

[文章编号] 1000-4718(2008)12-2445-05

## CCK-8 对内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达及协同刺激功能的影响\*

张风华<sup>1</sup>, 李淑瑾<sup>1</sup>, 丛斌<sup>1△</sup>, 张正茂<sup>2</sup>, 朱桂军<sup>2</sup>, 丛军<sup>3</sup>, 马春玲<sup>1</sup>, 倪志宇<sup>1</sup>, 付丽红<sup>1</sup>  
(<sup>1</sup>河北医科大学基础医学院法医学系, 河北省法医学实验室, 河北石家庄 050017;  
<sup>2</sup>河北医科大学第四医院, 河北石家庄 050011; <sup>3</sup>河北省赵县人民医院, 河北赵县 051530)

**[摘要]** 目的: 探讨八肽胆囊收缩素(CCK-8)对内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达及其协同刺激活性的影响。方法: 将 BALB/c 小鼠随机分组( $n=4$ ), 分别腹腔注射生理盐水(0.2-0.3 mL/mouse), LPS (100  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ) 和/或 CCK-8 (5 nmol/mouse) 及 CR1409(100  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ )、CR2945(100  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ )。12 h 后收集并纯化腹腔巨噬细胞。采用流式细胞术分析细胞表面 B7.1 和 B7.2 含量的变化。用免疫磁珠从小鼠脾细胞分离 CD4<sup>+</sup>T 细胞, 按 4:1 数量比与上述处理的腹腔巨噬细胞共同体外培养, 同时加入 ConA 5 mg/L, 采用 [<sup>3</sup>H] 掺入法测定 CD4<sup>+</sup>T 细胞增殖, 反映巨噬细胞的协同刺激活性。结果: 整体应用 CCK-8 作用小鼠腹腔巨噬细胞, 与对照组相比, CCK-8 可上调静息小鼠腹腔巨噬细胞 B7.2 的表达, 而对 B7.1 的表达则无影响; 并且 CCK-8 使 CD4<sup>+</sup>T 细胞 [<sup>3</sup>H]-TdR 的掺入率升高, 即促进其增殖, 增强巨噬细胞的协同刺激活性。CCK-8 降低 LPS 活化的内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 的表达并且降低 CD4<sup>+</sup>T 细胞的 [<sup>3</sup>H]-TdR 掺入率, 即抑制其增殖, 抑制其协同刺激活性。CR1409 及 CR2945 均能逆转 CCK-8 的上述作用, 且 CR1409 的作用较 CR2945 更明显。结论: CCK-8 通过上调巨噬细胞 B7.2 表达而增强其协同刺激活性; 并且降低 LPS 活化的内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 的表达, 抑制其协同刺激活性。该作用由 CCK1R 及 CCK2R 共同介导, 其中 CCK1R 起主要介导作用。

**[关键词]** 胆囊收缩素; 巨噬细胞 B7.1; 巨噬细胞 B7.2; 内毒素血症

**[中图分类号]** R363.2 **[文献标识码]** A

### Effect of CCK-8 on the B7.1 and B7.2 expressions and costimulation of endotoxemia murine perineral macrophages

ZHANG Feng-hua<sup>1</sup>, LI Shu-jin<sup>1</sup>, CONG Bin<sup>1</sup>, ZHANG Zheng-mao<sup>2</sup>, ZHU Gui-jun<sup>2</sup>, CONG Jun<sup>3</sup>, MA Chun-ling<sup>1</sup>, NI Zhi-yu<sup>1</sup>, FU Li-hong<sup>1</sup>

(<sup>1</sup>Department of Forensic Medicine, Hebei Medical University, Forensic Laboratory of Hebei Province, Shijiazhuang, 050017, China; <sup>2</sup>The Fourth Hospital of Hebei Medical University, Shijiazhuang 050011, China; <sup>3</sup>The People's Hospital of Zhao County, Zhaoxian 051530, China. E-mail: bincong@263.net)

**[ABSTRACT]** **AIM:** To investigate *in vivo* effects of CCK-8 on the expressions of B7.1 and B7.2 and the costimulatory activity for T lymphocytes in endotoxemia murine perineral macrophages. **METHODS:** BALB/c mice were randomly assigned to 8 groups ( $n=4$ ) injected ip. with NS alone (0.2-0.3 mL/mouse), or with LPS (100  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ), in the presence or absence of CCK-8 (5 nmol/mouse) and CR1409 (100  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ), CR2945 (100  $\mu\text{g}/\text{mouse}$ ). After 12 h, macrophages were purified from the peritoneal exudate. The B7.1/B7.2 expression on purified macrophages was analyzed by flow cytometry and, alternatively, purified macrophages were assayed for macrophage costimulatory activity. ConA was added into the culture medium to stimulate CD4<sup>+</sup>T cell proliferation. The proliferation was determined by measuring [<sup>3</sup>H]-TdR incorporation in a  $\beta$ -scintillation counter. **RESULTS:** The *in vivo* administration of CCK-8 resulted in increase of B7.2 expression, but without any influence on B7.1 expression in peritoneal macrophages. CCK-8 also exhibited increased the [<sup>3</sup>H]-TdR incorporation in CD4<sup>+</sup>T cells. However, the *in vivo* CCK-8 administration reduced both B7.1 and B7.2 expression in LPS-induced endotoxemia murine peritoneal macrophages and the [<sup>3</sup>H]-TdR incorporation in CD4<sup>+</sup>T cells. These effects were consistent with the *in vitro* effects of CCK-8 on LPS-stimulated peripheral macrophages.

[收稿日期] 2007-12-27 [修回日期] 2008-05-09

\* [基金项目] 国家自然科学基金资助项目 (No. 30500193)

△通讯作者 Tel: 0311-86266406; E-mail: bincong@263.net

ges. CR1409 and CR2945 abolished the above effects of CCK - 8. CR1409 was more effective than CR2945. **CONCLUSION:** CCK - 8 enhances macrophage costimulatory activity by upregulating B7.2 expression, and at the same time, reduces LPS - induced costimulatory activity of endotoxemia murine perineral macrophages by downregulating B7.1 and B7.2 expression, which is mediated by CCK1R and CCK2R. CCK1R might be the major receptor responsible for the modulation of CCK - 8 on costimulation.

[**KEY WORDS**] Cholecystokinin; Macrophage B7.1; Macrophage B7.2; Endotoxemia

巨噬细胞可以作为抗原提呈细胞 (antigen presenting cell, APC) 摄取抗原并将其处理成免疫原性多肽, 以抗原肽 - MHC 分子复合物的形式表达于 APC 表面, 供 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 识别; 同时 APC 表达的协同刺激分子与 T 细胞表面的相应配体结合, 进而激活抗原特异性 T 细胞, 产生免疫应答。在参与 T 细胞激活的诸多协同刺激分子中, 最重要的是 T 细胞表面 CD28 分子与 APC 表面相应配体 B7.1 和 B7.2 的相互作用。八肽胆囊收缩素 (cholecystokinin octapeptide, CCK - 8) 是一种小分子多肽, 通过特异性受体与免疫细胞相互作用, 具有一定的免疫调节功能。我们的体外实验已经证实 CCK - 8 通过 CCK 受体 (CCK receptor, CCKR) 上调小鼠腹腔巨噬细胞 B7.2 表达并增强其协同刺激活性<sup>[1]</sup>; 而对 LPS (lipopolysaccharide) 活化的小鼠腹腔巨噬细胞, CCK - 8 则通过 CCKR 下调 LPS 诱导的巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达抑制其协同刺激活性<sup>[2]</sup>。本文将从整体水平 (*in vivo*) 来进一步证实上述体外实验的结果。

## 材 料 和 方 法

### 1 试剂

CCK - 8、CR1409、CR2945、刀豆蛋白 A (ConA) 均购自 Sigma。胎牛血清 (FCS, 北京圣马元亨生物有限公司); RPMI - 1640 培养基 (Gibco); FITC anti - mouse CD80、FITC anti - mouse CD86 购自 Biolegend。Mouse CD4 (L3T4) MicroBeads 购自 Miltenyi Biotec。 [<sup>3</sup>H] - TdR 购自北京高科电子股份有限公司。Fluorescein isothiocyanate (FITC) anti - mouse CD4 购自 eBioscience。Anti - mouse CD80 antibody 和 anti - mouse CD86 antibody 购自 R&D。

### 2 动物及分组

健康雌性 BALB/c 小鼠, 体重 18 - 20g 之间, 8 周龄, 由河北医科大学实验动物中心提供。

**2.1 实验分组** 对照组: 小鼠 ip 生理盐水 0.2 - 0.3 mL/mouse。内毒素血症组: 小鼠 ip LPS 100  $\mu$ g/mouse (5 mg/kg) 0.1 mL + NS 0.2 mL。LPS + CCK 组: 小鼠 ip CCK - 8 (5 nmol/mouse) 0.1 mL + LPS 0.1 mL + NS 0.1 mL。CCK - 8 组: 小鼠 ip CCK - 8 (5 nmol/mouse) 0.1 mL + NS 0.1 mL。CCK - 8

+ CR1409 组: 小鼠 ip CR1409 100  $\mu$ g/mouse (5 mg/kg) 0.1 mL + NS 0.1 mL。CCK - 8 + CR2945 组: 小鼠 ip CR2945 100  $\mu$ g/mouse (5 mg/kg) 0.1 mL + NS 0.1 mL。LPS + CCK + CR1409 组: 小鼠 ip (0.5 g/L) CR1409 100  $\mu$ g/mouse (5 mg/kg) 0.2 mL + CCK - 8 (5 nmol/mouse) 0.1 mL + LPS 0.1 mL。LPS + CCK + CR2945 组: 小鼠 ip (0.5 g/L) CR2945 100  $\mu$ g/mouse (5 mg/kg) 0.2 mL + CCK - 8 (5 nmol/mouse) 0.1 mL + LPS 0.1 mL。

### 3 小鼠腹腔巨噬细胞的分离纯化及处理

脱颈处死小鼠后, 75% 乙醇浸泡 5 min。用不完全 RPMI - 1640 培养基 5 mL 反复灌洗腹腔, 收集灌洗液, 4 $^{\circ}$ C, 离心 10 min。用完全 RPMI - 1640 培养基 (含 20% FCS,  $1 \times 10^5$  U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素) 重悬细胞, 进行细胞计数和台盼蓝染色, 检测细胞存活率大于 95%, 调整细胞浓度至  $2 \times 10^9$  cells/L。接种到 24 孔板或 96 孔板内, 置于 CO<sub>2</sub> 培养箱中 (37  $^{\circ}$ C, 5% CO<sub>2</sub>) 培养 2 h 后洗去未贴壁细胞, 剩余贴壁细胞即巨噬细胞。

### 4 小鼠 CD4<sup>+</sup>T 细胞的分离纯化

脱颈处死小鼠, 置 75% 乙醇中浸泡 5 min, 无菌取脾脏, 置于冰冷的 PBS - buffer (含 0.2 mol/L EDTA, 0.5% FCS) 中, 洗去血迹, 剪去脂肪和筋膜组织, 过 200 目钢网, 注射器针芯研磨, 收集细胞悬液于无菌离心管中, 1 000 r/min 离心 8 min, 沉淀加 5 倍体积的溶血素, 吹打, 室温放置 5 min, 1 000 r/min 离心 8 min, 弃上清, 用 PBS - buffer 洗 1 - 2 次, 过 400 目滤网, 此为脾细胞, 计数细胞。按照说明书加入相应体积的 CD4 (L3T4) MicroBeads 磁珠及 PBS - buffer, 4  $^{\circ}$ C 孵育 15 min, 洗涤细胞, 过 MS 分选柱, 收集 CD4<sup>+</sup>T 细胞并计数。用流式细胞术鉴定 CD4<sup>+</sup>T 细胞的分选效率及纯度, CD4<sup>+</sup>T 细胞的纯度大于 98%。用完全 RPMI - 1640 培养基 (含 10% FCS,  $1 \times 10^5$  U/L 青霉素和 100 mg/L 链霉素) 重悬细胞。

### 5 分析巨噬细胞的协同刺激活性

调整 CD4<sup>+</sup>T 细胞浓度至  $1 \times 10^9$  cells/L, 接种于 96 孔板中, 每孔  $2 \times 10^5$  细胞。将贴壁的每组巨噬细胞用培养基洗涤细胞 1 - 2 次, 吹打收集, 以  $5 \times 10^4$  cells/well 与 CD4<sup>+</sup>T 细胞共同培养, 加入 ConA 5

mg/L 刺激 T 细胞增生。每组设 4 个复孔, 37 °C、体积分数为 5% CO<sub>2</sub> 培养箱中培养 72 h, 在培养结束前的 18 h, 每孔加入 [<sup>3</sup>H] - TdR (10 μL/well, 3.7 × 10<sup>-2</sup> GBq/well), 继续培养至实验结束。用多头细胞收集仪将各孔细胞收集于玻璃纤维滤纸上, 于 90 °C 干燥 1 h, 用 β - 液闪仪检测 [<sup>3</sup>H] - TdR 的掺入率代表 CD4<sup>+</sup> T 细胞的增生, 以反映巨噬细胞的协同刺激活性。每分钟放射活性计数值, 即 counts · min<sup>-1</sup> 值, 取平均值表示脾细胞增殖活性。

## 6 流式细胞术检测巨噬细胞 CD80/CD86 蛋白表达

收集各组小鼠腹腔巨噬细胞, 同前处理, 用 PBS 洗细胞 1 次, 加入 FITC - 抗 B7.1 或 FITC - 抗 B7.2 抗体 2 μL (即 1 μg 抗体/4 × 10<sup>6</sup> 细胞) 室温, 避光, 孵育 30 min; 生理盐水洗 2 次后, 上机检测。每次实验用 FITC 标记的同型抗体作为对照。

## 7 统计学处理

用 SPSS 统计分析软件进行统计学分析。数据用均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 各组均数的比较行单因素方差分析 (One - way ANOVA), 用最小显著差法 (least significant difference, LSD) 作两两比较。

## 结 果

### 1 CCK - 8 对内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达的影响

腹腔注射 CCK - 8 (5 nmol) 12 h, 与对照组相比, 小鼠腹腔巨噬细胞 B7.2 表达增加, 而 B7.1 表达无明显变化, 见图 1A。应用 CCK1R 特异性拮抗剂 CR1409 和 CCK2R 特异性拮抗剂 CR2945 可部分逆转 CCK - 8 的作用, CR1409 的逆转作用强于 CR2945, 表明 CCK1R 起主要介导作用, 见图 1B。

腹腔注射 LPS (100 μg) 12 h 的内毒素血症小鼠, 腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达均明显升高 ( $P < 0.05$ ), 见图 2A; 预先注入 CCK - 8 (5 nmol) 则可降低内毒素血症小鼠 B7.1 及 B7.2 表达 ( $P < 0.05$ )。应用 CCKR 拮抗剂均可部分逆转 CCK - 8 的作用, CR1409 的逆转作用强于 CR2945, 表明 CCK1R 起主要介导作用, 见图 2B。

### 2 CCK - 8 对内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞协同刺激活性的影响

腹腔注射 CCK - 8 (5 nmol) 12h, 可以使 CD4<sup>+</sup> T 细胞 [<sup>3</sup>H] - TdR 的掺入率升高, 即促进其增殖, 与对照组相比, 有显著差异 ( $P < 0.05$ )。说明 CCK - 8 增强了静息状态下小鼠腹腔巨噬细胞的协同刺激活性。应用 CCK 特异性受体拮抗剂可部分逆转 CCK - 8 的作用, CR1409 的逆转作用强于 CR2945, 表明

CCK1R 起主要介导作用, 见图 3。

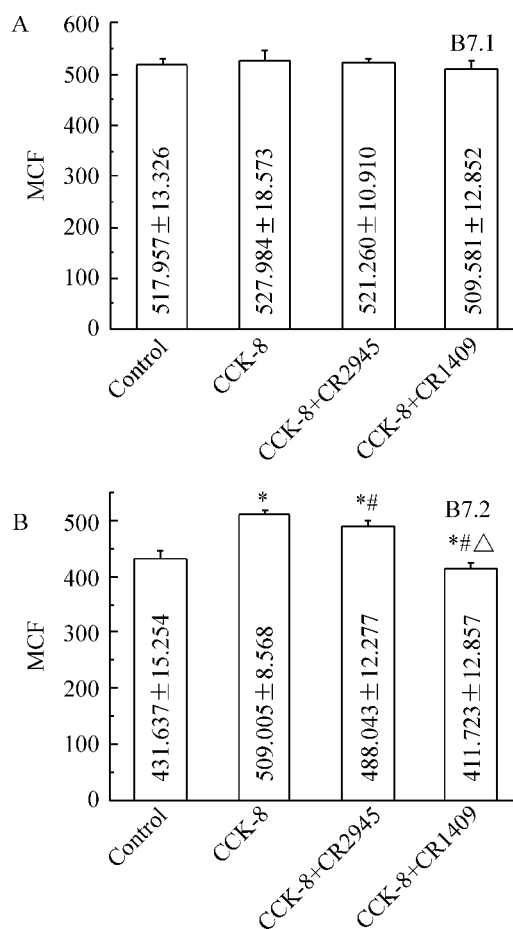


Fig 1 *In vivo* effects of CCK - 8 on B7.1 (A)/B7.2 (B) expression on macrophages through CCK1R and CCK2R.  $\bar{x} \pm s$ .  $n = 4$ . \*  $P < 0.05$  vs control group; #  $P < 0.05$  vs CCK - 8 group; Δ  $P < 0.05$  vs CCK - 8 + CR2945 group.

图 1 CCK - 8 对小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达的影响

腹腔注射 LPS (100 μg) 12 h 的内毒素血症小鼠, 将其腹腔巨噬细胞与 CD4<sup>+</sup> T 细胞混合培养, 则 CD4<sup>+</sup> T 细胞的 [<sup>3</sup>H] - TdR 掺入率升高, 即促进其增殖, 表明内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞的协同刺激活性增强了。预先注入 CCK - 8 (5 nmol) 则可降低 CD4<sup>+</sup> T 细胞的 [<sup>3</sup>H] - TdR 掺入率, 即抑制其增殖, 说明 CCK - 8 降低了内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞的协同刺激活性。应用 CCKR 特异性拮抗剂 CR1409 和 CR2945 均可部分逆转 CCK - 8 的作用, CR1409 的逆转作用强于 CR2945, 表明 CCK1R 起主要介导作用, 见图 4。

## 讨 论

我们先前的体外实验表明: CCK - 8 对巨噬细胞协同刺激活性的影响与其调节 B7.1 和 B7.2 表达密切相关。CCK - 8 提高了静息巨噬细胞 B7.1 和 B7.2

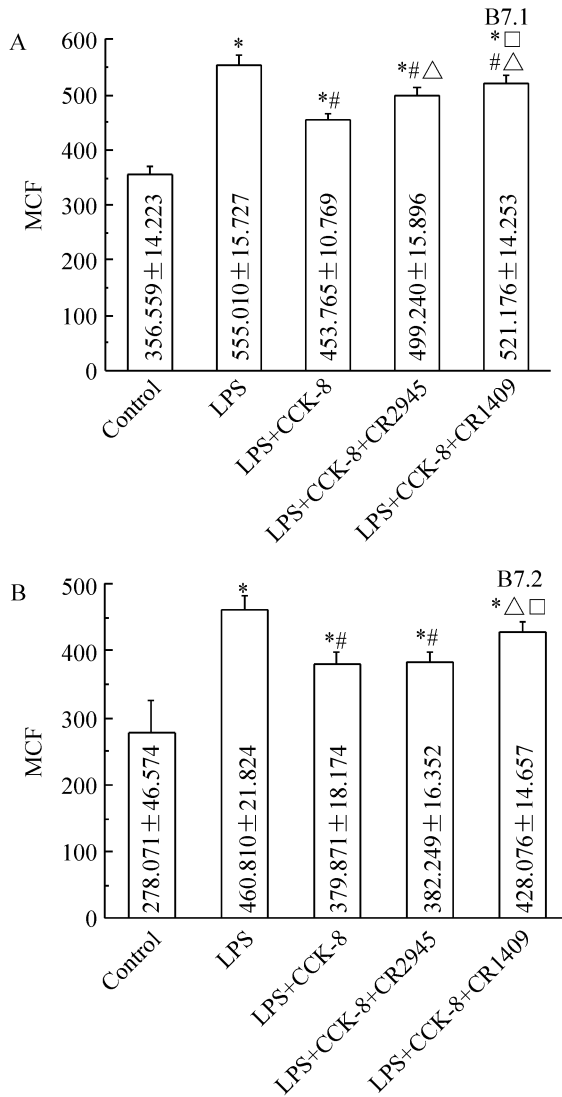


Fig 2 *In vivo* effects of CCK - 8 on B7.1 (A)/B7.2 (B) expression on macrophages of endotoxemia mice through CCK1R and CCK2R.  $\bar{x} \pm s$ .  $n = 4$ . \*  $P < 0.05$  vs control group; #  $P < 0.05$  vs LPS group;  $\Delta P < 0.05$  vs LPS + CCK - 8 group;  $\square P < 0.05$  vs LPS + CCK - 8 + CR2945 group.

图2 CCK - 8 对内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达的影响

表达。应用抗 B7.2 抗体可以降低巨噬细胞的协同刺激活性,抗 B7.1 抗体则无此作用<sup>[1]</sup>。对于 LPS 刺激活化的小鼠腹腔巨噬细胞,CCK - 8 降低了巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 的表达并且抑制了其协同刺激活性<sup>[2]</sup>。为进一步探讨 CCK - 8 这一在体作用,本文通过给小鼠腹腔注射 CCK - 8 进行了体内试验 (*in vivo*)。

未经免疫的小鼠体内应用 CCK - 8 可以诱导腹腔巨噬细胞 B7.2 表达增加,并且增强其协同刺激活性。使 CD4<sup>+</sup>T 细胞对 ConA 的反应性增强,CD4<sup>+</sup>T 细胞的 [<sup>3</sup>H] - TdR 掺入率明显增加,该结果与体外试验结果一致,表明外源性给予 CCK - 8 可通过上调

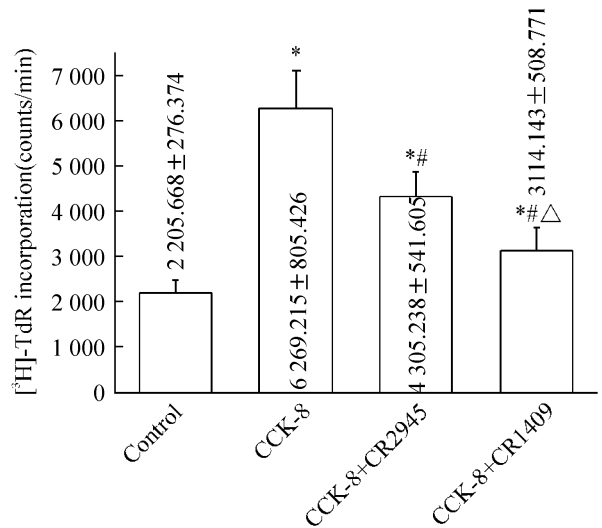


Fig 3 *In vivo* effects of CCK - 8 on macrophages costimulatory activity through CCK1R and CCK2R.  $\bar{x} \pm s$ .  $n = 4$ . \*  $P < 0.05$  vs control group; #  $P < 0.05$  vs CCK - 8 group;  $\Delta P < 0.05$  vs CCK - 8 + CR2945 group.

图3 CCK - 8 对小鼠腹腔巨噬细胞协同刺激活性的影响

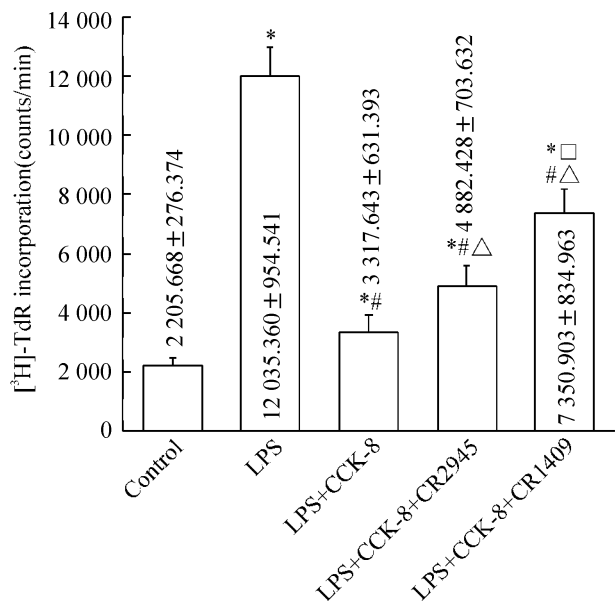


Fig 4 *In vivo* effects of CCK - 8 on macrophages costimulatory activity through CCK1R and CCK2R in endotoxemia mice.  $\bar{x} \pm s$ .  $n = 4$ . \*  $P < 0.05$  vs control group; #  $P < 0.05$  vs LPS group;  $\Delta P < 0.05$  vs LPS + CCK - 8 group;  $\square P < 0.05$  vs LPS + CCK - 8 + CR2945 group.

图4 CCK - 8 对内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞协同刺激活性的影响

B7.2 的表达而使小鼠腹腔巨噬细胞的协同刺激活性增强。但腹腔注射 CCK - 8 对 B7.1 的表达却无明显影响,这一点与体外实验结果不同,其原因可能与检测 B7 表达的时间有关。体外实验中,CCK - 8 孵育细胞 12 h 即可显著增加 B7.2 表达,24 h 及 48 h 有所下降;而 B7.1 的表达于 24 h 开始升高,48 h 达

高峰,即 CCK-8 诱导 B7.1 的表达晚于 B7.2 的表达。在部分体内实验中,我们选择的时点是注射 CCK-8 后 8 h,收集腹腔巨噬细胞检测 B7 的表达,可能在这个时点 B7.1 的表达尚未增加,这点有待进一步研究证实。

CCK-8 使注射 LPS 的小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达明显下降,并且显著地降低了其协同刺激活性。这一结果与我们先前的体外实验结果一致,表明内毒素血症小鼠腹腔巨噬细胞在介导天然免疫应答与适应性免疫应答过程中,CCK-8 表现出抑制性调节作用。结合我们先前的研究结果:CCK-8 可以抑制内毒素血症小鼠血清及肺组织促炎性细胞因子 IL-1 $\beta$ 、IL-6、TNF- $\alpha$  及 NO<sup>[3]</sup> 的产生,同时促进抗炎性细胞因子 IL-4、IL-10 的表达<sup>[4-8]</sup>,即 CCK-8 可以抑制巨噬细胞的天然免疫应答反应。这些结果说明,CCK-8 不仅可调节机体的天然免疫应答,同样可调节机体的适应性免疫应答。

CCK-8 是一种小分子多肽,被认为是淋巴微环境(包括外周免疫成员)的组成成分,由局部肽能神经和/或免疫细胞释放,通过特异性受体与免疫细胞相互作用<sup>[9-13]</sup>,因此我们认为 CCK-8 是一种内源性的免疫调节剂。尽管 CCK-8 具有抑制活化的巨噬细胞和 T 细胞的作用,被认为是抗炎剂,但是近来的研究表明:CCK-8 具有多种复杂的调节功能,这依赖于周围免疫细胞的活化状态、细胞的分化阶段、细胞因子的释放等免疫微环境的变化。

#### [参 考 文 献]

- [1] 张风华,李淑瑾,丛 斌,等. CCK-8 上调小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达并增强其协同刺激活性[J]. 中国病理生理杂志,2007,23(4):776-779.
- [2] 张风华,李淑瑾,丛 斌,等. CCK-8 对 LPS 作用下小鼠腹腔巨噬细胞 B7.1 和 B7.2 表达及其协同刺激功能的影响[J]. 中国药理学通报,2007,23(10):1271-1275.
- [3] 李淑瑾,凌亦凌,王殿华,等. 一氧化氮在八肽胆囊收缩素抗脂多糖致离体兔胸主动脉低血管反应性中的作用[J]. 中国病理生理杂志,2002,18(7):770-773.
- [4] Cong B, Li SJ, Yan YL, et al. Effect of cholecystokinin octapeptide on tumor necrosis factor  $\alpha$  transcription and nuclear factor -  $\kappa$ B activity induced by lipopolysaccharide in rat pulmonary interstitial macrophages [J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(4): 718-723.
- [5] Meng AH, Ling YL, Zhang XP, et al. CCK-8 inhibits expression of TNF- $\alpha$  in the spleen of endotoxic shock rats and signal transduction mechanism of P38 MAPK [J]. World J Gastroenterol, 2002, 8(1): 139-143.
- [6] Ling YL, Meng AH, Zhao XY, et al. Effects of cholecystokinin on cytokines during endotoxic shock in rats [J]. World J Gastroenterol, 2001, 7(5): 667-671.
- [7] 倪志宇,闫玉仙,丛 斌,等. CCK-8 对 LPS 攻击小鼠 IL-1 $\beta$ 、IL-6、IL-4、IL-10 表达的影响[J]. 中国病理生理杂志,2007,23(2):331-335.
- [8] Li S, Ni Z, Cong B, et al. CCK-8 inhibits LPS-induced IL-1 $\beta$  production in pulmonary interstitial macrophages by modulating PKA, P38 and NF- $\kappa$ B pathway [J]. Shock, 2007, 27(6):678-686.
- [9] De la Fuente M, Medina S, Del Rio M, et al. Effect of aging on the modulation of macrophage functions by neuropeptides [J]. Life Sci, 2000, 67(17):2125-2135.
- [10] Cuq P, Gross A, Terraza A, et al. mRNAs encoding CCKB but not CCKA receptors are expressed in human T lymphocytes and Jurkat lymphoblastoid cells [J]. Life Sci, 1997, 61(5):543-555.
- [11] Carrasco M, Hernanz A, De La Fuente M, et al. Effect of cholecystokinin and gastrin on human peripheral blood lymphocyte functions, implication of cyclic AMP and interleukin 2 [J]. Regul Pept, 1997, 70(2-3):135-142.
- [12] Medina S, Rio MD, Cuadra BD, et al. Age-related changes in the modulatory action of gastrin-releasing peptide, neuropeptide Y and sulfated cholecystokinin octapeptide in the proliferation of murine lymphocytes [J]. Neuropeptides, 1999, 33(2): 173-179.
- [13] Carrasco M, Monica DR, Angel H, et al. Inhibition of human neutrophil functions by sulfated and nonsulfated cholecystokinin octapeptides [J]. Peptides, 1997, 18(3):415-422.