∶ 100)、Granzyme B-PB(1∶50)、IL-2-BV605(1∶50)。20 μL 体系,4℃避光染色 30 min。结束后 PBS 清洗 2 次,200 μL 染色 buffer 重悬细胞,过滤后等待上机。后续实验数据通过 Flowjo(V10)软件进行分析。

### 1.3　统计学分析

本实验所有数据采用平均值 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,通过统计学软件 GraphPad Prism 7.0 进行数据的统计学分析,两组数据统计比较采用非配对 $t$ 检验统计分析,生存实验用 log-rank(Mantel-Cox)分析,$P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2　结果

### 2.1　PR8 流感病毒感染 C57BL/6 年轻小鼠和老年小鼠后体重变化和生存率的比较

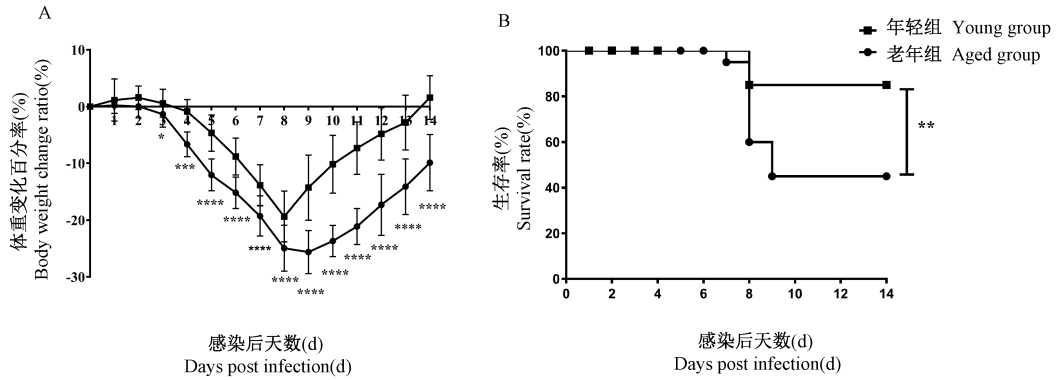
本研究使用 490 PFU PR8 流感病毒分别滴鼻感染 3 月龄年轻 C57BL/6 小鼠和 24 月龄的老年 C57BL/6 小鼠,连续观察 14 d,每天记录体重变化情况及死亡情况。图 1A,1B 分别对应体重变化曲线和生存曲线。体重变化曲线结果显示:在感染后的第 3 天,与年轻小鼠相比,老年小鼠体重开始显著下降。第 4 天开始,两组小鼠体重均逐渐减少,并且老年小鼠体重下降率显著高于年轻小鼠。年轻小鼠和老年小鼠分别在感染后第 8 天与第 9 天体重下降到最低,此后,两组小鼠体重开始恢复。生存曲线结果显示老年组小鼠生存率显著低于年轻组小鼠($P < 0.01$)。结果提示老年小鼠感染 PR8 流感病毒后,小鼠体重损失及死亡更严重。

### 2.2　流感病毒感染后年轻组和老年组小鼠诱生病毒特异性 $CD8^+$T 细胞水平的比较

为探究甲型 HIN1 流感病毒 PR8 感染 C57BL/6 年轻鼠和老年鼠后肺组织诱发的特异性 $CD8^+$T 细胞免疫应答的差异,在感染后第 8 天解剖小鼠取肺,通过流式细胞术检测了不同的流感病毒抗原表位包括 $NP_{366-374}$、$PA_{224-233}$、$PB1_{703-711}$共同诱导产生的病毒特异性 $CD8^+$T 细胞比例(见图 2)。对 $CD8^+$T 细胞亚群设门分析,分析流感抗原特异性 Tetramer 阳性细胞群。结果表明老年组诱生的病毒特异性 $CD8^+$T 细胞的比例 1.39% ± 0.41%显著低于年轻组 4.58% ± 1.25%($P < 0.01$)。可知在肺组织中老年组能够诱生病毒特异性 $CD8^+$T 细胞的能力受损。

### 2.3　流感病毒感染后年轻组和老年组小鼠活化 $CD8^+$T 细胞产生细胞因子水平的比较

利用流感病毒肽段 $NP_{366-374}$(ASNENMETM)和 $PA_{224-233}$(SSLENFRAYV)对制备好的肺组织单细胞进行特异性刺激,通过流式细胞术检测活化后 $CD8^+$T 细胞($CD8^+CD44^{High}$T 亚群)分泌 IFN-γ、TNF-α 和 IL-2 的比例(见图 3)。在分泌 IFN-γ 方面,老年小

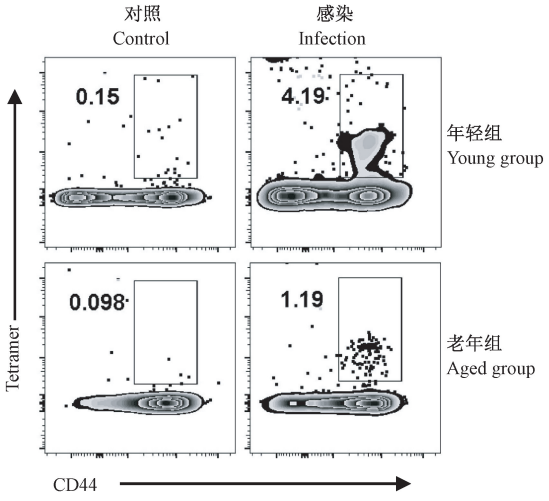



注:A:年轻小鼠与老年小鼠感染 PR8 流感病毒后体重变化;B:年轻小鼠与老年小鼠感染 PR8 流感病毒后生存率。与年轻小鼠相比,$^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.0001$。

**图 1** 年轻小鼠和老年小鼠感染 PR8 流感病毒后体重变化曲线及生存曲线

Note. A. Body weight changes of the young and aged mice infected with PR8 influenza virus. B. Survival rate of the young and aged mice infected with PR8 influenza virus. Compared with young mice, $^{*}P < 0.05$, $^{**}P < 0.01$, $^{***}P < 0.001$, $^{****}P < 0.0001$.

**Figure 1** Body weight changes and survival curves of the young and aged mice infected with PR8 influenza virus




注:数据圈门于 $CD8^+$T 细胞群。

**图 2** 感染后第 8 天年轻和老年小鼠肺组织中病毒特异性 $CD8^+$T 细胞比例比较

Note. Data gated on $CD8^+$T cell population.

**Figure 2** Comparison of the proportion of virus-specific $CD8^+$T cells in lung tissues from young and aged mouse on the $8^{th}$ day after infection

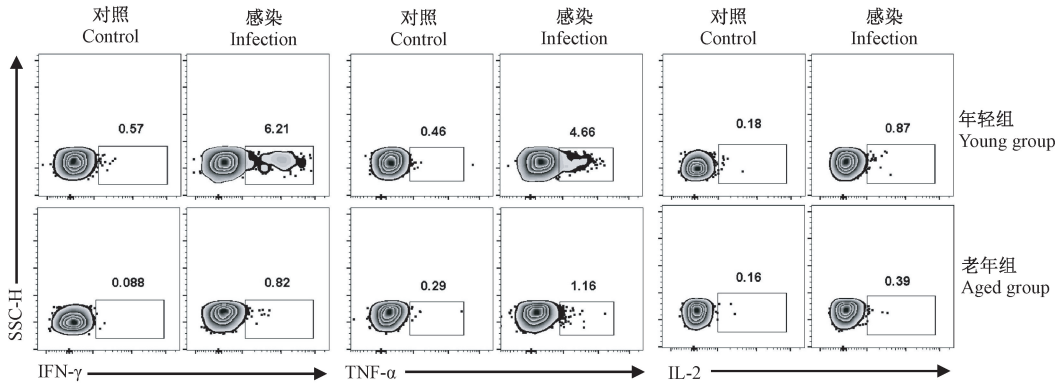
鼠活化的 $CD8^+$T 分泌的比例为 0.58% ± 0.26%显著低于年轻组 6.11% ± 1.64%($P < 0.01$);在分泌 TNF-α 方面,老年组的比例 0.87% ± 0.31%显著低于年轻组 3.96% ± 1.28%($P < 0.01$);此外,老年小鼠活化的 $CD8^+$T 分泌 IL-2 的比例 0.40% ± 0.11%同样显著低于年轻组 0.82% ± 0.36%($P < 0.05$)。因此,在流感病毒第 8 天后,老年小鼠 $CD8^+$T 细胞活化后分泌的细胞因子减少,预示其功能受损,抗病毒能力减弱。

### 2.4 流感病毒感染后年轻组和老年组小鼠活化 $CD8^+$T 细胞产生颗粒酶 B 水平的比较

当流感病毒感染宿主后,$CD8^+$T 细胞在保护机体的过程中除了分泌细胞效应因子外,还会通过释放穿孔素和颗粒酶直接杀伤受感染的靶细胞,从而清除病毒。因此检测了老年和年轻小鼠分泌颗粒酶 B(Granzyme B)的情况(见图 4)。从 $CD8^+CD44^{High}$亚群进行画门分析 Granzyme B 阳性的细胞比例,结果显示:老年组小鼠分泌的颗粒酶 B(Granzyme B)的比例 1.16% ± 0.43%显著低于年轻组 3.84% ± 0.66%($P < 0.01$)。因此,老年小鼠 $CD8^+$T 细胞分泌颗粒酶 B 的能力也受损,预示其清除流感病毒的能力降低。

## 3 讨论

衰老对免疫系统有着深远的影响,免疫系统的固有和适应性免疫应答都随着年龄的增长而呈现功能下降[12-13]。个体对新遇到的感染产生有效的 T 细胞反应和对疫苗接种产生反应的能力与多方面因素有关。例如,从细胞层面而言,T 细胞库(T cell repertoire)多样性维持是其中之一。在老龄化过程中,由于胸腺萎缩老年人循环中 Naïve T 细胞数量明显减少,其分化增殖能力下降、诱生新的 T 细胞记忆反应能力也受损,导致 T 细胞库的多样性减少[14-16],这可能与机体对新遇到的病原体刺激产生初级 $CD8^+$T 细胞反应的能力降低有关。机体对病毒感染的免疫依赖于病毒特异性免疫应答,其中,病毒特异性 $CD8^+$T 细胞免疫应答是清除病毒的关

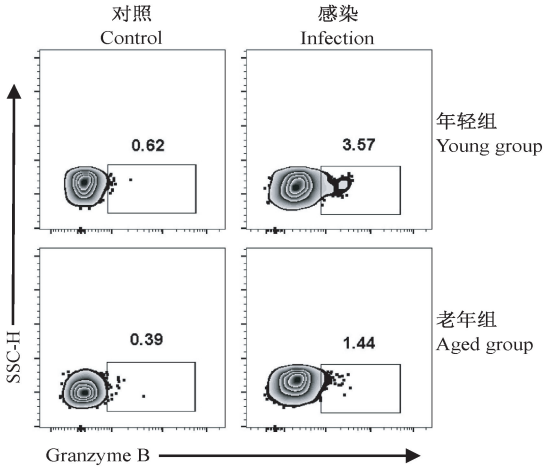



注：数据圈门于 $CD8^+CD44^{High}$ T 细胞群。

**图 3**　感染后第 8 天老年和年轻小鼠肺组织中 $CD8^+CD44^{High}$ 亚群分泌 IFN-γ、TNF-α、IL-2 比较

Note. Data gated on $CD8^+CD44^{High}$T cell population.

**Figure 3**　Comparison of IFN-γ, TNF-α, IL-2 secretion by $CD8^+$ $CD44^{High}$ T cell subpopulation in lung tissues from young and aged mouse on the 8th day after infection




注：数据圈门于 $CD8^+CD44^{High}$ 细胞群。

**图 4**　感染后第 8 天老年和年轻小鼠肺组织中 $CD8^+CD44^{High}$ 亚群分泌 Granzyme B 的比较

Note. Data gated on $CD8^+CD44^{High}$ cell population.

**Figure 4**　Comparison of the Granzyme B secretion by $CD8^+CD44^{High}$ subpopulation in lung tissues from young and aged mouse on the 8th day after infection

键。因此，研究老年宿主 $CD8^+$T 细胞的特异性免疫应答的改变尤其重要。

本研究使用 PR8 病毒分别滴鼻感染 3 月龄 C57BL/6 小鼠和 24 月龄 C57BL/6 老年鼠，在攻毒后第 8 天即效应阶段取小鼠肺组织细胞做流式检测，对流感病毒抗原表位（包括 $NP_{366-374}$、$PA_{224-233}$、$PB1_{703-711}$）诱导产生的病毒特异性 $CD8^+$T 细胞进行检测。结果显示，感染后第 8 天老年组肺中病毒特异性 $CD8^+$T 细胞的比例显著低于年轻组。这表明老年宿主 $CD8^+$T 细胞经过流感病毒的抗原刺激后激活分化能力降低，诱导产生的病毒特异性的 $CD8^+$ T 细胞减少。流感病毒抗原存在多种抗原表位，受感染的宿主 $CD8^+$T 细胞在不同抗原表位刺激下产生能够发挥效应的特异性 $CD8^+$T 细胞[17]。本研究对多种流感病毒抗原表位诱导产生的病毒特异性 $CD8^+$T 细胞比例进行了整体检测，结果表明：老年宿主肺组织产生的病毒特异性 $CD8^+$T 细胞显著降低，更反应出了老年宿主诱生病毒特异性 T 细胞功能整体受损。

流感病毒从上呼吸道感染宿主入侵到肺部后，幼稚的 $CD8^+$T 细胞被树突状细胞激活并从肺部迁移到淋巴结的 T 细胞区，在该处增殖分化为病毒特异性 $CD8^+$T 细胞，病毒特异性 $CD8^+$T 细胞能够产生细胞因子（如 IFN-γ、TNF-α 和 IL-2 等）及效应分子限制病毒复制并清除病毒[18-19]。本团队前期研究发现，在肺组织中检测到老年组活化的 $CD8^+$T 细胞分泌的 IFN-γ、TNF-α 和 IL-2 水平均显著降低。同时，老年组活化的 $CD8^+$T 细胞分泌的 Granzyme B 水平也显著降低。颗粒酶 B（Granzyme B）是细胞毒性 T 淋巴细胞（CTL）和自然杀伤细胞（NK）中丝氨酸蛋白酶家族中的主要效应分子，可进入靶细胞，激活 caspase 级联反应，从而迅速使被感染的靶细胞裂解死亡[20]，在清除病毒过程中发挥着重要的作用。由此可见，老年小鼠活化 $CD8^+$T 细胞在应对流感感染应答过程中分泌效应因子的功能减弱，可能导致病毒清除能力降低。有研究表明流感感染老年和年轻 C57BL/6 小鼠后，老年小鼠肺部病毒清除延迟。年轻小鼠在感染后 10 d 左右肺部病毒滴度处在较低的水平，而老年小鼠依旧维持在一个相对较高的水平[21]。本文的研究结果中，老年小鼠肺组织

CD8⁺T 细胞分泌的细胞效应因子以及具有杀伤功能的效应分子 Granzyme B 均显著降低,这一结果可能解释了老年小鼠肺部病毒清除延迟的原因。

综上,本研究通过流感病毒 PR8 感染小鼠模型,分析了老年和年轻小鼠肺组织 CD8⁺T 细胞应对流感病毒感染特异性免疫应答功能,检测了针对多种流感抗原表位产生的病毒特异性 CD8⁺T 细胞比例,结果表明:老年小鼠 CD8⁺T 细胞分化产生特异性 CD8⁺T 细胞的功能受损;同时老年小鼠 CD8⁺T 细胞分泌细胞因子及效应分子的能力减弱。然而导致老年宿主 CD8⁺T 细胞特异性免疫应答功能减弱的机制还不清楚。T 细胞在免疫应答过程中的转录和翻译调控是分子层面决定其功能的关键环节之一,基因的转录及翻译调控又受到多个方面的影响,如转录因子、组蛋白修饰、DNA/RNA 甲基化等[22]。因此,为改善老年宿主感染流感病毒的结局和预后,上述多个方面在调控老年宿主 CD8⁺T 细胞功能中的研究值得深入探究。

## 参 考 文 献(References)


[1] Gorina Y, Kelly T, Lubitz J, et al. Trends in influenza and pneumonia among older persons in the United States [J]. Aging Trends, 2008, 8(1): 1-11.

[2] Bloom DE, Chatterji S, Kowal P, et al. Macroeconomic implications of population ageing and selected policy responses [J]. Lancet, 2015, 385(9968): 649-657.

[3] Chen WH, Kozlovsky BF, Effros RB, et al. Vaccination in the elderly: an immunological perspective [J]. Trends Immunol, 2009, 30(7): 351-359.

[4] 鲍琳琳, 孙惠惠, 占玲俊, 等. 甲型 H1N1 流感病毒感染小鼠的发病机制 [J]. 中国比较医学杂志, 2011, 21(2): 20-22, 24.
Bao LL, Sun HH, Zhan LJ, et al. Pathogenesis of influenza A (H1N1) virus in infected mice [J]. Chin J Comp Med, 2011, 21(2): 20-22, 24.

[5] Hillaire MLB, Vogelzang-van Trierum SE, Kreijtz JHCM, et al. Human T-cells directed to seasonal influenza A virus cross-react with 2009 pandemic influenza A (H1N1) and swine-origin triple-reassortant H3N2 influenza viruses [J]. J Gen Virol, 2013, 94(3): 583-592.

[6] Grant EJ, Quiñones-Parra SM, Clemens EB, et al. Human influenza viruses and CD8(+) T cell responses [J]. Curr Opin Virol, 2016, 16: 132-142.

[7] Naylor K, Li G, Vallejo AN, et al. The influence of age on T cell generation and TCR diversity [J]. J Immunol, 2005, 174(11): 7446-7452.

[8] Woodland DL, Blackman MA. Immunity and age: living in the past? [J]. Trends Immunol, 2006, 27(7): 303-307.

[9] Clambey ET, White J, Kappler JW, et al. Identification of two major types of age-associated CD8 clonal expansions with highly divergent properties [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(35): 12997-3002.

[10] Yager EJ, Ahmed M, Lanzer K, et al. Age-associated decline in T cell repertoire diversity leads to holes in the repertoire and impaired immunity to influenza virus [J]. J Exp Med, 2008, 205(3): 711-723.

[11] Cohen AA. Aging across the tree of life: The importance of a comparative perspective for the use of animal models in aging [J]. Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis, 2018, 1864(9): 2680-2689.

[12] Decman V, Laidlaw BJ, Dimenna LJ, et al. Cell-intrinsic defects in the proliferative response of antiviral memory CD8 T cells in aged mice upon secondary infection [J]. J Immunol, 2010, 184(9): 5151-5159.

[13] Jiang J, Fisher Erin M, Murasko Donna M. Intrinsic defects in CD8 T cells with aging contribute to impaired primary antiviral responses [J]. Exp Gerontol, 2013, 48(6): 579-586.

[14] Maue AC, Yager EJ, Swain SL, et al. T-cell immunosenescence: lessons learned from mouse models of aging [J]. Trends Immunol, 2009, 30(7): 301-305.

[15] Lang PO, Govind S, Aspinall R. Reversing T cell immunosenescence: why, who, and how [J]. Age (Dordr), 2013, 35(3): 609-620.

[16] Bektas A, Schurman SH, Sen R, et al. Human T cell immunosenescence and inflammation in aging [J]. J Leukoc Biol, 2017, 102(4): 977-988.

[17] Ahmed M, Lanzer KG, Yager EJ, et al. Clonal expansions and loss of receptor diversity in the naive CD8 T cell repertoire of aged mice [J]. J Immunol, 2009, 182(2): 784-792.

[18] Kreijtz JH, Fouchier RA, Rimmelzwaan GF. Immune responses to influenza virus infection [J]. Virus Res, 2011, 162(1-2): 19-30.

[19] Ho AW, Prabhu N, Betts RJ, et al. Lung CD103+ dendritic cells efficiently transport influenza virus to the lymph node and load viral antigen onto MHC class I for presentation to CD8 T cells [J]. J Immunol, 2011, 187(11): 6011-6021.

[20] Jenkins MR, Trapani JA, Doherty PC, et al. Granzyme K expressing cytotoxic T lymphocytes protects against influenza virus in granzyme AB-/- mice [J]. Viral Immunol, 2008, 21(3): 341-346.

[21] Lu J, Duan X, Zhao W, et al. Aged mice are more resistant to influenza virus infection due to reduced inflammation and lung pathology [J]. Aging Dis, 2018, 9(3): 358-373.

[22] Kaliman P. Epigenetics and meditation [J]. Curr Opin Psychol, 2019, 28: 76-80.


[收稿日期] 2021-06-15