

· 基础研究 ·

孕激素对小鼠脾细胞淋球菌感染模型 NLRP3 炎性体表达及 Th17/Treg 分化的影响

许莉*, 陈娜

武汉市第一医院皮肤科, 湖北 武汉 430022

[摘要] 目的:研究孕激素对小鼠脾细胞淋球菌(*Neisseria gonorrhoeae*, Ng)感染模型中 NLRP3 炎性体表达及 Th17/Treg 分化的影响。方法:体外分离、培养小鼠脾细胞后,分为如下 5 组:空白对照组、Ng 组、Ng+1×10⁻⁹ mol/L 孕酮组、Ng+1×10⁻⁸ mol/L 孕酮组、Ng+1×10⁻⁷ mol/L 孕酮组。培养 3 d 后收集细胞,采用流式细胞术检测 Th17/Treg 细胞比例,利用实时荧光定量 PCR 检测各组细胞 NLRP3、Th17/Treg 特异性转录因子 ROR γ t、Foxp3 mRNA 表达水平,Western blot 检测各组细胞 NLRP3、Caspase-1p20、ROR γ t、Foxp3 蛋白表达。ELISA 法检测脾细胞培养上清中白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 及 Th17/Treg 相关细胞因子 IL-17、转化生长因子(transforming growth factor, TGF)- β 、IL-10 水平。结果:脾细胞在淋球菌的刺激下,Th17 细胞和 Treg 细胞比例增多,细胞内 NLRP3、Th17/Treg 特异性转录因子 ROR γ t、Foxp3 mRNA 和蛋白表达水平升高,Caspase-1p20 蛋白表达水平升高,细胞培养上清中 IL-1 β 、IL-17、TGF- β 、IL-10 含量增高($P < 0.01$);加入孕酮预处理后,随着孕酮作用浓度的增高,Th17 细胞比例、细胞内 NLRP3 和 ROR γ t 的 mRNA 和蛋白表达水平、Caspase-1p20 蛋白表达水平、细胞培养上清中 IL-1 β 和 IL-17 含量均明显降低,Treg 细胞比例、细胞内 Foxp3 mRNA 和蛋白表达、细胞培养上清中 TGF- β 和 IL-10 含量均明显增高,与 Ng 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论:孕激素可抑制 Ng 感染诱导的小鼠脾细胞 NLRP3 表达及 Th17 细胞分化,促进 Ng 感染诱导的 Treg 细胞分化。

[关键词] 淋球菌;孕激素;NLRP3;Th17/Treg**[中图分类号]** R392.12**[文献标志码]** A**[文章编号]** 1007-4368(2021)11-1574-06**doi:** 10.7655/NYDXBNS20211102

Effects of progesterone on the expression of NLRP3 and Th17/Treg differentiation in murine splenocyte gonococcal infection model

XU Li*, CHEN Na

Department of Dermatology, Wuhan No.1 Hospital, Wuhan 430022, China

[Abstract] **Objective:** This study aims to investigate the effects of progesterone on the expression of NLRP3 and the differentiation of Th17/Treg in murine splenocytes infected by *Neisseria gonorrhoeae* (Ng). **Methods:** Murine splenocytes were isolated *in vitro*, and randomly divided into five groups: control group, Ng group, Ng+1×10⁻⁹ mol/L progesterone group, Ng+1×10⁻⁸ mol/L progesterone group, Ng+1×10⁻⁷ mol/L progesterone group. The splenocytes were collected after 3 days of culture, the proportions of Th17/Treg cells were detected by intracellular staining using flow cytometry. The mRNA expressions of NLRP3, Th17/Treg-specific transcription factors ROR γ t and Foxp3 in murine splenocytes were detected by real-time PCR. The protein expression levels of NLRP3, Caspase-1p20, ROR γ t and Foxp3 in murine splenocytes were determined by Western blot. The concentrations of interleukin (IL)-1 β and Th17/Treg related cytokines IL-17, transforming growth factor (TGF)- β , IL-10 in the supernatant were detected by ELISA. **Results:** Under the stimulation of Ng, the proportions of Th17 cells and Treg cells, the mRNA and protein levels of NLRP3, Th17/Treg-specific transcription factors ROR γ t and Foxp3 in the splenocytes, the protein levels of Caspase-1p20 and the concentrations of IL-1 β , IL-17, TGF- β and IL-10 in the supernatant increased than those in the controls ($P < 0.01$). After pretreated with progesterone, the proportion

[基金项目] 武汉市科技局应用基础前沿项目(2020020601012312);武汉市卫生健康委科研计划资助项目(WX19D28, WX15B13)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: rita_76@163.com

of Th17 cells, the mRNA and protein levels of NLRP3 and ROR γ t in the splenocytes, the protein levels of Caspase-1p20 and the concentrations of IL-1 β and IL-17 in the supernatant were significantly lower than those in Ng group. The proportion of Treg cells, the mRNA and protein levels of Foxp3 in the splenocytes and the concentrations of TGF- β and IL-10 in the supernatant were significantly higher than those in Ng group ($P < 0.01$). **Conclusion:** Progesterone can inhibit the expression of NLRP3 and Th17 differentiation, and promote the differentiation of Treg cells in murine splenocytes induced by Ng infection.

[Key words] *Neisseria gonorrhoeae*; progesterone; NLRP3; Th17/Treg

[J Nanjing Med Univ, 2021, 41(11): 1574-1578, 1591]

淋病是一种由革兰氏阴性淋球菌(*Neisseria gonorrhoeae*, Ng)感染引起的性传播疾病。50%以上的女性Ng感染是无症状的,成为淋病防控的巨大隐患,患者因延误就医可引起上行性感染,诱发子宫内膜炎和盆腔炎^[1]。前期实验证实女性无症状Ng感染与患者体内孕激素水平增高有关^[2],且动物实验证实孕激素可促进小鼠阴道局部Ng感染^[3],但孕激素是通过何种机制抑制机体的免疫应答并引起无症状Ng感染有待深入研究。NLRP3炎性体是一类大分子蛋白质,它能活化半胱天冬酶-1(Caspase-1),并引起白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-18等促炎细胞因子的分泌,参与机体抵抗病原体免疫应答^[4-5]。NLRP3炎性体介导的IL-1 β 表达导致Th17/Treg失衡,诱导T细胞向Th17分化^[6]。Th17细胞及其分泌的细胞因子IL-17在机体抵抗Ng感染免疫反应中发挥重要作用^[7]。研究发现,Ng可诱导阴道黏膜局部产生Treg,其与Ng慢性无症状感染有关^[8]。我们推测孕激素通过影响NLRP3炎性体的表达进而导致Th17/Treg失衡,从而在淋病无症状感染中发挥作用。本研究建立小鼠脾细胞Ng感染模型,观察孕激素对Ng刺激后NLRP3炎性体表达及Th17/Treg分化的影响,为孕激素在无症状Ng感染中的作用机制提供实验依据。

1 材料和方法

1.1 材料

RPMI 1640培养基(Gibco公司,美国),胎牛血清(杭州四季青生物工程公司),淋巴细胞分离液(北京达科为生物技术有限公司),孕酮(Sigma公司,美国),TRIzol(Invitrogen公司,美国),anti-NLRP3抗体(Abcam公司,美国),anti-Caspase-1p20抗体、anti-ROR γ t单抗、anti-Foxp3单抗(Santa公司,美国),CD4-FITC、CD25-APC、IL-17-PE、Foxp3-PE抗体(Ebioscience公司,美国),逆转录试剂盒(TOYOBO公司,日本),SYBR Premix Ex TaqTM试剂盒(TaKaRa公司,日本),IL-17、转化生长因子(transforming

growth factor, TGF)- β 、IL-10 ELISA试剂盒(Abcam公司,美国)。

Ng ATCC 49226标准株由中国药品生物制品检定所提供。菌株经Ng培养基培养,并制备成D(600 nm)值为0.15的细菌悬液。

1.2 方法

1.2.1 脾细胞体外培养及处理

雌性BALB/c小鼠,6~8周龄,体重18~20 g,购自华中科技大学同济医学院实验动物中心。2%戊巴比妥麻醉小鼠,无菌取脾脏,匀浆分离脾细胞,淋巴细胞分离液分离出脾淋巴细胞,RPMI 1640培养液调整浓度至 2×10^6 个/mL。在24孔板中每孔加入1 mL脾淋巴细胞悬液,37 $^{\circ}$ C、5%CO₂培养24 h后更换培养基,细胞分为5组:①空白对照组(用含10%胎牛血清的RPMI 1640培养基常规培养3 d);②Ng组(加入 2×10^7 CFU/mL Ng悬液作用3 d);③Ng+ 1×10^{-9} mol/L孕酮组(预先加入 1×10^{-9} mol/L孕酮作用细胞2 h,再加入 2×10^7 CFU/mL Ng悬液作用3 d);④Ng+ 1×10^{-8} mol/L孕酮组(预先加入 1×10^{-8} mol/L孕酮作用细胞2 h,再加入 2×10^7 CFU/mL Ng悬液作用3 d);⑤Ng+ 1×10^{-7} mol/L孕酮组(预先加入 1×10^{-7} mol/L孕酮作用细胞2 h,再加入 2×10^7 CFU/mL Ng悬液作用3 d)。实验独立重复3次。

1.2.2 流式细胞术检测Th17细胞和Treg细胞的比例

将每组脾淋巴细胞悬液分为4管,1管用于检测Th17细胞,1管用于检测Treg细胞,另2管分别为相应同型对照。分别加入CD4-FITC、CD25-APC、IL-17-PE、Foxp3-PE抗体进行染色后,应用流式细胞仪检测Th17细胞和Treg细胞的比例。

1.2.3 实时荧光定量PCR检测细胞中NLRP3和Th17/Treg特异性转录因子ROR γ t、Foxp3 mRNA的表达

用TRIzol试剂提取细胞总RNA,取1 μ g用于逆转录,逆转录按照逆转录酶试剂说明操作。所用引物序列如下:NLRP3上游:5'-AAGCAGCAGATG-GAGACTGGAAA-3',下游:5'-TGAACAGAGCCCTG-GC AGGTAG-3',扩增产物为149 bp;ROR γ t上游:

5'-TTTGGAAGCTGGCTTTCCATC-3', 下游: 5'-AA-GATCTGCAGCTTTTCCACA-3', 扩增产物为123 bp; Foxp3 上游: 5'-CCCAGGAAAGACAGCAACCTT-3', 下游: 5'-TTCTACAACCAGGCCACTTG-3', 扩增产物为89 bp; 内参β-actin: 上游 5'-TTCCTTCTTGGG-TATGGAAT-3', 下游: 5'-GAGCAATGATCTT-GATCTTC-3', 扩增产物为203 bp。

1.2.4 Western blot 检测 NLRP3、Caspase-1p20、RORγt、Foxp3 蛋白表达水平

提取培养细胞的总蛋白, 测定样品蛋白浓度。取各组不同组分蛋白样品 60 μg, 经 10%SDS-PAGE 电泳分离后电转移膜, 加入稀释后的一抗 37 °C 孵育 1 h, 洗膜后加入稀释的特异性二抗及 SP-HRP 37 °C 孵育 2 h, 洗膜后用 0.05% DAB 缓冲液避光显色。

1.2.5 ELISA 法检测细胞培养上清中 IL-1β 和 Th17/Treg 相关细胞因子 IL-17、TGF-β、IL-10 的含量

按照试剂盒说明书进行操作, 实验完成后用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度值, 根据制作的标准曲线计算出各组样品的 IL-1β、IL-17、TGF-β、IL-10

含量。

1.3 统计学方法

计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 进行单因素方差分析(ANOVA), 各组间的比较采用 LSD 法。应用 SPSS 19.0 软件进行统计。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脾脏 Th17 细胞和 Treg 细胞比例的变化

流式细胞术结果显示, 各组间 Th17 和 Treg 细胞比例差异有统计学意义($F=124.32、148.58, P$ 均 <0.01)。与空白对照组比较, Ng 感染组脾脏 Th17 细胞和 $CD_4^+CD_{25}^+Foxp3^+$ Treg 细胞比例升高。加入孕酮预处理后, 脾脏 Th17 细胞比例随着孕酮作用浓度的增高而降低, $CD_4^+CD_{25}^+Foxp3^+$ Treg 细胞比例随着孕酮作用浓度的增高而增高, 加入 1×10^{-8} mol/L 或 1×10^{-7} mol/L 孕酮能明显下调脾脏 Th17 细胞比例, 上调 $CD_4^+CD_{25}^+Foxp3^+$ Treg 细胞比例(图1)。

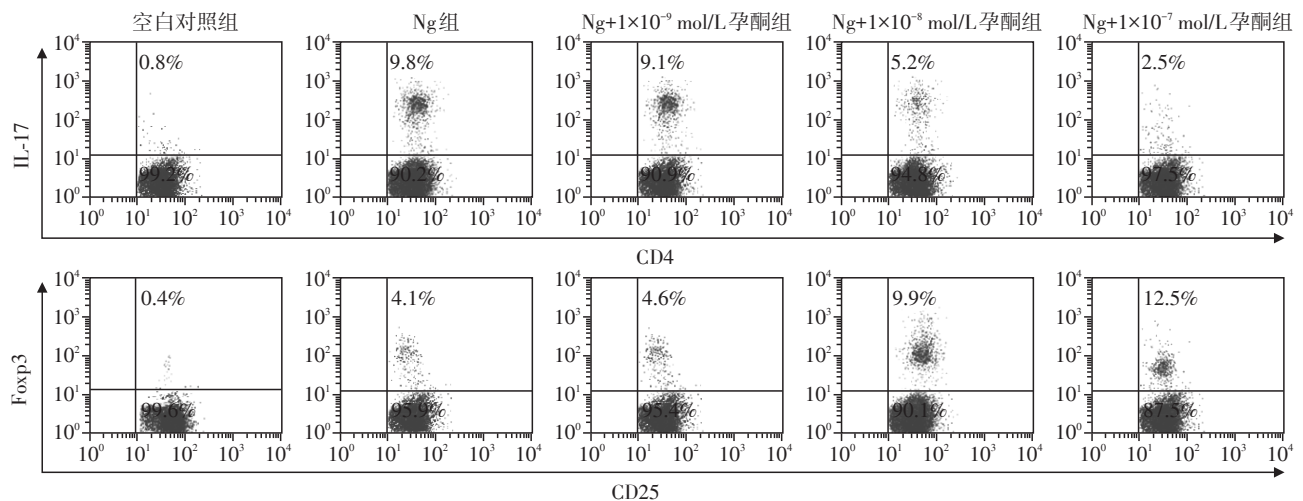


图1 脾脏中Th17细胞和Treg细胞比例(n=5)

Figure 1 The proportions of Th17 cells and Treg cells in murine splenocytes (n=5)

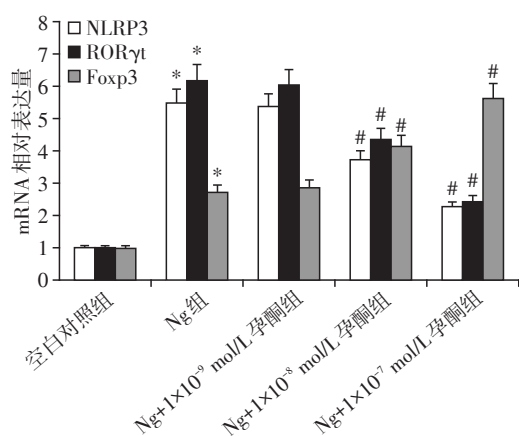
2.2 细胞内 NLRP3、Th17/Treg 特异性转录因子 RORγt、Foxp3 mRNA 表达的变化

RT-PCR 结果显示, 各组间 NLRP3、RORγt、Foxp3 mRNA 比较, 差异均有统计学意义($F=126.48、253.18、119.82, P$ 均 <0.01)。Ng 刺激小鼠脾细胞后, 细胞内 NLRP3、RORγt、Foxp3 mRNA 表达较空白对照组明显增加, 分别为空白对照组的 5.48 倍($t=9.46, P < 0.01$)、6.18 倍($t=11.82, P < 0.01$)和 2.74 倍($t=7.47, P < 0.01$)。加入孕酮预处理后, 细胞内 NLRP3、RORγt mRNA 表达水平随着孕酮浓度的增

高而降低, Foxp3 mRNA 表达水平随着孕酮浓度的增高而增高。加入 1×10^{-8} mol/L 或 1×10^{-7} mol/L 孕酮能明显降低 Ng 刺激引起的脾细胞内 NLRP3、RORγt mRNA 表达水平, 上调 Foxp3 mRNA 表达水平, 与 Ng 组比较, 差异有统计学意义($t=12.61、9.78、13.29, P$ 均 <0.01 , 图2)。

2.3 细胞内 NLRP3、Caspase-1p20、RORγt、Foxp3 蛋白表达的变化

Western blot 结果显示, NLRP3、Caspase-1p20、RORγt、Foxp3 蛋白各组间差异有统计学意义($F=$



与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与Ng组比较,* $P < 0.01$ ($n=5$)。

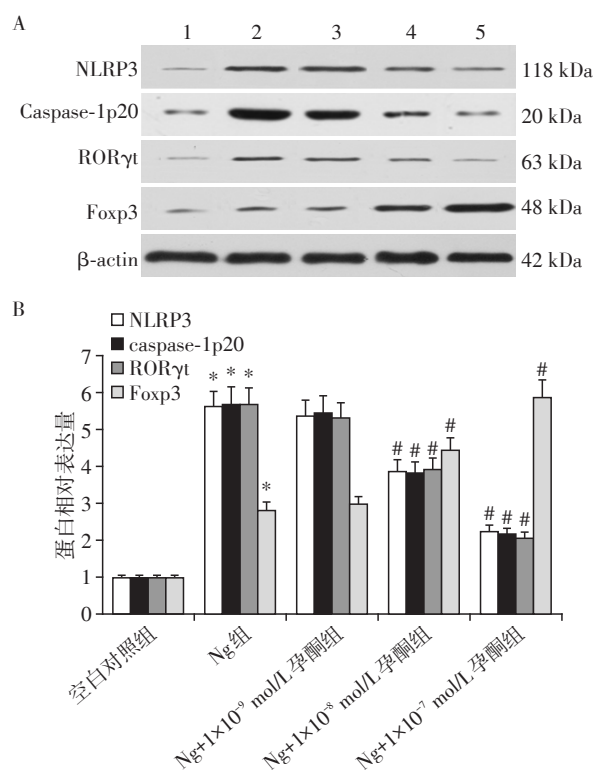
图2 细胞内NLRP3、ROR γ t、Foxp3 mRNA实时荧光定量PCR结果

Figure 2 Real-time PCR results of NLRP3, ROR γ t and Foxp3 in murine splenocytes

129.85、123.57、131.62、115.74, P 均 < 0.01)。Ng刺激小鼠脾细胞后,细胞内NLRP3、Caspase-1p20、ROR γ t、Foxp3蛋白表达较空白对照组明显增加,分别为空白对照组的5.62倍($t=10.58, P < 0.01$)、5.71倍($t=11.56, P < 0.01$)、5.69倍($t=12.04, P < 0.01$)和2.82倍($t=8.39, P < 0.01$)。加入孕酮预处理后,细胞内NLRP3、caspase-1p20、ROR γ t蛋白表达水平随着孕酮浓度的增高而降低,Foxp3蛋白表达水平随着孕酮浓度的增高而增高。加入 1×10^{-8} mol/L或 1×10^{-7} mol/L孕酮能明显降低Ng刺激引起的脾细胞内NLRP3、Caspase-1p20、ROR γ t蛋白表达水平,上调Foxp3蛋白表达水平,与Ng组比较,差异有统计学意义($t=13.48、12.83、10.39、14.36, P$ 均 < 0.01 ,图3)。

2.4 培养上清中IL-1 β 和Th17/Treg相关细胞因子IL-17、TGF- β 、IL-10含量的变化

ELISA结果显示,细胞培养上清中IL-1 β 、IL-17、TGF- β 、IL-10水平各组间差异有统计学意义($F=193.65、219.82、152.56、189.71, P$ 均 < 0.01)。Ng刺激小鼠脾细胞后,细胞培养上清中IL-1 β 、IL-17、TGF- β 、IL-10含量明显增加,与空白对照组比较,差异有统计学意义($t=14.81、15.87、12.15、13.49, P$ 均 < 0.01)。加入孕酮预处理后,细胞培养上清中IL-1 β 、IL-17水平随着孕酮浓度的增高而降低,TGF- β 、IL-10水平随着孕酮浓度的增高而增高。加入 1×10^{-8} mol/L或 1×10^{-7} mol/L孕酮能有效抑制Ng刺激引起的脾细胞IL-1 β 、IL-17的分泌,促进TGF- β 、IL-10的分泌,与Ng组比较,差异有统计学意义($t=11.94、$



A: 细胞内NLRP3、caspase-1p20、ROR γ t、Foxp3蛋白Western blot结果。1:空白对照组;2:Ng组;3:Ng+ 1×10^{-9} mol/L孕酮组;4:Ng+ 1×10^{-8} mol/L孕酮组;5:Ng+ 1×10^{-7} mol/L孕酮组。B: 细胞内NLRP3、caspase-1p20、ROR γ t、Foxp3蛋白半定量分析结果。与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与Ng组比较,* $P < 0.01$ ($n=3$)。

图3 各组细胞内NLRP3、caspase-1p20、ROR γ t、Foxp3蛋白表达情况

Figure 3 Expression of NLRP3, caspase-1p20, ROR γ t and Foxp3 proteins in murine splenocytes of each group

10.28、13.57、12.83, P 均 < 0.01 ,表1)。

3 讨论

NLRP3炎性体是由NLRP3、接头蛋白ASC和效应蛋白Caspase-1组成的一种分子量约为700 kDa的大分子蛋白复合体,在细胞质内发挥外源性微生物或内源性危险信号感受器的作用,它能使无活性的Caspase-1前体转化为活性Caspase-1,后者可裂解IL-1 β 、IL-18、IL-33前体以形成活性形式并分泌^[4]。研究发现,NLRP3炎性体介导的IL-1 β 的表达导致Th17/Treg失衡,诱导T细胞向Th17分化,引起局部炎症反应和组织损伤^[6]。本研究发现,Ng刺激小鼠脾细胞后,Th17细胞、Treg细胞比例升高,NLRP3、Th17/Treg特异性转录因子ROR γ t、Foxp3 mRNA和蛋白表达明显增加,细胞上清中Th17/Treg相关细胞因子IL-17、TGF- β 、IL-10水平亦增加。这一结果表明在Ng感染小鼠脾细胞的体外模型中Ng可诱导

表1 培养上清中细胞因子IL-1 β 、IL-17、TGF- β 、IL-10含量的变化
Table 1 The levels of IL-1 β , IL-17, TGF- β and IL-10 in the cellular supernatant (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

组别	IL-1 β	IL-17	TGF- β	IL-10
空白对照组(n=5)	20.63 \pm 4.98	24.13 \pm 5.09	21.53 \pm 5.05	23.62 \pm 5.12
Ng组(n=5)	199.41 \pm 21.25*	602.01 \pm 41.06*	254.92 \pm 32.94*	351.74 \pm 37.85*
Ng+1 \times 10 ⁻⁹ mol/L 孕酮组(n=5)	185.68 \pm 20.36	583.50 \pm 35.95	266.92 \pm 29.68	370.86 \pm 39.37
Ng+1 \times 10 ⁻⁸ mol/L 孕酮组(n=5)	95.92 \pm 10.85#	416.71 \pm 39.90#	400.53 \pm 40.36#	509.87 \pm 48.86#
Ng+1 \times 10 ⁻⁷ mol/L 孕酮组(n=5)	51.03 \pm 6.85#	241.02 \pm 34.87#	583.03 \pm 52.79#	658.17 \pm 56.03#

与空白对照组比较,* $P < 0.01$;与Ng组比较,# $P < 0.01$ 。

NLRP3 炎性体表达,促进 Th17、Treg 分化和免疫反应。Th17 和 Treg 分别在促进免疫应答和抑制免疫方面发挥关键作用。研究发现,Ng 在体内及体外实验中能选择性地诱导 Th17 免疫反应。Th17 细胞及其分泌的细胞因子 IL-17 可触发机体的天然免疫反应,包括诱导中性粒细胞趋化、产生抗菌蛋白^[7]。感染 Ng 后阴道黏膜局部产生的 Treg 与慢性无症状淋球菌感染有关^[8]。

孕激素与性传播疾病关系非常密切,孕激素可下调宫颈细胞诱导型一氧化氮合酶、环氧化酶-2 的表达并抑制胶原的组织,而且月经周期的激素变化能影响微生物的黏附^[9-10]。研究发现女性 Ng 下生殖道感染发展为上行性感染的敏感性可随着月经周期变化^[11-12]。另外前期研究也发现,孕激素通过促进胸腺基质淋巴细胞生成素和 TGF- β 的产生发挥免疫抑制及减轻炎症反应的作用^[13]。研究发现,孕酮可促进 T 细胞向 Treg 分化,但抑制其向 Th17 细胞分化^[14-16]。这些都说明孕激素具有免疫调节功能,能影响机体对 Ng 的易感性及炎症反应。本研究预先加入不同浓度的孕酮作用后,Ng 刺激的 Th17 细胞比例、NLRP3 和 Th17 特异性转录因子 ROR γ t mRNA 和蛋白表达、Th17 相关细胞因子 IL-17 的分泌随着孕酮浓度的增加而逐渐降低,Treg 细胞比例、Treg 特异性转录因子 Foxp3 mRNA 和蛋白表达、Treg 相关细胞因子 TGF- β 、IL-10 的分泌随着孕酮浓度的增加而逐渐增加。这表明孕酮可抑制 Ng 感染诱导的小鼠脾细胞中 NLRP3 表达及 Th17 分化,促进 Ng 感染诱导的 Treg 细胞分化。

本研究发现孕激素通过抑制 Ng 感染诱导的小鼠脾细胞中 NLRP3 表达及 Th17 分化、促进 Treg 细胞分化而发挥免疫抑制作用。与我们前期在动物体内的研究结果一致,这为解释孕激素在女性无症状 Ng 感染中的作用机制提供了一定的理论依据,可为女性无症状 Ng 感染的防治提供新思路,同时也为研制新的抗 Ng 药物提供新靶点。

[参考文献]

- [1] LENZ J D, DILLARD J P. Pathogenesis of *Neisseria gonorrhoeae* and the host defense in ascending infections of human fallopian tube[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2710
- [2] WU Z, XU L, TU Y, et al. The relationship between the symptoms of female gonococcal infections and serum progesterone level and the genotypes of *Neisseria gonorrhoeae* multi-antigen sequence type (NG-MAST) in Wuhan, China[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2011, 30(1): 113-116
- [3] XU L, DONG B, WANG H, et al. Progesterone suppresses Th17 cell responses, and enhances the development of regulatory T cells, through thymic stromal lymphopoietin-dependent mechanisms in experimental gonococcal genital tract infection [J]. *Microbes Infect*, 2013, 15 (12): 796-805
- [4] GONG Q, HE L, WANG M, et al. Comparison of the TLR4/NF κ B and NLRP3 signalling pathways in major organs of the mouse after intravenous injection of lipopolysaccharide[J]. *Pharm Biol*, 2019, 57(1): 555-563
- [5] 卢晓星, 张小强, 苗歆雨, 等. 原花青素对 LPS/ATP 诱导的 NLRP3 炎症小体激活及 NF- κ Bp65 磷酸化的抑制作用[J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2020, 40(8): 1111-1118
- [6] PATEL D, GAIKWAD S, CHALLAGUNDLA N, et al. Spleen tyrosine kinase inhibition ameliorates airway inflammation through modulation of NLRP3 inflammasome and Th17/Treg axis[J]. *Int Immunopharmacol*, 2018, 54: 375-384
- [7] STEVENS J S, CRISS A K. Pathogenesis of *Neisseria gonorrhoeae* in the female reproductive tract: neutrophilic host response, sustained infection, and clinical sequelae [J]. *Curr Opin Hematol*, 2018, 25(1): 13-21
- [8] LIU Y, LIU W, RUSSELL M W. Suppression of host adaptive immune responses by *Neisseria gonorrhoeae*: role of interleukin 10 and type 1 regulatory T cells [J]. *Mucosal Immunol*, 2014, 7(1): 165-176

(下转第 1591 页)

- [10] OU Z L, LUO Z, LU Y B. Long non-coding RNA HULC as a diagnostic and prognostic marker of pancreatic cancer [J]. *World J Gastroenterol*, 2019, 25(46):6728-6742
- [11] PIAN L, WEN X, KANG L, et al. Targeting the IGF1R pathway in breast cancer using antisense lncRNA-mediated promoter cis competition [J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2018, 12:105-117
- [12] ZHANG H, LIU T, ZHOU Z, et al. MiR-137 affects vaginal lubrication in female sexual dysfunction by targeting aquaporin-2 [J]. *Sex Med*, 2018, 6(4):339-347
- [13] MAURO S D, SCAMPORRINO A, PETTA S, et al. Serum coding and non-coding RNAs as biomarkers of NAFLD and fibrosis severity [J]. *Liver Int*, 2019, 39(9):1742-1754
- [14] COMEGLIO P, CELLAI I, FILIPPI S, et al. Differential effects of testosterone and estradiol on clitoral function: an experimental study in rats [J]. *J Sex Med*, 2016, 13(12):1858-1871
- [15] PARK J K, KIM J U, LEE S O, et al. Nitric oxide-cyclic GMP signaling pathway in the regulation of rabbit clitoral cavernosum tone [J]. *Exp Biol Med (Maywood)*, 2002, 227(11):1022-1030
- [16] OMODEI M S, MARQUES GOMES DELMANTO L R, CARVALHO-PESSOA E, et al. Association between pelvic floor muscle strength and sexual function in postmenopausal women [J]. *J Sex Med*, 2019, 16(12):1938-1946
- [收稿日期] 2021-04-13

(上接第 1578 页)

- [9] CALENDIA G, VILLEGAS G, REIS A, et al. Mucosal susceptibility to human immunodeficiency virus infection in the proliferative and secretory phases of the menstrual cycle [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2019, 35(3):335-347
- [10] 李林翰,林明娟,钱欢欢,等. 抑制巨噬细胞产生促炎性因子对异位内膜孕酮反应的影响 [J]. *南京医科大学学报(自然科学版)*, 2018, 38(7):966-972
- [11] MCLAUGHLIN S E, GHANEM K G, ZENILMAN J M, et al. Risk of gonococcal infection during vaginal exposure is associated with high vaginal pH and active menstruation [J]. *Sex Transm Dis*, 2019, 46(2):86-90
- [12] BISTER J, CRONA GUTERSTAM Y, STRUNZ B, et al. Human endometrial MAIT cells are transiently tissue resident and respond to *Neisseria gonorrhoeae* [J]. *Mucosal Immunol*, 2021, 14(2):357-365
- [13] 许莉,曾志良,陈宏翔,等. 雌、孕激素对淋球菌诱导的Hela细胞胸腺基质淋巴细胞生成素和转化生长因子 β 表达的影响 [J]. *中国皮肤性病杂志*, 2014, 28(5):448-450
- [14] SHIRSHEV S V, NEKRASOVA I V, GORBUNOVA O L, et al. Regulation of recombinase rag-1 expression by female sex steroids in Treg and Th17 lymphocytes: role of oncostatin M [J]. *Doklady Biochem Biophys*, 2019, 484(1):73-77
- [15] DZIOBEK K, BIEDKA M, NOWIKIEWICZ T, et al. Analysis of Treg cell population in patients with breast cancer with respect to progesterone receptor status [J]. *Contemp Oncol (Pozn)*, 2018, 22(4):236-239
- [16] WANG S C, LI M D, SUN F R, et al. Th17/Treg-cell balance in the peripheral blood of pregnant females with a history of recurrent spontaneous abortion receiving progesterone or cyclosporine A [J]. *Exp Ther Med*, 2021, 21(1):37
- [收稿日期] 2021-03-05