

抗 P-选择素凝集素-EGF 功能域单抗对人树突状细胞成熟及功能抑制作用分析

周同* 孙桂芝 张玉梅 赵亚鹏 吴开胤 张雁云¹ 张冬青¹ 陈楠

(上海交通大学医学院瑞金医院肾脏科, 上海 200025;

¹上海交通大学医学院上海市免疫学研究所, 上海 200025)

摘要 在发现抗 P-选择素凝集素-EGF 功能域单抗(PsL-EGFmAb)对体外培养人树突状细胞(DC)成熟及功能有抑制作用基础上, 进一步观察了 PsL-EGFmAb 对 DC 干预调节的作用机制。通过 SCF、GM-CSF、TGF- β 1、Flt-3L 和 TNF- α 体外培养体系, 从脐血 CD34⁺ 造血干细胞中诱导扩增获得 DC, 并于成熟过程中用 PsL-EGFmAb 进行干预。采用流式细胞仪检测细胞表面分子表达; RT-PCR 检测细胞内 NF- κ Bp50、NF- κ Bp65 mRNA 表达; MTT 比色法检测 T 细胞增殖反应, 以及 ELISA 法测定 IL-12p70 分泌的含量。结果显示, PsL-EGFmAb 对 DC 表面特异性 C 型凝集素 DC-SIGN (CD209) 表达有抑制作用, 同时也能抑制 DC 细胞内 NF- κ Bp50、NF- κ Bp65 mRNA 表达, 相应抑制其黏附共刺激分子 CD11c、CD83、CD80、CD86 表达, 以及 IL-12p70 分泌, 此外也可抑制 DC 体外刺激 T 细胞增殖的能力。研究结果表明, PsL-EGFmAb 对 DC 成熟及功能的抑制作用, 提示与其抑制作为 DC 模式识别受体及功能分子 DC-SIGN 有关, 并可能是通过影响 NF- κ B 信号途径起作用。

关键词 树突状细胞; 分化成熟; DC-SIGN; 抗 P-选择素凝集素-EGF 功能域单抗; 抑制作用

我们以往研究发现, 树突状细胞(dendritic cell, DC)参与了肾炎组织的迁移浸润, 与黏附分子 P-选择素炎性介导有关, 并与肾小管间质早期损伤病变及纤维化形成密切相关^[1-3]。利用针对 P-选择素功能域单抗的抗黏附治疗, 对此具有明显抑制和肾脏保护作用^[2]。进一步发现, 上述单抗体外对由 TNF- α 诱导的人 DC 黏附共刺激分子表达和致炎细胞因子分泌有抑制作用^[4]。结合我们观察到的成熟中 DC 基本不表达选择素, 而高表达与后者同属 C 型凝集素的 DC-SIGN(CD209)^[5], 推测此作用可能与该单抗抑制作为 DC 模式识别受体 DC-SIGN 有关^[4]。作为新近发现的 DC 多功能免疫分子, 目前认为 DC-SIGN 在 DC 免疫双重调控中发挥重要作用^[6]。其不仅可介导 DC 黏附迁移, 参与 DC 模式识别及抗原内化以及诱导初始 T 细胞活化, 而有利于免疫反应; 另一方面, 其也可成为 HIV 等多种病原微生物或肿瘤细胞的靶分子, 有利于前者免疫逃逸以至机体免疫抑制。故 DC-SIGN 已成为进一步研究 DC 免疫调节功能及机制的一个新途径和切入点^[6]。为此在上

述工作基础上, 本研究进一步体外观察和探讨了抗 P-选择素凝集素-EGF 功能域单抗(anti-P-selectin lectin-EGF domain monoclonal antibody, PsL-EGFmAb)对 DC 成熟和功能干预调节的可能靶点及作用机制。

1 材料与方法

1.1 试剂

IMDM 购自 Gibco 公司; CD34⁺ 和 CD4⁺ 抗人磁珠标记抗体购自 Miltenvi Biotec 公司; 淋巴细胞分离液 Ficoll 购自上海生化试剂二厂; rhSCF、rhGM-CSF、rhTGF- β 1、rhFlt-3L、rhTNF- α 及 rhIL-12p70 ELISA 试剂盒均购自 Biosource 公司; FITC 标记的鼠抗人 CD83、CD86 单抗, PE 标记的鼠抗人 CD80 单抗, CY-CHROME 标记的鼠抗人 CD1a 单抗均购

收稿日期: 2006-02-07 接受日期: 2006-03-06

国家自然科学基金(No.39970340, No.30570865, No.30471593)和上海市自然科学基金(No.02ZB14041, No.034119916)资助项目

* 通讯作者。Tel: 021-64370045, E-mail: zhoutong_cn@hotmail.com

自 BD 公司; PE 标记的鼠抗人 CD11c 单抗购自 Biosource 公司; FITC 标记的小鼠抗人 CD209 单抗, 大鼠 IgG-FITC 均购自 eBiosource 公司; 羊抗小鼠的 Ig-R-PE、Ig-FITC 和 Ig-CY 均购自 Southern Biotech 公司; MTT3-(4,5-dimethyl thiazolyl-2-)-2,5-diphenyl-tetrazolium bromide 购自 Sigma Chemical Co 公司; RNA 抽提液 Trizol 购自 Invitrogen 公司; TaqE、dATP、dCTP、dGTP、dTTP 及 RT 试剂盒购自 Promega 公司; PsL-EGFmAb 由本科室自制^[7]。

1.2 细胞来源

脐血样品采自瑞金医院产科, 肝素抗凝终浓度为 10~20 IU/ml, 平均采血量为 30~50 ml, 样品在采集 2~6 h 内分选, 细胞经 PBE 缓冲液稀释, Ficoll 梯度离心, 收集界面层单个核细胞, PBE 洗涤备用。

1.3 DC 诱导分化

利用抗 CD34⁺ 吸附单克隆抗体-磁珠分离系统 (MACS) 从脐血单个核细胞中分离出 CD34⁺ 细胞, 用 20% IMDM 培养液调整其浓度为 0.5×10^6 个/ml, 接种于 24 孔板中, 分为 3 组。①未成熟组: 加 SCF (50 ng/ml)、GM-CSF (100 ng/ml)、TGF- β 1 (0.5 ng/ml)、Flt-3L (75 ng/ml) 培养至 7 天; ②成熟组: 在未成熟组培养基础上于第 12 天加入 TNF- α (100 ng/ml), 培养至 14 天; ③ PsL-EGFmAb 抑制组: 在未成熟组培养的基础上于第 7 天加入不同浓度的 PsL-EGFmAb (5, 10, 50, 100 μ g/ml), 且于收集前 48 h 加 TNF- α (100 ng/ml)。未成熟组于第 7 天, 成熟组、PsL-EGFmAb 抑制组于第 14 天分别收获细胞, 进行相关检测。

1.4 DC 形态及表型分析

倒置显微镜及电镜下观察培养细胞的形态、数目和活力。另收集 0.5×10^6 个细胞, 分别加入荧光标记的细胞表型 CD11a、CD11c、CD83、CD80、CD86 及 CD209 单抗各 20 μ l, 同时以羊抗鼠 Ig-R-PE、Ig-FITC 和 Ig-CY 抗体为同型对照, 进行常规步骤后, 用流式细胞仪检测细胞表型。

1.5 NF- κ Bp50、NF- κ Bp65 mRNA 表达检测

1.5.1 引物设计 参考人 NF- κ Bp50、NF- κ Bp65 mRNA 表达和 β 肌动蛋白基因序列, 应用 Primer Designer 3.0 软件设计引物。NF- κ Bp50 引物序列: 正链 5'-GAC CAA GGA GAT GGA CCT CA -3', 负链 5'-CGA AGC TGG ACA AAC ACA GA -3', 扩增产物长度为 400 bp; NF- κ Bp65 引物序列: 正链 5'-TCA ATG GCT ACA CAG GAC CA -3', 负链 5'-ATC

TTG AGC TCG GCA GTG TT -3', 扩增产物长度为 400 bp; β 肌动蛋白引物序列: 正链 5'-TGC TAT CCC TGT ACG CCT CT-3', 负链 5'-AGT ACT TGC GCT CAG GAG GA -3', 扩增产物长度为 597 bp。引物由上海生物工程公司合成。

1.5.2 RT-PCR 分别收集各组细胞 (1×10^6 个细胞), 总 RNA 提取按 Trizol 试剂盒说明书进行。应用 RT 试剂盒进行 cDNA 第一链合成, Olig (dT) 为引物, RNA 样品 3.0 μ l, 总体积为 20 μ l。PCR 反应体系为: 5 μ l 10 \times RT 缓冲液, 2.5 μ l 25 mmol/L MgCl₂, 0.5 μ l 25 mmol/L dNTP, 0.2 μ l 50 pmol/L NF- κ B 引物, 0.1 μ l 50 pmol/L β 肌动蛋白引物, 1 μ l cDNA, 0.25 μ l 1U/ μ l TaqE, 反应总体积为 25 μ l。反应条件为: 94 $^{\circ}$ C 预变性 5 min, 94 $^{\circ}$ C 变性 1 min, 59 $^{\circ}$ C 复性 1 min, 72 $^{\circ}$ C 延伸 1 min, 31 个循环, 然后 72 $^{\circ}$ C 再延伸 10 min。扩增产物进行 2% 琼脂糖凝胶电泳, 溴化乙锭显色, 紫外灯下观察并用计算机图像分析系统扫描和分析。

1.6 混合淋巴细胞反应

应用 MTT 比色法测定细胞增殖。采用 Ficoll 密度梯度离心法从健康志愿者外周血中分离出单个核细胞, 再通过抗人 CD4⁺ 磁珠从外周血单个核细胞中分离出 CD4⁺ T 细胞; 然后将经 30 Gy X 光下照射后 DC (3×10^4 个) 和 CD4⁺ T 细胞 (3×10^5 个) 接种于 96 孔圆底板上, 每孔 100 μ l, 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 温育 5 天; 作用结束前 4 h 每孔加入 15 μ l MTT (5 mg/ml, 溶解于 PBS), 置 37 $^{\circ}$ C、5%CO₂ 细胞培养箱中温育; 随后每孔滴加 150 μ l 含有 0.04 mol/L HCl 的异丙醇, 充分混匀, 于酶标仪 550 nm 波长处读取 A 值。

1.7 IL-12p70 含量检测

收集各组 DC 培养上清液, 采用 ELISA 试剂盒按说明书检测 IL-12p70 的含量。

1.8 数据处理

每组实验均重复 3 次, 所有数据以均数 \pm 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用 SPSS 11.0 统计软件包进行分析。各组间指标比较用方差分析或 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 DC 形态学及活力变化

在倒置显微镜及电镜下观察, 人脐血 CD34⁺ 细胞经诱导培养第 5 天起, 细胞表面始出现树突状改变并呈典型 DC 形态, 未成熟组、成熟组、PsL-

表 1 FACS 检测 DC 表面分子表达结果(% , $\bar{x}\pm s$)

	CD1a	CD11c	CD83	CD80	CD86	DC-SIGN
未成熟组	41.21±18.95	20.84±7.62*	12.75±5.25*	14.62±7.31*	17.51±5.84*	75.63±14.78
成熟组	57.43±14.67	42.71±10.57	40.85±11.51	79.46±17.53	61.53±20.45	68.45±21.26
PsL-EGFmAb 抑制组	60.54±7.51	9.62±6.25*	15.76±7.25*	48.61±12.15*	15.27±5.31*	24.37±15.42*

与成熟组比较, * $P<0.05$ 。

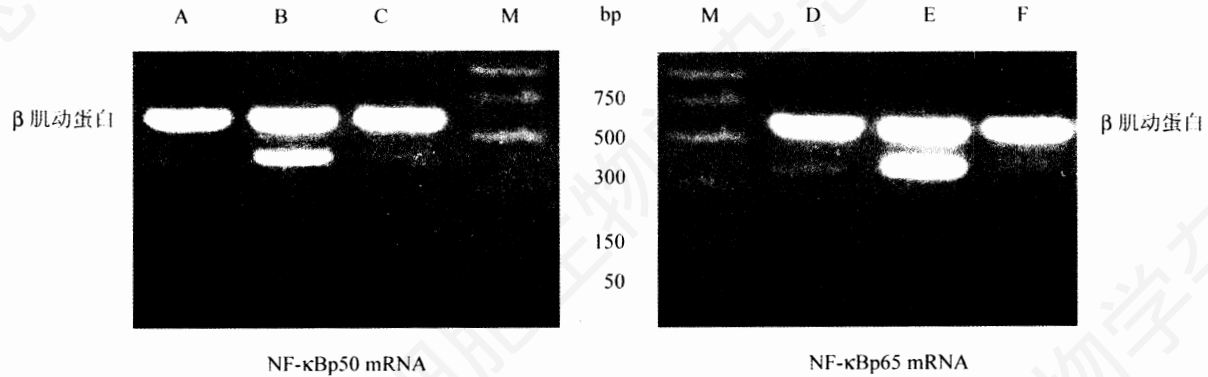


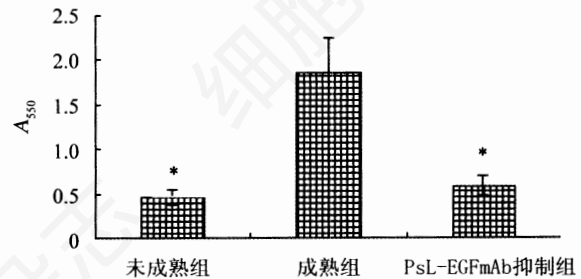
图 1 RT-PCR 检测 DC NF-κBp50、NF-κBp65 mRNA 表达结果

A、F: PsL-EGFmAb 抑制组; B、E: 成熟组; C、D: 未成熟组; M: marker。

表 2 DC NF-κBp50、NF-κBp65 mRNA 转录水平检测结果 (NF-κBp50、NF-κBp65/β 肌动蛋白, $\bar{x}\pm s$)

	NF-κBp50 mRNA	NF-κBp65 mRNA
未成熟组	0.2272±0.0737*	0.2420±0.0582*
成熟组	0.5094±0.1116	0.6458±0.1961
PsL-EGFmAb 抑制组	0.2827±0.0468*	0.2901±0.0664*

与成熟组比较, * $P<0.05$ 。

图 2 同种混合淋巴细胞反应结果($\bar{x}\pm s$)

与成熟组比较, * $P<0.05$ 。

EGFmAb 抑制组的 DC 形态无明显差异。另经台盼蓝染色的细胞活力检测, 3 组 DC 活细胞均大于 90%, 且细胞活力及扩增数目也无显著不同。

2.2 DC 表型变化

经流式细胞仪分析, 未成熟组和成熟组 DC 均分别低表达和高表达 CD1a、CD11c、CD83、CD80、CD86。此外 2 组 DC 均高表达 DC-SIGN。进一步发现, PsL-EGFmAb 抑制组 DC 的 DC-SIGN 以及 CD11c、CD83、CD80、CD86 表达均明显降低($P<0.05$) (表 1)。

2.3 DC NF-κBp50、NF-κBp65 mRNA 表达变化

未成熟组 DC 细胞内 NF-κBp50、NF-κBp65 mRNA 均见低表达, 成熟组 DC 的 NF-κBp50、NF-κBp65 mRNA 表达增强。PsL-EGFmAb 抑制组 DC 的 NF-κBp50、NF-κBp65 mRNA 表达均明显降低($P<0.05$) (图 1, 表 2)。

2.4 DC 刺激 T 细胞增殖变化

同种混合淋巴细胞反应显示, 未成熟组 DC 体外激发同种异体 T 细胞增殖能力较弱, 成熟组 DC 体外刺激能力增强。PsL-EGFmAb 抑制组 DC 体外刺激 T 细胞的增殖能力明显降低($P<0.05$) (图 2)。

2.5 DC IL-12p70 分泌变化

ELISA 检测结果显示, 未成熟组 DC 培养上清液中检测到极微量的 IL-12p70 (0.37 ± 0.03) pg/ml; 成熟组 DC 的 IL-12p70 含量 (358.24 ± 23.55) pg/ml 明显增高($P<0.01$); 而 PsL-EGFmAb 抑制组 DC 的 IL-12p70 含量 (12.34 ± 8.56) pg/ml 明显低于成熟组($P<0.01$)。

3 讨论

本研究在已发现针对 P- 选择素功能域单抗体外有抑制人 DC 表型和功能的作用基础上^[4], 进一步结

合 DC 生物学特性^[5], 初步观察了 PsL-EGFmAb 对 DC 干预调节的作用机制。我们发现, 除了未成熟和成熟 DC 具备低表达或高表达 CD1a、CD11c、CD83、CD80、CD86 黏附共刺激分子等一般特性。还发现未成熟和成熟 DC 基本不表达 P-选择素、E-选择素; 未成熟 DC 适度表达 L-选择素, DC 成熟后则低表达^[5]。前者与 P-选择素、E-选择素一般仅以内皮细胞或血小板表达为主相符^[8]。已知未成熟 DC 迁移主要系由表达于血管内皮细胞表面 P-选择素、E-选择素, 通过其 DC 表面配基起介导作用。成熟后 DC 则失去与选择素的黏附结合, 这与选择素主要在 DC 初始黏附及炎症早期迁移起介导作用相关^[8]; 后者则与 L-选择素可在白细胞表达且于活化后下调有关。另提示 L-选择素可能作为归巢受体也参与了未成熟 DC 的迁移。此外发现未成熟和成熟 DC 均高表达 DC-SIGN^[5]。近年认为, 与选择素同属 C 型凝集素并具有相似凝集素结构的 DC-SIGN, 其在参与介导 DC 黏附迁移及炎症反应, 激活初始 T 细胞及启动免疫应答, 以及病原体与肿瘤的免疫逃逸等诸多方面发挥重要作用, 并可能是 DC 一个新的功能靶分子^[6]。我们以往发现, 肾炎早期伴随着肾内 P-选择素表达上调, DC-SIGN⁺ DC 局部迁移聚集明显增多, 与肾损伤修复及疾病转归或进展密切相关^[1-3]。进一步发现, 肾炎时随 DC 肾内浸润聚集, 局部肾小管上皮细胞也出现表型转化, 表达 DC-SIGN 等 DC 标志, 与肾脏病变相关^[9]。而针对上述利用抗 P-选择素功能域单抗进行干预, 对此可产生明显的抑制效应和肾脏保护作用^[2]。表明 DC-SIGN 介导 DC 可在局部组织发挥炎症及免疫反应, 参与了肾脏炎性防御及免疫损伤调节。

在此基础上的本研究结果显示, 经过 PsL-EGFmAb 处理后, 在不影响 DC 形态和细胞活力情况下, 可抑制 TNF- α 刺激炎性状态下的上述黏附共刺激分子表达, 抑制细胞内 NF- κ Bp50、NF- κ Bp65 mRNA 的表达, 致炎细胞因子 IL-12 的分泌, 以及可降低其体外刺激 T 细胞增殖能力。进一步发现, PsL-EGFmAb 对 DC 的 DC-SIGN 表达有明显抑制作用, 而作为免疫负调节因子 IL-10 对此基本无抑制效应^[10]。本研究表明, PsL-EGFmAb 对 DC 分化成熟和功能有影响, 但无完全抑制而具有调节作用, 这与我们以往发现 PsL-EGFmAb 对机体免疫防御机制无明显影响的抗黏附 / 抗炎效应相符^[11]。

分析上述结果, 提示 PsL-EGFmAb 对 DC 的抑制效应, 可能与其通过作用于与选择素同属 C 型凝

集素家族且均含有糖识别域(CRD)凝集素结构的 DC-SIGN 有关。如前所述, DC-SIGN 作为 DC 特征性多功能免疫分子, 现知其不仅参与涉及 DC 多种病原微生物或肿瘤的免疫逃逸及免疫失衡, 更与 DC 免疫应答正负调控作用密切相关^[6]。一般认为, DC-SIGN 首先作为一种模式识别和黏附受体, 识别并帮助 DC 捕获内化抗原, 并由模式识别信号触发细胞分泌活性氧, 活性氮及炎性细胞因子等, 参与调节炎症反应^[12]。随后在 DC 迁移成熟中, 其上述信号可诱导 DC 上调黏附共刺激分子表达, 并促进 DC 成熟。然后与表达于 T 细胞表面的 ICAM-3, 共同介导了 DC 与静息初始型 T 细胞的最初黏附接触, 对促进 T 细胞活化、增殖及诱导 Th1 细胞极化等免疫反应起了关键的始动作用^[13-15]。此外, 位于 DC-SIGN 胞浆区的免疫受体酪氨酸活化模体 ITAM 也可通过其信号转导促进 DC 激发 T 细胞免疫应答^[15]。由此推测 DC-SIGN 可能是 DC 兼有炎性防御及免疫调节特性的一个重要标志, 并可能作为 DC 执行和调控天然免疫与获得性免疫反应的一个分子介导基础^[6,13]。研究也发现, 抑制 DC-SIGN 则可抑制 DC 诱导的 T 细胞增殖^[16]。表明对其抑制可影响 DC 免疫应答的诱导作用, 这可能对调节和平衡病理情况下 DC 参与启动的免疫炎症反应尤显重要^[6]。本研究 PsL-EGFmAb 对 DC-SIGN 具抑制效应, 推测除可能经由前述的模式识别或 ITAM 信号通路, 抑制或影响成熟中 DC 黏附共刺激分子上调表达, 致炎细胞因子分泌及免疫刺激功能; 还可能抑制或影响成熟 DC 由 DC-SIGN 介导与 T 细胞的最初接触, 以至抑制 DC 对 T 细胞免疫应答的诱导。尚需进一步研究证实。

本研究进一步发现, 在 TNF- α 作用的炎性状态下, 经过 PsL-EGFmAb 处理后的 DC, 其细胞内 NF- κ Bp50 mRNA 和 NF- κ Bp65 mRNA 表达明显减低。表明 PsL-EGFmAb 对 DC 细胞内 NF- κ B 基因转录具有抑制作用。对此分析, 根据上述所观察到 PsL-EGFmAb 对 DC 表面 DC-SIGN 有抑制作用, 故推测 PsL-EGFmAb 对 NF- κ B 的抑制效应, 可能与 PsL-EGFmAb 作用于 DC-SIGN 后, 进而由信号级联反应影响到 NF- κ B 基因表达和活化有关。已知 NF- κ B 是一种具有多向性调节作用的核转录因子, 广泛存在于机体包括 DC 等各种组织细胞中, 与机体多种生理病理过程密切相关。研究显示, NF- κ B 也是 DC 发育成熟过程中的关键性调控基因, 调控 DC 的发育和免疫功能等^[17]。据报道, NF- κ B 基因

缺陷小鼠 DC 正常发育受限, 认为前者在 DC 分化中起重要作用^[17,18]。另有发现, NF- κ B 激活或持续是 DC 刺激 T 细胞活化的必须或增强因素^[19]。进一步表明, NF- κ B 在调节 DC 正常代谢、生长发育以及功能等方面可能均起关键作用。故本研究进一步推测, 受上述影响的 NF- κ B 信号转导途径, 可影响其随后调控的 DC 黏附共刺激分子表达, 以及致炎细胞因子分泌, 直至调节 DC 的成熟和功能。至于 PsL-EGFmAb 抑制 DC-SIGN 后影响 DC 胞内的上游信号通路, 是否也与抑制如一般认为的 PI 或 MAPK 等途径有关^[20], 尚有待进一步深入探讨。

综上所述, 本研究 PsL-EGFmAb 靶向抗黏附效应, 均对 DC 成熟和功能起调抑而非完全抑制作用, 这可避免由明显阻滞执行机体重要生理功能的 DC, 所导致可能会引起一系列不可预见的不良后果。同时也可避免某些免疫抑制剂或抗炎药物对此产生的临床副作用。进一步提示, 利用 PsL-EGFmAb 干预 DC 迁移成熟和功能, 可能作为一种更为理想的靶向抗黏附 / 抗炎防治手段, 而具有潜

在的临床应用前景, 有待继续深入研究。

参考文献 (References)

- [1] 周 同等. 上海第二医科大学学报, 2004, 24: 501
- [2] 孙桂芝等. 上海第二医科大学学报, 2004, 24: 174
- [3] 周 同等. 上海医学, 2004, 27: 567
- [4] 周 同等. 细胞生物学杂志, 2006, 28: 89
- [5] 张玉梅等. 中国微循环, 2006, 10: 9
- [6] 陈永熙等. 生命科学, 2006, 18: 109
- [7] 周 同等. 生物化学与生物物理学报, 2003, 35: 172
- [8] 刘 巍等. 生命科学, 2002, 14: 379
- [9] 张玉梅等. 中国微循环, 2005, 9: 453
- [10] Zhou T *et al.* Chin Med J (Engl), 2005, 118: 1299
- [11] 周 同等. 上海第二医科大学学报, 2004, 24: 518
- [12] Janeway CA *et al.* Annu Rev Immunol, 2002, 20: 197
- [13] Geijtenbeek TB *et al.* Cell, 2000, 100: 575
- [14] van Gisbergen KP *et al.* FEBS Lett, 2005, 579: 6159
- [15] Engering A *et al.* J Immunol, 2002, 168: 2118
- [16] Geijtenbeek TB *et al.* Cell, 2000, 100: 587
- [17] Wu L *et al.* Immunity, 1998, 9: 839
- [18] Ouaz F *et al.* Immunity, 2002, 16: 257
- [19] O'Sullivan BJ *et al.* J Immunol, 2002, 168: 5491
- [20] Puig-Kroger A *et al.* Blood, 2001, 98: 2175

The Inhibitory Effects of Anti-P-selectin Lectin-EGF Monoclonal Antibody on Maturation and Function of Human Dendritic Cells

Tong Zhou*, Gui-Zhi Sun, Yu-Mei Zhang, Ya-Peng Zhao, Wu-Kai Yin,

Yan-Yun Zhang¹, Dong-Qing Zhang¹, Nan Chen

(Department of Nephrology, Ruijin Hospital, Medical School of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China;

¹Shanghai Institute of Immunology, Medical School of Shanghai Jiao Tong University, Shanghai 200025, China)

Abstract To observe the effects of anti-P-selectin lectin-EGF monoclonal antibody (PsL-EGFmAb) on maturation and function of human dendritic cells (DCs) and discuss its mechanism. CD34⁺ stem cells were isolated from cord blood and multiplied by SCF, GM-CSF, TGF- β 1, Flt-3L, TNF- α culture *in vitro*, PsL-EGFmAb was added during DCs maturation. FACS was performed to detect the expression of CD1a, CD11c, CD83, CD80, CD86 and DC-SIGN (CD209); NF- κ Bp50, NF- κ Bp65 mRNA level was detect by RT-PCR; MTT was performed to measure T cell proliferation and ELISA was performed to determine IL-12p70 amount. PsL-EGFmAb had an inhibitory effect on C-type lectin DC-SIGN of DCs. It also inhibited NF- κ Bp50, NF- κ Bp65 mRNA, CD11c, CD83, CD80 and CD86 expression, reduced T cell proliferation stimulated by DCs *in vitro* and down-regulated IL-12p70 secretion. Totally, PsL-EGFmAb had an inhibitory effect on DCs maturation through NF- κ B signaling pathway and such inhibition might relate to DC-SIGN, the pattern receptor and functional molecule of DCs.

Key words dendritic cell; maturation; DC-SIGN; anti-P-selectin lectin-EGF domain monoclonal antibody; mechanism

Received: February 7, 2006 Accepted: March 6, 2006

This work was supported by the National Natural Science Foundation of China (No.39970340, No.30570865, No.30471593) and the Natural Science Foundation of Shanghai (No.02ZB14041, No.034119916)

*Corresponding author. Tel: 86-21-64370045, E-mail: zhoutong_cn@hotmail.com