

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.07.002

## 移植免疫耐受中调节性 B 细胞与调节性 T 细胞的依赖性关系研究\*

李姝蓉<sup>1,2</sup>, 赵高平<sup>1,3,Δ</sup>, 杨卯竹<sup>2</sup>, 魏玲玲<sup>2</sup>, 邓绍平<sup>1,2</sup>

(1. 电子科技大学医学院, 成都 610054; 2. 四川省医学科学院·四川省人民医院/电子科技大学附属医院器官移植研究所, 成都 610072; 3. 四川省医学科学院·四川省人民医院/电子科技大学附属医院胃肠外科, 成都 610072)

**[摘要]** **目的** 探讨在联合抗 Tim-1/抗 CD45RB 抗体诱导的移植耐受中调节性 B 细胞(Bregs)与调节性 T 细胞(Tregs)的关系。**方法** 建立 BALB/c 小鼠到 C57BL/6 小鼠的同种胰岛移植长期耐受模型, 将长期耐受小鼠(LTS)的 B 细胞过继输注至接受胰岛移植的 B 细胞缺陷小鼠( $\mu$ MT<sup>-/-</sup>)体内, 或加用抗 CD25 抗体(PC61)去除 CD25<sup>+</sup> Treg 细胞, 观察移植物的存活时间, 用流式细胞仪检测 Foxp3<sup>+</sup> Treg 数量变化。将 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> GFP<sup>-</sup> T 细胞与 Bregs 细胞联合过继输注 RAG 小鼠体内, 检测 Foxp3<sup>+</sup> GFP<sup>+</sup> T 细胞的扩增情况。建立小鼠皮肤移植模型, 在双抗体治疗的同时加用抗 CD20 抗体祛除 B 细胞, 观察对 Tregs 数量的影响。**结果** 继承性转移长期耐受小鼠的 Bregs 可诱导 83.3% 的小鼠长期耐受, 但加用抗 CD25 单抗后, 胰岛移植体在较短时间(MST=20 d)内全部被排斥; 继承性转移长期耐受小鼠 Bregs 可使 Tregs 数量明显增加( $P < 0.01$ ), 并且可诱导 CD4<sup>+</sup> Foxp<sup>-</sup> T 细胞表达 Foxp3; 用抗 CD20 抗体祛除 B 细胞后, 双抗体诱导的皮肤移植受体小鼠体内 Tregs 数量明显减少( $P < 0.01$ )。**结论** 在双抗体诱导的移植耐受中, Bregs 可能通过促进 Tregs 生成而延长移植物的存活。

**[关键词]** 移植耐受; 调节性 B 细胞; T 淋巴细胞, 调节性

**[中图分类号]** R392.4

**[文献标识码]** A

**[文章编号]** 1671-8348(2017)07-0868-03

### Dependence relationship between regulatory B cells and regulatory T cells in transplantation immune tolerance\*

Li Shurong<sup>1,2</sup>, Zhao Gaoping<sup>1,3,Δ</sup>, Yang Maozhu<sup>2</sup>, Wei Lingling<sup>2</sup>, Deng Shaoping<sup>1,2</sup>

(1. Medical School, University of Electronic Science and Technology, Chengdu, Sichuan 610054, China; 2. Institute of Organ Transplantation, Sichuan Provincial Academy of Medical Science/Sichuan Provincial People's Hospital/Affiliated Hospital, University of Electronic Science and Technology, Chengdu, Sichuan 610072, China; 3. Department of Gastrointestinal Surgery, Sichuan Academy of Medical Science · Sichuan Provincial People's Hospital/Affiliated Hospital, University of Electronic Science and Technology, Chengdu, Sichuan 610072, China)

**[Abstract]** **Objective** To investigate the relationship between regulatory B cells (Bregs) and regulatory T cells (Tregs) in transplantation tolerance induced by dual anti-CD45RB/anti-TIM-1 antibody. **Methods** The longterm murine islet allograft transplant models from BALB/c to C57BL/6 were established. B cells purified from longterm survivors (LTS) were adoptively transferred to grafted B cell-deficient  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> B6 recipients and treated with or without PC61. The allograft survival time was analyzed and the number of Foxp3<sup>+</sup> Treg cells was examined by flow cytometry. Murine skin allograft transplant models was established and treated with dual antibody. The change of the percentage of Treg cells was observed after B-cell depletion using anti-CD20 antibody. **Results** Adoptive transfer of Bregs in longterm tolerated murines could induce longterm tolerance in 83.3% of murines. But after adding CD25m monoclonal antibody, islet grafts were completely rejected in a short time (MST=20 d); adoptive transfer of Bregs in longterm tolerated murines could increase the Tregs number ( $P < 0.01$ ), moreover could induce CD4<sup>+</sup> Foxp<sup>-</sup> T cell to express Foxp3; after deleting B cells with CD20 antibody, Tregs cells number in the skin transplant recipient murine induced by dual antibody was remarkably reduced ( $P < 0.01$ ). **Conclusion** In transplantation tolerance induced by dual antibody, Breg cells may prolong the graft survival time possibly through promoting Treg generation.

**[Key words]** transplantation tolerance; regulatory B cells; T-lymphocytes, regulatory

移植免疫耐受是指受者对移植器官抗原特异性应答的 T 细胞与 B 细胞, 在抗原刺激下, 不能被激活, 不能产生特异性免疫效应细胞及特异性抗体, 从而不能执行正常免疫应答的现象。20 世纪 50 年代, Billingham 等<sup>[1]</sup>首次在新生的小鼠模型中成功诱导了免疫耐受, 这在免疫学的发展史上具有里程碑的意义。在诱导免疫耐受的方法中, 诱导抗原特异性的免疫调

节细胞产生和增殖是一种有效的途径。负责免疫调控的细胞主要包括调节性 T 淋巴细胞(regulatory T cells, Tregs)和调节性 B 淋巴细胞(regulatory B cells, Bregs)。Tregs 是不同于 Th1 和 Th2 的具有调节功能的 T 细胞群体, 已有多项研究证实 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 具有免疫抑制作用。而近年来的研究表明, 还存在有部分 Bregs, 也可通过其他多种调节机制, 如分泌

白细胞介素 10(IL-10)、生长转化因子  $\beta$ (TGF- $\beta$ )等,发挥免疫抑制功能,介导移植免疫耐受。本研究旨在探索这两类调节性免疫细胞之间的联系,有助于阐明 Bregs 与 Tregs 之间的相互作用机制,为建立以调节性细胞为基础的免疫治疗方式提供全新的理论基础。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 WT C57BL/6 小鼠(B6, H-2b) 55 只, B 细胞缺陷小鼠 C57BL/6( $\mu$ MT<sup>-/-</sup> B6, H-2b) 57 只, BALB/c 小鼠(H-2d) 249 只, Foxp3<sup>-</sup> GFP 小鼠 10 只(C57BL/6 背景), B6 RAG 小鼠 10 只, 以上小鼠均为雄性, 体质量 25~35 g, 购于四川省医学科学院实验动物研究所, 于清洁级的小鼠标准实验动物房饲养。

1.1.2 试剂 大鼠抗小鼠 CD45RB 抗体(HB220)、抗 Tim-1 抗体(RTM1-10)及抗 CD25 抗体(PC61)购自美国 Bio X Cell 公司; 抗 CD20 抗体(5D2)购自美国 Genentech 公司; LPS、链脲佐菌素(STZ)及 Ficoll 400 购自美国 Sigma-Aldrich 公司; Collagenase P 购自美国 Roche 公司。藻红蛋白(PE)标记的抗小鼠 Foxp3 单克隆抗体、异硫氰酸荧光素(FITC)标记的抗小鼠 CD4 单克隆抗体等免疫荧光染料均购自美国 eBioscience 公司。MACS 免疫磁珠 B 细胞分离试剂盒购自德国 Miltenyi Biotec 公司。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 (1)将接受胰岛移植的 32 只糖尿病受体 B6  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> 小鼠分为 4 组, 每组 8 只, 分别为无 B 细胞组、naive B 细胞组、LTS B 细胞组和 LTS B 细胞+PC61 组。(2)将 25 只糖尿病受体 B6  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> 小鼠分为 5 组, 每组 5 只。2 组小鼠不接受胰岛移植, 分别为 naive B 细胞组、LTS B 细胞组; 3 组小鼠接受胰岛移植, 分别为单纯移植组、移植+naive B 细胞组、移植+LTS B 细胞组。(3)将接受胰岛移植的 10 只糖尿病 B6 RAG 小鼠分为 2 组, 每组 5 只, 分别为 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> GFP<sup>-</sup> T 细胞+naive B 细胞共转移组(naive B 共转移组)和 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> GFP<sup>-</sup> T 细胞+LTS B 细胞共转移组(Breg 共转移组)。(4)将 30 只正常 C57BL/6(B6)小鼠分为 5 组, 每组 6 只, 其中 1 组不进行皮肤移植, 为 naive 组; 其余 4 组分别为皮肤移植组、皮肤移植+双抗体组、皮肤移植+CD20 组、皮肤移植+双抗体+CD20 组。

1.2.2 胰岛移植 为建立小鼠胰岛移植模型, 先将链脲佐菌素按 200 mg/kg 剂量注射于 C57BL/6(B6)或 B6  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> 小鼠腹腔内, 诱导糖尿病模型, Balb/c 小鼠作为胰岛供体, 用 Collagenase P 酶消化胰腺后再采用 Ficoll 400 梯度分离法分离出胰岛细胞, 手工挑选 500 个胰岛细胞移植到受体肾脏包膜下。抗 Tim-1 抗体 500  $\mu$ g 在移植前 1 d、300  $\mu$ g 在移植当天和第 5 天腹腔内注射; 抗 CD45RB 抗体 100  $\mu$ g 在移植后 0、1、3、5、7 d 腹腔注射; 抗 CD25 抗体(PC61)250  $\mu$ g 在移植后 1、6 d 腹腔注射; 抗 CD20 抗体 10 mg/kg 移植前 8 d、5 mg/kg 移植当天腹腔注射。监测血糖, 如连续 2 d 超过 11.1 mmol/L, 则判断为排斥。

1.2.3 皮肤移植 供体为 BALB/c 小鼠, 受体为 C57BL/6 小鼠。脱颈椎法处死供体 BALB/c 小鼠, 用剃毛器剃去背部鼠毛; 取全厚度躯干部皮肤, 组织剪和手术刀去除皮下脂肪及血管, 剪成直径约为 1 cm $\times$ 1 cm 的正方形片, 置于无菌 PBS 中备用。C57BL/6 受鼠腹腔注射戊巴比妥钠(50 mg/kg)麻醉。制备受鼠背部移植床, 将供体皮肤置于移植床, 缝合固定, 无菌

凡士林纱布覆盖, 创可贴包扎固定, 单笼饲养。抗 CD45RB 抗体和抗 Tim-1 抗体用法同胰岛移植, 抗 CD20 抗体在移植前 8、0 d, 腹腔注射 250  $\mu$ g。每天观察移植植物有无水肿、炎症、坏死、结痂和脱落等排斥情况, 当移植皮片坏死超过 80% 即可认为完全排斥。

1.2.4 继承性细胞转移 (1)B 细胞过继输注: 分别取出双抗体治疗后胰岛移植长期存活的受体小鼠, 以及未使用任何治疗的野生小鼠脾脏, 碾碎过滤后调成细胞悬液, 用 B 细胞分离试剂盒及免疫磁珠细胞分选仪阴性选择出 B 细胞(纯度大于 95%)。将 5 $\times$ 10<sup>6</sup> B 细胞通过尾静脉注入受体 B6  $\mu$ MT<sup>-/-</sup>。

(2)CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> GFP<sup>-</sup> T 细胞与 B 细胞联合过继输注: 取 BALB/c 小鼠胰岛移植到 B6 小鼠, 并按上述方法注射抗 Tim-1/抗 CD45RB 抗体诱导耐受。2 周后, 取受体小鼠和未经任何处理的 B6 小鼠脾脏, 分别用磁珠分选获得 Breg 和 naive B 细胞。流式细胞仪分选 Foxp3<sup>-</sup> GFP 小鼠的 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> GFP<sup>-</sup> T 细胞, 将 4.5 $\times$ 10<sup>6</sup> 该细胞联合 12 $\times$ 10<sup>6</sup> 分选出的 Breg 或 naive B 细胞经尾静脉注入接受移植的糖尿病 B6 RAG 小鼠。

1.2.5 流式细胞检测 获取脾脏, 研磨后, 用 70  $\mu$ m 的尼龙网过滤, HBSS 冲洗获得脾细胞悬液。裂解红细胞, 洗涤, 收集剩余细胞并用血细胞计数器计数。6 孔板加含有 0.1% 叠氮化钠和 2% 胎牛血清的 PBS, 每孔加 1 $\times$ 10<sup>6</sup> 个/mL。加入荧光标记的 CD4, Foxp3 抗体。Foxp3 需固定破膜后再荧光标记。上机检测。

1.3 统计学处理 所有数据均采用 GraphPad Prism 5.0 版处理, 生存分析采用 Wilcoxon 统计分析, CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 表达组间分析采用 Student's *t* 检验, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组小鼠排斥反应及生存时间比较 移植后未输注任何细胞的  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> B6 小鼠和输注 naive B 细胞的  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> B6 小鼠都在较短时间内发生排斥反应, 最长存活天数分别为 21、23 d。而输注了 LTS B 细胞的 6 只  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> B6 小鼠中, 有 5 只(83.3%)移植物存活时间超过了 100 d[平均存活时间(MST) $\geq$ 37 d]。但是, 用抗 CD25 单抗(PC61)抑制 CD25<sup>+</sup> Treg 后, 即使在移植当天同时接受 LTS B 细胞输注, 受体  $\mu$ MT<sup>-/-</sup> B6 小鼠也全部发生排斥, MST 仅为 23.2 d, 见表 1。

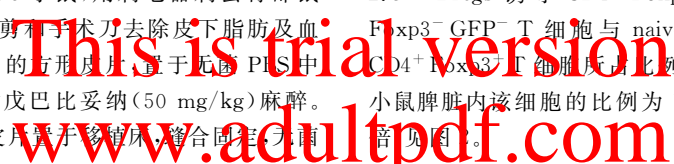
表 1 各组小鼠排斥反应及生存时间比较

组别	<i>n</i>	排斥反应 [ <i>n</i> (%)]	生存时间 (d)	MST (d)
无 B 细胞组	6	6(100.0) <sup>a</sup>	10~21	14.8 <sup>a</sup>
naive B 细胞组	7	7(100.0) <sup>a</sup>	10~23	16.5 <sup>a</sup>
LTS B 细胞组	6	1(16.7)	37, >100 $\times$ 5	$\geq$ 37
LTS B 细胞+PC61 组	5	5(100.0) <sup>a</sup>	20~34	23.2 <sup>a</sup>

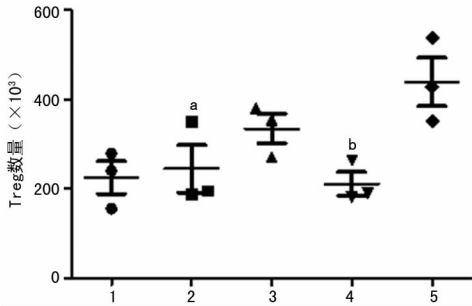
<sup>a</sup>: *P*<0.01, 与 LTS B 细胞组比较。

2.2 各组小鼠脾脏中 Foxp3<sup>+</sup> Treg 数量比较 单纯移植组的小鼠、未移植的 LTS B 细胞组的小鼠, 以及接受移植并输注了 naive B 细胞的小鼠脾脏中 Foxp3<sup>+</sup> Treg 数量均无明显增加。只有接受移植并输注了 LTS B 细胞的小鼠脾脏中的 Foxp3<sup>+</sup> Treg 明显增加(*P*<0.01), 见图 1。

2.3 Bregs 诱导 CD4<sup>+</sup> Foxp<sup>-</sup> T 细胞表达 Foxp3<sup>-</sup> CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> GFP<sup>-</sup> T 细胞与 naive B 细胞共转移的小鼠脾脏内 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> T 细胞所占比例为 7.37%, 而与 Breg 共转移的小鼠脾脏内该细胞的比例为 13.30%, 后者达到前者的 1.80 倍(见图 1)。



**2.4 去除 Bregs 导致双抗体诱导的 Tregs 减少** 与只用双抗体诱导的皮肤移植组相比,加用抗 CD20 抗体祛除 B 细胞后,受体小鼠的 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 Foxp3<sup>+</sup> T 细胞所占比例明显下降 ( $P < 0.01$ ),见图 3。



1: 单纯移植组; 2: naive B 细胞组; 3: LTS B 细胞组; 4: 移植+naive B 细胞组; 5: 移植+LTS B 细胞组; <sup>a</sup>:  $P < 0.05$ , <sup>b</sup>:  $P < 0.01$ , 与移植+LTS B 细胞组比较。

图 1 各组小鼠脾脏中 Foxp3<sup>+</sup> Treg 数量比较

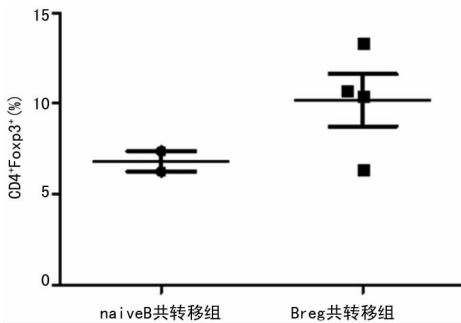
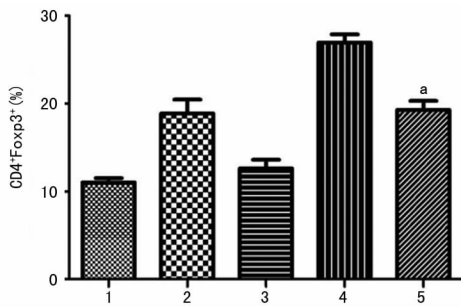


图 2 Bregs 诱导 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T 细胞表达 Foxp3



1: naive 组; 2: 皮肤移植组; 3: 皮肤移植+CD20 组; 4: 皮肤移植+双抗体组; 5: 皮肤移植+双抗体+CD20 组; <sup>a</sup>:  $P < 0.01$ , 与皮肤移植+双抗体组比较。

图 3 祛除 Bregs 导致双抗体诱导的 Tregs 减少

### 3 讨 论

B 细胞是另外一种最主要的免疫细胞,过去普遍认为其在获得性免疫反应过程中通过自身抗体或递呈抗原而扮演致病性角色。然而,新近研究证实部分 B 细胞也可发挥免疫抑制功能,介导移植免疫耐受,将这部分 B 细胞称为 Bregs。在多个移植模型中,继承性转移 B 细胞可延长胰岛移植物的存活时间<sup>[2-4]</sup>。但 Tregs 在 B 细胞诱导的免疫耐受过程中的作用研究甚少。本研究在同种异体小鼠胰岛移植模型基础上,采用双抗体诱导形成长期耐受的小鼠,之后发现过继性输注 LTS 小鼠脾脏 B 细胞的确可诱导糖尿病<sup>[6]</sup> MT<sup>-/-</sup> 受体对胰岛移植物的耐受。但当 Tregs 的功能被抗体抑制后,耐受则不能形成,提示 Bregs 诱导耐受还需要 Tregs 的参与。

变化,发现移植后接受 B 细胞输注的受体小鼠脾脏中,CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T 细胞数量与 naive B 共移植组相比有明显增加。并且,通过 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>-</sup> GFP<sup>-</sup> T 细胞与 B 细胞的联合输注,证明 Bregs 在体内能够诱导 Foxp3 的表达,促进 Tregs 的增殖。此外,为了验证 Tregs 是受 Bregs 诱导而增加,本研究在小鼠同种异体皮肤移植模型中,用抗 CD20 抗体抑制 B 细胞,与作者的设想相符,B 细胞被抑制后,双抗体诱导的 Tregs 显著减少,进一步证实了 Bregs 与 Tregs 之间存在相互作用的关系。在 Langier 等<sup>[5]</sup>的研究发现,B 细胞可以诱导 80% 接受皮肤移植的小鼠形成耐受,且耐受个体的移植部位浸润的 CD4<sup>+</sup> T 细胞中 90% 为 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T 细胞,该结果支持本研究中 Bregs 通过诱导 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 形成而促使移植植物耐受的结论。

然而,Bregs 到底是通过何种方式来促进 CD4<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Treg 的增殖还尚未可知。Bregs 最早提出是由于其可以分泌抑制性细胞因子 IL-10,进而调控免疫应答<sup>[6-7]</sup>。这种 B10 细胞也是目前研究最为广泛,最被认可的一种 Bregs 的亚群。已有体外实验表明,IL-10 对于 Tregs 的分化起促进作用<sup>[8-9]</sup>。同时,Carter 等<sup>[10]</sup>发现患有自身免疫性关节炎的小鼠大量缺失可分泌 IL-10 的 Bregs 后,Foxp3<sup>+</sup> Treg 的数量随之减少,从而导致其病情加重。由此作者猜测在本实验的移植模型中,Bregs 也可能是通过分泌 IL-10 来诱导 Tregs 增加,但该猜想需要得到进一步的证实。

与上述猜想不符的是,Textier 等<sup>[11]</sup>发现,输注耐受个体的 B 细胞能够诱导同种异体大鼠心脏移植耐受,并且可同时检测到移植受体外周血中有 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Treg 细胞的积聚,但分泌 IL-10 的 Bregs 却没有增多。该结果提示,诱导 Tregs 形成的并非为 IL-10,而可能是其他的细胞因子。早在 2004 年,日本的 Sakaguchi<sup>[12]</sup>就证实 TGF- $\beta$  在免疫耐受中起重要作用,是一种有效的诱导 Tregs 的细胞因子。之后在了一项关于小鼠气道过敏性反应的体外实验中,研究人员选择性地转移了 B 细胞分泌的 TGF- $\beta$  后,小鼠的肺部炎症和哮喘均得到改善,并证实是由 TGF- $\beta$  诱导 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>-</sup> T 细胞转变为 CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> Tregs,才使免疫反应得以抑制<sup>[13]</sup>。

此外,Kessel 等<sup>[14]</sup>在了一项关于人体 Bregs 与 Tregs 的体外研究中发现,虽然 TGF- $\beta$  可以诱导 Tregs 表达 Foxp3,但并非是通过细胞因子来间接发挥作用,Bregs 与 Tregs 直接的细胞接触才是诱导 Tregs 扩增的主要机制,因为当两种细胞分开培养时,Foxp3 的表达几乎没有增加。

目前,国内外对 Bregs 与 Tregs 的相关性研究中,大多数均围绕体外试验或自身免疫性疾病。而在移植免疫领域,尤其是针对实验动物模型的体内研究则少有报道。本研究中,在建立大量的实体动物移植模型的基础上,得出了 Bregs 可能促进 Tregs 的扩增而延长移植植物存活的结论。为进一步阐明移植免疫耐受机制提供了新的思路,同时丰富了移植免疫耐受机制的基础理论。然而,在接受移植的受体内部环境中,Bregs 与 Tregs 是否也通过 IL-10 或 TGF- $\beta$  相互作用;是否还存在其他相关细胞因子的参与;Bregs 与 Tregs 直接接触的具体作用机制,如是否存在特定的信号通路;以及是否还存在其他可能的作用机制等问题都有待进一步研究。

### 参考文献

[1] Billingham RE, Brent L, Medawar PB. Actively acquired tolerance of foreign cells[J]. Nature, 1953, (下转第 874 页)



- depend on the choice of a dialyzer? [J]. *Semin Dial*, 2011, 24(1):65-71.
- [5] Diraimondo CR, Pollak VE. Beta 2-microglobulin kinetics in maintenance hemodialysis; a comparison of conventional and high-flux dialyzers and the effects of dialyzer reuse [J]. *Am J Kidney Dis*, 1989, 13(5):390-395.
- [6] Yoshino M, Kuhlmann MK, Kotanko P, et al. International differences in dialysis mortality reflect background general population atherosclerotic cardiovascular mortality [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(12):3510-3519.
- [7] Masakane I. How to prescribe hemodialysis or hemodiafiltration in order to ameliorate dialysis-related symptoms and complications [J]. *Contributions Nephrol*, 2011, 168(1):53-63.
- [8] Collins AJ, Foley RN, Gilbertson DT, et al. United states renal data system public health surveillance of chronic kidney disease and end-stage renal disease [J]. *Am J Kidney Dis*, 2003, 5(1):2-7.
- [9] 兰薇, 周结学, 许凤英. 高通量血液透析与常规血液透析的临床疗效比较研究 [J]. *中国医药导刊*, 2013(2):262-263.
- [10] Jiang X, Ji F, Chen ZW, et al. Comparison of high-flux hemodialysis with hemodialysis filtration in treatment of uraemic pruritus: a randomized controlled trial [J]. *Int Urol Nephrol*, 2016, 48(9):1-9.
- [11] Eddington H, Hoefield R, Sinha S, et al. Serum phosphate and mortality in patients with chronic kidney disease [J]. *Clin J Am Soc Nephro*, 2010, 5(12):2251-2257.
- [12] 张凌. 慢性肾脏病钙磷代谢紊乱及骨病的处理 [J]. *中国实用内科杂志*, 2010, 30(2):113-115.
- [13] 宋韩明, 蔡砺, 吕继成, 等. 血液透析滤过和高通量透析对  $\beta_2$  微球蛋白清除效果的比较 [J]. *中国血液净化*, 2010, 9(1):19-24.
- [14] Jiang R, Xu C, Zhou X, et al. Detection of cystatin C biomarker for clinical measurement of renal disease by developed ELISA diagnostic kits [J]. *J Transl Med*, 2014, 12(1):1-8.
- [15] Kim HW, Kim SH, Kim YO, et al. Comparison of the impact of high-flux dialysis on mortality in hemodialysis patients with and without residual renal function [J]. *Plos One*, 2014, 9(6):e97184.
- [16] Faulhaber WR, Scholz S, Haller H, et al. Health status, renal function, and quality of life after multiorgan failure and acute kidney injury requiring renal replacement therapy [J]. *Int J Nephrol Renovasc Dis*, 2016, 9:119-128.

(收稿日期:2016-07-21 修回日期:2016-11-19)

(上接第 870 页)

172(4379):603-606.

- [2] Ding Q, Yeung M, Camirand G, et al. Regulatory B cells are identified by expression of TIM-1 and can be induced through TIM-1 ligation to promote tolerance in mice [J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(9):3645-3656.
- [3] Lee KM, Kim JI, Stott R, et al. Anti-CD45RB/anti-TIM-1-induced tolerance requires regulatory B cells [J]. *Am J Transplant*, 2012, 12(8):2072-2078.
- [4] Rowe V, Banovic T, MacDonald KP, et al. Host B cells produce IL-10 following TBI and attenuate acute GVHD after allogeneic bone marrow transplantation [J]. *Blood*, 2006, 108(7):2485-2492.
- [5] Langier S, Galvani RG, Alves AP, et al. Prolonged acceptance of skin grafts induced by B cells places regulatory T cells on the histopathology scene [J]. *Braz J Med Biol Res*, 2012, 45(10):942-947.
- [6] Wolf SD, Dittel BN, Hardardottir F, and Janeway, C. A. Jr. 1996. Experimental autoimmune encephalomyelitis induction in genetically B cell-deficient mice [J]. *J Exp Med*, 1996, 184(6):2271-2278.
- [7] Yanaba K, Bouaziz JD, Haas KM, et al. A regulatory B cell subset with a unique CD1d hi CD5<sup>+</sup> phenotype controls T cell-dependent inflammatory responses [J]. *J Immunology*, 2008, 28(5):639-650.
- [8] Levings MK, Sangregorio R, Galbiati F, et al. Ifn- $\alpha$  and IL-10 induce the differentiation of human type 1 T regulatory cells [J]. *J Immunol*, 2001, 166(9):5530-5539.
- [9] 秦瑶, 张梅. 小鼠 B10 细胞的分离、鉴定及功能特征 [J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2013, 33(11):819-827.
- [10] 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.
- [11] Texier LL, Thebault P, Lavault A, et al. Long-term allograft tolerance is characterized by the accumulation of B cells exhibiting an inhibited profile [J]. *Am J Transplantation*, 2011, 11(3):429-438.
- [12] Sakaguchi S. Naturally arising CD4<sup>+</sup> regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses [J]. *Annu Rev Immunol*, 2004, 22(22):531-562.
- [13] Singh A, Carson WF, Secor ER Jr, et al. Regulatory role of B cells in a murine model of allergic airway disease [J]. *J Immunol*, 2008, 180(11):7318-7326.
- [14] Kessel A, Haj T, Peri R, et al. Human CD19<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> B regulatory cells suppress proliferation of CD4<sup>+</sup> T cells and enhance Foxp3 and CTLA-4 expression in T-regulatory cells [J]. *Autoimmun Rev*, 2012, 11(9):670-677.

(收稿日期:2016-08-26 修回日期:2016-11-09)