

DOI: 10.19296/j.cnki.1008-2409.2024-01-002

· 专家论坛 ·

· EXPERT FORUM ·

## 镉暴露诱导小鼠脾脏免疫相关差异表达基因的分析与鉴定

阮嘉诚, 史美琳, 马海燕, 施海峰

(江苏大学生命科学学院, 镇江 212013)

**专家简介** 施海峰, 博士, 教授, 博士生导师, 主要从事金属离子代谢机制及金属离子相关疾病的研究工作。目前是中国微量元素协会、江苏毒理学会、中国制剂学会会员。曾是美国国立卫生研究院访问学者, 曾获南京大学人民奖学金、香港科技大学研究生奖学金、美国国立卫生研究所优秀科研奖; 获“江苏省六大人才高峰”基金资助, 江苏省“333”工程第三层次、江苏省双创项目“江苏省重点创新项目、重点学科、重点实验室、高层次引进人才”、江苏省“新能源创新团队”成员。主持/参与国家自然科学基金面上项目、江苏省自然科学基金面上项目、上海市苏州市开放项目等课题; 发表多篇研究论文和专利, 以第一作者在国际顶级期刊 *Science* 发表铁离子代谢相关论文, 引起巨大反响。



**摘要** **目的** 本研究探讨镉暴露对脾组织的损伤和基因表达的影响, 并探究镉免疫毒性的潜在分子机制。**方法** 采用单次皮下注射氯化镉(5  $\mu\text{mol/kg}$ ) 建立镉暴露小鼠模型, 使用 Synergy H4 混合多模酶标仪检测脾组织中丙二醛(MDA)含量和人 B 淋巴细胞瘤细胞中  $\text{Ca}^{2+}$  含量, 采用 DNA 基因芯片技术检测小鼠脾脏组织中差异表达基因, 采用 GO 富集、KEGG 信号通路和 Reactome 数据库分析镉暴露干扰的免疫相关功能, 采用 RT-qPCR、免疫荧光和免疫印迹等方法验证重要的免疫相关差异表达基因。**结果** 镉暴露干扰细胞的自噬功能, 引起细胞  $\text{Ca}^{2+}$  稳态失衡和组织氧化应激增强。镉暴露产生免疫相关脾脏差异表达基因 934 个, 其中上调的基因 687 个, 下调的基因 247 个。镉暴露干扰调节先天性和适应性免疫系统的 4 个关键基因 *Ppp3ca*、*Plcg2*、*Vav1* 和 *Cd247* 表达。**结论** 镉暴露引起免疫调节关键基因 *Ppp3ca*、*Plcg2*、*Vav1*、*Cd247* 的表达改变可能是小鼠脾脏产生免疫毒性的分子机制。

**关键词:** 镉; DNA 芯片; 免疫毒性; 差异表达基因

中图分类号: R995

文献标志码: A

文章编号: 1008-2409(2024)01-0009-09

基金项目: 国家自然科学基金项目(31071030, 31271272)。

第一作者: 阮嘉诚, 硕士研究生, 研究方向为重金属分子毒理。

通信作者: 施海峰, shihf@ujs.edu.cn。

## Analysis and identification of differentially expressed genes related to spleen immunity induced by cadmium exposure in mice

RUAN Jiacheng, SHI Meilin, MA Haiyan, SHI Haifeng

(College of Life Sciences, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

**Abstract Objective** This study aims to explore the effects of cadmium (Cd) exposure on spleen tissue damage and gene expression, and explore the underlying molecular mechanisms of cadmium immunotoxicity. **Methods** A single subcutaneous injection of CdCl<sub>2</sub> (5 μmol/kg) was used to expose the mouse model. The Synergy H4 hybrid microplate reader was used to detect malondialdehyde (MDA) content in spleen tissue and Ca<sup>2+</sup> content in human B lymphocytoma cells, and the differentially expressed genes in the spleen were identified by DNA microarray analysis. GO enrichment, KEGG signaling, and Reactome pathway database were used to analyze the immune related functions of Cd exposure interference. RT-qPCR, immunofluorescence and Western blot were used to differentially expressed genes. **Results** Cd exposure interferes with the autophagic function of cells, causing Ca<sup>2+</sup> homeostasis imbalance and enhanced oxidative stress in tissues. There were 934 differentially expressed immune-related genes, including 687 up-regulated genes and 247 down-regulated genes. Cd-induced four key immune genes (*Ppp3ca*, *Plcg2*, *Vav1*, *Cd247*) regulated the innate and adaptive immune systems. **Conclusion** The expression changes of key immune regulatory genes (*Ppp3ca*, *Plcg2*, *Vav1*, and *Cd247*) induced by cadmium exposure may be the molecular mechanism of their immunotoxicity to mouse spleen.

**Keywords:** cadmium; DNA microarray; immunotoxicity; differentially expressed genes

镉(Cd)是一种有毒的重金属,也是全球公认的环境污染物。镉暴露是指接触受污染的土壤、空气、水和食物等<sup>[1]</sup>。高剂量的镉可积聚在肺、肾、肝和骨等多个器官中,对其造成损害<sup>[2]</sup>。镉作为一种环境污染参与与先天性、适应性免疫反应和黏膜免疫反应,对人体的免疫调节可能造成严重的不良影响<sup>[3]</sup>。鉴于脾脏在宿主免疫防御中的核心作用,镉对脾脏的免疫毒性受到广泛关注<sup>[4-5]</sup>。本课题组的前期研究表明,镉暴露诱导小鼠脾脏细胞凋亡,抑制 T 细胞中免疫因子的表达<sup>[6-7]</sup>。小鼠产前镉暴露促进 CD4<sup>+</sup> T 细胞增殖,不影响其凋亡<sup>[8]</sup>。但在雄性 Wistar 大鼠中,镉暴露 CD4<sup>+</sup> T 细胞减少<sup>[9]</sup>。这说明镉暴露对不同研究模型的免疫毒性反应存在差异。因此,镉诱导的免疫毒性以及对脾脏的影响还需要进一步研究。

近年来,高通量筛选技术在生物和医学领域的应用发展迅速,其中,基因芯片是一项被广泛应用的

高通量基因检测技术。本研究采用 DNA 基因芯片技术构建镉暴露后小鼠脾脏组织基因的差异表达谱,分析镉诱导的差异表达基因所调控的信号通路,揭示镉胁迫下小鼠基因表达调控的变化,为镉诱导免疫毒性的探索提供研究基础。

## 1 材料和方法

### 1.1 主要的试剂与仪器

人 B 淋巴瘤细胞 Ramos B 购于美国 ATCC 公司;RPMI 1640 培养基购于 Hyclone 公司;氯化钠、氯化镉购于国药集团;丙二醛(MDA)检测试剂盒购于南京凯基生物公司;胎牛血清(FBS)、Fluo-3/AM、DAPI 荧光染料购于中国上海赛默飞世尔科技公司;AceQ Universal SYBR qPCR Master Mix HiScript III RT SuperMix 购于南京诺唯赞生物科技股份有限公司;RIPA 蛋白裂解液购于上海碧云天生物技术有限公司;基因引物、BCA 法蛋白浓度测定试剂盒购于生

工生物工程(上海)股份有限公司;PVDF膜购于上海金畔生物科技有限公司;LC3B抗体、p62抗体、 $\beta$ -Actin抗体购于美国CST公司;ECL发光液购于上海天能生命科学有限公司。

Synergy H4混合多模酶标仪购于美国伯腾仪器有限公司;One Drop<sup>®</sup> OD-1000紫外-可见光全光谱分光光度计购于南京紫晗木科学仪器有限公司;Applied Biosystems QuantStudio 3实时荧光定量PCR仪购于赛默飞世尔科技公司;电泳仪购于北京六一生物科技有限公司;电泳槽及制胶台购于Bio-Rad公司;Tanon成像系统购于上海天能生命科学有限公司。

## 1.2 动物实验

**镉暴露实验:**15只ICR雄性小鼠(8周龄,重约20 g)分成3组,每组5只。对照组(镉的剂量为0):皮下注射0.9%氯化钠注射液,镉暴露组:低剂量组皮下注射5  $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 氯化镉,高剂量组皮下注射10  $\mu\text{mol}/\text{kg}$ 氯化镉。继续喂养24 h后,采集脾脏组织。

**自噬干预实验:**实验分组与所用剂量同镉暴露实验,染毒24 h后,腹腔注射自噬抑制剂3-甲基腺嘌呤(3-MA),剂量为10 mg/kg体重,再喂养24 h后,采用脊椎脱臼法处死小鼠,进行解剖。用镊子剥离小鼠脾脏组织,采用液氮速冻15 s后,保存于-80  $^{\circ}\text{C}$ 冰箱。动物实验获得江苏大学实验动物使用伦理委员会批准(SYXK 2018-0053)。

## 1.3 脾脏组织中镉含量的测定

称取0.4 g脾脏组织样品,用3 mL 65%硝酸消化过夜,定容至5 mL,采用ICP-AES测定脾脏组织样品的镉离子浓度。ICP-AES的工作条件为:雾化气压力200 kPa,辅助气流量1.5 L/min,等离子气流量15 L/min,仪器稳定时间15 s;1次读数时间5 s,读数次数2次,清洗时间10 s,进样延时30 s,泵速15 r/min,功率1 kW;镉的分析线214.439 nm。

## 1.4 组织中丙二醛含量的检测

取脾脏组织样品0.1 g,加RIPA蛋白裂解液1 mL,置冰上裂解后,4  $^{\circ}\text{C}$  13 000 r/min离心15 min,收集上清液,采用BCA法测定总蛋白质浓度。使用Synergy H4混合多模酶标仪,按照丙二醛(MDA)检

测试剂盒说明书检测MDA含量,检测波长532 nm。

## 1.5 Ramos B细胞中游离Ca<sup>2+</sup>检测

1  $\times 10^5$ 个/孔人B淋巴细胞瘤细胞(Ramos B)接种于12孔培养板中培养过夜,氯化镉(5  $\mu\text{mol}/\text{L}$ )处理24 h后,收集细胞;细胞用RMPI 1640培养基(无酚红)洗涤两次,再用浓度1  $\mu\text{mol}/\text{L}$ 的Fluo-3/AM RMPI 1640培养基(无酚红)孵育1 h,孵育温度37  $^{\circ}\text{C}$ ;用培养基洗涤两次后,按1  $\times 10^4$ 个/孔接种96孔培养板,使用Synergy H4混合多模酶标仪检查细胞Ca<sup>2+</sup>含量,检测的激发光波长488 nm,发射光波长535 nm。荧光强度越强,细胞中游离Ca<sup>2+</sup>含量越高。

## 1.6 基因芯片检测基因表达

提取对照组和镉暴露低剂量组小鼠脾脏组织RNA,送晶能生物技术(上海)有限公司分析,采用Illumina的定制MouseWG-6\_V2全基因组寡核苷酸芯片进行检测。样品标记、杂交、洗涤和扫描等均按照制造商的规范操作完成。差异基因的筛选准则:①实验组样品的Diffscore值小于-13或大于13的基因为差异基因。Diffscore按照公式计算,Diffscore =  $10\text{sgn}(I_{\text{cond}} - I_{\text{ref}})\log_{10}(P)$ 。②|Avg/Signal数值的比值| = |低剂量组的数值/对照组的数值| > 2,  $P < 0.05$ ,则该基因为差异表达基因。

## 1.7 生物信息学分析

筛选镉暴露低剂量组与对照组的差异表达基因(比值>2倍,  $P < 0.05$ ),使用NCBI Entrez Gene数据库(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/>)进行注释分析。差异基因通过在线程序DAVID(<https://david.ncifcrf.gov/tools.jsp>)进行功能和通路富集分析。GO富集分析差异表达基因,根据每个条目的 $-\log_{10} P$ 值,选出排序在前的20类基因功能。KEGG信号通路分析差异表达基因,根据每个信号通路的 $P$ 值,选出排序在前的10个KEGG信号通路。通过在线程序Reactome(<https://reactome.org/PathwayBrowser>)分析差异表达基因的生物学作用。

## 1.8 RNA提取和RT-qPCR检测

采用Trizol试剂提取小鼠脾脏组织总RNA,使用One Drop<sup>®</sup> OD-1000检测RNA的质量和浓度。将1 g总RNA进行逆转录,合成cDNA,然后应用实时荧光定量PCR仪(ABI7300系统)进行检测。检

测基因的引物序列如表 1 所示。根据融解曲线和扩增曲线判定数据的可靠性,用人  $\beta$ -Actin 基因作为内参基因。根据靶基因的阈值循环 Ct 值计算其相对含量。

表 1 差异表达基因检测的特异性引物

引物	序列 (5'-3')
Cd247-F	CAAAGCCAGCAGACTCCA
Cd247-R	AGCAGAGTTTGGGATCCAGC
Ppp3ca-F	GTGAAAGCCGTTCCATTCCA
Ppp3ca-R	GAATCGAAGCACCTCTGTATT
Vav1-F	TGTGAGAAGTTCCGGCTCAAG
Vav1-R	CAGAGCAGACAGGCTGTAGAT
Plcg2-F	GTGGACACCCTCCAGAATATG
Plcg2-R	ACCTGCCGAGTCTCCATGAT
Actin-F	AAGCTGTGCTATGTTGCTCTA
Actin-R	GTTTCATGGATGCCACAGGA

## 1.9 免疫印迹

小鼠脾脏组织和 Ramos B 细胞经 RIPA 蛋白裂解液裂解后,4 ℃ 13 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,采用 BCA 法测定总蛋白质浓度。取 40  $\mu$ g 总蛋白制备成检测样品,在 12% 的聚丙烯酰胺凝胶上进行电泳。然后,将凝胶印迹转移到 PVDF 膜上。印迹 PVDF 膜经 5% 脱脂奶粉封闭,使用 LC3B、p62 和  $\beta$ -Actin 的多克隆抗体(1:1 000)室温孵育 2 h。PBST 洗 3 次,每次 10 min;使用与辣根过氧化物酶偶联的山羊抗兔抗体(1:4 000)室温下孵育 1 h, PBST 洗 6 次,每次 10 min;使用高敏 ECL 免疫印迹发光试剂发光,可视化拍照,分析蛋白表达。

## 1.10 免疫荧光染色检测

小鼠脾脏组织石蜡切片,脱蜡后在梯度乙醇中复水。组织切片经 PBST(0.1% 的 Tween 20 PBS)润洗后,3% BSA 封闭;p62 兔多克隆抗体 4 ℃ 孵育过夜(1:50);PBST 润洗后,Alexa Fluor 568 山羊抗兔 IgG(1:200)室温下孵育 1 h,DAPI 染色后,封上盖玻片,在奥林巴斯 IX73 显微镜检测、拍照。

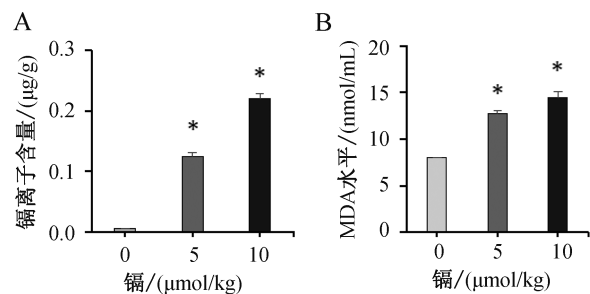
## 1.11 统计学方法

实验数据采用 SPSS 统计软件分析, $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 脾组织中镉和 MDA 含量

腹腔给镉 24 h 后,低剂量组和高剂量组小鼠脾脏组织中镉含量分别为 0.124 43  $\mu$ g/g 组织和 0.221 09  $\mu$ g/g 组织,高于对照组的 0.004 72  $\mu$ g/g 组织,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),如图 1A 所示。低剂量组和高剂量组小鼠脾脏组织中 MDA 浓度分别为 12.713 nmol/mL 和 14.504 nmol/mL,高于对照组的 7.997 nmol/mL( $P < 0.05$ ),如图 1B 所示。



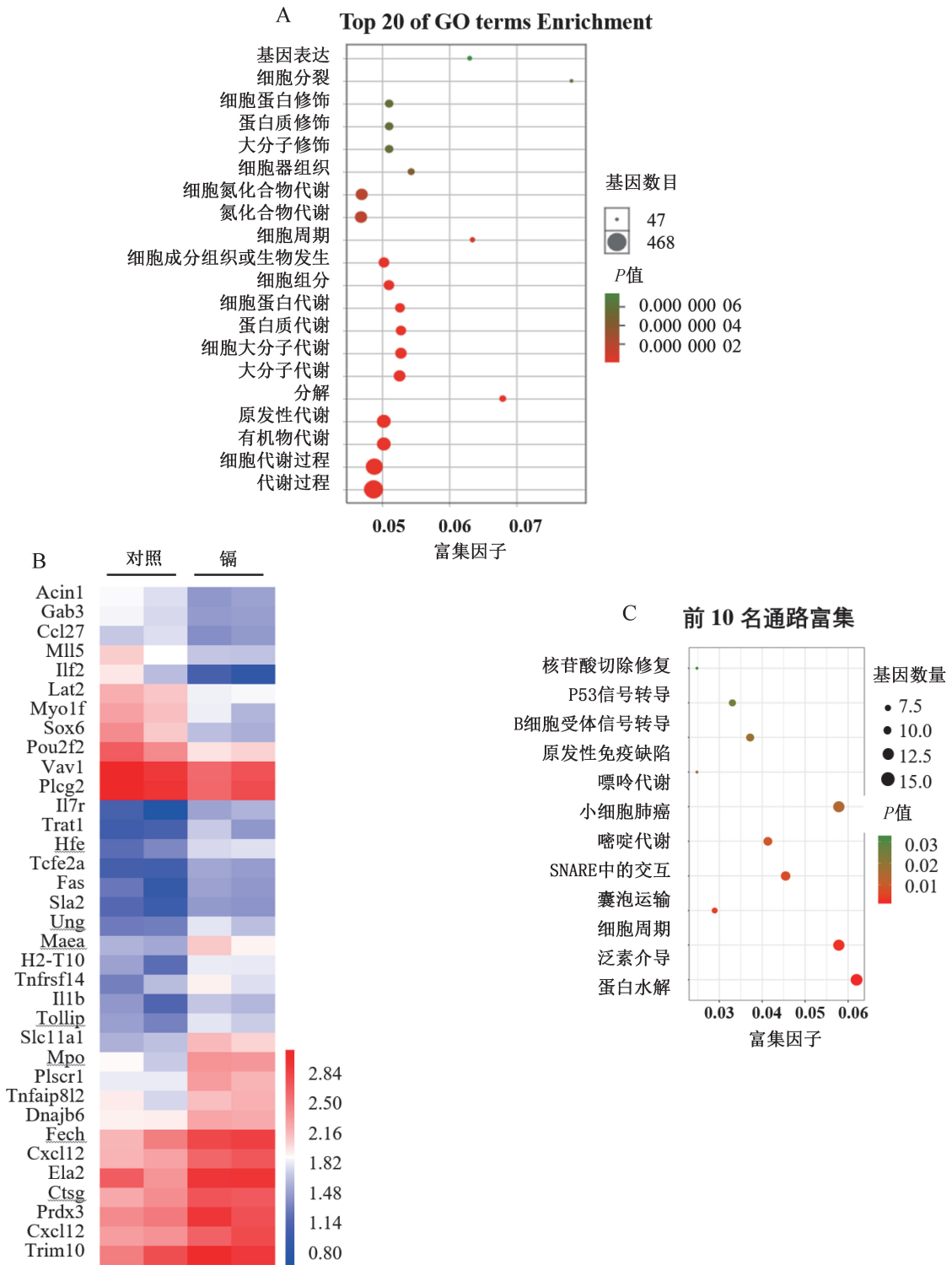
注:A. 镉离子含量分析;B. MDA 含量分析;与对照组比较,\* $P < 0.05$ 。

图 1 镉暴露后小鼠脾脏组织中镉和 MDA 含量分析

### 2.2 差异表达基因、基因 GO 功能聚类和 KEGG 信号通路

镉暴露后共鉴定出 934 个差异表达基因,其中上调基因 687 个,下调基因 247 个。原始数据已上传至基因表达综合库,入库号 GEO:GSE128931。

镉暴露导致的差异表达基因 GO 功能聚类提示,差异表达基因与基因表达调控、细胞分裂、蛋白修饰等有关,如图 2A 所示。热图显示,与免疫系统功能相关的差异表达基因有 35 个,其中 11 个下调,24 个上调,如图 2B 所示。KEGG 信号通路富集分析显示,镉参与 P53 信号通路、B 细胞受体信号通路和原发性免疫缺陷相关信号通路等途径,如图 2C 所示。



注:A. GO 分析镉暴露诱导的差异表达基因;B. 免疫系统差异表达基因的热图分析;C. KEGG 分析差异表达基因参与的信号通路。

图 2 差异表达基因的 GO 功能与 KEGG 信号通路分析

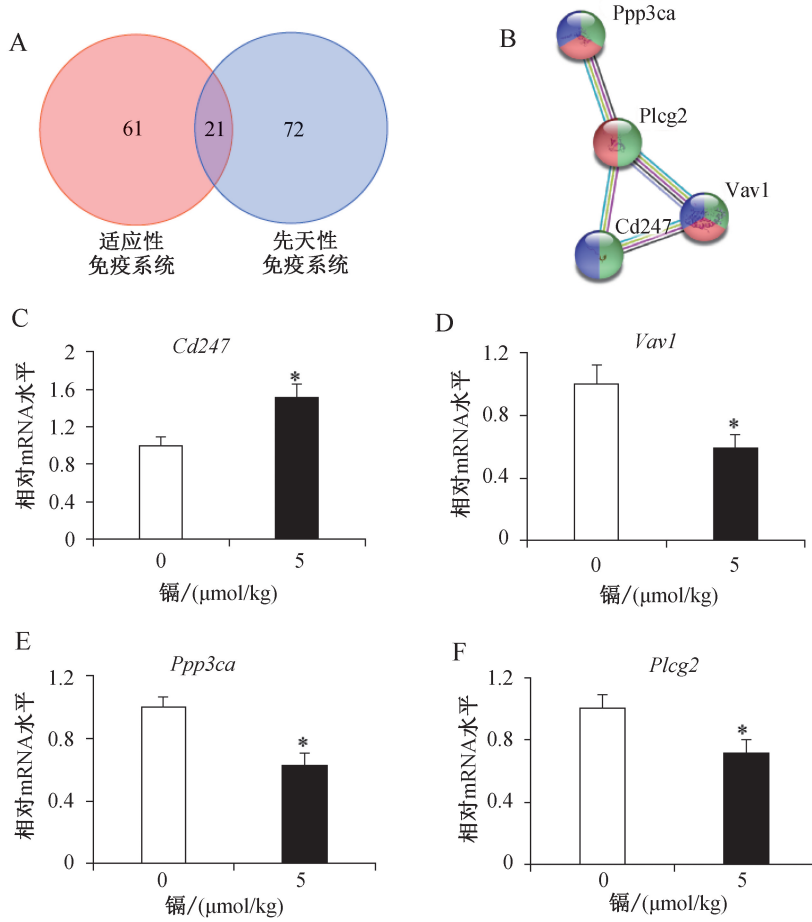
### 2.3 免疫相关差异表达基因

镉暴露诱导免疫系统相关差异表达基因中,61 个参与适应性免疫系统,72 个参与先天免疫系统,21

个同时参与适应性和先天免疫系统,如图 3A 所示。在这些免疫相关基因中,有 4 个关键基因 *Ppp3ca*、*Plcg2*、*Vav1*、*Cd247* 参与了 B 细胞受体信号通路、T

细胞受体信号通路和自然杀伤细胞介导的免疫相关细胞毒性。STRING 分析表明,参与免疫的 4 个关键基因编码的蛋白之间存在相互作用,如图 3B 所示。

镉暴露下调 *Ppp3ca*, *Vav1* 和 *Plcg2* 的表达,上调 *Cd247* 的表达,如图 3C~F 所示。



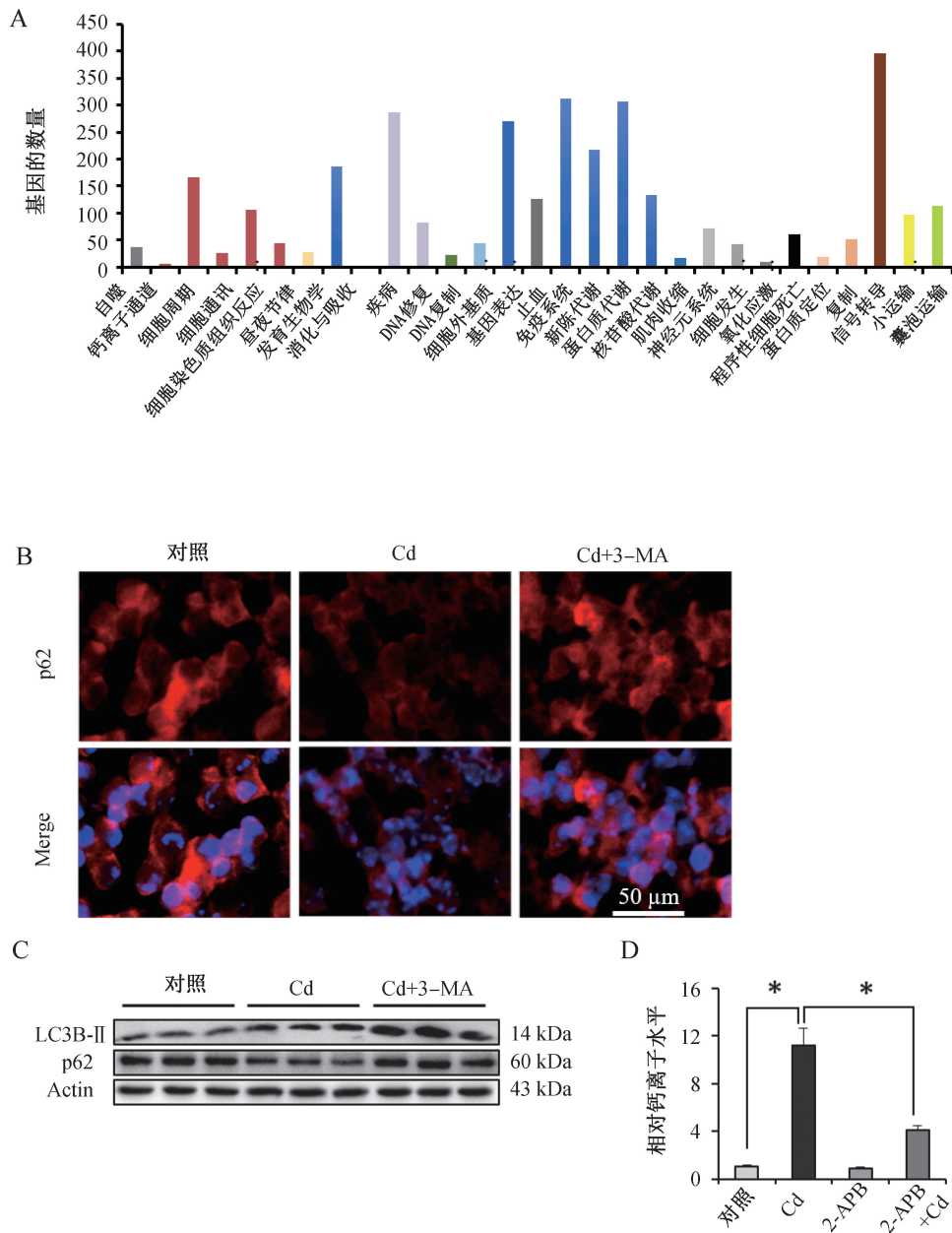
注: A. 参与适应性和先天免疫系统的基因分析; B. 关键基因编码蛋白之间的相互作用分析; C. *Ppp3ca* 表达分析; D. *Plcg2* 表达分析; E. *Vav1* 表达分析; F. *Cd247* 表达分析;与对照组比较, \*  $P < 0.05$ 。

图 3 镉暴露导致的免疫相关差异表达基因分析

## 2.4 镉暴露诱导的细胞自噬和 $\text{Ca}^{2+}$ 稳态失衡

Reactome 分析显示,镉暴露诱导的差异表达基因可能参与了自噬和  $\text{Ca}^{2+}$  稳态的调控,如图 4A 所示。低剂量组小鼠脾脏组织中自噬标志蛋白 LC3B-II 表达增加,P62 减少,给与自噬抑制剂 3-MA 后,

LC3B-II 和 P62 蛋白的积累增加,如图 4B~C 所示。在 Ramos B 细胞中,低剂量镉处理,细胞内游离  $\text{Ca}^{2+}$  水平显著上升,但可被内质网钙离子释放通道 IP3R 的抑制剂 2-APB 削弱,如图 5D 所示。



注:A. 参与自噬和 Ca<sup>2+</sup> 稳态调控的 Reactome 分析;B. p62 基因的免疫荧光分析,红色为 p62 基因表达,蓝色为细胞核 DAPI 染色;C. LC3B-II 和 P62 蛋白的免疫印迹分析;D. 细胞内游离 Ca<sup>2+</sup> 分析,两者之间比较,\* P<0.05。

图 4 镉对自噬和 Ca<sup>2+</sup> 稳态的影响

### 3 讨论

免疫是生物体对伤害或感染的保护性反应。脾脏在消除损伤诱导剂、防止组织损伤、启动修复,以及恢复受累组织的生理功能等方面发挥着重要作用。作为全球污染最严重的有毒重金属之一,镉可以在体内积聚并诱发免疫毒性。但镉暴露对免疫功能的影响仍然存在争议,如:镉与系统性红斑狼疮疾

病活动度指数呈负相关<sup>[10]</sup>,关节内低剂量镉对关节炎炎症和关节破坏有保护作用<sup>[11]</sup>。本研究显示,镉对免疫系统有毒性,诱导免疫细胞自噬、Ca<sup>2+</sup> 稳态失衡和氧化应激增强等不良影响,镉可能通过改变 4 个关键的免疫相关基因的表达,损害小鼠的先天免疫应答和适应性应答。

CD247,也被称为 CD3ζ、CD3H、CD3Q、CD3Z、

IMD25、T3Z 和 TCRZ, 编码 CD3 $\zeta$  蛋白, 该蛋白主要在自然杀伤细胞和 T 细胞中表达, 在抗原特异性免疫应答的抗原识别和信号转导、自身免疫性疾病、肿瘤和炎症性疾病中起重要作用<sup>[12]</sup>。CD247 表达缺陷是典型的皮质型胸腺瘤的组织病理学特征<sup>[13]</sup>。T 细胞抗原受体亚基基因突变、表达受损可导致罕见的免疫缺陷疾病, 但可通过恢复 CD247 的表达重建<sup>[14]</sup>。CD247 可作为评估 T 细胞相关疾病严重程度和特发性肺纤维化患者预后的潜在生物标志物<sup>[15]</sup>。本研究结果表明, 镉暴露增加了 CD247 的表达, 参与了 T 细胞受体信号通路。

PLCg2 是磷脂酰肌醇特异性磷脂酶 C 的一个亚型, 是 B 细胞受体的关键信号因子。PLCg2 敲除的小鼠 B 细胞、肥大细胞、血小板和自然杀伤细胞存在功能缺陷。B 细胞淋巴细胞减少症患者存在 PLCg2 突变<sup>[16]</sup>。这表明 PLCg2 信号在免疫系统中起着至关重要的作用。PLCg2 能将磷脂酰肌醇 4,5-二磷酸转化为第二信使肌醇 1,4,5-三磷酸, 这对于触发 Ca<sup>2+</sup> 从 ER 释放到细胞外至关重要, 而且 PLCg2-IP3-Ca<sup>2+</sup> 信号传导在 LPS 诱导的先天免疫应答途径中起重要作用。本研究结果表明, 镉暴露抑制 PLCg2 的表达, 导致 Ca<sup>2+</sup> 通路障碍, 影响小鼠脾脏 B 细胞受体的 TLR 信号转导。

编码蛋白磷酸酶 3 催化亚基  $\alpha$  的 PPP3CA 基因是 Ca<sup>2+</sup> 相互作用丝氨酸/苏氨酸蛋白磷酸酶的一个亚基, 通常称为钙调磷酸酶。钙调磷酸酶依赖性 Ca<sup>2+</sup> 信号传导介导多种细胞反应, 如 T 细胞活化、囊泡运输、细胞生长和细胞凋亡。钙调磷酸酶的抑制通过直接作用于未成熟 B 细胞来抑制体液免疫。此外, 钙调磷酸酶特异性抑制淋巴结 T 滤泡辅助细胞和循环 T 滤泡辅助细胞<sup>[17]</sup>。Shen 等<sup>[18]</sup> 发现, 脂多糖通过钙调神经磷酸酶/NFAT 和 TLR4/MyD88/NF- $\kappa$ B 信号通路诱导足细胞损伤。本研究结果表明, 镉暴露抑制钙调磷酸酶亚基 PPP3CA 的表达, 但其诱导免疫抑制的机制还有待于进一步研究。

VAV1 在所有造血细胞中普遍表达, T 细胞抗原受体受刺激后, 被酪氨酸磷酸化激活。VAV1 对 Rho 家族 GTP 酶(如 Rac1、Rac2 和 RhoG) 起鸟嘌呤核苷酸交换因子活性。VAV1 的 GEF 活性对淋巴细胞的

许多功能是必需的。研究表明, 在 B 细胞中, VAV1 的表达对 B 细胞的发育至关重要<sup>[19]</sup>。而且, VAV1 的信号转导需要 Ca<sup>2+</sup> 介导, 以及激活细胞外信号调节激酶和核因子  $\kappa$ B 转录因子。本研究结果表明, 镉暴露抑制了 VAV1 的表达, 这可能是 Ca<sup>2+</sup> 信号传导中断和免疫相关下游基因转录改变的原因。此外, 镉诱导小鼠脾细胞自噬和氧化应激, 阻碍 Ca<sup>2+</sup> 途径, 产生镉免疫毒性。

综上所述, 虽然镉诱导免疫毒性的研究取得了一些进展, 但其作用的分子机制仍不清楚。本研究通过基因芯片分析, 获得差异表达基因, 这为镉靶向免疫器官(脾脏)的分子机制研究提供了新的线索。镉可通过影响先天性和适应性免疫系统中的 4 个关键免疫基因 *Ppp3ca*、*Plcg2*、*Vav1* 和 *Cd247*, 影响 T/B 细胞受体信号传导、TLR 信号转导和细胞毒性。此外, 镉暴露可能通过诱导小鼠脾脏自噬、Ca<sup>2+</sup> 稳态失衡和氧化应激介导免疫毒性, 免疫相关基因参与了这些免疫毒性。

## 4 结 论

镉暴露引起的免疫调节关键基因 *Ppp3ca*、*Plcg2*、*Vav1*、*Cd247* 的表达改变可对小鼠脾脏产生免疫毒性。

## 参 考 文 献

- [1] LIG Y, YAN L J, CHEN X M, et al. Phytoremediation of cadmium from soil, air and water[J]. Chemosphere, 2023, 320: 138058.
- [2] GENCHIG, SINICROPI M S, LAURIA G, et al. The effects of cadmium toxicity[J]. Int J Environ Res Public Health, 2020, 17(11):3782.
- [3] HOSSEIN-KHANNAZER N, AZIZI G, ESLAMI S, et al. The effects of cadmium exposure in the induction of inflammation[J]. Immunopharmacol Immunotoxicol, 2020, 42(1): 1-8.
- [4] QU K C, WANG Z Y, TANG K K, et al. Trehalose suppresses cadmium-activated Nrf2 signaling pathway to protect against spleen injury[J]. Ecotoxicol Environ Saf, 2019, 181: 224-230.
- [5] 马海燕, 顾杰, 周阳, 等. 镉对机体免疫影响的概述[J].

- 江苏大学学报(医学版), 2022,32(1):80-83.
- [6] GU J, WANG Y W, LIU Y M, et al. Inhibition of autophagy alleviates cadmium-induced mouse spleen and human B cells apoptosis[J]. *Toxicol Sci*, 2019,170(1):109-122.
- [7] GU J, LI K D, LIN H, et al. Cadmium induced immunosuppression through TLR- $\text{I}\kappa\text{B}\alpha$ - $\text{NF}\kappa\text{B}$  signaling by promoting autophagic degradation [J]. *Ecotoxicol Environ Saf*, 2023,259: 115017.
- [8] MCCALL J L, VARNEY M E, RICE E, et al. Prenatal cadmium exposure alters proliferation in mouse  $\text{CD4}^+$ T cells via *LncRNA Snhg7*[J]. *Front Immunol*, 2022,12: 720635.
- [9] EBOKAIWE A P, OLASEHINDE O, CHIMEZIE I P, et al. Zinc ameliorates cadmium-induced immunotoxicity by modulating splenic immunosuppressive indoleamine 2, 3-dioxygenase activity, hematological indices, and  $\text{CD4}^+$ T cells via inhibition of cadmium uptake in male wistar rats [J]. *Biol Trace Elem Res*, 2023. doi: 10.1007/s12011-023-03752-7.
- [10] PEDRO E M, DA ROSA FRANCHI SANTOS L F, SCAVUZZI B M, et al. Trace elements associated with systemic lupus erythematosus and insulin resistance[J]. *Biol Trace Elem Res*, 2019,191(1):34-44.
- [11] BONAVENTURA P, COURBON G, LAMBOUX A, et al. Protective effect of low dose intra-articular cadmium on inflammation and joint destruction in arthritis[J]. *Sci Rep*, 2017,7(1):2415.
- [12] CHEN D X, LEI X Y, HU Y C, et al. Advances in  $\text{CD247}$ [J]. *Scand J Immunol*, 2022,96(1):e13170.
- [13] CHRISTOPOULOS P, CHUNG I, BOZORGMEHR F, et al. Deficient  $\text{CD247}$  expression is a typical histopathological characteristic of thymomas with cortical features [J]. *Histopathology*, 2018,73(6):1040-1043.
- [14] BLÁZQUEZ-MORENO A, PÉREZ-PORTILLA A, AGÚNDEZ-LLACA M, et al. Analysis of the recovery of  $\text{CD247}$  expression in a PID patient; insights into the spontaneous repair of defective genes [J]. *Blood*, 2017, 130(10): 1205-1208.
- [15] LI Y P, CHEN S B, LI X C, et al.  $\text{CD247}$ , a potential T cell-derived disease severity and prognostic biomarker in patients with idiopathic pulmonary fibrosis [J]. *Front Immunol*, 2021,12: 762594.
- [16] PARK H S, OH A, KEUM C W, et al. A novel likely pathogenic *PLCG2* variant in a patient with a recurrent skin blistering disease and B-cell lymphopenia [J]. *Eur J Med Genet*, 2022,65(1):104387.
- [17] BRONTE V, PITTET M J. The spleen in local and systemic regulation of immunity [J]. *Immunity*, 2013,39(5):806-818.
- [18] SHEN X J, WENG C H, WANG Y C, et al. Lipopolysaccharide-induced podocyte injury is regulated by calcineurin/NFAT and TLR4/MyD88/ $\text{NF-}\kappa\text{B}$  signaling pathways through angiotensin-like protein 4 [J]. *Genes Dis*, 2020,9(2):443-455.
- [19] SHALOM B, FARAGO M, SALAYMEH Y, et al. *Vav1* promotes B-cell lymphoma development [J]. *Cells*, 2022, 11(6):949.

[收稿日期:2023-10-17]

[责任编辑:涂剑,向秋 英文编辑:李佳睿]