

过继移植调节性 T 细胞促进由缺血/再灌注诱导的小鼠肾损伤的修复

黄文娟¹, 魏盼¹, 万辛², 陈文³, 张倩², 曹长春^{2*}

(¹徐州医学院研究生院, 江苏 徐州 221002; ²南京医科大学附属南京医院肾内科, ³胸心血管外科, 江苏 南京 210006)

[摘要] 目的: 探讨过继移植调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Tregs) 在小鼠肾脏缺血/再灌注损伤 (ischemic/reperfusion injury, IRI) 修复中的作用。方法: 将 24 只 6 周龄 C57BL/6 小鼠分为假手术组 (Sham 组)、肾脏 IRI 组 (IR 组)、高剂量 Tregs 移植组 (HT 组)、低剂量 Tregs 移植组 (LT 组)。HT/LT 两组提前 1 d 分别经尾静脉注射 5×10^6 、 1×10^5 个 Tregs。左侧肾蒂夹闭 45 min 再灌注 4 d 建立模型, Sham 组仅分离左侧肾蒂, 不予夹闭。HE 染色观察肾脏组织形态学改变, 免疫组化和流式检测 Tregs 浸润情况; 免疫组化、Western 印迹和 (或) ELISA 检测 Ki67、肿瘤坏死因子 (tumor necrosis factor, TNF)- α 、白介素 (interleukin, IL)-6、IL-10 的变化。结果: 与 IR 组和 LT 组相比, HT 组肾组织病理损害减轻, 细胞增殖明显升高; Tregs 浸润明显增多; IL-10 表达增多, TNF- α 、IL-6 表达减少 ($P < 0.05$)。结论: 过继移植 Tregs 可以减轻小鼠缺血再灌注引起的肾脏损伤, 且具有剂量依赖性, 这可能和其抑制促炎因子 TNF- α 、IL-6, 分泌抗炎因子 IL-10 有关。

[关键词] 调节性 T 细胞; 肾脏; 缺血再灌注损伤; 修复

[中图分类号] R691.6

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)03-303-07

doi: 10.7655/NYDXBNS20140306

Adoptive transfer of regulatory T cells improves repair of ischemia/reperfusion-induced renal injury in mice

Huang Wenjuan¹, Wei Pan¹, Wan xin², Chen wen³, Zhang Qian², Cao Changchun^{2*}

(¹Graduate School, Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002; ²Department of Nephrology, ³Department of Cardiac Surgery, Nanjing Hospital Affiliated to NJMU, Nanjing 210006, China)

[Abstract] **Objective:** To study the effect of adoptive transfer of regulatory T cells (Tregs) on the repair phase of ischemia/reperfusion (IR) induced renal injury in mice. **Methods:** A total of 24 C57BL/6 mice aged 6-week-old were divided into Sham group, IR group, high-dose transfer group (HT), and low-dose transfer group (LT). Approximately 5×10^6 and 1×10^5 Tregs were injected intravenously into mice by tail vein 1 d before IR injury induced. Left renal pedicle was bluntly dissected and clamped with a microvascular clamp for 45 min and reperfusion 4 d to establish IR renal injury model. Left renal pedicle was only separated without clipping in the Sham group. HE staining was performed to evaluate morphology changes of renal tissues. Immunohistochemical and flow cytometry were performed to detect the infiltrating of Tregs (CD4⁺CD25⁺); the expression changes of Ki67, tumor necrosis factor- α (TNF- α), IL-16 and IL-10 were determined by immunohistochemistry, Western blotting and/or ELISA. **Results:** Compared to the IR group and the LT group, the damage of renal pathological was reduced, cell proliferation, the infiltration of Tregs and the expression of IL-10 were significantly increased ($P < 0.05$), and the expression of TNF- α and IL-6 were decreased ($P < 0.05$) in the HT group. **Conclusion:** Adoptive transfer of Tregs had a dose-dependent protective effect on renal ischemia-reperfusion-induced injury, which is possibly related to inhibition of the proinflammatory cytokines TNF- α , IL-6 and increase of anti-inflammatory cytokine IL-10.

[Key words] regulatory T cells; kidney; ischemia reperfusion injury; repair

[Acta Univ Med Nanjing, 2014, 34(03): 303-309]

[基金项目] 国家自然科学基金 (81170658)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: caochangchun@njmu.edu.cn

肾脏缺血再灌注损伤 (ischemic/reperfusion injury, IRI) 是急性肾损伤 (acute kidney injury, AKI) 最主要原因之一。研究表明, 肾脏 IRI 可导致一系列病理生理变化, 即内皮细胞功能紊乱、白细胞浸润和激

活、活性氧及炎症分子产生,引起炎症反应、介导组织损伤。然而肾脏具有强大的修复能力,当损害因素终止以后不久,肾脏出现细胞分化增殖反应,进入恢复期^[1-2]。不同的T淋巴细胞亚群在肾脏损伤的修复过程中都发挥了重要作用^[3],其中调节性T细胞(regulatory T cells, Tregs)在肾脏损伤修复中的作用愈来愈受到重视。

Tregs是分布在正常小鼠肾脏中的抗炎淋巴细胞^[4-5],占肾脏单核细胞总数约2%^[4]。它是一类具有免疫抑制功能的T细胞,可通过多种途径抑制多种类型的免疫反应^[6]。已证实Tregs在阿霉素诱导的肾损伤^[7]、顺铂诱导的AKI等^[8]疾病模型中减轻肾脏损伤、促进组织修复与再生,且在IRI引起的AKI中发挥了重要作用^[9]。

本课题组的前期研究表明,在肾脏IRI后,第3天肾脏修复最为明显,而且在第3天Tregs表达量最多^[10],然而Tregs在肾脏IRI修复的作用机制目前尚不明确,本研究将移植技术应用于小鼠的肾脏缺血再灌注模型,旨在进一步探讨Tregs在肾脏IRI恢复期中所发挥的作用,为AKI的治疗提供新的理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

选用6周龄清洁级健康雄性C57BL/6小鼠。体重20~25 g,南京医科大学动物中心提供。兔抗小鼠Ki67多克隆抗体(Abcam公司,美国),兔抗小鼠白介素(interleukin, IL)-10多克隆抗体、兔抗小鼠Foxp3⁺多克隆抗体、兔抗小鼠IL-6多克隆抗体(Santa公司,美国),兔抗小鼠肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)- α 多克隆抗体(北京博奥森公司),即用型兔二抗(福建迈新公司),DAB液(北京中杉金桥公司),CD4-FITC单抗、CD25-PE单抗、IL-10-APC单抗、FITC标记同型对照小鼠IgG1(eBioscience公司,美国),IL-10 ELISA检测试剂盒(96T Uscn公司,美国)。

1.2 方法

1.2.1 动物分组

随机数字法分组:①假手术组(Sham组),②肾脏缺血/再灌注损伤组(IR组),③高剂量移植组(HT组),④低剂量移植组(LT组)。HT组及LT组提前1 d分别经尾静脉注射 5×10^6 、 1×10^5 个Tregs。左侧肾蒂夹闭45 min再灌注4 d建立模型,右肾不予处理。Sham组仅分离左侧肾蒂,不予夹闭。

1.2.2 小鼠肾脏IRI模型的建立

所有小鼠术前禁食12~16 h,自由饮水。用10%水合氯醛(每100 g体重0.4 ml)腹腔内注射麻醉,分别于左侧背部肾区行约2 cm切口,暴露并游离左侧肾蒂,无损伤动脉夹夹闭并注意肾脏颜色变化,确认血流阻断,45 min后松开动脉夹。小鼠肾脏颜色在短时间内由暗褐色逐渐变为鲜红色,提示再灌注良好。给予腹腔内注射37℃生理盐水(10 μ l/g)补充水分,缝合伤口。Sham组仅暴露左侧肾蒂不予夹闭。

1.2.3 小鼠脾细胞及Treg细胞的分离

无菌条件下分离小鼠脾脏,加入缓冲液PBS溶液(含2%胎牛血清)20 ml,置于200目的无菌碾磨钢网上,反复碾磨,过滤2次,4℃300 r/min离心10 min,弃上清,缓冲液重悬,将细胞悬液通过30 mm尼龙网,去除成团的细胞,过滤后的细胞悬液加入小鼠淋巴细胞分离液液面上,300 r/min离心20 min,吸取单个核细胞层,PBS液洗涤2次(调整细胞浓度为 2×10^8 个/ml)。按小鼠CD4⁺CD25⁺T cells Isolation Kit(STEMCELL公司,英国)说明阴性选择分离CD4⁺CD25⁻T细胞,阳性选择分离CD4⁺CD25⁺T细胞。以PBS调整细胞数为 2×10^7 个/ml同时分别用流式细胞仪(FCM)检测其纯度。

1.2.4 标本收集

各组小鼠在术后4 d处死,取全血后,切除双侧肾脏备用,一部分制作细胞悬液,以备进行流式检测,另一部分置于10%中性福尔马林溶液中,经石蜡包埋后切片行组织病理学检测。

1.2.5 肾组织病理检查

肾组织常规固定,脱水,透明,包埋后3 μ m切片,行HE染色,通过计数肾小管损伤的面积半定量评估小管间质损伤程度。评估参数如下:肾小管上皮细胞变性、坏死,刷毛缘脱落,管型形成,炎细胞浸润。评分标准为:0分(无);1分(<10%);2分(11%~25%);3分(26%~45%);4分(46%~75%);5分(>76%)^[11],每张切片至少选10个皮髓交界部的高倍镜视野($\times 400$)。

1.2.6 免疫组织化学检测肾组织各因子的表达

取各组肾组织石蜡切片,常规二甲苯脱蜡,梯度酒精至水,磷酸盐缓冲液(PBS)浸洗5 min \times 2次,枸橼酸盐缓冲液抗原修复,PBS浸洗5 min \times 2次,3% H_2O_2 孵育,消除内源性过氧化物酶,PBS浸洗5 min \times 2次,加入一抗,兔抗小鼠Ki67、兔抗小鼠IL-10、兔抗小鼠Foxp3⁺、兔抗小鼠IL-6、兔抗小鼠TNF- α 多克隆抗体,4℃孵育过夜,室温复温30 min,

PBS 清洗 5 min × 4 次,分别滴加即用型兔二抗,室温孵育至少 1 h。PBS 摇床洗 5 min × 4 次,显微镜下 DAB 液显色,苏木素复染,1%盐酸分化,脱水,透明,封片。

1.2.7 流式细胞仪检测 Tregs、IL-10 的变化

在上述细胞悬液中,取 1×10^6 个细胞悬液分别加入 CD4-FITC 单抗、CD25-PE 单抗、IL-10-APC 单抗,Foxp3⁺对照组加入等量 FITC 标记同型对照小鼠 IgG1 振荡混匀,室温暗处孵育 20 min,PBS 洗涤,上机检测并应用 CellQuest 软件进行检测和分析。

1.2.8 ELISA 检测

肾脏组织浓度根据酶联免疫吸附测定试剂盒说明,采用双抗体夹心法的操作步骤定量测定 IL-10 的表达。

1.2.9 Western blot 检测

从液氮中取保存的肾组织,每组各取约 30 mg 加入约 0.3 ml 预冷蛋白裂解液,12 000 r/min 离心 30 min,取上清,Bradford 法测蛋白浓度。每组蛋白取 80 μg 上样于 SDS-PAGE 胶,以浓缩胶 10 mA 分离胶 20 mA 电泳,电泳结束后湿转至 0.22 μm 孔径的 PVDF 膜上。TBS 洗膜 5 min,置于 5% 脱脂牛奶封闭液中,室温下封闭 2 h,加入一抗,4℃冰箱孵育过夜。复温 30 min,TBST 液漂洗 3 次,每次 8 min,加入 HRP 标记的二抗,37℃孵育 1 h。TBST 漂洗 4 次,ECL 化学发光法检测。采用 Image-J 软件进行灰度分析,以 β-actin 作为内参,结果用目的蛋白与 β-actin 的比值表示。

1.3 统计学方法

使用 SPSS16.0 统计软件进行统计分析。所有计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 *t* 检验和单因素方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

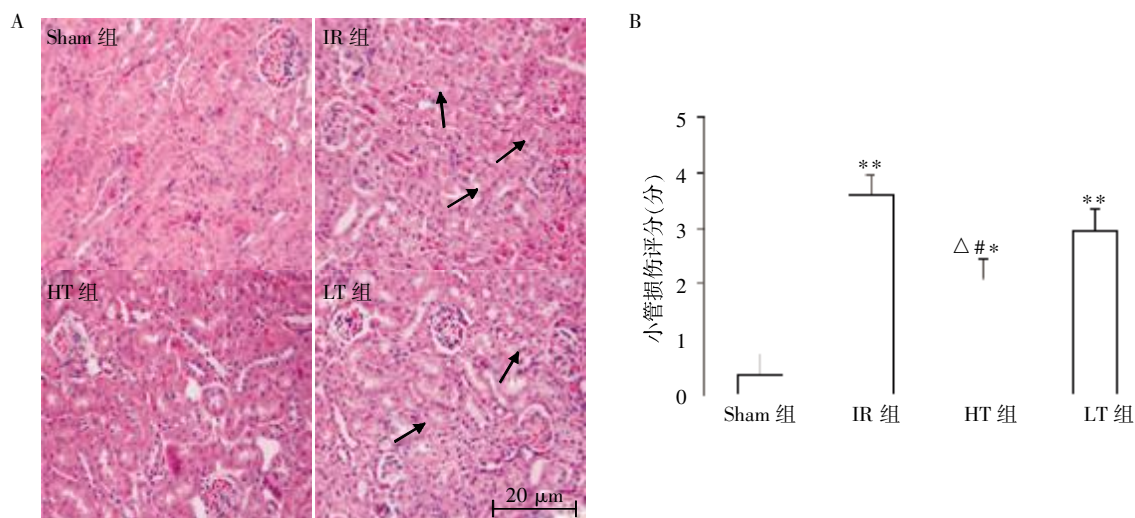
2 结果

2.1 过继移植 Tregs 促进了肾脏 IRI 后结构的恢复

光学显微镜下观察 Sham 组肾组织结构清晰,肾小管上皮细胞完整,排列整齐;IR 组肾小管上皮细胞排列疏松、紊乱,刷状缘坏死脱落至管腔,有管型形成以及炎性细胞浸润等病理改变;HT 组病理改变较 IR 组和 LT 组明显减轻,表现为肾小管上皮细胞空泡变性,刷状缘坏死脱落及管型减少(图 1A)。从肾脏 IRI 后肾小管损伤评分结果可以看出 sham 组(0.56 ± 0.09)的肾小管损伤最轻,而 HT 组(2.28 ± 0.19)的肾小管损伤程度小于 IR 组(3.89 ± 0.21)和 LT 组(3.31 ± 0.18),差异有统计学意义($P < 0.05$,图 1B)。

2.2 过继移植 Tregs 后肾组织 Tregs 浸润增加

各组小鼠肾组织石蜡切片免疫组织化学 Tregs 的表达结果显示 Sham 组间质有少许 Tregs 浸润;IR 组、HT 组、LT 组有明显 Tregs 浸润,其中 HT 组 Tregs 浸润表达较 IR 组、LT 组多($P < 0.05$,图 2),各组小鼠肾组织流式结果显示:Sham 组 CD4⁺CD25⁺细胞百分比仅为 1.48%,而 IR 组、HT 组、LT 组表达量明显增加,其百分比分别为 2.59%、3.21%、2.80%,可



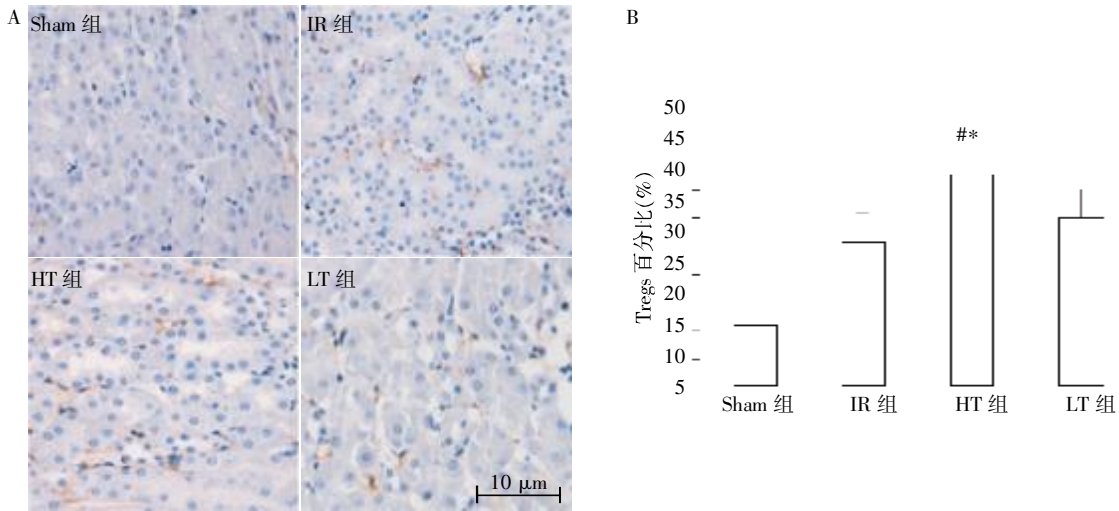
箭头所指为肾小管上皮细胞排列疏松,肾小管管壁变薄,管腔内管型形成。与 Sham 组比较,* $P < 0.05$,** $P < 0.01$;与 IR 组比较,[#] $P < 0.05$;与 LT 相比,[△] $P < 0.05$ 。

图 1 缺血再灌注损伤肾组织形态学改变(HE,×400)

Figure 1 Morphological changes in mice kidney tissue with IRI(HE,×400)

以看出 HT 组的 CD4⁺CD25⁺表达量最多(图 3)。

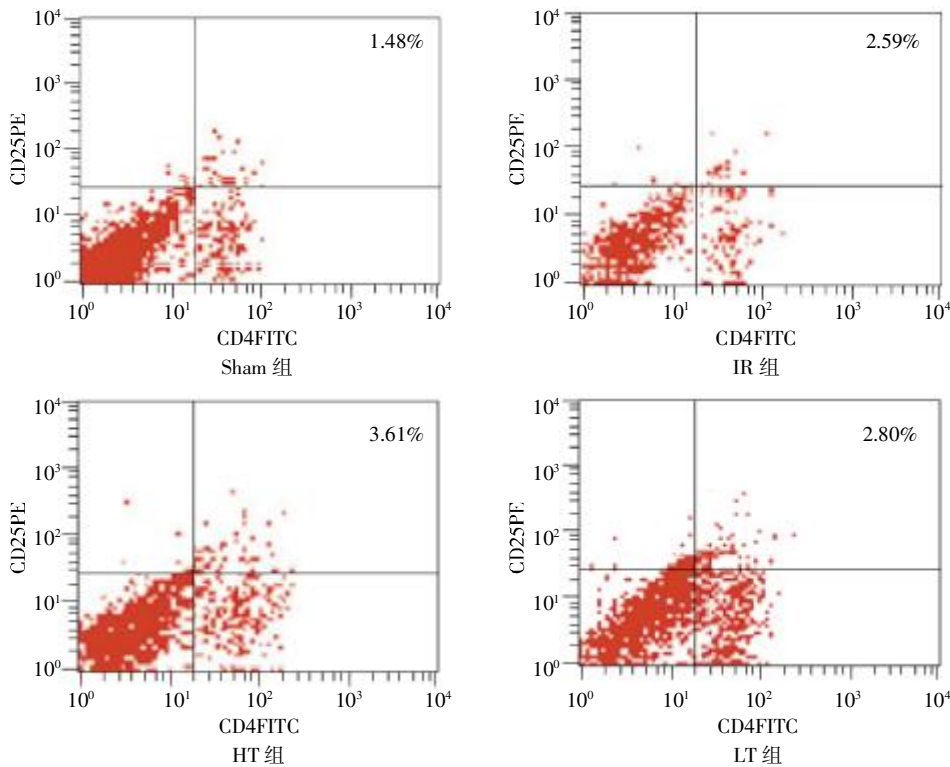
2.3 过继移植 Tregs 后肾小管上皮细胞增殖明显增加



与 IR 组比较, * $P < 0.05$; 与 LT 组比较, # $P < 0.05$ 。

图 2 缺血再灌注损伤肾组织 Foxp3⁺的表达(免疫组化, ×400)

Figure 2 Immunohistochemical detection the infiltration of Tregs in kidney with IRI(IHC, ×400)



右上角为 CD4⁺CD25⁺细胞百分比。

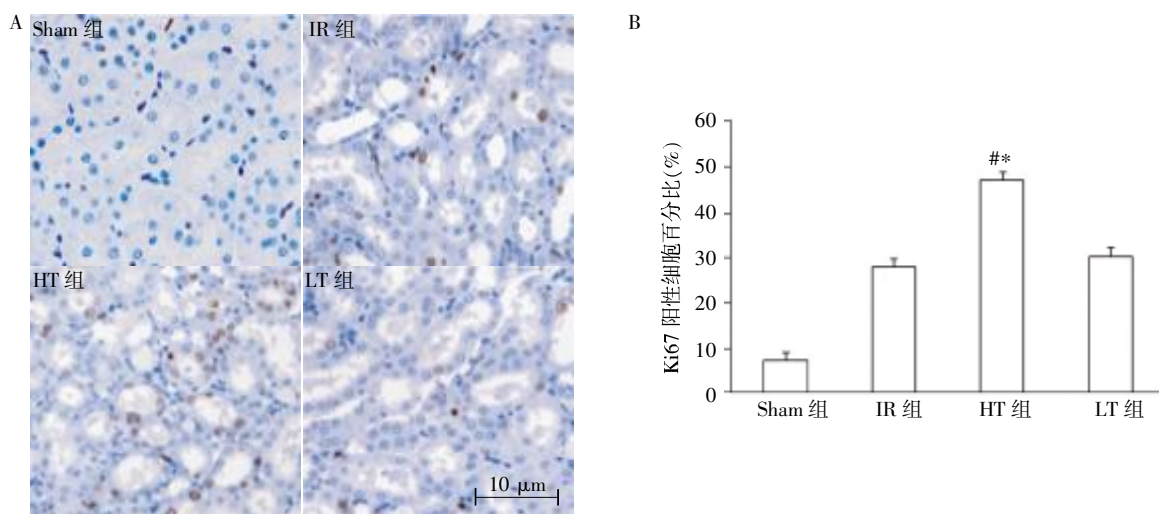
图 3 流式检测缺血再灌注损伤肾组织 CD4⁺CD25⁺的表达

Figure 3 Flow cytometry detection of CD4⁺CD25⁺ positive cells in kidney with IRI

Sham 组无明显细胞增生, Ki67 阳性细胞数较低; IR 组、HT 组、LT 组肾小管出现大量 Ki67 阳性细胞, 阳性细胞数明显高于 Sham 组, 核分裂像多见; 其中 HT 组阳性细胞数高于 IR 组、LT 组。阳性范围记数: 每张切片在 400 倍光镜下随机观察 10 个高倍视

野, 各计数 50 个细胞, 计算出阳性细胞百分比, Sham 组、IR 组、HT 组、LT 组分别为 (8.00 ± 0.62)%、(27.67 ± 3.06)%、(46.67 ± 4.51)%、(30.00 ± 5.57)% (图 4)。

2.4 过继移植 Tregs 可促进肾组织中 IL-10 的表达



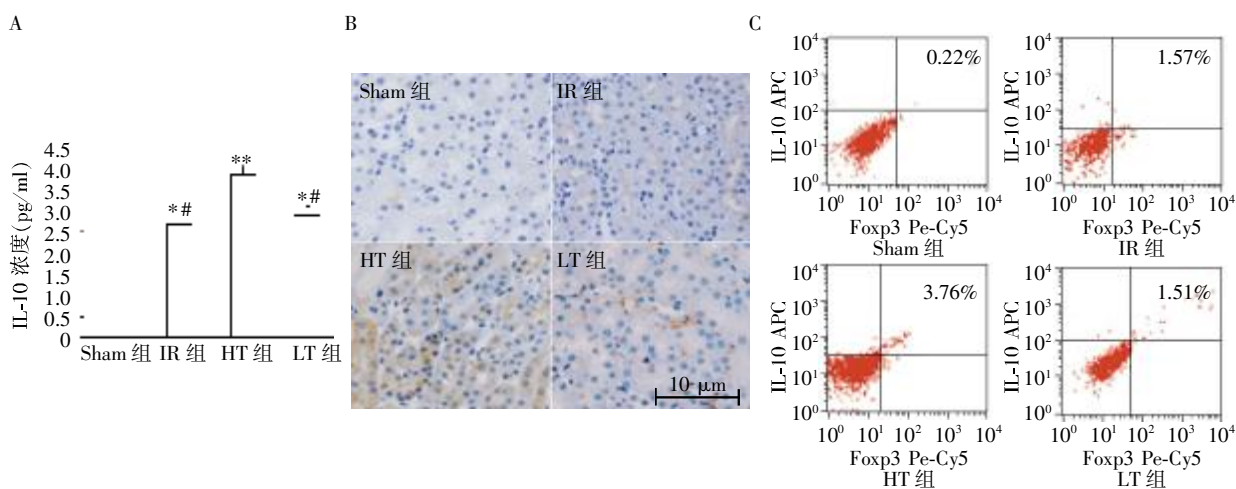
与 IR 组比较, * $P < 0.05$; 与 LT 组比较, [#] $P < 0.05$ 。

图 4 缺血再灌注损伤肾组织 Ki67 的表达(免疫组化, ×400)

Figure 4 Immunohistochemical detection of Ki67 positive cells in kidney with IRI(IHC, ×400)

HT 组 IL-10 蛋白表达量较 IR 组和 LT 组上调明显($P < 0.05$), 表明在移植 Tregs 后, IL-10 蛋白的表达增强, IR 组与 LT 组 IL-10 蛋白表达量比较差异无统计学意义($P > 0.05$, 图 5A), IL-10 的免疫组

织化学、流式检测表达结果显示与 ELISA 基本一致, 且免疫组织化学显示 IL-10 在肾小管和间质均有表达(图 5B, C)。HT 组 IL-10 阳性表达量明显高于 IR 组和 LT 组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。



A: ELISA 双侧夹心法。与 Sham 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 HT 组比较, [#] $P < 0.05$ 。B: 免疫组化(×400)。C: 流式检测, 右上角为阳性细胞百分比。

图 5 缺血再灌注损伤肾组织 IL-10 的表达

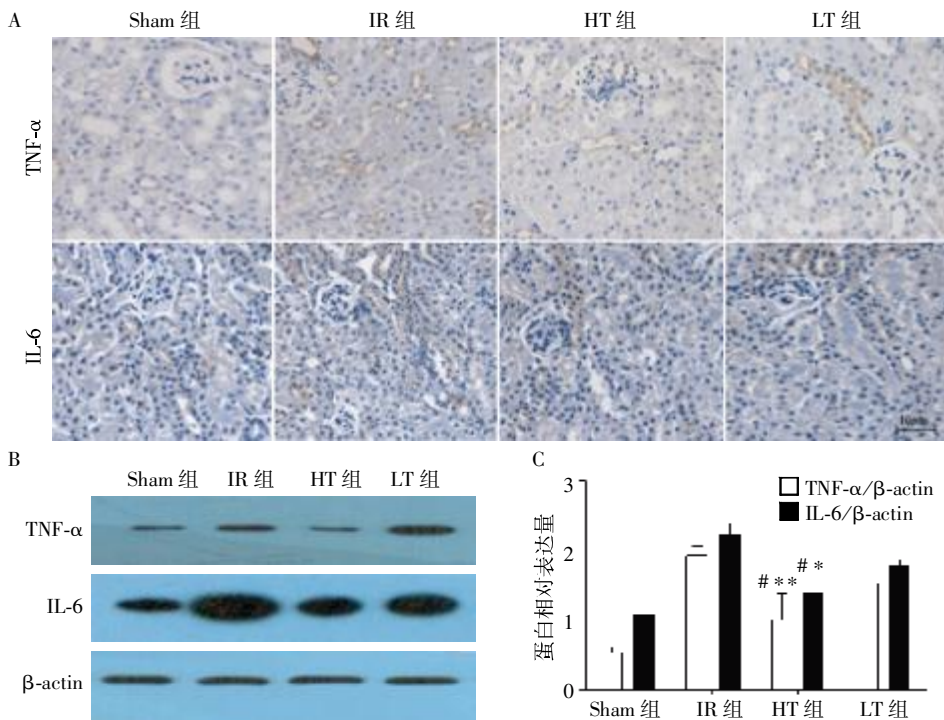
Figure 5 The expression of IL-10 in renal tissue after IRI

2.5 过继移植 Tregs 抑制了 TNF- α 、IL-6 的表达

Sham 组几乎未见 TNF- α 、IL-6 阳性表达; IR 组皮、髓交界处以及外髓部的肾小管、间质可见大量弥漫的 TNF- α 、IL-6 阳性表达, HT 组的 TNF- α 、IL-6 表达明显减少(图 6A), 通过对各组小鼠肾组织内炎症介质 TNF- α 、IL-6 的表达量进行比较, 结果发现和免疫组化一致, HT 组的炎症介质明显较 IR 组和 LT 组明显减少, 差异有统计学意义($P < 0.05$, 图 6B, C)。

3 讨论

AKI 是临床上较为常见的病理生理综合征, 患者发病率和病死率都很高。因此, 积极寻找 AKI 的防治手段显得尤为迫切。研究发现肾脏 IRI 后, 早在损伤后 24 h, 修复过程即启动, IRI 后 3 d 时肾小管损伤后修复最明显, 并且 Tregs 表达量最多, 然而 Tregs 在肾脏 IRI 修复的作用机制目前尚不明确, 为



与 IR 组比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与 LT 组相比, # $P < 0.05$ 。

图 6 各组小鼠肾组织内炎症介质 TNF- α 、IL-6 的表达

Figure 6 The expression of inflammatory mediators TNF- α and IL-6 in mice of each group

进一步探讨 Tregs 在肾脏 IRI 恢复期中所发挥的作用,本研究将移植技术应用于小鼠的肾脏缺血再灌注模型。目前关于 Tregs 的过继移植也主要是在减轻移植排斥反应的发生及严重程度方面^[12]。大量研究表明 Tregs 可以通过抑制其他 T 淋巴细胞分泌炎症介质^[5]。由于 T 细胞缺陷动物体内复杂的因素,不能有力证明正常动物机体内 Treg 细胞的功能。所以选择免疫系统正常的野生小鼠作为受体,采用磁珠分选两步法分选 Tregs,检测其纯度达 90.9%。在建造 IRI 模型前 24 h 分别经尾静脉注射 1×10^5 、 5×10^6 个 Tregs/只,再灌注建立模型,进一步观察过继移植不同剂量的 Tregs 在肾脏缺血再灌注中的作用。通过双荧光染色、流式细胞术分析了 Tregs 在高剂量过继移植、低剂量过继移植和未移植中的差异,试图探讨 Tregs 在机体内对 IRI 的影响,从而进一步证明 Tregs 能够减轻 IRI 的作用机制。然而 Gandolfo 等^[5] 在损伤后 24 h 过继性转移野生型小鼠 Tregs, IRI 后 3 d 组织学损伤评分并无明显降低,小管增殖也不明显。于是分别对 3、4、5 d 移植组的小鼠修复情况进行观察。发现移植组在肾脏 IRI 后的 72~96 h Tregs 开始表达并达到高峰,故对 96 h 即 4 d 的模型进行观察,在肾脏 IRI 修复的第 4 天,由于是单侧夹闭,血肌酐、尿素氮变化不明显,但过继移植组的

肾小管上皮细胞空泡变性,刷状缘坏死脱落及管型减少,病变较 IR 组明显减轻,且 HT 组更加明显,而 Sham 组肾脏未干预故没有出现肾小管上皮细胞水肿、空泡变性或散在斑片状坏死等改变。Ki67 是一种增殖细胞相关的核抗原,其功能与有丝分裂密切相关,在细胞增殖中是不可缺少,本实验中过继移植组较 IR 组肾小管上皮细胞 Ki67 阳性细胞明显增多,且 HT 组表达量最多,这进一步表明 Tregs 具有促进肾脏 IRI 修复的作用。

Tregs 最具有代表特征的是 CD4⁺CD25⁺T 细胞, Foxp3⁺不但是 Tregs 的特异性标志,还可以控制 Tregs 的功能,本研究选择其作为参数, Foxp3⁺阳性的细胞就是 Tregs,其一个重要性质就是可以转移到炎症区域^[13]。IRI 引起炎症反应可以使 Tregs 聚集,反过来又可以保护肾脏的 IRI^[14]。在本研究中, Sham 组肾小管间质可见较少的 Foxp3⁺阳性细胞浸润,在肾脏修复 4 d 时 HT 组和 LT 组小鼠肾组织肾小管间质有大量的 Foxp3⁺阳性细胞浸润,而 IR 组 Tregs 细胞浸润相对较少。Tregs 具有免疫抑制性,主要表现在这类细胞能够抑制效应性 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞 IL-2 的转录与表达,从而干扰其活化和增殖,进而减少其促炎因子 TNF- α 、IL-6 的分泌,减轻损伤,促进修复。通过对各组小鼠肾组织内炎症介质表达水

平的比较发现,HT 组炎症介质 TNF- α 、IL-6 的表达量较 IR 组明显减少。

IL-10 主要来源于单核/巨噬细胞和 Th 细胞,能够抑制效应 T 细胞、单核细胞、巨噬细胞以及它们产生的细胞因子、炎症趋化因子、促炎细胞因子。其主要作用就是限制和最大限度地终止炎症反应^[15]。Kinsey 等^[8]将野生型小鼠和 IL-10 缺陷小鼠的 Tregs 在 IRI 前分别注射至 RAG-1 小鼠(缺乏 T、B 细胞),发现前者可减轻 IRI 引起的肾损伤,而后者则无此功能,提示 Tregs 的保护作用主要和 IL-10 有关。虽然 IL-10 是 Tregs 的产物,也可以由损伤的肾小管上皮细胞产生^[16],在本研究中通过对比分析发现在 IRI 修复期的第 4 天,过继移植组 IL-10 的表达量较 IR 组增加,HT 组尤为明显。

综上所述,本研究结果表明过继移植 Tregs 可以促进小鼠肾脏 IRI 的修复,且具有剂量依赖性,其作用机制可能与分泌 IL-10 并且抑制 T 细胞炎症因子的分泌,进而下调炎症介质 TNF- α 、IL-6 的表达有关。但对于其详细的作用机制及分子通路,尚需进一步研究。

[参考文献]

- [1] Thadhani R, Pascual M, Bonventre JV. Acute renal failure [J]. *J N Engl J Med*, 1996, 334(22): 1448-1460
- [2] Bonventre JV. Molecular response to cytotoxic injury: role of inflammation, MAP kinases, and endoplasmic reticulum stress response [J]. *Semin Nephrol*, 2003, 23 (5): 439-448
- [3] Ysebaert DK, De Greef KE, Vercauteren SR, et al. Identification and kinetics of leukocytes after severe ischaemia/reperfusion renal injury [J]. *Nephrol Dial Transplant*, 2000, 15(10): 1562-1574
- [4] Kinsey GR, Sharma R, Huang L, et al. Regulatory T cells suppress innate immunity in kidney ischemia-reperfusion injury [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2009, 20(8): 1744-1753
- [5] Gandolfo MT, Jang HR, Bagnasco SM, et al. Foxp3⁺ regulatory T cells participate in repair of ischemic acute kidney injury [J]. *Kidney Int*, 2009, 76(7): 717-729
- [6] Shevach EM. Mechanisms of foxp3⁺ T regulatory cell-mediated suppression [J]. *Immunity*, 2009, 30(5): 636-645
- [7] Mahajan D, Wang Y, Qin X, et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells protect against injury in an innate murine model of chronic kidney disease [J]. *J Am Soc Nephrol*, 2006, 17(10): 2731-2741
- [8] Lee H, Nho D, Chung HS, et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells attenuate cisplatin-induced nephrotoxicity in mice [J]. *Kidney Int*, 2010, 78(11): 1100-1109
- [9] Kinsey GR, Huang L, Vergis AL, et al. Regulatory T cells contribute to the protective effect of ischemic preconditioning in the kidney [J]. *Kidney Int*, 2010, 77(9): 771-780
- [10] 张倩, 万辛, 刘林, 等. 核因子 B 抑制物激酶在肾脏缺血再灌注损伤炎症反应中的作用及机制 [J]. *中华肾脏病杂志*, 2013, 29(9): 670-675
- [11] Himmelfarb J, Joannidis M, Molitoris B, et al. Evaluation and initial management of acute kidney injury [J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2008, 3(4): 962-967
- [12] 田莹, 邓宇斌, 黄奕俊, 等. 骨髓间充质干细胞在 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞减轻大鼠移植抗宿主反应中的作用 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2006, 14(6): 1210-1214
- [13] Huehn J, Hamann A. Homing to suppress: address codes for Treg migration [J]. *Trends Immunol*, 2005, 26(12): 632-636
- [14] Kinsey GR, Huang L, Vergis AL, et al. Regulatory T cells contribute to the protective effect of ischemic preconditioning in the kidney [J]. *Kidney Int*, 2010, 77(9): 771-780
- [15] Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, et al. Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor [J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19: 683-765
- [16] Basile DP, Rovak JM, Martin DR. Increased transforming growth factor-beta 1 expression in regenerating rat renal tubules following ischemic injury [J]. *Am J Physiol*, 1996, 270(3 Pt 2): F500-F509

[收稿日期] 2013-11-22