

Tim-3/Galectin-9 途径在肝脏区域 免疫调节中的作用

叶于富^{1,2}, 俞 军¹, 刘原兴¹, 余松峰¹, 彭一帆¹, 郑树森^{1,2}

(1. 浙江大学附属第一医院肝胆胰外科, 卫生部多器官联合移植研究重点实验室,
杭州 310003;
2. 感染性疾病诊治协同创新中心, 杭州 310003)

摘要: 肝脏是机体重要的免疫特惠器官。Tim-3/Galectin-9 (Gal-9) 信号通路在机体免疫调节、肿瘤免疫逃逸及免疫耐受中发挥重要作用。本文综述了 Tim-3/Gal-9 信号通路在肝移植免疫耐受、缺血再灌注损伤 (ischemic reperfusion injury, IRI)、病毒性肝炎、自身免疫性肝炎 (autoimmune hepatitis, AIH)、非酒精性脂肪性肝病 (non-alcoholic fatty liver disease, NAFLD)、酒精性肝病 (alcoholic liver disease, ALD) 以及肝细胞肝癌 (hepatocellular carcinoma, HCC) 等疾病中的作用及相关机制, 为将来应用研究奠定了理论基础。

关键词: 外科学; 肝脏区域免疫; 综述; Tim-3; Galectin-9; 免疫耐受

中图分类号: R392 文献标识码: A 文章编号: 1674-2850(2017)23-2571-06

Role of Tim-3/Galectin-9 in local control of the immune response in the liver

YE Yufu^{1,2}, YU Jun¹, LIU Yuanxing¹, YU Songfeng¹, PENG Yifan¹, ZHENG Shusen^{1,2}

(1. *Key Laboratory of Combined Multi-organ Transplantation, Ministry of Public Health, Department of Hepatobiliary and Pancreatic Surgery, The First Affiliated Hospital, Zhejiang University, Hangzhou 310003, China;*
2. *Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, Hangzhou 310003, China*)

Abstract: The liver is an immunologically privileged organ. The Tim-3/Galectin-9 (Gal-9) signaling pathway plays an important role in immune regulation, tumor immune escape and immune tolerance. This review summarizes the potential role and mechanisms of Tim-3/Gal-9 in various liver diseases, such as liver transplant tolerance, ischemia reperfusion injury (IRI), viral hepatitis, autoimmune hepatitis (AIH), non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD), alcoholic liver disease (ALD) and hepatocellular carcinoma (HCC), laying the theoretical foundations for future applied research.

Key words: surgery; local hepatic immune; review; Tim-3; Galectin-9; immune tolerance

0 引言

肝脏是机体重要的免疫器官, 具有独特的免疫学特性。肝脏可有效处理经门静脉回流的胃肠道吸收的外源性抗原, 如脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS)。乙型/丙型肝炎病毒 (hepatitis B/C virus, HBV/HCV) 等嗜肝病原体常常逃避机体的免疫攻击形成慢性持续性感染。与其他实体脏器移植相比, 同种异体肝脏移植的术后排斥反应率低, 容易形成操作性耐受。肝脏的免疫特惠现象与肝脏独特的免疫学特性密切相关。

基金项目: 高等学校博士学科点专项科研基金 (20130101120125); 国家自然科学基金重大研究计划 (91542205)

作者简介: 叶于富 (1984—), 男, 主治医师, 主要研究方向: 肝脏区域免疫调节及肝移植免疫耐受发生机制

通信联系人: 郑树森, 教授, 主任医师, 主要研究方向: 肝移植及肝胆胰外科. E-mail: shusenzheng@zju.edu.cn

关。近年来,越来越多的研究显示 Tim-3 和 Gal-9 信号通路在机体免疫调节、肿瘤免疫逃逸及免疫耐受中发挥重要作用。本文主要阐述 Tim-3/Gal-9 通路在肝脏区域免疫调节中的作用及相关机制。

1 Tim-3 和 Gal-9 基因与分子结构

Tim 基因家族于 2001 年由 MONNEY 等^[1]首次发现并鉴定,其在鼠类中由 8 个成员组成(Tim-1~8),在人类中由 3 个成员组成(Tim-1、3、4)。Tim-3 基因包含两种同功型:全长的胞膜锚着形式(长度为 1 kb,含有免疫球蛋白 V 区、黏蛋白区、跨膜区和胞浆区)和可溶性形式(长度为 800 bp,仅含有免疫球蛋白 V 区和胞浆区,无黏蛋白区和跨膜区)^[2]。Gal-9 为 Tim-3 配体,属于半乳糖凝集素(galectin)家族。Gal-9 于 1997 年由 WADA 等^[3]从鼠胚肾组织中分离获得,具有 galectin 家族成员特征性的保守氨基酸序列。人类 Gal-9 基因位于染色体 17q11.1,包含 11 个外显子,转录物长度约为 1.7 kb。其编码蛋白约为 36 ku,包含 2 个同源的互补性决定区(complementarity determining region, CDR),N 末端 CDR 含有 148 个氨基酸,C 末端 CDR 含有 149 个氨基酸,两者由一条肽链相连。依据肽链长度的不同,可将 Gal-9 分为三类:长链、中链和短链 Gal-9^[4]。

2 Tim-3 和 Gal-9 在体内的分布与免疫调节功能

Tim-3 选择性地表达于 Th1 细胞,而不表达于 Th2 细胞^[5],也可表达于巨噬细胞、树突状细胞等抗原递呈细胞(antigen presenting cells, APC)^[6],并且发挥不同的免疫功能。Gal-9 广泛分布于肝脏、小肠、胸腺、肾脏、脾脏、肺脏、胰岛、心肌和骨骼肌等,在免疫系统中,Gal-9 主要表达于 APC、CD4⁺T 细胞及调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg),其组织分布的广泛性提示了功能的多样性^[7]。已有研究表明:Gal-9 具有控制炎症反应,介导细胞分化、增殖、凋亡、粘附、细胞间聚集,抗肿瘤转移,移植免疫耐受以及诱导嗜酸粒细胞聚集和活化等功能^[8]。

Gal-9 与 Tim-3 结合后,短时间内即可触发钙离子内流,诱导 Th1 细胞聚集和死亡,而 Th2 细胞几乎不受影响^[9],利用 Tim-3 抗体阻断 Tim-3 能够显著促进 T 细胞增殖和 IFN- γ 的产生^[10]。在小鼠实验性变态反应性脑脊髓炎(experimental allergic encephalomyelitis, EAE)模型中,利用 Tim-3 抗体及 siRNA 技术阻断 Gal-9 的表达,能够促进 Th1 细胞分化和增殖,从而加重 EAE 病理改变^[11],类似结果在多发硬化、系统性红斑狼疮和实验性自身免疫性关节炎等自身免疫性疾病中也得到了证实^[12-13]。小鼠实验中,Gal-9 能够抑制 Th17 细胞的产生及 IL-17 mRNA 的表达^[14],诱导 Treg 的生成^[14-18]。SEKI 等^[14]发现,在小鼠自身免疫性关节炎模型中,Gal-9 能抑制炎症因子 IL-17、IL-12 和 IFN- γ 的表达,体外实验发现它还能上调 TGF- β 1,介导初始 T 细胞向 Treg 的转化,抑制 Th17 细胞的产生。最近,SEHRAWAT 等^[18]报道 Gal-9 能显著诱导 CD4⁺TIM-3⁺Foxp3⁻细胞凋亡,但对 CD4⁺TIM-3⁺Foxp3⁺细胞影响不大,从而升高 Treg 和效应 T 细胞(Teffector)比例;进一步研究证实,在 CD3 和 IL-2 的刺激下,不加 TGF- β 1 时,Gal-9 也能促进 Treg 表达。以上研究说明, Tim-3/Gal-9 通路抑制 Th1、Th17 等 Teffector 作用,而促进 Treg 等调节性细胞作用,从而积极调节机体免疫反应。此外,转染 Tim-3 质粒的动物体内黑色素瘤细胞生长加速^[19];Gal-9 高表达于鼻咽癌组织中,阻断 Tim-3/Gal-9 通路可以增强抗肿瘤免疫^[20],说明 Tim-3/Gal-9 通路能够促进肿瘤免疫逃逸。

3 Tim-3/Gal-9 在肝脏区域免疫调节中的作用

3.1 Tim-3/Gal-9 在肝移植免疫耐受中的研究

Th1 和 Th17 细胞是肝移植急性排斥反应的主要介导细胞,而 Treg,特别是 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg,

是诱导和维持肝移植免疫耐受的关键细胞。在小鼠心脏移植和皮肤移植模型中, Gal-9 能够抑制 Th1 型免疫反应, 从而显著减轻排斥反应, 延长移植物存活时间; 利用 Tim-3-Ig 融合蛋白阻断 Tim-3/Gal-9 途径, 则可增强 Th1 型免疫反应, 从而打破移植免疫耐受, 促进移植排斥反应^[15, 21]。此外, 目前也有研究发现, Tim-3 可通过调控 CD4⁺CD25⁺ Treg 来抑制 Th1 细胞功能^[22], 并且越来越多的研究表明, Gal-9 能够诱导 Treg 的生成^[14-18]。这些研究均提示 Tim-3/Gal-9 途径对移植免疫耐受性的诱导及维持起重要作用。目前已有研究证实, 在小鼠皮肤移植模型中, CD8⁺CD44^{high}CD62L^{low} 细胞高表达 Tim-3, Gal-9 能够诱导其凋亡, 减轻细胞毒性反应, 延长皮肤移植物存活时间^[16]。

3.2 Tim-3/Gal-9 在肝脏缺血再灌注损伤中的研究

肝脏 IRI 多见于失血性休克、肝外伤、肝部分切除和肝移植等, 固有免疫和适应性免疫在 IRI 中均发挥重要作用。在小鼠热缺血再灌注损伤模型中, 阻断 Tim-3 能够促进 TLR4、CXCL-1 和 CXCL-2 的表达, 同时减轻中性粒细胞、T 细胞和巨噬细胞的聚集, 从而促进肝脏炎症和损伤。Gal-9 在 IRI 模型小鼠外周血和肝组织中浓度显著增加, Gal-9 基因敲除小鼠肝脏炎症和损伤程度显著增加, 重组 Gal-9 治疗能够显著减轻肝脏 IRI, 减少 TLR4 的表达以及 TNF- α 、IL-6、IL- β 和 IFN- γ 的产生, 从而抑制肝细胞的凋亡^[23]。LIU 等^[24]利用 Tim-3 转基因小鼠肝脏移植模型及 RAG^{-/-}小鼠的过继转移等相关模型证实了 Tim-3 分子在 IRI 中的机制。体内、体外研究证明, 肝细胞在缺血再灌注后能够大量合成分泌 Tim-3 的配体 Gal-9 到肝窦中, 这些 Gal-9 对抑制 CD4⁺活化、诱导 T 细胞凋亡并进一步抑制肝脏炎症反应至关重要^[24]。

3.3 Tim-3/Gal-9 在病毒性肝炎中的研究

肝炎病毒感染的持续和慢性化是由于效应和记忆 T 淋巴细胞的功能缺陷所致。Tim-3 在 HCV 特异性 T 细胞表面高表达, 阻断 Tim-3 能够逆转 T 细胞耗竭并且恢复 CD4⁺和 CD8⁺ T 细胞的功能^[10, 25]。HCV 患者血浆 Gal-9 水平显著升高, 并且肝脏组织中 Kupffer 细胞表面 Gal-9 呈强染色; 与健康对照组相比, HCV 患者的外周血巨噬细胞在巨噬细胞集落刺激因子 (macrophage colony-stimulating factor, mCSF) 分化和 IFN- γ 的刺激下, Gal-9 表达显著升高^[26]。在 Gal-9 刺激下, HCV 患者和健康人外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 能够促进 CD4⁺CD25⁺FoxP3⁺CD127^{low} Treg 持续扩增^[26]。此外, Treg, 特别是 CD39⁺亚型, 能够分泌 Gal-9, 进而抑制 HCV 特异性 CD4⁺ T 细胞增殖和 IL-21 的产生, Gal-9 的治疗能够通过活化 Caspase-8 诱导 HCV 特异性 CD8⁺ T 细胞的凋亡, 并且能够被 Th17 细胞分泌的 IL-21 逆转^[27]。与健康对照组相比, Gal-9 在 HBV 患者血清及肝组织活检标本 Kupffer 细胞中高表达^[28]。Tim-3 在 HBV 特异性 T 细胞表面高表达, 并且抑制 IFN- γ 的产生^[29]。这些研究提示 Tim-3/Gal-9 通路在 HBV 和 HCV 的免疫逃逸中发挥重要作用。

3.4 Tim-3/Gal-9 在自身免疫性肝炎中的研究

AIH 是一组由于机体自身抗体存在而引起肝组织持续损伤为特征的慢性肝病, 临床以高 γ 球蛋白血症、波动性黄疸、特征性循环自身抗体及内分泌失常为特点。AIH 患者 Tim-3⁺CD4⁺ T 细胞在效应 CD4⁺ T 细胞 (CD25⁻) 中的比例低于健康人^[30]。AIH 患者 Gal-9⁺细胞在 CD4⁺CD25⁺ Treg 中比例更低, Gal-9⁻ Treg 亚群包含更多的 IFN- γ ⁺和 IL-17⁺细胞以及更少的 TGF- β ⁺和 IL-10⁺细胞, Gal-9⁺ Tregs 与 IgG 水平及抗体滴度成反比^[30]。Gal-9 能够通过诱导 CD4⁺CD25^{low/int} T effector 凋亡及 Treg 生成来减轻刀豆蛋白 A (Con A) 诱发的肝损伤^[22]。此外, Gal-9 能够抑制循环血中促炎细胞因子 TNF- α 和 IL-6 的产生。Gal-9 能够通过增加 Treg/T effector 比值来诱导 Con A 活化的 CD4⁺ T 细胞凋亡, 从而进一步减少 TNF- α 、IL-6 和 IFN- γ

的产生。因此, Tim-3/Gal-9 在 AIH 的治疗中具有潜在的应用价值。

3.5 Tim-3/Gal-9 在非酒精性脂肪性肝病中的研究

NAFLD 是指除酒精和其他明确的损肝因素外所致的以肝细胞内脂肪过度沉积为主要特征的临床病理综合征。自然杀伤 T 细胞 (natural killer T cell, NKT) 在天然和适应性免疫中均有作用, 并且被认为是两者的桥梁。NKT 细胞在正常肝脏中富集, 但在 NAFLD 患者肝脏中减少, 并被证明在 NAFLD 中发挥重要作用^[31]。增加肝脏 NKT 细胞数量能够改善 NAFLD 肝脏脂肪变程度及胰岛素抵抗。有研究表明, Tim-3 在 NKT 细胞上表达, Tim-3⁺ 肝脏 NKT 细胞成活化状态, Gal-9 诱导肝脏 NKT 细胞凋亡, 并且能够被 α -lactose (Gal-9 的抑制剂) 和抗 Tim-3 抗体阻断。因此, 在高脂肪饮食小鼠体内, Tim-3⁺ NKT 细胞更容易发生凋亡, Gal-9 能够增加肝脏 NKT 细胞的数量, 特别是 CD4⁺ NKT 细胞亚群; 给予高脂肪饮食小鼠注射 Gal-9 能够显著增加肝脏 IL-15 的表达, 而 IL-15 是诱导 NKT 细胞扩增和维持其活性的关键细胞因子, 阻断 IL-15 或清除 Kupffer 细胞后, Gal-9 无法促进 NKT 细胞的扩增^[32]。活化的 NKT 细胞导致 IFN- γ 的分泌, IFN- γ 促进 Tim-3 和 Gal-9 的表达增加, Tim-3 进而诱导 NKT 细胞凋亡, 从而限制过度免疫反应。然而, Gal-9 能够与 Kupffer 细胞表面的 Tim-3 相互作用, 从而产生 IL-15, 促进 NKT 细胞的增殖。

3.6 Tim-3/Gal-9 在酒精性肝病中的研究

天然免疫和获得性免疫在 ALD 的发生和发展中均发挥重要作用。有研究表明, 酒精性肝炎患者血浆 Gal-9 水平显著高于健康对照组及酒精性肝硬化患者, 其 T 细胞表达更高水平的 Tim-3 和 Gal-9, 并导致免疫耗竭以及天然免疫力减弱^[33]。一项针对 575 例嗜酒人群的研究表明, *LGALS9* 基因多态性与 ALD 的发生密切相关, rs4239242 和 rs4794976 单核苷酸型人群来源的 PBMC 在 IFN- γ 和酒精的刺激下, 可分泌更多的 Gal-9^[34]。这些研究提示, Tim-3/Gal-9 在 ALD 和 NAFLD 中作用不同。

3.7 Tim-3/Gal-9 在肝细胞肝癌中的研究

Tim-3/Gal-9 通路已被证实在多种肿瘤的免疫逃逸中发挥重要作用。乙肝相关性 HCC 患者, Gal-9⁺ Kupffer 细胞和 Tim-3⁺ T 细胞共定位染色, CD4⁺ T 细胞表面 Tim-3 呈高水平表达, 并且与更差的预后相关, 说明 Gal-9/Tim-3 参与了 HCC 的免疫逃逸^[35]。NK 细胞表面的 Gal-9 能够明显降低 NK 细胞介导的毒性作用、淋巴细胞活化的杀伤作用以及降低 IFN- γ 的分泌^[36]。人肝癌细胞系 (HepG2 和 SMMC7721) Gal-9 基因和蛋白表达水平显著高于正常肝细胞系 (Lo2), 并且能够诱导 PBMC 的凋亡^[37]。也有研究显示, 肝癌细胞表面 Gal-9 下调与组织学分化、淋巴细胞转移、血管侵犯、肝内转移和更差的存活相关^[38]。Gal-9 能够体外诱导 HCC 细胞系凋亡, 在异种无胸腺小鼠模型中抑制 HCC 的生长。值得注意的是, 这种凋亡效应只在 HLE 和 Li-7 两种肝癌细胞系中存在, 而 Huh-7 对 Gal-9 诱导的凋亡作用抵抗^[39]。有趣的是, Gal-9 在体内外也能够诱导胆管细胞癌细胞的凋亡^[39]。Gal-9 对 HCC 的双重作用机制需要进一步研究, 可能与肿瘤周围的微环境有关。

4 结论与展望

Tim-3/Gal-9 途径产生的负性调节信号, 可抑制 Th1 和 Th17 细胞增殖, 下调 Th1 和 Th17 型免疫应答, 诱导 Treg 增殖和分化。Tim-3/Gal-9 在肝移植免疫耐受、IRI、病毒性肝炎、AIH、NAFLD、ALD 及 HCC 等疾病中均有重要作用, 提示其可能成为肝脏疾病治疗或者肝移植免疫耐受诱导的潜在靶点。随着对 Tim-3/Gal-9 途径在肝脏区域免疫调节中的作用机制的进一步阐述, 今后有望研发针对该靶点的治疗肝脏疾病或诱导肝移植免疫的耐受药物。

[参考文献] (References)

- [1] MONNEY L, SABATOS C A, GAGLIA J L, et al. Th1-specific cell surface protein Tim-3 regulates macrophage activation and severity of an autoimmune disease[J]. *Nature*, 2002, 415(6871): 536-541.
- [2] FREEMAN G J, CASASNOVAS J M, UMETSU D T, et al. *TIM* genes: a family of cell surface phosphatidylserine receptors that regulate innate and adaptive immunity[J]. *Immunological Reviews*, 2010, 235(1): 172-189.
- [3] WADA J, KANWAR Y S. Identification and characterization of galectin-9, a novel beta-galactoside-binding mammalian lectin[J]. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272(9): 6078-6086.
- [4] LIPKOWITZ M S, LEAL-PINTO E, COHEN B E, et al. Galectin 9 is the sugar-regulated urate transporter/channel UAT[J]. *Glycoconjugate Journal*, 2002, 19(7): 491-498.
- [5] ZHU C, ANDERSON A C, SCHUBART A, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates T helper type 1 immunity[J]. *Nature Immunology*, 2005, 6(12): 1245-1252.
- [6] ANDERSON A C, ANDERSON D E, BREGOLI L, et al. Promotion of tissue inflammation by the immune receptor Tim-3 expressed on innate immune cells[J]. *Science*, 2007, 318(5853): 1141-1143.
- [7] SUK K, HWANG D Y, LEE M S. Natural autoantibody to galectin-9 in normal human sera[J]. *Journal of Clinical Immunology*, 1999, 19(3): 158-165.
- [8] JOHN S, MISHRA R. Galectin-9: from cell biology to complex disease dynamics[J]. *Journal of Bioscience*, 2016, 41(3): 507-534.
- [9] SU E W, LIN J Y, KANE L P. TIM-1 and TIM-3 proteins in immune regulation[J]. *Cytokine*, 2008, 44(1): 9-13.
- [10] GOLDEN-MASON L, PALMER B E, KASSAM N, et al. Negative immune regulator Tim-3 is overexpressed on T cells in hepatitis C virus infection and its blockade rescues dysfunctional CD4⁺ and CD8⁺ T cells[J]. *Journal of Virology*, 2009, 83(18): 9122-9130.
- [11] JOLLER N, PETERS A, ANDERSON A C, et al. Immune checkpoints in central nervous system autoimmunity[J]. *Immunological Reviews*, 2012, 248(1): 122-139.
- [12] PAN H F, ZHANG N, LI W X, et al. TIM-3 as a new therapeutic target in systemic lupus erythematosus[J]. *Molecular Biology Reports*, 2010, 37(1): 395-398.
- [13] LI X, ZHAO Y Q, LI C W, et al. T cell immunoglobulin-3 as a new therapeutic target for rheumatoid arthritis[J]. *Expert Opinion on Therapeutic Targets*, 2012, 16(12): 1145-1149.
- [14] SEKI M, OOMIZU S, SAKATA K M, et al. Galectin-9 suppresses the generation of Th17, promotes the induction of regulatory T cells, and regulates experimental autoimmune arthritis[J]. *Clinical Immunology*, 2008, 127(1): 78-88.
- [15] WANG F, HE W, YUAN J, et al. Activation of Tim-3-Galectin-9 pathway improves survival of fully allogeneic skin grafts[J]. *Transplant Immunology*, 2008, 19(1): 12-19.
- [16] WANG F, HE W, ZHOU H, et al. The Tim-3 ligand galectin-9 negatively regulates CD8⁺ alloreactive T cell and prolongs survival of skin graft[J]. *Cellular Immunology*, 2007, 250(1): 68-74.
- [17] NAKA E L, PONCIANO V C, CENEDEZE M A, et al. Detection of the Tim-3 ligand, galectin-9, inside the allograft during a rejection episode[J]. *International Immunopharmacology*, 2009, 9(6): 658-662.
- [18] SEHRAWAT S, SURYAWANSHI A, HIRASHIMA M, et al. Role of Tim-3/galectin-9 inhibitory interaction in viral-induced immunopathology: shifting the balance toward regulators[J]. *The Journal of Immunology*, 2009, 182(5): 3191-3201.
- [19] ANDERSON A C. Tim-3, a negative regulator of anti-tumor immunity[J]. *Current Opinion in Immunology*, 2012, 24(2): 213-216.
- [20] KLIBI J, NIKI T, RIEDEL A, et al. Blood diffusion and Th1-suppressive effects of galectin-9-containing exosomes released by Epstein-Barr virus-infected nasopharyngeal carcinoma cells[J]. *Blood*, 2009, 113(9): 1957-1966.
- [21] HE W, FANG Z, WANG F, et al. Galectin-9 significantly prolongs the survival of fully mismatched cardiac allografts in mice[J]. *Transplantation*, 2009, 88(6): 782-790.

- [22] LÜ K, ZHANG Y, ZHANG M, et al. Galectin-9 ameliorates Con A-induced hepatitis by inducing CD4⁺CD25^{low/int} effector T-cell apoptosis and increasing regulatory T cell number[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e48379.
- [23] HIRAO H, UCHIDA Y, KADONO K, et al. The protective function of galectin-9 in liver ischemia and reperfusion injury in mice[J]. Liver Transplantation, 2015, 21(7): 969-981.
- [24] LIU Y, JI H, ZHANG Y, et al. Recipient T cell TIM-3 and hepatocyte galectin-9 signalling protects mouse liver transplants against ischemia-reperfusion injury[J]. Journal of Hepatology, 2015, 62(3): 563-572.
- [25] MCMAHAN R H, GOLDEN-MASON L, NISHIMURA M I, et al. Tim-3 expression on PD-1⁺ HCV-specific human CTLs is associated with viral persistence, and its blockade restores hepatocyte-directed *in vitro* cytotoxicity[J]. The Journal of Clinical Investigation, 2010, 120(12): 4546-4557.
- [26] MENGSHOL J A, GOLDEN-MASON L, ARIKAWA T, et al. A crucial role for Kupffer cell-derived galectin-9 in regulation of T cell immunity in hepatitis C infection[J]. PLoS One, 2010, 5(3): e9504.
- [27] KARED H, FABRE T, BEDARD N, et al. Galectin-9 and IL-21 mediate cross-regulation between Th17 and Treg cells during acute hepatitis C[J]. PLoS Pathogens, 2013, 9(6): e1003422.
- [28] NEBBIA G, PEPPA D, SCHURICH A, et al. Upregulation of the Tim-3/galectin-9 pathway of T cell exhaustion in chronic hepatitis B virus infection[J]. PLoS One, 2012, 7(10): e47648.
- [29] BARJON C, NIKI T, VERILLAUD B, et al. A novel monoclonal antibody for detection of galectin-9 in tissue sections: application to human tissues infected by oncogenic viruses[J]. Infectious Agents and Cancer, 2012, 7(1): 16-27.
- [30] LIBERAL R, GRANT C R, HOLDER B S, et al. The impaired immune regulation of autoimmune hepatitis is linked to a defective galectin-9/Tim-3 pathway[J]. Hepatology, 2012, 56(2): 677-686.
- [31] LI Z, SOLOSKI M J, DIEHL A M, et al. Dietary factors alter hepatic innate immune system in mice with nonalcoholic fatty liver disease[J]. Hepatology, 2005, 42(4): 880-885.
- [32] TANG Z H, LIANG S, POTTER J, et al. Tim-3/galectin-9 regulate the homeostasis of hepatic NKT cells in a murine model of nonalcoholic fatty liver disease[J]. The Journal of Immunology, 2013, 190(4): 1788-1796.
- [33] MARKWICK L J, RIVA A, RYAN J M, et al. Blockade of PD1 and TIM3 restores innate and adaptive immunity in patients with acute alcoholic hepatitis[J]. Gastroenterology, 2015, 148(3): 590-602, e10.
- [34] ROSEN H R, GOLDEN-MASON L, DALY A K, et al. Variants in the *LGALS9* gene are associated with development of liver disease in heavy consumers of alcohol[J]. Clinical Gastroenterology and Hepatology, 2016, 14(5): 762-768, e1.
- [35] LI H, WU K, TAO K, et al. Tim-3/galectin-9 signaling pathway mediates T-cell dysfunction and predicts poor prognosis in patients with hepatitis B virus-associated hepatocellular carcinoma[J]. Hepatology, 2012, 56(4): 1342-1351.
- [36] GOLDEN-MASON L, MCMAHAN R H, STRONG M, et al. Galectin-9 functionally impairs natural killer cells in humans and mice[J]. Journal of Virology, 2013, 87(9): 4835-4845.
- [37] YANG Q, JIANG W, ZHUANG C, et al. microRNA-22 downregulation of galectin-9 influences lymphocyte apoptosis and tumor cell proliferation in liver cancer[J]. Oncology Reports, 2015, 34(4): 1771-1778.
- [38] ZHANG Z Y, DONG J H, CHEN Y W, et al. Galectin-9 acts as a prognostic factor with antimetastatic potential in hepatocellular carcinoma[J]. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 2012, 13(6): 2503-2509.
- [39] FUJITA K, IWAMA H, SAKAMOTO T, et al. Galectin-9 suppresses the growth of hepatocellular carcinoma via apoptosis *in vitro* and *in vivo*[J]. International Journal of Oncology, 2015, 46(6): 2419-2430.