

短时程光照对小鼠 SCN 和 LHB 谷氨酸受体表达的影响

李佳逸,金巧玲,王烈成,程娟

摘要 目的 探究短时程光照对视交叉上核(SCN)和外侧缰核(LHB)谷氨酸受体表达的影响。方法 利用 T7 (3.5 h/3.5 h 光暗循环)建立短时程光周期模型组和 T24 (12 h/12 h 光暗循环)正常光建立对照组,通过蛋白免疫印迹(Western blot)的方法对 SCN 和 LHB 脑区关键受体蛋白的表达进行分析,包括谷氨酸受体、垂体腺苷酸环化酶激活肽(PACAP)受体以及下游信号分子。结果 Western blot 结果显示,与 T24 相比,T7 下 SCN 在授时因子时间(ZT)1、ZT 5 的 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体亚型 2 (GluR2) 的表达增多($P < 0.05$, $P < 0.01$),T7 组 GluR2 总体表达比 T24 组增多($P < 0.01$),而 LHB 中 T7 组 GluR2 总体表达比 T24 组减少($P < 0.01$),与 T24 光周期相比,T7 光周期下 SCN 的 N-甲基-D-天冬氨酸受体亚型 2 (NR2B) 的总体表达上升($P < 0.05$),T7 光周期下 LHB 的磷酸化的细胞外调蛋白激酶(P-ERK)的总体表达上升($P < 0.05$)。结论 T7 光周期会导致 SCN 中 GluR2 和 NR2B 表达增多、LHB 中 GluR2 受体表达降低及 P-ERK 的表达升高。

关键词 短时程光照;外侧缰核;视交叉上核;谷氨酸受体
中图分类号 R 338.6

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2023)08-1306-07
doi:10.19405/j.cnki.issn1000-1492.2023.08.010

光对生物节律和情绪的调控是通过自感光神经节细胞(intrinsically photosensitive retinal ganglion cell, ipRGC)对哺乳动物的节律中枢视交叉上核(suprachiasmatic nucleus, SCN)和外侧缰核(lateral habenula, LHB)的直接投射^[1]。Fernandez et al^[1]验证了短时程光周期可诱发小鼠产生抑郁样行为。ipRGC 在 SCN 和 LHB 脑区的神经末梢释放谷氨酸和垂体腺苷酸环化酶激活肽(pituitary adenylate cyclase activating polypeptide, PACAP)^[2], PACAP 主要通过与其特异性受体 PAC1 结合产生作用^[3]。抑制 SCN 内谷氨酸信号,会使得光诱导的节律性相移停止^[4],N-甲基-D-天冬氨酸受体亚型 2 (N-methyl-

D-aspartic acid receptor subunit 2, NR2B)是介导光授时信号传递的重要组成部分^[5]。LHB 内兴奋性突触传递主要编码厌恶刺激和情感状态,这一活动主要由 α -氨基-3-羟基-5-甲基-4-异恶唑丙酸受体(α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor, AMPAR)介导^[6]。阻断 LHB 中的 NMDAR 可以挽救啮齿动物抑郁症模型中的快感缺乏^[7]。此外,LHB 中 PACAP-PAC1 信号通路与焦虑和应激障碍的产生有关^[8]。该研究将利用免疫印迹(Western blot)的方法,探究短时程光照下,SCN 及 LHB 脑区中谷氨酸信号通路、PACAP-PAC1 信号通路及下游关键性蛋白的变化。

1 材料与方法

1.1 实验动物 本实验使用的动物均为 SPF 级、C57BL/6J 雄性小鼠,6~8 周龄,体质量 20~25 g,购自河南斯克贝斯生物科技股份有限公司。小鼠被置于 T24 光暗循环(12 h/12 h)环境下,适应 1~2 周后,进行分组,将实验组小鼠置于 T7 (3.5 h/3.5 h)的光暗循环环境下饲养,对照组小鼠继续置于 T24 (12 h/12 h)的光环境下饲养,实验期间自由提供水和食物,4~6 周后用于实验。所有动物实验操作均符合安徽医科大学动物伦理委员会的要求。

1.2 主要抗体 Mouse anti-GAPDH 购自美国 Santa 公司;HRP Goat anti-Mouse、IgG HRP Goat anti-Rabbit IgG 购自江苏 Affinity 公司;Rabbit anti-NR2A、Rabbit anti-NR2B、Rabbit anti-P-PKA 购自江苏 Affibotech 公司;Mouse anti-PAC1 购自上海 Absin 公司;Mouse anti-GluR1 购自美国 Novus 公司;Rabbit anti-GluR2 购自成都正能生物。

1.3 主要仪器 垂直电泳槽购自美国 Bio-Rad 公司;低温高速离心机购自德国 Eppendorf 公司;电子分析天平购自德国 Sartorius 公司;研磨仪购自武汉塞维尔公司;凝胶成像显影仪购自上海培清公司;纯水仪购自合肥宏科公司;滚轴摇床购自海门海宁其林贝尔仪器公司;金属浴购自杭州米欧公司。

1.4 方法

1.4.1 溶液配制 ① 10 × 三羟甲基氨基甲烷

2023-06-07 接收

基金项目:安徽省高等学校科学研究项目(编号:2022AH050783)

作者单位:安徽医科大学基础医学院生理学教研室,合肥 230032

作者简介:李佳逸,女,硕士研究生;

程娟,女,副教授,硕士生导师,责任作者, E-mail:

Juancheng@ahmu.edu.cn

(hydroxymethyl aminomethane, Tris)-甘氨酸缓冲液:精确称量 144 g 甘氨酸, 30.3 g Tris, 定容至 1 L, 混匀后, 室温保存。② 1 × 电泳溶液:取 100 ml 10 × Tris-甘氨酸缓冲液定容至 1 L, 称取 1 g 十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS), 混匀后 4 °C 储存。③ 1 × 转膜溶液:取 100 ml 10 × Tris-甘氨酸缓冲液, 加入 200 ml 甲醇, 定容至 1 L, 混匀后 4 °C 储存。④ 10 × Tris 缓冲液:称取 24.2 g Tris 加入双蒸水 800 ml, 用 HCl 调 pH 至 7.6 后加入 80 g NaCl, 混匀后, 定容至 1 L, 4 °C 储存。⑤ 1 × 吐温三羟甲基氨基甲烷缓冲液(tris buffered saline with Tween, TBST)溶液:称取 100 ml 10 × 三羟甲基氨基甲烷缓冲液(tris buffered saline, TBS)定容至 1 L, 加入 1 ml 吐温 20, 混匀后 4 °C 储存。

1.4.2 组织蛋白的提取 授时因子时间(zeitgeber time, ZT)为人为控制的光暗时间,以 ZT 0 为开灯时间,在 24 h 内,组织样品的取样时间分别是 ZT 1、ZT 5、ZT 9、ZT 13、ZT 17、ZT 21,夜间配戴红外头灯取样。取样在光学显微镜下利用眼科手术器械操作,选取年龄体质量相近的小鼠,全程低温通氧。样品获取后分别置于 2 ml 离心管中,加入 200 μl RIPA 裂解液(加 1% 蛋白酶抑制剂)于离心管中,在 4 °C 研磨仪内充分研磨。用无菌的镊子取出离心管中的钢珠,放入提前预冷的 4 °C 低温超速离心机进行离心, 12 000 r/min, 4 °C, 15 min。离心后吸取上清液,加入 5 × 蛋白上样缓冲液, 100 °C、10 min 煮样,分装后 -80 °C 保存。

1.4.3 配制十二烷基硫酸钠(sodium dodecyl sulfate, SDS)凝胶 分离胶:5.9 ml ddH₂O, 5.0 ml 30% 聚丙烯酰胺, 3.8 ml 1.5 mol/L Tris-HCl (pH 8.8), 0.15 ml 10% SDS, 0.15 ml 10% 过硫酸铵, 0.006 ml 四甲基乙二胺(N,N,N',N'-tetramethylethylenediamine, TEMED)。按照 10% 的配方加入试剂,最后加入 200 μl 异丙醇,室温放至凝固。浓缩胶:4.1 ml ddH₂O, 1.0 30% 聚丙烯酰胺, 0.75 ml 1.0 mol/L Tris-HCl (pH 6.8), 0.06 ml 10% SDS, 0.06 ml 10% 过硫酸铵, 0.006 ml TEMED。将异丙醇倒出,按照 5% 的配方加入试剂,充分混匀后,立刻灌入玻璃板,室温放至凝固。

1.4.4 SDS-聚丙烯酰胺凝胶电泳(polyacrylamide gel electrophoresis, PAGE) 设置凝胶电泳参数 恒压 80 V 20 min, 切换电压为恒压 100 V, 直至所需目的蛋白充分分离后停止。

1.4.5 转膜与显色 电泳结束后,将分离胶放入转

膜液中,设置参数为恒流 260 mA、120 min。转膜结束后,封闭 2 h。弃去封闭液,加入 1 × TBST 洗涤 3 次, 1 次/1 min。将谷氨酸受体和下游分子受体的一抗按以下的稀释浓度配制:NMDAR-2A (NMDA receptor 2A, NR2A) (1 : 500); NMDAR-2B (NMDA receptor 2B, NR2B) (1 : 500); AMPAR1 (AMPA receptor 1, GluR1) (1 : 1 000); AMPAR2 (AMPA receptor 2, GluR2) (1 : 1 000); anti-PAC1 (1 : 500); 磷酸化的蛋白激酶 A (phosphorylated protein kinase A, P-PKA) (1 : 1 000); 磷酸化的细胞外调蛋白激酶 (phosphorylated extracellular regulated protein kinases, P-ERK) (1 : 1 000); Ca²⁺/钙调素依赖性蛋白激酶 II (calcium-CaM-dependent protein kinase II, CaMK II) (1 : 1 000); 甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) (1 : 1 000), 4 °C 过夜。取出膜,加入 1 × TBST 洗涤 3 次, 1 次/10 min。二抗孵育 1 h, HRP Goat anti-Mouse IgG/HRP Goat anti-Rabbit IgG (1 : 10 000)。弃去二抗, 1 × TBST 充分洗涤, 3 次/10 min。将膜置于凝胶成像系统中显影。

1.5 统计学处理 使用 SPSS 21.0 和 GraphPad Prism 7.0 软件实验数据。Western blot 结果运用 Image J 进行灰度分析,蛋白表达以占总蛋白量的比例进行量化统计,实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,单个时间点组间使用单因素方差(ANOVA)进行分析,实验组和对照组组间整体差异用 Two-way ANOVA 进行分析, N 代表组织样本数, n 代表一个 N 样本中包含的小鼠只数,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 短时程光周期影响 SCN 谷氨酸受体和 PAC1 受体的表达 与 T24 光周期相比, T7 光周期下 SCN 的 PAC1 受体变化差异无统计学意义(图 1B); 与 T24 光周期相比,在 T7 光周期下, GluR1 的总体表达呈现低于对照组的趋势,但差异无统计学意义(图 1D); 在 ZT 1 和 ZT 5, 与 T24 光周期相比, T7 光周期的 GluR2 蛋白表达上升(图 1F: $t = 3.565$, $P = 0.0161$; $t = 4.064$, $P = 0.0097$), 且 GluR2 的表达均在 ZT 13 达到峰值; 与 T24 光周期相比, T7 光周期下 NR2B 的表达整体上升(图 1J, $P = 0.0115$), 且 T7 光周期下和 T24 光周期下小鼠 SCN 中 NR2B 的表达均在 ZT 13 达到峰值。与 T24 光周期相比, T7 周期下 GluR2 的总体表达上调(图 1F, $P = 0.0067$), 结果显示 SCN 中 GluR2 和 NR2B 在 T7 光

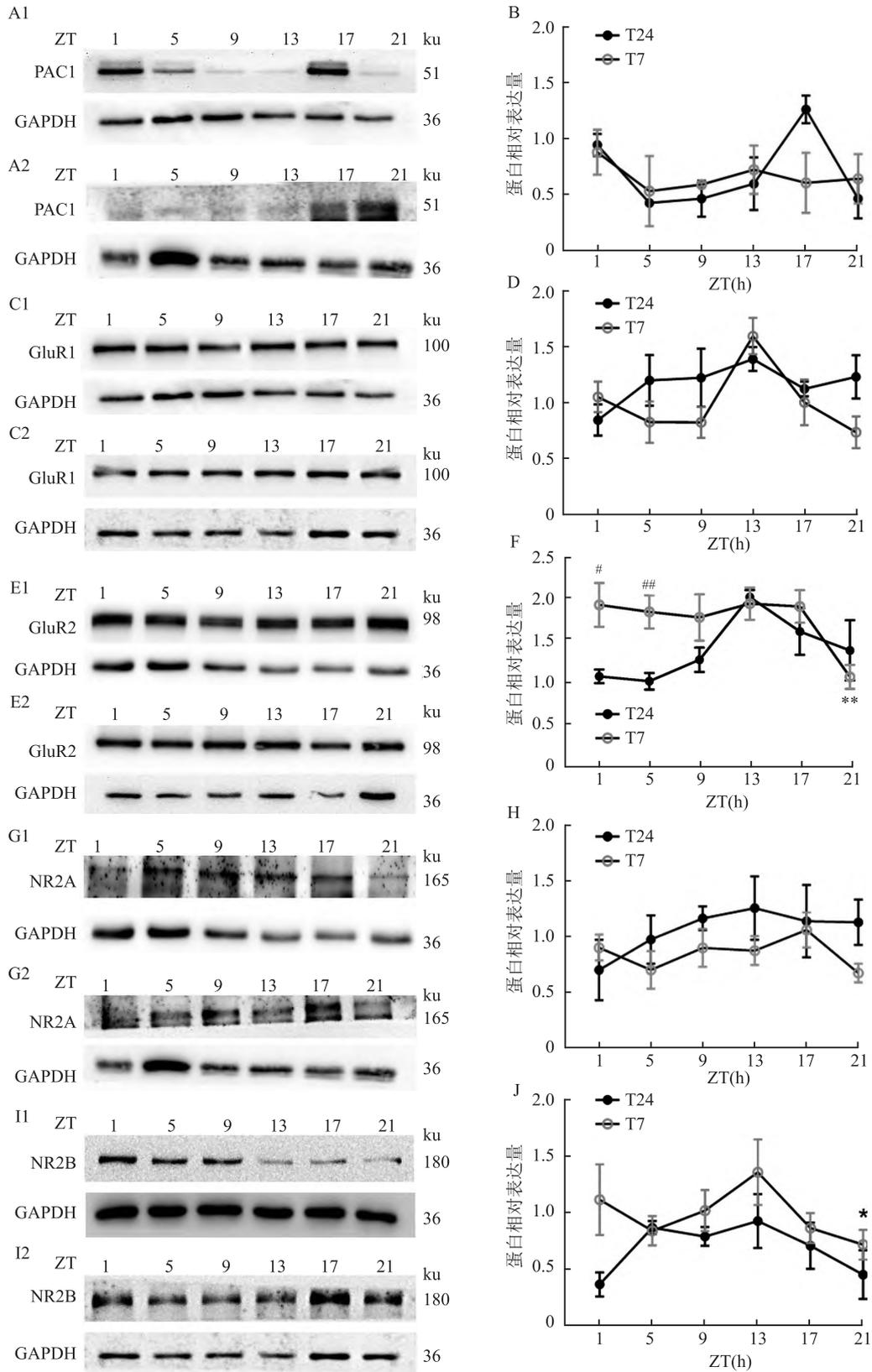


图1 T24及T7光周期对SCN的谷氨酸受体和PAC1受体的影响($\bar{x} \pm s, N=3$)

A、C、E、G、I; T7或T24周期下PAC1、NR2A、NR2B、GluR1、GluR2受体蛋白表达的代表图; 1; T24; 2; T7; B; SCN中PAC1受体的表达; D、F; SCN中GluR1、GluR2的表达; H、J; SCN中NR2A、NR2B的表达; 与T24光周期蛋白整体表达比较: * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与T24光周期比较: # $P < 0.05$, ## $P < 0.01$

周期下表达上升,表明短时程光照可能是通过影响谷氨酸受体的表达从而影响生物节律的稳定。

2.2 短时程光周期影响 LHB 谷氨酸受体和 PAC1 受体的表达 与 T24 光周期相比:T7 光周期下 LHB 的 PAC1 受体变化差异无统计学意义(图 2B),但整体呈现表达减少的趋势;T7 光周期下不同时间点和

24 h 内 GluR1 总体的表达差异无显著性(图 2D); T7 光周期下 GluR2 的总体表达下降(图 2F, $P = 0.0024$);而 T7 周期下不同时间点的 NR2B 差异无显著性(图 2H)。结果说明,短时程光周期下 LHB 脑区中谷氨酸受体表达显著减少,提示小鼠的抑郁样行为可能与 GluR2 的表达显著降低有关。

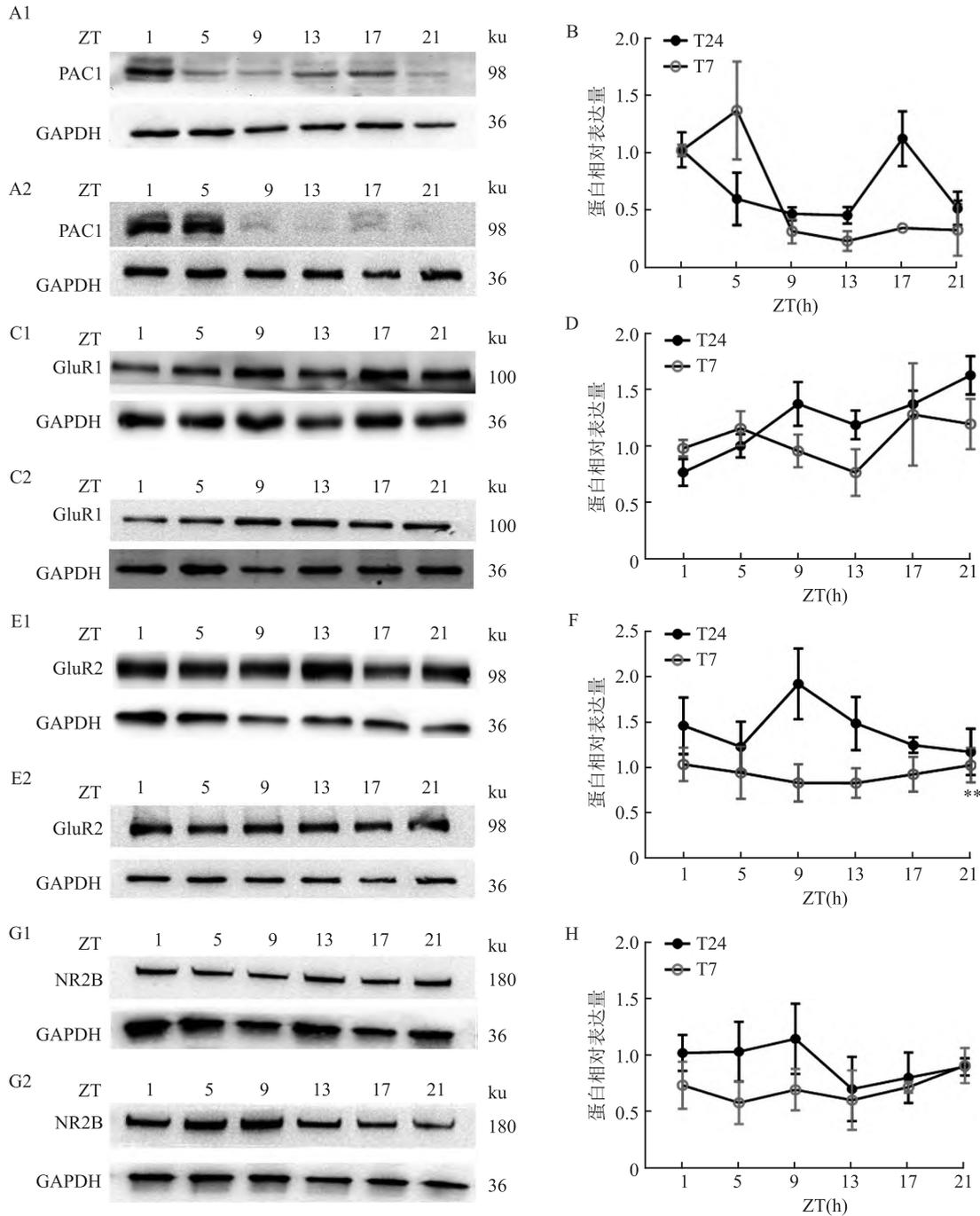


图2 T24及T7光周期对LHB的谷氨酸受体和PAC1受体的影响($\bar{x} \pm s, N=3$)

A、C、E、G;T7或T24周期下PAC1、GluR1、GluR2、NR2B受体蛋白表达的代表图;1:T24;2:T7;B:LHB中PAC1受体的表达;D、F:LHB中GluR1、GluR2的表达;H:LHB中NR2B的表达;与T24光周期蛋白整体表达比较:** $P < 0.01$

2.3 短时程光周期下 SCN 中下游信号分子的表达

与 T24 光周期相比, T7 光周期下 SCN 中各个时间点 CaMK II 的表达差异无统计学意义(图 3B); T7 光周期下 SCN 中 P-PKA 的表达高于 T24 光周期, 但差异无统计学意义(图 3D)。

2.4 短时程光周期对 LHB 中下游信号分子的表达的影响

T7 光周期下, LHB 中 CaMK II 表达与 T24 光周期相比, 无显著性差异(图 4B), 而与 T24 周期相比, T7 周期下 LHB 的 P-ERK 的表达整体上升(图 4D, $P=0.046$)。这些结果说明在 T7 光周期下小鼠产生抑郁样行为可能是由于上调 LHB 中 P-ERK 的表达导致。

3 讨论

研究^[3,9]表明, 光对于生物节律稳态的调控主要是通过 ipRGCs-SCN 信号通路。在 T24 光周期下, PACAP mRNA 在 ipRGCs 中的表达呈现夜间高于白天, 且在节律时间(CT)17 达到峰值^[2]。本研究结果显示, 在 T24 光周期下, SCN 中 PAC1 受体的表达在 ZT 17 达到峰值, 且在夜间呈上升的趋势, 但 T7 光周期下在 ZT 17 PAC1 受体的表达减少。谷氨酸作为 ipRGCs 末梢释放的主要神经递质, 谷氨酸-NMDA 受体信号通路对维持生物节律性振荡的稳定具有重要作用^[2-3], SCN 中 NR2B 的表达呈昼夜节

律性振荡, 且在夜间达到峰值^[10]。本研究结果显示, 关灯 1 h 后 NR2B 的表达达到峰值, 在 T7 光周期下 NR2B 的 24 h 内总体表达量高于正常光周期, 提示短时程光照可能扰乱了 NR2B 表达而影响节律的稳定。研究^[2]证实, SCN 内主要表达 AMPA 型受体的 mRNA 在 SCN 和周围区域大量表达。本研究结果显示, 在 T7 周期下, ZT 1、ZT 5 的 GluR2 的表达上调, 但 GluR1 表达在 ZT 13 达到峰值, 表明短时程光周期可能是通过影响谷氨酸受体的表达从而影响生物节律的稳定。

Fernandez et al^[11]验证了 T7 光周期可使得小鼠产生抑郁样行为, 同时揭示了短时程光照诱发的抑郁样情绪与 LHB 核团神经元活动具有直接关系。LHB 是一个较小的双侧上皮核, 对厌恶刺激做出反应并进行信息的整合, 并促进对未来不良事件的回避来调控情绪^[9]。位于 LHB 的前内侧区域的稀疏分布的神经元群体表达 PACAP, 它也在其他几个大脑区域表达, 并且在应激相关核中表达丰富^[8]。本研究结果显示, 在 T7 周期下, PAC1 受体表达减少。睡眠稳态的维持和情绪的调控存在直接关联, 研究^[11]表明 LHB 参与觉醒睡眠周期的调节, 其神经元兴奋具有促进 REM 睡眠作用, 这也可能是 LHB 调控情绪的又一机制, 睡眠稳态维持与 LHB 中与情绪调控相关蛋白表达之间的关系有待进一步探索。

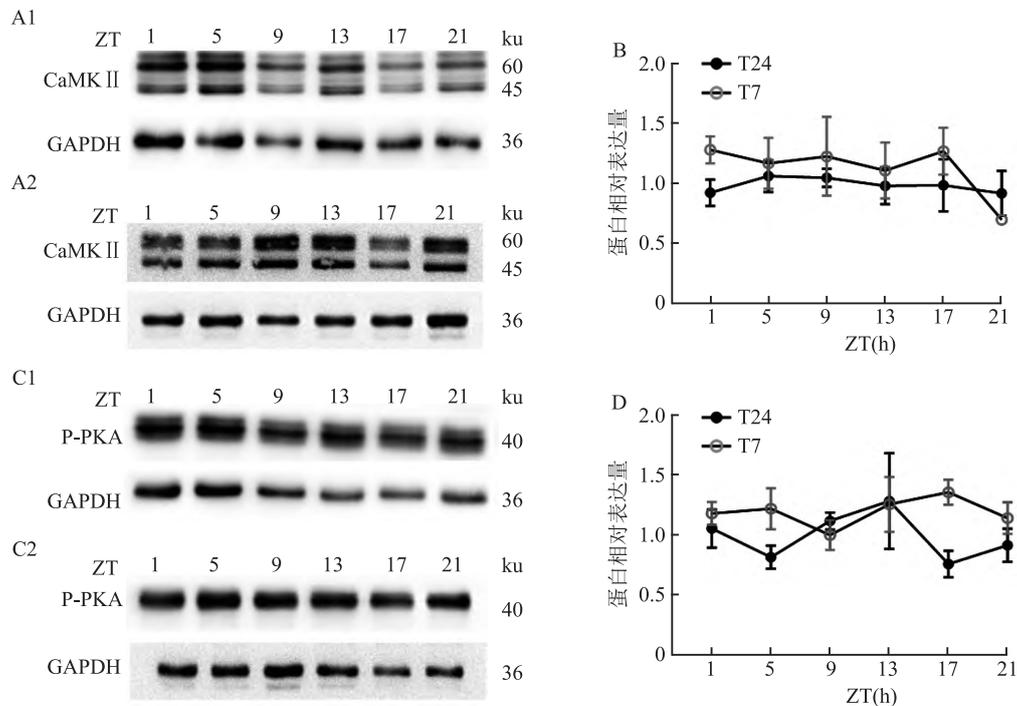


图3 T24及T7光周期对SCN中下游信号分子表达的影响

A、C: T24或T7光周期下SCN下游信号分子蛋白表达的代表图; 1: T24; 2: T7; B: SCN中CaMK II的表达; D: SCN中P-PKA的表达

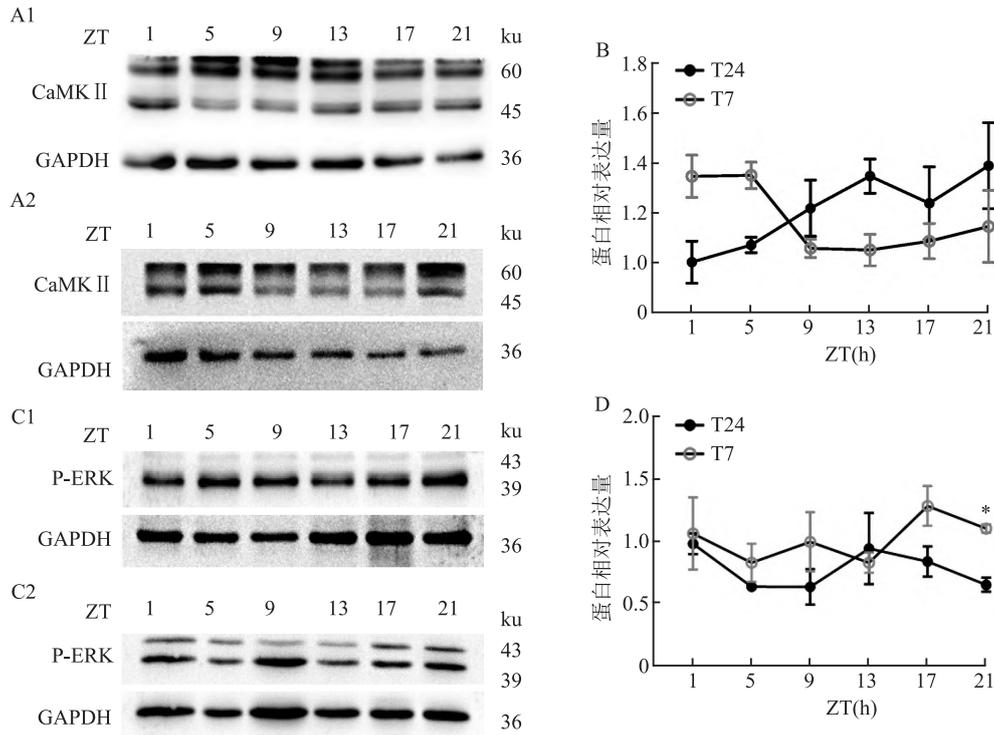


图4 T24及T7光周期对LHB中下游信号分子表达的影响

A、C: T7或T24周期下LHB下游信号分子蛋白表达的代表图; 1: T24; 2: T7; B: LHB中CaMKII的表达; D: LHB中P-ERK受体的表达; 与T24光周期蛋白整体表达比较; * $P < 0.05$

阻断LHB中NMDAR依赖的神经元爆发性活动,可介导氯胺酮在大鼠和小鼠抑郁症模型中的快速抗抑郁作用^[12]。在抑郁症模型下,激活NMDAR的表达,能提高LHB神经元放电频率,且特异性阻断LHB中NMDAR可以挽救享乐缺乏和行为绝望等病理表型^[13]。本研究结果显示,在T7光周期下GluR2的整体表达低于T24光周期,推测短周期光可导致小鼠抑郁样行为可能与谷氨酸受体的表达异常有关。研究^[14]表明,抑郁症会增加谷氨酸释放到含有AMPA的LHB突触上的概率,并通过CaMKII蛋白的过表达增强AMPA功能。本研究表明T7或T24光周期下,CaMKII的表达与AMPA的表达趋势一致。

参考文献

- [1] Fernandez D C, Fogerson P M, Ospri L L, et al. Light affects mood and learning through distinct retina-brain pathways [J]. *Cell*, 2018, 175(1):71-84. e18.
- [2] Lindberg P T, Mitchell J W, Burgoon P W, et al. Pituitary adenylate cyclase-activating peptide (PACAP)-glutamate co-transmission drives circadian phase-advancing responses to intrinsically photosensitive retinal ganglion cell projections by suprachiasmatic nucleus [J]. *Front Neurosci*, 2019, 13:1281.
- [3] Holland P R, Barloese M, Fahrenkrug J. PACAP in hypothalamic

regulation of sleep and circadian rhythm; importance for headache [J]. *J Headache Pain*, 2018, 19(1):20.

- [4] Gompf H S, Fuller P M, Hattar S, et al. Impaired circadian photosensitivity in mice lacking glutamate transmission from retinal melanopsin cells [J]. *J Biol Rhythms*, 2015, 30(1):35-41.
- [5] Biello S M, Bonsall D R, Atkinson L A, et al. Alterations in glutamatergic signaling contribute to the decline of circadian photoentrainment in aged mice [J]. *Neurobiol Aging*, 2018, 66:75-84.
- [6] An K, Zhao H, Miao Y, et al. A circadian rhythm-gated subcortical pathway for nighttime-light-induced depressive-like behaviors in mice [J]. *Nat Neurosci*, 2020, 23(7):869-80.
- [7] Nuno-Perez A, Mondoloni S, Tchenio A, et al. Biophysical and synaptic properties of NMDA receptors in the lateral habenula [J]. *Neuropharmacology*, 2021, 196:108718.
- [8] Levinstein M R, Bergkamp D J, Lewis Z K, et al. PACAP-expressing neurons in the lateral habenula diminish negative emotional valence [J]. *Genes Brain Behav*, 2022, 21(7):e12801.
- [9] LeGates T, Altimus C M, Wang H, et al. Aberrant light directly impairs mood and learning through melanopsin-expressing neurons [J]. *Nature*, 2012, 491:594-8.
- [10] Bendová Z, Sládek M, Svobodová I. The expression of NR2B subunit of NMDA receptor in the suprachiasmatic nucleus of Wistar rats and its role in glutamate-induced CREB and ERK1/2 phosphorylation [J]. *Neurochem Int*, 2012, 61(1):43-7.
- [11] 贵丽,章功良,张景行,等.兴奋和损毁外侧缰核对大鼠睡眠觉醒周期的影响 [J]. *安徽医科大学学报*, 2006, (5):511-3.
- [12] Cui Y, Hu S, Hu H. Lateral habenular burst firing as a target of

the rapid antidepressant effects of ketamine[J]. *Trends Neurosci*, 2019, 42(3):179-91.

[13] Yang Y, Cui Y, Sang K, et al. Ketamine blocks bursting in the lateral habenula to rapidly relieve depression[J]. *Nature*, 2018,

554(7692):317-22.

[14] Li K, Zhou T, Liao L, et al. β CaMKII in lateral habenula mediates core symptoms of depression[J]. *Science*, 2013, 341:1016-20.

Effects of an ultradian light on periodic expression of glutamate receptors in the SCN and LHB

Li Jiayi, Jin Qiaoling, Wang Liecheng, Cheng Juan

(Dept of Physiology, School of Basic Medical Sciences, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To explore the effects of an ultradian light cycle on the periodic expression of glutamate receptors in the suprachiasmatic nucleus and the lateral habenula nucleus. **Methods** An ultradian light cycle T7 (3.5 hours/3.5 hours light; dark) was used to establish an ultradian light cycle model group and T24 (12 hours/12 hours light; dark) was used to establish control group. The expression of key proteins in the brain regions of the suprachiasmatic nucleus (SCN) and the lateral habenula (LHB) of the hypothalamus were analyzed by Western blot. Including glutaminergic receptors, pituitary adenylate cyclase activating polypeptide (PACAP) receptors, and downstream signaling molecules. **Results** Western blot results showed that the expression of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazole-propionic acid receptor subunit 2 (GluR2) in SCN under Zeitgeber time (ZT) 1 and ZT 5 increased under an ultradian light cycle compared with normal photoperiod ($P < 0.05$, $P < 0.01$), the overall expression of GluR2 in T7 group was higher than that in T24 group ($P < 0.01$), the overall expression of GluR2 in LHB group T7 was lower than that in T24 group ($P < 0.01$). Compared with T24 photoperiod, the overall expression of N-methyl-D-aspartic acid receptor subunit 2 (NR2B) in SCN increased under T7 photoperiod ($P < 0.05$), the overall expression of phosphorylation of extracellular signal-related kinase (P-ERK) in LHB significantly increased under T7 photoperiod ($P < 0.05$). **Conclusion** An ultradian light cycle would cause an up-regulating of GluR2 and NR2B expression, a down-regulating of GluR2 expression and up-regulating P-ERK expression in LHB. **Key words** an ultradian light cycle; lateral habenula; suprachiasmatic nucleus; glutamate receptors

(上接第 1305 页)

sion levels of phosphatase and tensin homolog (PTEN), phosphorylated-Akt serine/threonine kinase 1 (p-Akt), Akt, nucleus NF- κ B subunit (RelB), cytoplasm RelB and programmed cell death 1 (PD-1) in T_{reg} cells. ELISA was used to determine the level of kynurenine in DCs culture supernatant, and the levels of interleukin-10 (IL-10), transforming growth factor- β (TGF- β) and IL-12 in imDCs and $CD4^+$ T cells co-culture system. **Results** Compared with Control group, the percentage of DCs cell counts expressing the surface markers of CD40, CD83, CD86 and major histocompatibility complex class-II (MHC II) in sCD83 group decreased ($P < 0.05$), with the level of kynurenine in DCs culture supernatant increased ($P < 0.05$). Compared with Control group, the percentage of T_{reg} cell counts in sCD83 group increased ($P < 0.05$), with the expression levels of PTEN and cytoplasm RelB enhanced ($P < 0.05$), while the expression levels of p-Akt, nucleus RelB and PD-1 decreased ($P < 0.05$). There was no significant difference in the expression level of Akt between the two groups. In the imDCs and $CD4^+$ T cells co-cultured supernatants, compared with Control group, the levels of IL-10 and TGF- β increased, and the level of IL-12 decreased in sCD83 group ($P < 0.05$). **Conclusion** sCD83 can inhibit $CD4^+$ T cells nucleus RelB levels and regulate cytokines secretion so as to have an effects on cellular crosstalk of imDCs and T_{reg} cells and promote imDCs and T_{reg} cells proliferation.

Key words immunosuppressive agent; soluble CD83; tolerant DCs; T_{reg} cells; RelB; indoleamine 2,3-dioxygenase