

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2014.15.011

Notch 信号途径在 Bregs 发育及口服耐受中的作用 *

李 慧^{1#} 段 涛^{2#} 冯海瑕¹ 刘玉峰¹ 李 巍^{1△}

(1 第四军医大学西京皮肤医院 陕西 西安 710032; 2 长治市第二人民医院普外科 山西 长治 046000)

摘要 目的:调节性 B 细胞(Bregs)是近年来确认的一类具有负向免疫调节功能的 B 细胞亚群,在免疫反应中通过 IL-10 发挥调节功能,又称为 B10 细胞,其表型为 CD19⁺CD5⁺CD1dhigh,在多种疾病中发挥重要的调节作用,但关于 Bregs 的发育及发挥调节功能的具体机制尚不明确。Notch 信号途径是调控细胞双向亚群和双向功能分化的重要信号途径,在 T/B 细胞分化、CD4/CD8 细胞等细胞发育中发挥重要的作用,但其在 B10 细胞发育及其免疫应答中调控作用尚不明确。本研究利用特异性在 B 细胞剔除 Notch 信号分子 RBP-J 基因的小鼠,分析 Notch 信号对 Bregs 发育及口服耐受的影响。**方法:**将 CD19-Cre 小鼠与 RBP-Jflox 小鼠交配,获得 CD19-Cre/RBP-Jf/f 基因型小鼠,流式细胞仪分析该小鼠 CD19⁺CD5⁺CD1dhighB10 细胞及体外刺激后产生 IL-10 的 B10 细胞数量;制备口服免疫耐受模型,分析 Notch 信号缺失对 B10 细胞发育和功能的影响。**结果:**B 细胞特异性敲除 RBP-J 基因的小鼠的 CD19⁺CD5⁺CD1dhighBregs 数量及体外刺激后产生 IL-10 的 B10 细胞数量比杂合子小鼠显著降低;且在口服免疫耐受模型中血清 IgE 水平显著升高。**结论:**Notch 信号敲除后,脾脏 Bregs 及其产生 IL-10 减少,在口服耐受中不能产生耐受,Notch 信号可能促进 Bregs 发育,并通过 IL-10 参与调控口服耐受。

关键词:Bregs;IL-10;Notch 信号途径;口服耐受**中图分类号:**R392.8 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2014)15-2844-04

Notch Signal Pathway in Bregs Development and Oral Tolerance*

LI Hui^{1#}, Duan Tao^{2#}, FENG Hai-xia¹, LIU Yu-feng¹, LI Wei^{1△}

(1 Department of Dermatology, Xijing Hospital, Fourth Military Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710032, China;

2 Department of General Surgery, Sencond People's Hospital, Changzhi, Shanxi, 046000, China)

ABSTRACT Objective: Regulatory B cell (Bregs) is a specific B cell population potently inhibits immune responses through the secretion of IL-10 recent years, termed B10 cells also. Its phenotype is CD5⁺CD1dhighCD19⁺. Bregs play an important role in several diseases. However, the precise mechanisms of Bregs development has not been elucidated so far. Notch signaling pathway participated in regulating cell subsets and bi functional differentiation. It involved in T/B cell and CD4/CD8 T cell differentiation It is not clear that Notch signaling pathway regulates B10 development and immune response. We will focus on analysis of the role of Notch signal pathway on Bregs cell development and the regulation on Breg in oral immune tolerance in a class of transgenic mice, in which the RBP-J gene were inactived in B cells. **Methods:** We acquired the CD19-cre/RBP-Jflox/flox genotype mice by mating the CD19-cre mice and RBP-Jflox mice, analysis of the frequencies of CD19⁺CD5⁺CD1dhigh Bregs and IL-10-producing B10 cell after stimu by Flow cytometric. Preparation of oral immune tolerance model to analyse of Notch signaling pathway effect on Bregs function. **Results:** The frequencies of CD19⁺CD5⁺CD1dhigh Bregs were significantly reduced in CD19-cre-RBP-Jf/f mice compared with the heteroaygous mice, the level of IgE increased in the mice which B cell specific knockout RBP-J. **Conclusions:** The numbers of Bregs and IL-10-producing decreased, which B cell specific knockout RBP-J can not tolerance in oral immune tolerance. Noch signaling pathway promotes Bregs development and controls oral tolerance by mediating IL-10.

Key words: Regulatory B cell; IL-10; Notch signaling pathway; Oral tolerance**Chinese Library Classification:** R392.8 **Document code:** A**Article ID:** 1673-6273(2014)15-2844-04

前言

调节性 B 细胞(Bregs)是近年来基于调节性 T 细胞研究的基础上确认的一类特殊的 B 细胞亚群,在免疫反应中发挥负向

免疫调节功能,由于细胞因子 IL-10 是其发挥功能的主要介质,故又称为 B10 细胞^[1,2]。研究表明,B10 细胞在自身免疫性疾病、代谢性疾病、炎症性疾病等多种疾病中均发挥重要调节作用,到目前为止,B10 公认的表型为 CD19⁺CD5⁺CD1dhigh^[3]。尽

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81273320)

共同第一作者

作者简介:李慧(1981-),女,硕士研究生,研究方向:变态反应性疾病的基础与临床研究,

Tel:15389285149,E-mail:lihui2082425@163.com

段涛(1982-),男,研究方向:肝癌的侵袭与转移,Tel:15635580757,E-mail:duantao2082425@163.com

△通讯作者:李巍,电话 029-84775406,研究方向:临床与免疫相关研究.E-mail:liwei@fmmu.edu.cn

(收稿日期:2014-02-14 接受日期:2014-03-15)

管研究已经表明 TLR 信号、BCR 信号、CD40 信号、IL-21 等在 Breg 的发育和功能中均发挥重要作用,但关于 Bregs 的发育及发挥调节功能的具体调控机制尚不明确。

Notch 信号途径是调控细胞分化的重要信号通路之一^[4],当细胞面临双向选择的时候,其发挥重要作用,但其在 B10 细胞发育及其功能的调控作用尚不明确。Notch 信号的作用途径已经明确,RBP-J 是 Notch 信号的主要核内转录因子,将 RBP-J 基因敲除可以获得 Notch 信号完全失活的模型^[5,6]。有研究表明 Notch 信号缺失后过度 2 型边缘带前体 (transitional 2 marginal zone precursor, T2-MZP) 细胞和边缘带 B (marginal zone B cell, MZB) 细胞数量和比例均减少,最新研究认为 Bregs 也来源于 T2-MZP 细胞^[7,8],这些表明 Notch 信号促进了 Bregs 前体细胞 (T2-MZP 细胞) 的发育,那么,Notch 信号在 Bregs 中发挥着怎样的作用呢? 本研究利用 B 细胞特异性敲除 RBP-J 基因的小鼠模型,关注了 Notch 信号在 Breg 发育过程中的作用,并制备小鼠 OVA 口服免疫耐受模型,探索了 Notch 信号特异性 IgE 应答中影响。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 小鼠 由 CD19-cre 和 RBP-Jflox 小鼠交配,剪尾、鉴定获得 CD19-Cre/RBP-Jf/f 基因型小鼠 (SPF 环境,12-16 周龄) 饲养于第四军医大学实验动物中心。

1.1.2 试剂与仪器 PTC-200 PCR 扩增仪、蛋白电泳仪为美国 Bio-Rad 公司产品;MPR-2100 酶联免疫检测分析仪为芬兰 Labsysytem 公司产品,流式细胞仪为美国 BeckmanCoulter 公司产品。Biotin-IgE、Avidin-HRP、FITC 标记的抗鼠 CD19、PE 标记的抗鼠 CD5、Biotin 标记的抗鼠 CD1d、APC 标记的 Avidin 购自美国 eBioscience 公司。PE/Cy5 标记的抗鼠 CD19、PE 标记的抗鼠 IL-10、PE 标记的大鼠 IgG2bk 同型对照、固定剂、破膜剂均购自美国 BioLegend 公司,离子霉素 (Ionomycin)、佛波酯 (PMA)、莫能星 (Monensin) 购自美国 Sigma 公司,RPMI1640 培养基、血清 (FBS) 购自美国 Gibco 公司。

1.2 方法

1.2.1 CD19-Cre/RBP-Jf/f 基因型小鼠的获得 将 CD19-Cre 小鼠与 RBP-Jflox 小鼠交配,所获得小鼠进行编号、剪尾、鉴定,获得 CD19-Cre/RBP-Jf/f 基因型小鼠。

1.2.2 口服免疫耐受模型的制备 将 CD19-Cre/RBP-Jf/f 小鼠和 CD19-Cre/RBP-Jf/+ 雌性小鼠 (8 至 12 周龄) 六对,进行卵白蛋白 (ovalbumin, OVA) 1 mg 灌胃 (浓度为 2 mg/ml, 每次 500 μ l), 隔日一次,共五次;间隔一周进行皮下注射 OVA 10 μ g (浓度为 0.1 mg/ml, 每次 100 μ l, 多点注射), 连续两次,2 周后尾静脉取血清分离血清;间隔一周再进行皮下注射 OVA 一次 (剂量同前), 间隔 2 周尾静脉取血清分离血清。

1.2.3 Elisa 检测小鼠血清中免疫球蛋白 IgE 纯化的 IgE 抗体,浓度为 2 μ g/ml, 每孔 100 μ l 包被 Elisa 酶标板,置于 4 $^{\circ}$ C, 16-18 h; Elisa 洗涤液 250 μ l 洗 3 次, 3 min/次; 每孔加入 100 μ l 封闭血清, 37 $^{\circ}$ C 封闭 1 h; 加入检测血清, 浓度为 1:100, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 放置 2 h; 洗 5 次, 3 min/次; 加入 Biotin-IgE-mAb, 浓度为 1:1000, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 放置 1 h; 洗 5

次, 3 min/次; 加入 Avidin-HRP, 浓度为 1:1000, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 放置 1 h; 洗 5 次, 3 min/次; 加入 TMB 显色剂, 100 μ l/孔, 37 $^{\circ}$ C 放置 10-15 min; 加入反应终止液, 100 μ l/孔, 酶联免疫检测分析仪 450 nm 分析检测结果。

1.2.3 小鼠脾脏细胞的获得 CD19-Cre/RBP-Jf/f 小鼠和 CD19-Cre/RBP-Jf/+ 小鼠同窝雌性, 六月龄。小鼠脱颈处死, 75% 酒精浸泡 3 分钟, 从左侧背脊中部分离小鼠脾脏, 置于培养皿内 200 目钢丝网上, 1 mL 注射器针芯背面研磨。1 ml RPMI 1640 培养基冲洗钢丝网, 反复 3 次, 将沉于培养皿的细胞吹起, 枪吸出, 置于 10 mL 离心管。离心后弃上清, 加入 1 mL 1 $\times$ ACK buffer, 振荡, 置冰上 5 min。加入 RPMI 1640 培养基 2 mL, 1000 rpm, 离心, 5 min。加入 1 mL RPMI 1640 培养基重悬, 振荡。进行细胞计数。

1.2.4 CD19 $^{+}$ CD5 $^{+}$ CD1d hi B 细胞的检测 将 3 $\times$ 10⁵ 脾脏细胞移入流式管中, 1.5 mL 流式洗涤液洗涤一次 (1000 rpm, 5 min, 4 $^{\circ}$ C, 离心), 弃上清, 加入封闭抗体 anti-mouse CD16/CD32 0.5 μ l, 4 $^{\circ}$ C, 15 min; 洗涤一次 (1000 rpm, 5 min, 4 $^{\circ}$ C, 离心), 弃上清, 样品管加入 Biotin-CD1d-mAb, 1 μ l, 4 $^{\circ}$ C, 避光反应 30 min。洗涤一次 (1000 rpm, 5 min, 4 $^{\circ}$ C, 离心), 弃上清。加入 FITC-CD19-mAb, PE-CD5-mAb, APC-Avidin 各 1 μ l, 4 $^{\circ}$ C, 避光反应 30 min。洗涤 2 次 (1000 rpm, 5 min, 4 $^{\circ}$ C, 离心), 弃上清。加 300 μ l 流式洗涤液重悬, 流式细胞仪上机分析。

1.2.5 体外细胞培养 取 2 $\times$ 10⁶ 细胞于 24 孔板, RPMI 1640 培养基加至 500 μ l, 培养 5 h, 每孔加入佛波酯 (PMA, 终浓度为 50 ng/mL)、离子霉素 (ionomycin, 终浓度为 500 ng/mL)、莫能星 (monensin, 终浓度为 2 μ M) [PIM] 作为基础刺激, 再加入 LPS (终浓度为 10 μ g/mL) 刺激 5 h。

1.2.6 CD19 $^{+}$ IL-10 $^{+}$ B 细胞的检测 收集刺激后 3 $\times$ 10⁵ 细胞于流式管中, 流式洗涤液 1.5 mL 洗涤 1 次 (1000 rpm, 离心, 5 min, 4 $^{\circ}$ C) 弃上清, 加入封闭抗体 anti-CD16/32mAb 0.5 μ l, 4 $^{\circ}$ C, 15 min。样品加入 1 μ l PE-CD19-mAb, 4 $^{\circ}$ C, 避光反应 30 min, 洗涤 1 次 (1000 rpm, 离心, 5 min, 4 $^{\circ}$ C)。加入细胞固定剂 750 μ l/管, 室温避光 20 min, 400 g, 4 $^{\circ}$ C, 离心, 6 min。2 mL 1 $\times$ PWB (破膜剂) 洗涤 3 次 (400 g, 离心, 6 min, 4 $^{\circ}$ C), 之后样品管加入 PE rat anti-mouse IL-10 2.5 μ l, 同型对照管加入等量的 PE rat IgG2b isotype control。室温避光反应 20 min, 2 mL 1 $\times$ PWB 洗涤 2 次 (400 g 离心, 6 min, 4 $^{\circ}$ C), 300 μ l 流式洗涤液重悬, 流式细胞仪上机分析。

1.3 统计学分析

两组间数据的比较采用 SPSS19.0 软件, 行配对 t 检验, P 值小于 0.05 时为差异有统计学意义。

2 结果

B 细胞特异性剔除 RBP-J 的小鼠脾脏中 Bregs 所占所有 B 细胞的比例较杂合子小鼠明显减少, LPS 体外刺激 5h 能产生 IL-10 的 B10 细胞的也减少; 纯合子小鼠再次接触 OVA 后血清 IgE 的水平明显增加, 即 B 细胞 Notch 信号缺失的小鼠不能产生免疫耐受。

2.1 小鼠血清中 IgE 的变化

OVA 口服免疫模型中检测小鼠皮下注射 OVA 后第一次

和第二次外周血中血清 IgE 水平,图 1 显示 CD19-Cre/RBP-J^{fl}/f 小鼠两次血清 IgE 水平均比 CD19-Cre/RBP-J^{fl}/+ 小鼠升高 (n=3, *P<0.05)。

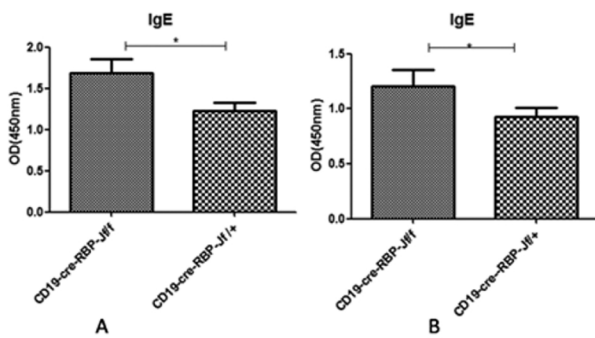


图 1 A、B 分别为皮下注射 OVA 后第一、二次小鼠血清的 IgE 浓度
*P<0.05

Fig.1 The serum IgE in mice after subcutaneous injecting OVA was presented in graph A and B, respectively

2.2 脾脏 CD19⁺CD5⁺CD1d^{high}B 细胞的变化

8 周龄小鼠脾脏细胞进行 PE/Cy5-anti-CD19mAb、PE-anti-CD5mAb、Biotin-anti-CD1dmAb、Avidin-FITC 抗体染色后分析 CD19⁺CD5⁺CD1d^{high}B 细胞占脾脏所有 B 细胞的比例,结果发现纯合子小鼠脾脏 Bregs 细胞占有所有 B 细胞比例平均为 4.90%,而杂合子小鼠为 8.81%。CD19-cre-RBP-J^{fl}/flox 小鼠脾脏中 Bregs 细胞比例比杂合子小鼠将近减少一半。t 检验分析,具有统计学意义, P<0.05。

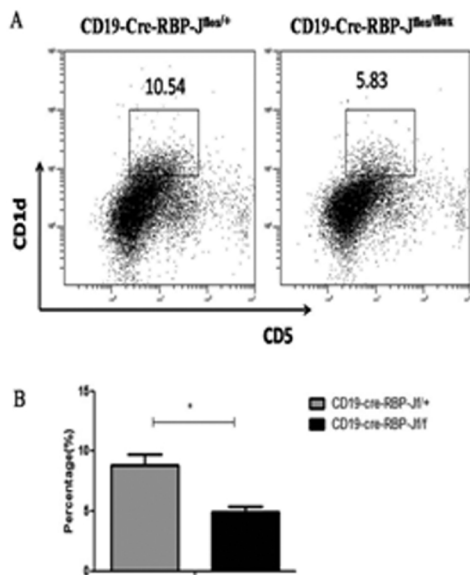


图 2 纯合子和杂合子小鼠脾脏 Bregs 之间比较, n=3, *P<0.05

Fig. 2 The comparison of spleen Bregs in homozygous and heterozygous, n=3, *P<0.05

2.3 脾脏 B10 细胞数量的变化

为了分析小鼠能产生 IL-10 的 Bregs 细胞的数量和比例,将转基因小鼠 CD19-cre-RBP-J^{fl}/flox 和 CD19-cre-RBP-J^{fl}/+ 分离脾脏细胞,体外培养, LPS 刺激 5 小时,同时 PIM 作为基础刺

激,进行检测与分析。细胞表面进行 PE/Cy5-anti-CD19 mAb 染色,固定、破膜后,胞内进行 PE-anti-IL-10 mAb 染色,流式细胞术分析表明,经 PIM 加 LPS 刺激 5 h 后 CD19-Cre/RBP-J^{fl}/f 小鼠 B10 细胞占 CD19⁺B 细胞的平均比例为 0.64%, CD19-Cre/RBP-J^{fl}/+ 小鼠为 1.88%,纯合子小鼠比杂合子小鼠比例显著降低,具有统计学差异(图 3)。

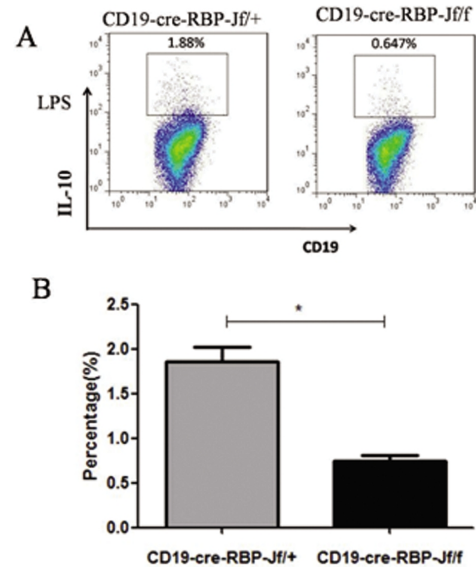


图 3 LPS 加 PIM 刺激 5h,纯合子和杂合子小鼠脾脏能产生 IL-10 的 B10 细胞比较, n=3, *P<0.05

Fig. 3 The comparison of producing-IL-10 B10 cell between homozygous and heterozygous, n=3, *P<0.05

3 讨论

B 细胞一直认为在免疫系统中发挥重要的正向调节作用,然而,近年来免疫学家确认了一类特殊的 B 细胞亚群 -- 调节性 B 细胞,在免疫系统中发挥负向免疫调节功能,在实验性自身免疫性脑脊髓炎(EAE)、IgA 肾病、系统性红斑狼疮、大疱性类天疱疮等疾病中发挥重要的调节作用^[9-11]。Bregs 的免疫调节功能主要依赖细胞因子 IL-10,又被称为 B10 细胞。但到目前为止,关于 Breg 的发育和功能的具体调控机制尚未完全阐明。Notch 信号通路是调控细胞分化发育的重要通路之一,在淋巴细胞发育中发挥着重要作用,Notch 信号的作用机制已经明确,RBP-J 是 Notch 信号的核心转录因子^[14],将其敲除可以获得 Notch 信号缺失的模型。

本研究利用特异性敲除 B 细胞的 RBP-J 分子剔除 Notch 信号的小鼠模型,建立口服免疫耐受模型进行实验,结果显示:特异性敲除 B 细胞的 RBP-J 分子后,进行相关抗体染色,流式细胞术分析表明小鼠脾脏中 CD19⁺CD5⁺CD1d^{high} 的 Bregs 细胞的数量和比例与杂合子小鼠相比明显减少,体外进行 LPS 加 PIM 刺激 5h 后检测脾脏中可产生细胞因子 IL-10 的 B10 细胞结果表明其数量和比例也显著减少,说明 Notch 信号敲除之后,通过分泌 IL-10 发挥作用的效应 B10 细胞减少,其 IL-10 发挥的免疫作用可能减弱,口服免疫耐受模型中用 Elisa 的方法检测小鼠血清中 IgE 水平,结果显示纯合子小鼠血清 IgE 的水

平较杂合子小鼠明显升高,说明 B 细胞特异性敲除 Notch 信号后,小鼠对实验前期给予口服的 OVA 不能产生免疫耐受,以致后续产生了较高的 IgE 水平。综合以上结果,提示 Notch 信号可促进 Bregs 的发育,并通过 B 细胞产生的 IL-10 对口服耐受发挥调控作用。

然而,关于 Bregs 细胞的具体发育机制仍未完全阐明,研究表明,体内 LPS 加 PMA 以及离子霉素刺激可以诱导 B 细胞分化为产生 IL-10 的 B 细胞,给 CD19 缺失小鼠过继转移野生鼠脾脏 B10 细胞可减轻其接触性超敏反应(CHS),说明 TLR 在 Bregs 的发育和功能调节中发挥重要的作用。另外,BCR 的密度不同,其活化后 B 细胞分泌的 IL-10 也不同。CD40、IL-21 也是调控 Bregs 的重要分子^[12,13]。本研究发现 Notch 信号缺失后,脾脏 Bregs 减少,说明 Notch 信号在 Bregs 的发育中也发挥着重要的作用,但其具体调控机制还有待进一步研究。

口服耐受是指机体对口服抗原产生免疫耐受,其可能的机制尚不明确,研究表明其和抗原的进入机体的途径、抗原的种类及剂量存在一定关系,这种差异和耐受产生的之间机制也不明确^[15,16]。本研究结果显示,B 细胞 Notch 信号缺失小鼠不能产生口服耐受,提示 B 细胞 Notch 基因对小鼠口服耐受有明显的保护作用,该保护作用发生的具体机制仍不明确,可能是通过 B10 分泌 IL-10 进而抑制了食物过敏中 IgE 的产生,从而诱导口服耐受的发生。另有研究进行了关于口服耐受产生的机制的研究,结果发现可能是由于 B10 细胞来源的 IL-10 抑制了抗原特异性 T 细胞的增殖,从而诱导口服免疫耐受的产生^[17,18]。另外也有研究检测了口服耐受中 IL-10 或是增加,或是无明显变化^[19,20],目前关于 IL-10 在口服免疫耐受中的机制,结论尚不统一,还有关于非 IgE 介导的过敏中是否也有 IL-10 参与其口服耐受目前研究较匮乏^[22,23]。

本研究表明 Notch 信号敲除小鼠脾脏 Bregs 及其产生 IL-10 数量和比例均较杂合子小鼠减少,制备的口服耐受模型中其 IgE 的水平明显升高,基本明确 Notch 信号可促进 Bregs 发育,并通过其产生 IL-10 调控口服耐受免疫反应。本研究为研究 Bregs 的发育提供了新的知识,为今后变态反应的治疗提供了积极的思路。

参考文献(References)

- [1] Cunningham-Rundles C. Autoimmunity in immune deficiency: taking lessons from our patients[J]. Clin Exp Immunol, 2011, 164: 6-11
- [2] Yanaba K, Bouaziz JD, Matsushita T, et al. The development and function of regulatory B cells expressing IL-10 (B10 cells) requires antigen receptor diversity and TLR signals [J]. J Immunol, 2009, 182 (12): 7459-7472
- [3] Yanaba K, Bouaziz JD, Haas KM, et al. A regulatory B cell subset with a unique CD1dhiCD5+ phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses[J]. Immunity, 2008, 28(5): 639-650
- [4] Bray SJ. Notch signalling: a simple pathway becomes complex[J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7(9): 678-689
- [5] Miele L. Notch signaling[J]. Clin Cancer Res, 2006, 12(4): 1074-1079
- [6] Sanchez-Irizarry C, Carpenter AC, Weng AP, et al. Notch subunit heterodimerization and prevention of ligand-independent proteolytic activation depend, respectively, on a novel domain and the LNR repeats [J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(21): 9265-9273
- [7] Mauri C, Bosma A. Immune regulatory function of B cells [J]. Annu

- Rev Immunol, 2012, 30: 221-241
- [8] Pillai S, Cariappa A, Moran ST. Marginal zone B cells [J]. Annu Rev Immunol, 2005, 23:161-196
- [9] Wang YY, Zhang L, Zhao PW, et al. Functional implications of regulatory B cells in human IgA nephropathy [J]. Scand J Immunol, 2014, 79(1): 51-60
- [10] Mizoguchi E, Mizoguchi A, Preffer FI, et al. Regulatory role of mature B cells in a murine model of inflammatory bowel disease [J]. Int Immunol, 2000, 12(5): 597-605
- [11] Carter NA, Vasconcellos R, Rosser EC, et al. Mice lacking endogenous IL-10-producing regulatory B cells develop exacerbated disease and present with an increased frequency of Th1/Th17 but a decrease in regulatory T cells[J]. J Immunol, 2011, 186(10): 5569-5579
- [12] Yoshizaki A, Miyagaki T, DiLillo DJ, et al. Regulatory B cells control T-cell autoimmunity through IL-21-dependent cognate interactions [J]. Nature, 2012, 491(7423): 264-268
- [13] Fujimoto M. Regulatory B cells in skin and connective tissue diseases [J]. J Dermatol Sci, 2010, 60(1): 1-7
- [14] Bray SJ. Notch signalling: a simple pathway becomes complex [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2006, 7(9): 678-689
- [15] 李永宁, 贾旭东. 抗原口服耐受性影响因素的研究进展[J]. 中国食品卫生杂志, 2011, 23(6): 576-581
- Li Yong-ning, Jia Xu-dong. Progress on the influencing factor of oral tolerance to antigens [J]. Chinese Journal of Food Hygiene, 2011, 23 (6): 576-581
- [16] 刘霞, 成静, 范兴文. 基于口服免疫耐受原理的人肿瘤小鼠荷瘤模型的建立[J]. 江苏大学学报, 2013, 23(3): 220-223
- Liu Xia, Cheng Jing, Fan Xing-wen. Establishment of a mouse model of human tumor based on principle of oral tolerance [J]. Journal of Jiangsu University(Medicine Edition), 2013, 23(3): 220-223
- [17] 王永明, 胡燕, 黎海芪. T 细胞在口服耐受和食物过敏中的作用[J]. 中国实用儿科杂志, 2007, 22(7): 549-551
- Wang Yong-ming, Hu Yan, Li Hai-qin. The role of T cell in oral tolerance and food allergies [J]. Chinese Journal of Practical Medicine, 2007, 22(7): 549-551
- [18] Lee JH, Noh J, Noh G, et al. Allergen-specific transforming growth factor-beta-producing CD19⁺CD5⁺ regulatory B-cell (Br3) responses in human late eczematous allergic reactions to cow's milk [J]. J Interferon Cytokine Res, 2011, 31(5): 441-449
- [19] Carter NA, Vasconcellos R, Rosser EC, et al. Mice lacking endogenous IL-10-producing regulatory B cells develop exacerbated disease and present with an increased frequency of Th1/Th17 but a decrease in regulatory T cells[J]. J Immunol, 2011, 186(10): 5569-5579
- [20] Noh G, Lee JH. Regulatory B cells and allergic diseases [J]. Allergy Asthma Immunol Res, 2011, 3(3):168-177
- [21] Carnero-Montoro E, Bonet L, Engelken J, et al. Evolutionary and functional evidence for positive selection at the human CD5 immune receptor gene[J]. Mol Biol Evol, 2012, 29(2): 811-823
- [22] Maseda D, Smith SH, DiLillo DJ, et al. Regulatory B10 cells differentiate into antibody-secreting cells after transient IL-10 production in vivo[J]. J Immunol, 2012, 188(3): 1036-1048
- [23] Frossard CP, Steidler L, Eigenmann PA. Oral administration of an IL-10-secreting Lactococcus lactis strain prevents food-induced IgE sensitization[J]. J Allergy Clin Immunol, 2007, 119(4): 952-959