

论著·实验研究

脂肪间充质干细胞及非甲基化胞嘧啶鸟嘌呤核苷酸对食物过敏幼鼠外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 的影响

陈旭琳¹ 郑成中^{1,2}

(1. 安徽医科大学解放军 306 临床学院儿科, 安徽 合肥 230032; 2. 解放军 306 医院儿科, 北京 100101)

[摘要] **目的** 观察脂肪间充质干细胞(ADSC)、非甲基化胞嘧啶鸟嘌呤核苷酸(CpG-ODN)对食物过敏幼鼠外周血中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(CD4⁺CD25⁺Treg)的表达水平及免疫干预作用。**方法** 将 40 只 BALB/c 雌性小鼠随机分为对照组、过敏组、ADSC 治疗组(ADSC 组)和非甲基化 CpG-ODN 治疗组(CpG-ODN 组), 每组 10 只; 通过卵清蛋白(OVA)腹腔注射基础致敏和灌胃激发致敏建立小鼠食物过敏模型; 对照组给予等量生理盐水替代; ADSC 组在激发致敏前后两个时间点分别给予腹腔注射 ADSC (1×10⁶ 个/只); CpG-ODN 组在每次灌胃激发前 1 h 给予腹腔注射非甲基化 CpG-ODN (40 μg/只)溶液。模型成功建立后对每组小鼠进行过敏症状评分; 酶联免疫吸附法检测各组小鼠血清中 OVA-IgE 水平; 流式细胞仪检测小鼠外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 水平; 取各组小鼠空肠行苏木精-伊红染色, 进行病理分析。**结果** 过敏组过敏症状评分及血清中 OVA-IgE 水平均高于对照组 ($P<0.05$), ADSC 组、CpG-ODN 组过敏症状评分及血清中 OVA-IgE 水平比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$), 但均低于过敏组, 高于对照组 ($P<0.01$)。过敏组外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 水平低于对照组 ($P<0.05$), ADSC 组、CpG-ODN 组外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 水平均高于过敏组 ($P<0.05$), 且与对照组比较及两组间比较差异均无统计学意义 ($P>0.05$)。病理结果显示过敏组空肠黏膜层绒毛结构破坏、水肿, 大量的嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润; ADSC 组和 CpG-ODN 组空肠黏膜层绒毛结构部分破坏、无明显水肿, 有少量嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润。**结论** ADSC 和非甲基化 CpG-ODN 干预对食物过敏均有一定的治疗效果; 均可提高食物过敏幼鼠体内 CD4⁺CD25⁺Treg 水平, 同时降低 OVA-IgE 的表达水平, 与诱导免疫耐受有一定的关联作用, 且两种干预效果相当, 但具体作用机制仍需要进一步探究。

[中国当代儿科杂志, 2017, 19(5): 590-595]

[关键词] 食物过敏; CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞; 脂肪间充质干细胞; 非甲基化胞嘧啶鸟嘌呤核苷酸; 小鼠

Effects of adipose-derived stem cells and non-methylated CpG-oligodeoxynucleotides on peripheral blood CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in young mice with food allergy

CHEN Xu-Lin, ZHENG Cheng-Zhong. Department of Pediatrics, 306th Clinical College of People's Liberation Army, Anhui Medical University, Hefei 230032, China (Zheng C-Z, Email: zcz3066@126.com)

Abstract: Objective To investigate the effects of adipose-derived stem cells (ADSC) and non-methylated CpG-oligodeoxynucleotides (CpG-ODN) on the expression of peripheral blood CD4⁺CD25⁺ regulatory T (Treg) cells in young mice with food allergy, as well as their immune intervention effects. **Methods** A total of 40 female BALB/c mice were randomly divided into control group, allergic group, ADSC treatment group, and CpG-ODN treatment group, with 10 mice in each group. A mouse model of food allergy was established by intraperitoneal injection and intragastric administration of ovalbumin (OVA) for sensitization and challenge. The mice in the control group were treated with normal saline at the same dose; the mice in the ADSC treatment group were given intraperitoneal injection of ADSC (1×10⁶ cells for each mouse) before and after OVA challenge, and those in the CpG-ODN treatment group were given intraperitoneal injection of non-methylated CpG-ODN solution (40 μg for each mouse) at 1 hour before challenge by

[收稿日期] 2016-11-17; [接受日期] 2017-03-07

[作者简介] 陈旭琳, 女, 硕士研究生。

[通信作者] 郑成中, 男, 主任医师, 教授。

gavage. The allergic symptom scores were determined for each group after model establishment. ELISA was used to measure the serum level of OVA-IgE. Flow cytometry was used to measure the percentage of peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells. Hematoxylin and eosin staining was used for the pathological analysis of the jejunum. **Results** The allergic group had significantly higher allergic symptom scores and serum level of OVA-IgE than the control group ($P<0.05$). There were no significant differences in the allergic symptom score and the serum level of OVA-IgE between the ADSC treatment group and the CpG-ODN treatment group ($P>0.05$), but these two groups had significantly lower allergic symptom scores and serum level of OVA-IgE than the allergic group and significantly higher allergic symptom scores and serum level of OVA-IgE than the control group ($P<0.01$). The allergic group had a significantly lower percentage of peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells than the control group ($P<0.05$). The ADSC treatment group and the CpG-ODN treatment group had a significantly higher percentage of peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells than the allergic group ($P<0.05$); there were no significant differences between these two groups or between them and the control group ($P>0.05$). Pathological results showed structural damage and edema in the jejunal villi, a large number of eosinophils, and lymphocyte infiltration in the allergic group, while the ADSC treatment group and the CpG-ODN treatment group had less structural damage and edema in the jejunal villi, a lower number of eosinophils, and less lymphocyte infiltration. **Conclusions** ADSC and non-methylated CpG-ODN have a certain effect in the treatment of food allergy and can increase the percentage of peripheral blood CD4⁺CD25⁺ Treg cells and reduce the level of OVA-IgE. They may be associated with the induction of immune tolerance and these two treatment have comparable effects. Detailed mechanisms of action still need further investigation. [Chin J Contemp Pediatr, 2017, 19(5): 590-595]

Key words: Food allergy; CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell; Adipose-derived stem cell; Non-methylated CpG-oligodeoxynucleotides; Mice

食物过敏 (food allergy, FA) 是指机体被某种食物致敏后, 再次接触该食物, 所产生的异常免疫反应。流行病学调查显示, 儿童 FA 的发病率约为 4%~7%, 并以较高的速度逐年增长, 严重影响了儿童的健康成长和生命安全。部分患儿在 FA 后能产生免疫耐受, 但目前免疫耐受的机制尚不清楚。

免疫系统拥有对过敏原产生免疫耐受的外周机制, 调节性 T 细胞 (regulatory T cell, Treg) 发育发展是微生物清除减弱、保持微生物持续存在和限制相应组织损伤的结果^[1]。根据表面标志、产生细胞因子和作用机制的不同, 可将 Treg 分为 CD4⁺CD25⁺Treg、Th1、Th3、自然杀伤 T 细胞等。CD4⁺CD25⁺Treg 是日本学者 Sakaguchi 等^[2]于 1995 年首次报道。其中 CD4⁺CD25⁺Treg 是一群具有免疫抑制功能的细胞亚群, 可通过直接接触和 / 或分泌抑制性细胞因子来下调机体免疫系统对抗原的免疫反应性, 在机体免疫系统中执行负向调节免疫反应的功能, 对维持免疫自稳起到至关重要的作用。本实验通过建立 FA 模型, 观察非甲基化胞嘧啶鸟嘌呤核苷酸 (CpG-ODN) 及脂肪间充质干细胞 (adipose-derived stem cell, ADSC) 对 FA 小鼠干预治疗后 CD4⁺CD25⁺Treg 表达水平的影响, 探讨其在 FA 发病机制中的免疫调节作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物

取 10 只 SPF 级 6~8 周龄 BALB/c 雌性小鼠, 用于 ADSC 的分离、培养与诱导^[3]; 另取 40 只 SPF 级 2~3 周龄 BALB/c 雌性小鼠, 随机分为对照组、过敏组、ADSC 治疗组 (简称 ADSC 组)、非甲基化 CpG-ODN 治疗组 (简称 CpG-ODN 组), 每组 10 只。所有小鼠均购买并饲养于中国科学院动物研究所 SPF 级动物房, 在实验前均给予适应性饲养 2 d, 给予不含卵清蛋白 (OVA) 饲料饲养, 自由进食、饮水。

1.2 试剂及药品

胎牛血清 (德国 Biochrom AG 公司)、DME/F12 培养基 (美国 Hyclone 公司)、I 型胶原酶 (美国 Sigma 公司)、0.25% 胰蛋白酶、10× 磷酸缓冲盐溶液 (PBS) (北京雷根生物技术有限公司)、0.9% 氯化钠注射液 (中国大冢制药有限公司)、OVA (V 级, 美国 Sigma 公司)、非甲基化 CpG-ODN1826 (上海生工生物股份有限公司)、CD4-FITC、CD25-PE、Rat IgM-PE (德国 Miltenyi 公司)。

1.3 ADSC 分离培养后成脂及成骨诱导鉴定

参照文献^[3], 将小鼠颈椎脱臼, 取腹股沟处脂肪, 消化、离心、接种、培养。取第 3 代

ADSC, 给予成脂诱导培养基诱导分化, 2周后进行油红O染色鉴定。染色鉴定步骤: 取出细胞培养板, 每孔均加入4%多聚甲醛固定15 min后, 自来水洗板2次, 每次2 min; 再用超纯水洗板2次, 每次2 min; 每孔再加入60%的异丙醇溶液, 放置约30 s, 加入油红O染液染色20 min后, 放入75%的酒精进行分色, 再用蒸馏水清洗; 然后加入Mayer苏木素染液, 复染3 min; 再加入ORO Buffer放置1 min; 流水冲洗, 晾干, 倒置显微镜下观察, 拍照。

取第3代ADSC, 给予成骨诱导培养基诱导分化, 3周后进行茜素红染色鉴定。染色鉴定步骤: 取出细胞培养板, PBS洗板3次, 每孔均加入4%多聚甲醛固定10 min后, 超纯水清洗3遍, 加入2%茜素红染液染色30 min, 蒸馏水洗板3次, 晾干, 倒置显微镜下观察, 拍照。

1.4 FA模型建立

FA模型建立参照文献^[3-5]。基础致敏: 实验第0、14天, 过敏组、ADSC组、CpG-ODN组腹腔注射OVA致敏液0.2 mL/只(250 μ g/mL)。激发致敏: 实验第17、20、23、26、29天, 过敏组、ADSC组、CpG-ODN组以OVA致敏液0.3 mL/只(2 mg/mL)灌胃; 其中CpG-ODN组在每次灌胃激发前1 h, 给予腹腔注射非甲基化CpG-ODN溶液0.08 mL/只(约40 μ g)。ADSC组在实验第15、30天给予腹腔注射ADSC细胞悬液0.2 mL/只(细胞数约为 1×10^6 个)。对照组在基础致敏和激发致敏阶段均用0.9%氯化钠注射液代替。观察各组小鼠致敏前后过敏症状, 并给予评分。

1.5 过敏症状评分

过敏症状评分标准参照文献^[3-5]。0分: 无明显症状; 1分: 抓耳挠腮, 抓挠身体其他部位; 2分: 口周红、腹泻、易激惹、呼吸急促; 3分: 眼睛嘴巴浮肿、尾巴紫绀、呼吸浅慢; 4分: 活动低下或无活动; 5分: 死亡。

1.6 CD4⁺CD25⁺Treg及OVA-IgE检测

FA模型建立后4~6 h, 各组小鼠摘除眼球取血, 每只小鼠取0.2 mL血置于抗凝管中, 而后置于流式管中, 采用流式细胞仪检测外周血中

CD4⁺CD25⁺Treg的含量, 具体步骤参照说明书; 另取0.6 mL血置于EP管中, 离心后取血清, 采用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血清中OVA-IgE的含量, 具体步骤参照说明书。

1.7 小肠病理切片制备

取各组小鼠空肠置于中性福尔马林中固定, 脱水、包埋、切片, 苏木素-伊红(HE)染色, 显微镜下观察。

1.8 统计学分析

采用SPSS 17.0统计学软件对数据进行统计学分析, 正态分布计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 多组间的比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用SNK-*q*检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ADSC成脂及成骨诱导鉴定

取第3代ADSC, 给予成脂诱导5~6 d后, 发现细胞内出现小脂滴, 继续诱导脂滴逐渐增大并且融合, 诱导2周后给予油红O染色可见大量脂质, 见图1。

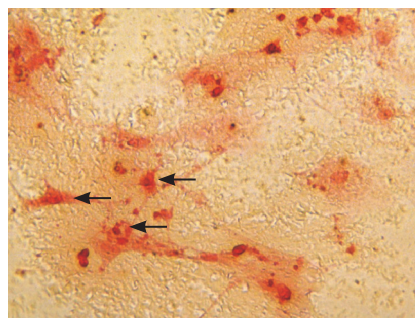


图1 成脂诱导2周鉴定结果(油红O染色, $\times 400$)
脂滴形成, 呈现红色(箭头所示)。

取第3代ADSC, 给予成骨诱导约1周, 细胞形状呈现为多角形, 胞质内可见少许颗粒; 约2周时细胞呈现出集落样生长, 有钙质沉积; 3周时细胞呈融合状态, 出现明显的钙结节, 给予茜素红染色呈现为红色, 见图2。

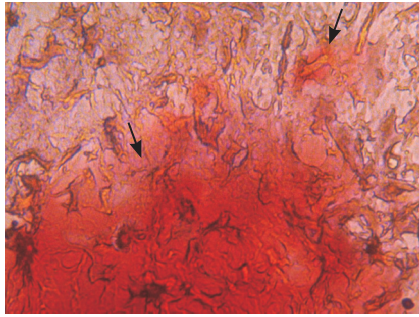


图 2 成骨诱导 3 周鉴定结果 (茜素红染色, $\times 200$)
可见红色的钙结节堆积成片 (箭头所示)。

2.2 各组小鼠过敏症状评分情况

建模完成后, 各组小鼠过敏症状评分比较差异有统计学意义 ($F=98.0$, $P<0.001$)。其中过敏组过敏症状评分 (6.5 ± 0.7) 分别高于对照组 (0.2 ± 0.4)、ADSC 组 (4.1 ± 1.1) 和 CpG-ODN 组 (4.5 ± 1.0) ($P<0.01$)；ADSC 组与 CpG-ODN 组间过敏症状评分比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)，但均高于对照组 ($P<0.05$)。

2.3 各组小鼠空肠黏膜病理变化

过敏组小鼠黏膜层绒毛结构破坏, 顶部可见水肿, 大量的嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润, 符合 I 型变态反应的特点; 对照组小鼠黏膜层绒毛结构完整, 未见水肿, 无嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润; ADSC 组小鼠黏膜层绒毛结构部分破坏, 无明显水肿, 有少量嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润; CpG-ODN 组小鼠黏膜层绒毛结构部分破坏, 无水腫, 有少量嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润 (图 3)。

2.4 各组小鼠血清 OVA-IgE 水平变化

与对照组相比, 过敏组血清中 OVA-IgE 水平升高 ($P<0.05$)；ADSC 组、CpG-ODN 组血清 OVA-IgE 水平低于过敏组 ($P<0.05$)，但仍高于对照组 ($P<0.05$)；ADSC 组血清 OVA-IgE 水平与 CpG-ODN 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。提示 ADSC 和非甲基化 CpG-ODN 均可降低过敏小鼠血清中 OVA-IgE 水平; 且两种治疗方法对降低过敏小鼠血清 OVA-IgE 水平无差异。见表 1。

2.5 各组小鼠外周血 $CD4^+CD25^+Treg$ 水平变化

与对照组相比, 过敏组外周血中 $CD4^+CD25^+Treg$

水平降低 ($P<0.05$)；ADSC 组、CpG-ODN 组外周血中 $CD4^+CD25^+Treg$ 水平均高于过敏组 ($P<0.05$)，且与对照组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)，说明 ADSC 和非甲基化 CpG-ODN 均可提高过敏小鼠外周血中 $CD4^+CD25^+Treg$ 的表达水平；ADSC 组外周血 $CD4^+CD25^+Treg$ 水平与 CpG-ODN 组比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)，说明两种治疗方法对提高过敏小鼠外周血 $CD4^+CD25^+Treg$ 表达水平无明显差异。见图 4，表 1。

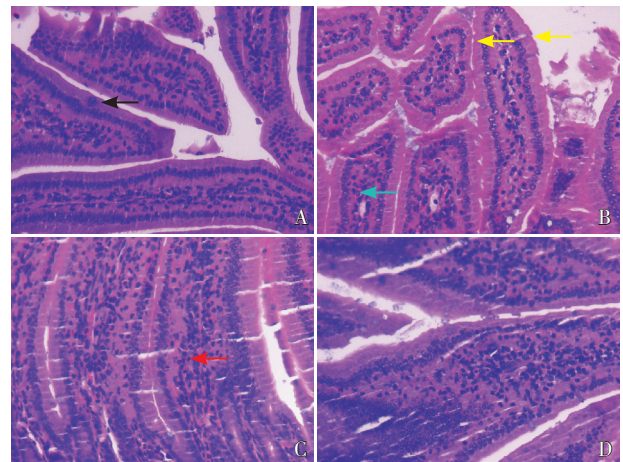


图 3 各组小鼠空肠黏膜形态及结构 (苏木精-伊红染色, $\times 400$) A: 对照组小鼠空肠黏膜层绒毛 (黑色箭头所示) 结构完整, 无水腫及炎性细胞浸润; B: 过敏组小鼠空肠黏膜层绒毛结构破坏 (黄色箭头所示), 顶部可见水肿, 大量的嗜酸性粒细胞 (绿色箭头所示) 及淋巴细胞浸润; C: ADSC 组小鼠空肠黏膜层绒毛结构部分破坏, 无明显水肿, 有少量嗜酸性粒细胞及淋巴细胞 (红色箭头所示) 浸润; D: CpG-ODN 组小鼠空肠黏膜层绒毛结构部分破坏, 无水腫, 有少量嗜酸性粒细胞及淋巴细胞浸润。

表 1 各组小鼠血清 OVA-IgE 及外周血 $CD4^+CD25^+Treg$ 表达水平比较 ($n=10$, $\bar{x} \pm s$)

组别	OVA-IgE (ng/mL)	$CD4^+CD25^+Treg$ (%) [*]
对照组	1.0 ± 0.9	8.4 ± 0.5
过敏组	48.5 ± 19.8^a	7.3 ± 1.1^a
ADSC 组	$19.1 \pm 8.4^{a,b}$	8.4 ± 0.6^b
CpG-ODN 组	$15.7 \pm 8.8^{a,b}$	8.6 ± 1.7^b
F 值	33.2	2.9
P 值	<0.05	<0.05

注: a 示与对照组比较, $P<0.05$; b 示与过敏组比较, $P<0.05$; * 示 $CD4^+CD25^+Treg$ 占外周血 T 淋巴细胞的百分比。

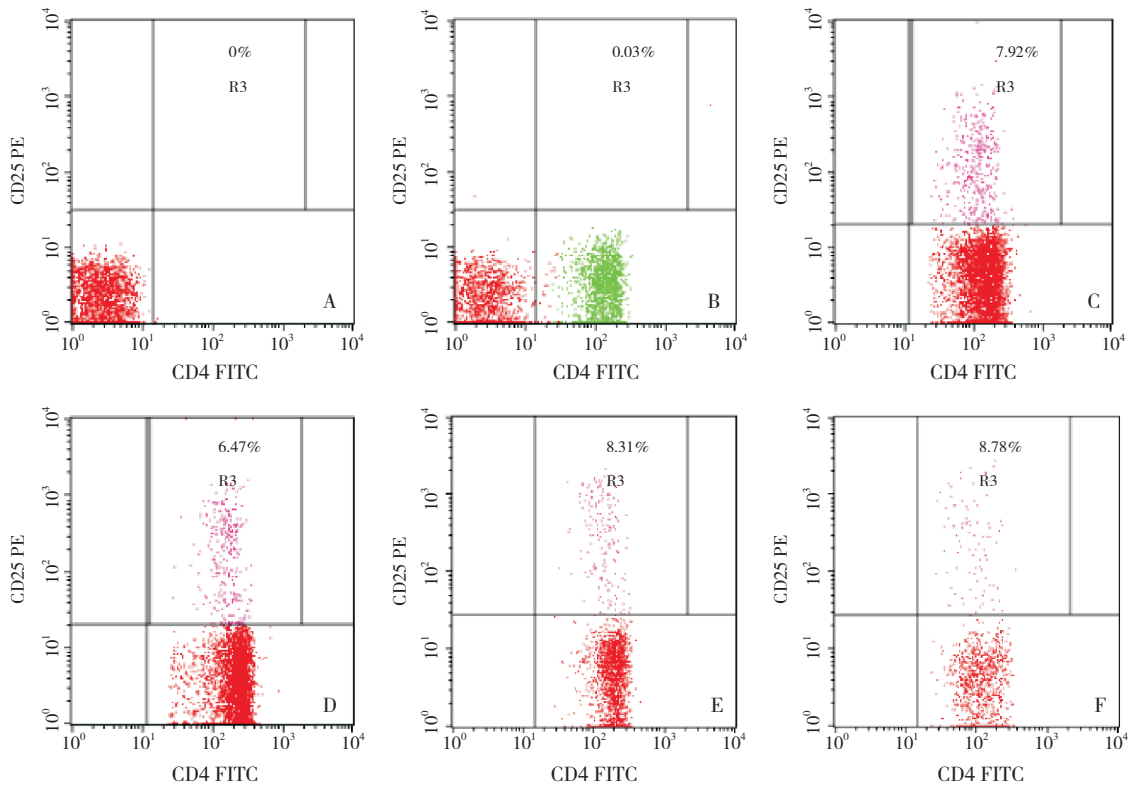


图4 流式细胞术检测各组小鼠外周血中 $CD4^+CD25^+Treg$ 表达水平 A 为空白对照; B 为同型对照; C 为对照组; D 为过敏组; E 为 ADSC 组; F 为 CpG-ODN 组。R3 区域表示 $CD4^+CD25^+Treg$ 占 $CD4^+T$ 细胞的百分比。

3 讨论

ADSC、非甲基化 CpG-ODN 对 FA 患者体内 $CD4^+CD25^+Treg$ 表达水平的影响报道较少,既往研究提示 $CD4^+CD25^+Treg$ 与免疫耐受有关,本课题组推测在 FA 中可能存在 $CD4^+CD25^+Treg$ 数量减少和/或功能不全,非甲基化 CpG-ODN 及 ADSC 可能提高 FA 模型小鼠外周血中 $CD4^+CD25^+Treg$ 的表达水平,本研究从 $CD4^+CD25^+Treg$ 的角度对 FA 免疫耐受机制做进一步探讨。

Treg 是一类具有免疫调节功能的 T 淋巴细胞亚群,在维持机体免疫平衡方面起着重要作用^[6]。在 Treg 家族中, $CD4^+CD25^+Treg$ 是最重要的,也是研究最多的。 $CD4^+CD25^+Treg$ 是一类专职免疫细胞,发挥非特异性免疫抑制作用,不受组织相容性复合体的限制。相关研究发现, $CD4^+CD25^+Treg$ 数量减少和/或功能紊乱均可导致各种免疫性疾病^[7]。本实验研究结果显示,过敏组小鼠外周血中 $CD4^+CD25^+Treg$ 表达水平低于对照组。目前认为其发生的机制可能是:

(1) $CD4^+CD25^+Treg$ 可与树突状细胞相互作用,

抑制对 T 细胞的抗原提呈作用,直接或间接发挥免疫负向调节作用,诱导效应 T 细胞凋亡^[8];

(2) $CD4^+CD25^+Treg$ 通过分泌具有免疫抑制作用的细胞因子(如 TGF- β 1、IL-10),发挥免疫调节作用;

(3) 在趋化因子的作用下, $CD4^+CD25^+Treg$ 可迁移至免疫应答的部位,通过其细胞表面的细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4 与效应细胞的相关配体结合,发挥免疫抑制作用^[9]。当 $CD4^+CD25^+Treg$ 数量减少,免疫抑制效能不足,可能是引起小鼠 FA 的主要机制之一。

本课题组前期研究已表明,非甲基化 CpG-ODN 及 ADSC 对 FA 及其相关细胞因子有一定的干预作用^[3-5]。本研究旨在观察非甲基化 CpG-ODN、ADSC 对 FA 小鼠外周血 $CD4^+CD25^+Treg$ 的影响,探究其发病机制。间充质干细胞是一种具有分化增殖和自我更新潜能的多能性干细胞,具有免疫调节和低免疫原性的特点^[10-11]。ADSC 是除骨髓间充质干细胞(MSCs)外重要的间充质干细胞来源,其组织来源丰富,具有非特异性的免疫调节能力,现已广泛用于各种炎性疾病及免疫性疾病的研究^[12-13]。Kavanagh 等^[14]以及 Nemeth 等^[15]在实验中发现,

MSCs 使得 CD4⁺Foxp3⁺Treg 的表达水平上调, 能够有效地减轻过敏性疾病的症状。Kavanagh 等^[14]对哮喘大鼠模型进行 MSCs 移植, 结果发现 MSCs 组大鼠的 CD4⁺CD25⁺Treg 水平明显高于模型组。通过检测过敏性鼻炎小鼠模型中 IL-10 及其 mRNA 的水平, 提示回输 ADSC 可显著增加 IL-10 及其 mRNA 的表达水平^[16]。与上述实验结果类似, 本研究结果显示: ADSC 干预组小鼠 CD4⁺CD25⁺Treg 的表达水平高于过敏组, 可能与 ADSC 上调了外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 水平, TGF-β1 分泌增加, 抑制 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、巨噬细胞的增殖与活化^[17]有关, 从而抑制了过度或偏移的免疫反应, 使过敏症状减轻。

CpG-ODN 是以胞嘧啶、鸟嘌呤结构为核心的寡核苷酸序列, 是一种新兴的免疫佐剂。CpG-ODN 主要与表达在树突状细胞及单个核细胞等免疫细胞上的识别受体—Toll 样受体 9 结合, 发挥免疫调节作用。CpG-ODN 可使巨噬细胞和 NK 细胞活化, 分泌 IFN-γ、IL-12, 诱导 Th1 反应, 同时抑制 IL-4、IL-5 的分泌, 使 Th2 反应向 Th1 反应逆转, 维持 Th1/Th2 平衡。相关研究发现, CpG-ODN 与 Toll 样受体 9 结合可以调整体内的骨化三醇, 从而诱导调节性 T 细胞分泌 IL-10, 调控免疫反应^[18]。本实验结果显示: CpG-ODN 组小鼠外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 水平高于过敏组, 说明非甲基化 CpG-ODN 可以提高外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 水平。

本研究提示, ADSC、非甲基化 CpG-ODN 干预治疗可以降低 FA 幼鼠过敏症状评分, 改善症状, 同时, 也可明显降低其血清中 OVA-IgE 含量, 提高 CD4⁺CD25⁺Treg 表达水平, 且两种治疗方法疗效相当, 在诱导 FA 免疫耐受中发挥作用, 但具体机制尚需深入研究。

[参 考 文 献]

- [1] Akdis M, Akdis CA. Mechanisms of allergen-specific immunotherapy: multiple suppressor factors at work in immune tolerance to allergens[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 133(3): 621-631.
- [2] Sakaguchi S, Sakaguchi N, Assno M, et al. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor alpha-chains (CD25)[J]. *J Immunol*, 1995, 155(3): 1151-1164.
- [3] 来艳如, 郑成中. 脂肪间充质干细胞移植对食物过敏小鼠免疫干预作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(7): 656-661.
- [4] 王本贞, 郑成中. CPG 寡核苷酸对卵清蛋白致敏幼鼠血清中 Th1/Th2 细胞因子及肥大细胞趋化蛋白 1 的影响[J]. *解放军医学院学报*, 2015, 36(5): 505-509.
- [5] 王本贞, 郑成中. 非甲基化 CpG-ODN 对卵清蛋白致敏食物过敏幼鼠血清 TGF-β 的影响及免疫调节作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2015, 17(8): 864-868.
- [6] Dasgupta A, Saxena R. Regulatory T cells: a review[J]. *Natl Med J India*, 2012, 25(6): 341-351.
- [7] Shalev I, Schmelzle M, Robson SC, et al. Making sense of regulatory T cell suppressive function[J]. *Semin Immunol*, 2011, 23(4): 282-292.
- [8] Mavinkurve-Groothuis AM, Marcus KA, Pourier M, et al. Myocardial 2D strain echocardiography and cardiac biomarkers in children during and shortly after anthracycline therapy for acute lymphoblastic leukaemia(ALL): a prospective study[J]. *Eur Heart J Cardiovasc Imaging*, 2013, 14(6): 562-569.
- [9] 孙美, 张士发. 调节性 T 细胞在哮喘中的研究进展[J]. *国际儿科学杂志*, 2014, 41(1): 22-24.
- [10] James S, Fox J, Afsari F, et al. Multiparameter analysis of human bone marrow stromal cells identifies distinct immunomodulatory and differentiation-competent subtypes[J]. *Stem Cell Reports*, 2015, 4(6): 1004-1015.
- [11] Fan L, Yu Z, Li J, et al. Immunoregulation effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells in xenogeneic acellular nerve grafts transplant[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 2014, 34(7): 999-1010.
- [12] 樊艳, 王建军, 魏峰, 等. 脂肪间充质干细胞移植对心肌梗死后炎症反应及心室重构的影响[J]. *中国组织工程研究*, 2014, 18(6): 900-905.
- [13] Hofmann U, Frantz S. How can we cure a heart "in flame"? A translational view on inflammation in heart failure[J]. *Basic Res Cardiol*, 2013, 108(4): 356.
- [14] Kavanagh H, Mahon BP. Allogeneic mesenchymal stem cells prevent allergic airway inflammation by inducing murine regulatory T cells[J]. *Allergy*, 2011, 66(4): 523-531.
- [15] Nemeth K, Keane-Myers A, Brown JM, et al. Bone marrow stromal cells use TGF-beta to suppress allergic responses in a mouse model of ragweed-induced asthma[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2010, 107(12): 5652-5657.
- [16] 李冠雪, 刘艳慧, 申聪香, 等. 脂肪来源间充质干细胞调控变应性鼻炎小鼠 T 细胞免疫状态的研究[J]. *中华耳鼻咽喉头颈外科杂志*, 2016, 51(1): 50-56.
- [17] 黄雪琼, 檀卫平, 吴葆菁, 等. 骨髓间充质干细胞对重症哮喘患儿外周血 Th17/Treg 的免疫调节作用[J]. *中国病理生理杂志*, 2014, 30(9): 1694-1697, 1702.
- [18] Urry Z, Xystrakis E, Richards DF, et al. Ligation of TLR9 induced on human IL-10-secreting Tregs by 1 alpha, 25-dihydroxyvitamin D3 abrogates regulatory function[J]. *J Clin Invest*, 2009, 119(2): 387-398.

(本文编辑: 万静)