Vacc e 27 (2009) 757 764

Contents lists available at ScienceDirect

Vacc e

journal homepage: www.elsevier.com/locate/vaccine

P a c d D a e ad a f ec fic ce a a d a e e e a a ec b a e a B

Y X e[a,b], H X S [a,*], D L [b]

[a]

[b]

A R T I C L E I N F O

Rece ed 4 Se e be 2008
Rece ed e ed f 31 Oc be 2008
Acce ed 3 N e be 2008
A a ab e e 27 N e be 2008

P a c d D (PD)
Ad
He a B face (HB A)
Ce a d a
T 1/T 2 e e e

A B S T R A C T

T e dea ad a f e a B acc e d be ca ab e fe c b a d ce a e e e, e ec a T 1 ce d c c T c e (CTL) e e H e e, A ed a ad a e e a B acc e c c e c a ed ffe a d d ce ed a ed e e. T e ef e, a e e c a a c d D (PD) f e f a be e ed f a a a a e a e ad a . de c a e e ad a ac A , a ec fic ce a a d a e e e e e e a a ed f a a f a c a e a B face (HB A) ad ed PD d A ce. T e C A , LPS , d HB A d ced c e fe a a d e e HB A ec fic I G, I G1, I G2a, d I G2b b d e e HB A ed ce e e fic d ced b PD (< 0.05, < 0.01 < 0.001). PD a fic ed e d c f T 1 (IL 2 d IFN γ) d T 2 (IL 10) c e d e a ed e RNA e e f T 1 c e (IL 2 d IFN γ) d c e f e ce ed HB A (< 0.001). Be de , PD e a ab ea ed e ac e f a a e (NK) ce d CTL f c e e HB A ed ce (< 0.001), c a a e a ca f acc a a a e a B . T e e d ca ed a PD a a ea e b ce a d a e e e d de c a ba ced T 1/T 2 e e a a HB A , d a PD a be e c d da e a ad f e ac c d e a e c e a B acc e.

1. I d c

He a B (HBV) a c . T b e e a e be fec ed HBV, d 360 a e c c fec d de [1]. ce fec ed, 5 10% ad d 25 90% c d d bec e c c e [2]. Ab 25% f HBV c e d e f c c ac e e a , c a e c ce [3]. C c fec HBV a bec e a a ea be d de [4]. N ea c a a ab e f ac e He a B, d a acc e e effec e e f e HBV fec d c e ce [1]. He a B face (HB A) ad bed A e c ed acc e a a HBV, d a be ed f a ea d ce ec a a HBV fec . T ec ed a effec e acc e, ea 10% f acc ee HB A fa de e ec e e e f HB A b d e [5]. T , a ac e e acc a efficac a e ac e .

I e acce ed a b d e e a e a f c ea e HBV d ec a a HBV fec . T e ea e e c ea e d ce a e T 1 ce d CTL e e HBV d e a c a ed a c e (IFN γ, TNF α d IL 2) de e ed a a a e e e d a a fec [6,7]. O a f acc e effec e c d be ac e ed b e e f a a e ad a c c d a ce acc e c e a e f e de [8]. C , a c d (A) a e e acc e ad ed b e F d d D Ad a (FDA) f e , d ed a ad e e a B acc e c c e c a ed. W e A afe, a e a e ea ad a c ed b . M e e , e A ad ed e e a B acc e a d T 2 ad a ca effec e d ce I G1 b d e e , b a e a c a ed T 1 e e e [9]. F e e, A a a ce ed a ed e e e , d a ac e b c ac a d d ffe a f CD8+ CTL f

* C e d a . Te .: +86 571 8697 1091; fa : +86 571 8697 1091.
@ .ed (H. X. S).

0264 410X/$ ee f a e 2008 E e e L d. A e e ed.
d :10.1016/ acc e.2008.11.029

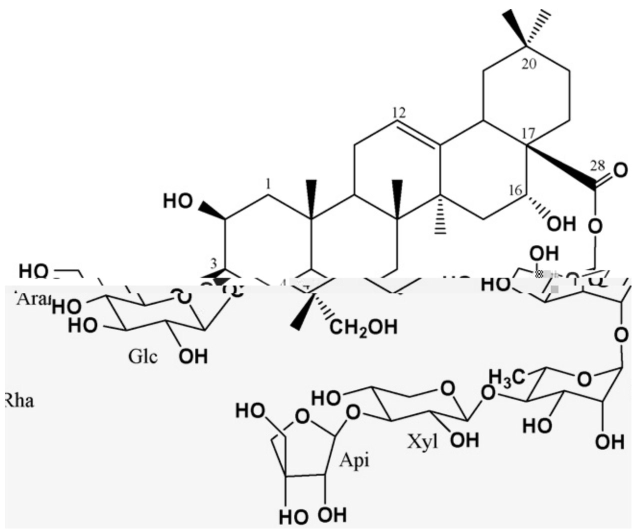


Fig. 1. C e ca c e f a c d D (PD, $C_{57}H_{92}O_{28}$, MW: 1224.5854) f e f . I c e a e c da ed e ba f c e ca d ec a e d ce c d a ec e d c ea a e c e a ce ec c . A , β D a f ; A a, α L a ab ; G c, β D c ; R a, α L a ; X , β D .

a HB A [10]. I add , A e cca a ca eac a e e f ec d a e a

S ed c ec ed f e HB A ed ce de a e c c d , Ha ba ced a (HBSS, S a), a ced a a f c d a ed af e ee e b a a e ce , d e e c e e e ed a c de (0.8%, /). Af e c f a (380 × a 4 °C f 10), e e e ed ce e e a ed ee e PBS, d e ded c e e ed . Ce be e e c ed a e c e e b b e d e e c ec e. Ce ab e ceeded 95%. S c e e e eeded ee f e f a 96 e fla b c e a e (N c) a 5 × 10^6 ce / 100 μ c e e ed , e e af e C A (fi a c c a 5 μ /), LPS (fi a c c a 10 μ /), HB A (fi a c c a 4 μ /), ed e e added a fi a e f 200 μ . T e a e e e c ba ed a 37 °C a d a e e 5% CO_2. Af e 44 (f C A d LPS) 68 (f HB A), 50 μ f MTT (2 /) a added eac e d c ba ed f f e 4 . T e a e e e c f ed (1400 × 5) d e f ed MTT a e ed ca ef b e 150 μ f a DMSO (S a, USA) (192 μ DMSO 8 μ 1N HC) a added eac e , d e ab ba ce a e a a ed ELISA eade a 570 af e 15 . T e a de (SI) a ca c a ed ba ed e f f a: SI = e ab ba ce a e f c e d ded b e ab ba ce a e f a ed c e .

fi

HB A ec fic I G, I G1, I G2a, d I G2b b d e e a e e de ec ed d d a e a e b d ec ELISA. b ef, c e a e e e e c a ed 100 μ HB A (2 μ / 50 M ca b a e b ca b a e b ffe , H 9.6) f 24 a 4 °C. T e e e e a ed ee e PBS c a 0.05% (/) T e 20 (PBS/T e), d b c ed 5% FCS/PBS a 37 °C f 2 . Af e ee a , 100 μ f a e e f d ed e a a e 0.5% FCS/PBS a c e e added ca e e . T e a e e c ba ed f 2 a 37 °C, f ed b ee e f a . A f 100 μ f abb e I G e ad e da e c a e d ed 1:20,000, a e I G1 e da e c a e 1:16,000, I G2a e da e c a e 1:8000, d I G2b e da e c a e 1:8000 0.5% FCS/PBS e e added eac a e. T e a e e e f e c ba ed f 2 a 37 °C. Af e a , e e da e ac a a a ed a f : 100 μ f b a e (10 f ed a e d 37.5 μ f 30% H_2O_2 25 f 0.1 M c a e a e b ffe , H 5.0) a added eac e . T e a e a c ba ed f 10 a 37 °C, d e eac a e a ed b add 50 μ / e f 2N H_2SO_4. T e ca d a ea ed ELISA eade a 490 , e e f e a a e a e be b ec ed d be e c a , ELISA a a e e e f ed e a e da f a f e a e .

T e NK ce ac f e a de e ed a C 96R N Rad ac e C c A a K (P e a). YAC 1 ce e e ed a a e ce d eeded 96 e U b c e a e a 4 × 10^4 ce / e RPMI 1640. S c e e a ed a de c bed ab e e e ed a e effec ce d e added a 2 × 10^6 ce / e e E/T a 50:1. Eac e a e ea ed f e . T e a e a c f ed a 250 × f
○

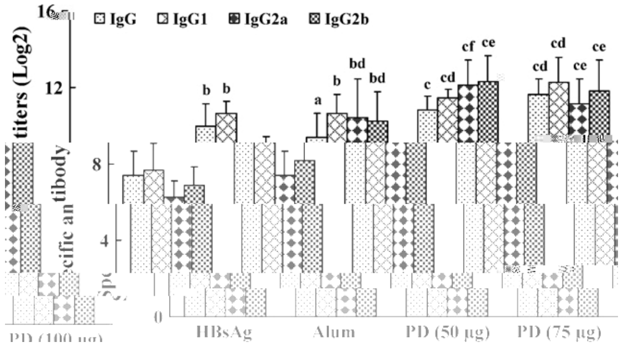
Tab e 1
Se ce f ed f ea e a e RT PCR.

Ge e	P e e ce	P d c e/b	Acc .
GAPDH	5 AAATGGTGAAGGTCGGTGTG 3 5 TGAAGGGGTCGTTGATGG 3	108	NM_001001303
IL 2	5 GCACCCACTTCAAGCTCCA 3 5 AAATTTGAAGGTGAGCATCCTG 3	174	NM_008366
IFN γ	5 CGGCACAGTCATTGAAAGCCTA 3 5 GTTGCTGATGGCCTGATTGTC 3	199	NM_008337

GAPDH, ce a de de 3 a e de d a e.

e (ABC). Af e c ba f 30 , a e e e a ed a d de e ed e a e b d e (TMB) a 37 °C f 15 . T e eac a ed b add f 100 μ f . T e ab b ce a ea ed a ELISA eade a 450 .

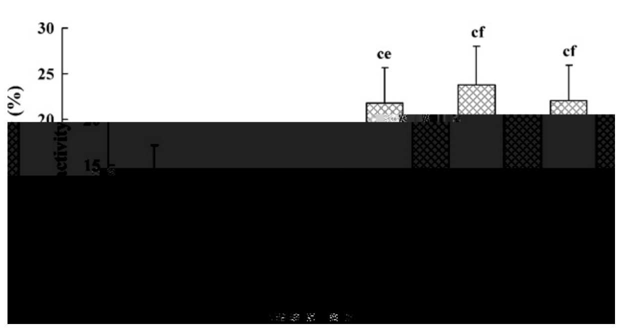
S c e f e ed ce e a ed a de bed bef e e e eeded a 24 e fla b e a e (N c) a 5 × 10[6] ce / 1 c e e ed , e eaf e HB A (fi a c c a 4 μ /) a added a fi a e f 2 (ca e e). T e a e e e c ba ed a 37 °C a d fied a e e 5% CO_2



F . 3. Effec f a c d D (PD) HB A ec fic I G, I G1, I G2a, d I G2b a b d HB A ed ce. Se a e e c ec ed 2 ee af e e a a , d HB A ec fic I G, I G1, I G2a, d I G2b b de e e a e e ea ed b d ec ELISA a de bed e e . T e a e a e e ed a e ± S.E. (= 5). S fic d ffe ce HB A a e e de a ed a a < 0.05, b < 0.01, d c < 0.001; e HB A /A a d < 0.05, e < 0.01, d f < 0.001.

I G1, I G2a, d I G2b b d e e e ea ed 2 ee af e e a a ELISA d e e e F . 3. HB A a e d ced e e f HB A ec fic I G, I G1, I G2a, d I G2b b d . A d PD fic a ced e e HB A ec fic I G d I G1 e HB A ed ce (< 0.05, < 0.01, < 0.001). H e e, e c b a f HB A PD e ec a a d e f 100 μ d ced e e a I G d I G1 e c a ed A d HB A c b a . S fic d a ce HB A ec fic e I G2a d I G2b e e e b e ed PD ed ce c a ed HB A a e (< 0.01 < 0.001). M e e, I G2a d I G2b b d e e ce ed PD e e e e A ea ed ce. T e e e, e e, fic d ffe ce (> 0.05) e e I G2a d I G2b e e be e ce ed HB A /A d HB A a e. T e fi d d ca ed a PD fic a ced e HB A ec fic b d d c ce ed HB A . M e e, b d e d ced b PD ad ed HB A af e ec e e e e c ed b A ad ed acc e.

T e effec f PD NK ce ac ce ed HB A e e F . 4. PD fic a ced e ac f NK ce e HB A ed ce a ee



F . 4. Effec f a c d D (PD) NK ce ac ce ed HB A . S c e e e e a ed 2 ee af e e a a , d a a ed f NK ce ac b e LDH e ea e e d a de bed e e . T e a e a e e ed a e ± S.E. (= 5). S fic d ffe ce HB A a e e de a ed a c < 0.001; e HB A /A a e < 0.01 d f < 0.001.

F . 5. Effec f a c d D (PD) CTL ac ce ed HB A . S c e e e e a ed 2 ee af e e a a , d a a ed f CTL ac b e LDH e ea e e d a de bed e e . T e a e a e e ed a e ± S.E. (= 5). S fic d ffe ce HB A a e d HB A /A e de a ed a c < 0.001 d f < 0.001, e ec e .

d e (< 0.001). T e e e, e e, fic d ffe ce (> 0.05) e ac f NK ce be e ce ed HB A /A d HB A a e. T e fi d d ca ed a PD c d e ac a f NK ce c ac ce ed HB A .

fi

T e effec f PD ec fic CTL ac e HB A ed ce e e F . 5. I a f ce HB A a e d ced e e ec fic CTL ac 2 ee af e e ec da a . Add f A HB A d e f e c ea e HB A ec fic CTL ac ab e e e HB A a e. c a , PD fic a ced e ec fic ac f CTL ce ed HB A a ee d e (< 0.001). T e fi d d ca ed a PD c d e ec fic ac f CTL ce ed HB A .

de a e effec f PD T 1 d T 2 c e e d HB A , c e d c f c e HB A ed ce e e de ec ed ELISA. T e ca b a c e f IL 2, IFN γ, d IL 10 e e c c ed e c e d d , d e c e a c effic e e a b e 0.9980. A F . 6, e c f c e IL 2, IFN γ, d IL 10 e c e a f HB A a ed c e f e ce ed HB A /PD e e fic e e HB A c ce (< 0.01), e a PD fic a ced e d c f e T 1 d T 2 c e HB A ed ce. H e e, A fic ea ed e IL 10 d c e HB A ed ce (< 0.001).

S ce PD fic a ced I G2a d I G2b b d e e d T 1 c e d c , e e ea ed IL 2 d IFN γ RNA e e c e f ce ed HB A . T e c e f e ed ce e e a ed HB A , d a RNA e e e ac ed. Rea e a e RT PCR f IL 2 d IFN γ c e RNA e e e e f ed GAPDH a ed a a a c f e RT PCR eac . A F . 7, e IL 2 d IFN γ RNA e e e ce ed PD e e e

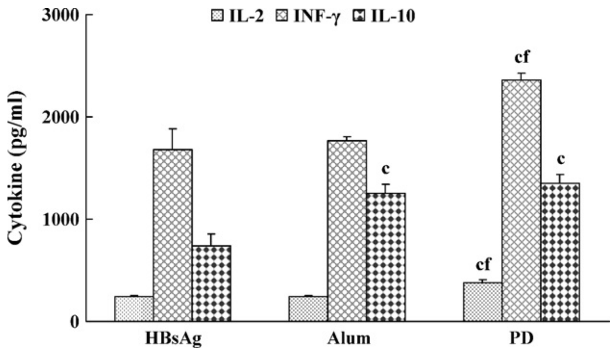


Fig. 6. Effec f a c d D (PD) HB A d ced c e d c c e f e HB A ed ce. S c e e e e a ed 2 ee af e e a a d c ed HB A (f a c c a 4 μ /) f 48 . T e c e e a e e c ec ed, d e c f c e IL 2, IFN γ, d IL 10 e de e ed b ELISA. T e a e a e e ed a e ± S.E. (= 5). S fic d ffe ce HB A a e d HB A /A e e de a ed a ^{c} < 0.001 d ^{f} < 0.001, e ec e .

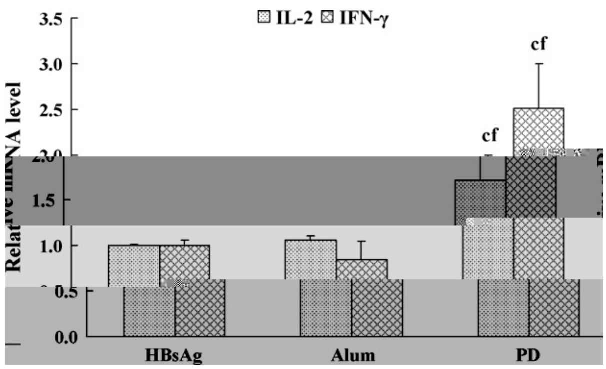


Fig. 7. Effec f a c d D (PD) RNA e e f c e IL 2 d IFN γ c e f e HB A ed ce. S c e e e e a ed 2 ee af e e a a d c ed HB A (f a c c a 4 μ /) f 24 . T e RNA e e e e f GAPDH, IL 2, d IFN γ e e de ec ed b ea e RT PCR ec fic e . T e e a e RNA e e e e a e e ed a e ± S.E. (= 5). S fic d ffe ce HB A a e d HB A /A e e de a ed a ^{c} < 0.001 d ^{f} < 0.001, e ec e .

e e HB A a e d HB A /A (< 0.001). T e e e, e e fic d ffe ce (> 0.05) e IL 2 d IFN γ RNA e e be e ce ed HB A /A d HB A a e. T , d f e c fi ed a PD fic d ced T 1 c e e e b c e f e HB A ed ce.

4. D c

E d ce e c ea e a T 1 T 2 e e, e a ed c a , ca be d a ed de d e ad ed f a [15,16]. T e d ffe T 1 d T 2 e e e fie c e d e ac a f d c a be f T ce c a ac e ed b e a e f c e d c [17]. T 1 e e a e a c a ed IFN γ, IL 2 d IL 12 d c d ce b e c I G2a, I G2b d I G3. T e T 1 e e ca be c e a ed e d c f ce ed a ed [18], c a be de bed a be ca ed f e e a f d fec [19,20]. T 2 e e, c c e a e e e f B ce fe a d d ffe a [21], a e c a ac e ed b e e f c a b de, f a I G1 e, d e e e f e c e IL 4, IL

5, IL 10 d IL 13. F ec e ce a fec d ea e d ffe a d c f T 1 T 2 e e b e ed.

A ed a ad a e e a B acc e c c e c a ed. A ad bed acc e a e be e c e a T 2 e e e, d d ce ce ed a ed . I a e ed a a T 2 ad a, c a A , efficac e c e e d a , e ad d d a ba ced T 1/T 2 e e a a HB A a ab e e c e e d e HB A B10.M ce. Me e, ce a

de a ed a PD d a ed e a f e e e,
d e c ed a ba ced T 1/T 2 e e e HB A ce
a a c a ed e ce f I G2a, I G2b d
I G1 e e [29].
de c ea e ab a T ce de ed c e
e e ed e ad ac f PD, e a ed e
T 1/T 2 c e e e fi e HB A ed ce
ELISA. PD fic ea ed e d c f
T 2 c e IL 10, b a ced e d c
f T 1 c e IL 2 d IFN γ f c e e HB A
ed ce. H IL 2 e e c e a ed e d c
f ec fic ce fe a e e e, e e
e e f IFN γ c e ea e f I G2a d
I G2b b d e . S , e ce ed A d
PD ad e e f IL 10 d c e ded e e e
f I G1 e ce. T e e, e HB A ec fic b d
e d c e fi e c fi a e PD ed a
ba ced T 1/T 2 e e e e, e A a a
c a ed ed T 2 e e e e . de
f e e c da e e ec e b e f e c e
e a f T 1 c e, e ed ea e RT PCR
a e RNA e e A e e 42 e T823 3.1(eR) PD 782021Tf8.62120TD(0.641)T /F11Tf1.050TD0.000145715.5(c

[27] A ad S, F a c A. O e a decade f e e ce a ea ec b e a B acc e. Vacc e 1999;18:57 67.

[28] F e a FD, H e J, Ka a IM, U ba J F, Bec MP, Pa LS, e a . L e c f b e e ec . A Re I 1990;8:303 33.

[29] Ge T, B a M, D a H, He H, Sc E, K be L, e a . e e 12 f d e a e e e f a ec fic c e fi I G2a, I G2b d I G3 b d bc a e . E J I 1995;25(3):8239.

[30] Ra R. B d e ed e a acc e de . Na B ec 2007;25:1361 6.

[31] Re e B, Fe a C, Pa e C, C a FV. T e e a B e f decade af e a ec e f ac e a e a de e ac e a a ce f c c T c e e e. Na Med 1996;2(10):1104 8.

[32] M e a L, B C, Ca C, M a MC, M e a A. H a a e ce f c a ece C O P a ac 2001;1(4):387 91.

[33] O e JS. F a d f c f e c NK ce ca a e. Na Re I 2008;8:713 25.