

胸腺瘤相关重症肌无力患者瘤旁胸腺上皮细胞 外泌体对Treg细胞功能的影响

陈柳伶, 谭舒婷, 包效燃, 刘竞丽, 李劲频

(广西医科大学第一附属医院神经内科, 南宁 530021)

摘要 目的: 探讨胸腺瘤相关重症肌无力(TAMG)患者瘤旁胸腺上皮细胞外泌体对调节T细胞(Treg)叉状头转录因子P3(FOXP3)表达及分泌转化生长因子(TGF)- β 1、白细胞介素(IL)-10功能的影响。方法: 收集TAMG患者及先天性心脏病无胸腺疾病的患者(对照组)胸腺组织, 分离培养胸腺上皮细胞, 使用广谱角蛋白(p-CK)和波形蛋白(Vimentin)染色行免疫荧光鉴定; 膜亲和柱法提取胸腺上皮细胞外泌体并行透射电子显微镜(TEM)、粒径分析(NTA)及western blotting检测鉴定; 磁珠分选法分离胸腺上皮细胞中Treg细胞, 流式细胞术检测纯度; Treg细胞与外泌体共培养, 行外泌体染色示踪实验, 检测FOXP3表达及培养上清液TGF- β 1、IL-10水平。结果: 分离细胞呈长梭形, 生长良好, 免疫荧光p-CK呈阳性, Vimentin呈阴性, 细胞为胸腺上皮细胞。TEM、NTA、western blotting结果提示提取物为外泌体。流式细胞术检测Treg细胞纯度>90%, 纯度较好。外泌体染色示踪结果提示Treg细胞可吞噬胸腺上皮细胞外泌体, 与TAMG组胸腺上皮细胞外泌体共培养后Treg细胞FOXP3表达减少($P<0.01$), TGF- β 1、IL-10分泌减少($P<0.01$)。结论: Treg细胞可吞噬TAMG瘤旁胸腺上皮细胞外泌体, 导致FOXP3表达减少、分泌TGF- β 1、IL-10减少, 免疫抑制功能减弱, 其可能参与TAMG的发病过程。

关键词 胸腺瘤相关重症肌无力; 胸腺上皮细胞; 外泌体; 调节T细胞

中图分类号: R736.3; R746.1 文献标志码: A 文章编号: 1005-930X(2024)07-1056-07

DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.07.015

Effects of exosomes of paratumoral thymus epithelial cells on Treg cell function in patients with thymoma-associated myasthenia gravis

CHEN Liuling, TAN Shuting, BAO Xiaoran, LIU Jingli, LI Jinpin. (Department of Neurology, the First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning 530021, China)

Abstract **Objective:** To investigate the effects of exosomes derived from paratumoral thymic epithelial cells on the expression of forkhead box protein P3 (FOXP3) and the secretion of transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1) and interleukin (IL)-10 by regulatory T cells (Tregs) in patients with thymoma-associated myasthenia gravis (TAMG). **Methods:** Thymic epithelial cells were isolated and cultured from TAMG patients and patients with congenital heart disease without thymus disease (control group), and identified by immunofluorescence staining with pan-cytokeratin (p-CK) and Vimentin. The exosomes were extracted from thymic epithelial cells by membrane affinity column and identified by transmission electron microscopy (TEM), nanoparticle tracking analysis (NTA) and western blotting. Tregs were isolated from thymic epithelial cells by magnetic bead sorting and their purity was detected by flow cytometry. Tregs were co-cultured with exosomes, and exosome staining and tracing experiments were performed to detect the expression of FOXP3 and the levels of TGF- β 1 and IL-10 in the culture supernatant. **Results:** The isolated cells were spindle-shaped and grew well. Immunofluorescence showed that the cells were positive for p-CK and negative for Vimentin, and the cells were thymic epithelial cells. TEM, NTA and western blotting results suggested that the extracts were exosomes. The purity of Tregs detected by flow cytometry was more than 90%, with good purity. The results of exosome staining showed that Tregs could phagocytose exosomes from thymic epithelial cells. After co-culture with exosomes of thymus epithelial cells in TAMG group, the expression of FOXP3 in Tregs was decreased ($P<0.01$) and the secretion of TGF- β 1 and IL-10 was decreased ($P<0.01$). **Conclusion:** Tregs can phagocytose exosomes of paratumoral thymic epithelial cells of TAMG, leading to decreased FOXP3 expression, decreased secretion of TGF- β 1 and IL-10, and weakened immunosuppressive function, which may be involved in the pathogenesis of TAMG.

Keywords thymoma-associated myasthenia gravis; thymic epithelial cells; exosomes; regulatory T cells

[基金项目] 国家自然科学基金资助项目(No.81960241)

[通信作者] 李劲频, E-mail: lijinp009@163.com

[收稿日期] 2024-05-19

重症肌无力(myasthenia gravis, MG)是一种T细胞免疫依赖性、补体参与的神经肌肉接头处传递障碍的获得性自身免疫性疾病,其主要致病抗体为抗乙酰胆碱受体抗体(anti-acetylcholine receptor antibody, AchR)。MG与胸腺异常密切相关,胸腺可能是导致AchR免疫耐受丧失的部位,胸腺自身免疫耐受受损是MG发病的重要原因^[1]。流行病学结果显示,80%以上MG患者合并胸腺异常,其中约80%~85%为胸腺增生,10%~15%为胸腺瘤。胸腺瘤是成人最常见的前纵膈肿瘤,其来源于胸腺上皮细胞。MG是胸腺瘤最常见的副肿瘤性自身免疫性疾病,胸腺瘤相关重症肌无力(thymoma-associated myasthenia gravis, TAMG)患者的肌无力病变更易累及延髓和呼吸肌而出现肌无力危象,且症状更严重、预后不佳^[2-3]。

调节T细胞(regulatory T cell, Treg)是一类胸腺产生的免疫抑制性T细胞,通过直接接触抑制、分泌转化生长因子(TGF)- β 1、白细胞介素(IL)-10等细胞因子、高表达IL-2受体竞争消耗IL-2等方式抑制效应T细胞增殖和活化,在维持自身免疫耐受和内环境稳态中发挥重要作用^[4-5]。叉状头转录因子P3(forkhead box protein P3, FOXP3)是FOX转录调控因子家族的一员,是调节Treg细胞分化和功能的特异性转录因子^[6]。研究表明,TAMG患者Treg数量减少、功能减弱,导致效应T细胞功能活跃^[7],可能诱发自身免疫应答,促进MG发生。外泌体是一类由细胞分泌的具有脂质双分子层结构的微小囊泡,参与细胞间通讯。与受体细胞融合后,外泌体中RNA、蛋白质、脂质等大量生物学信息被释放,通过调控基因转录、翻译等影响受体细胞表型和功能^[8]。不同细胞来源的外泌体可影响T细胞分化和功能,参与多种自身免疫性疾病的发生、发展。

研究表明,MG胸腺上皮细胞功能异常可诱导致敏T细胞异常分化和激活^[9-12],导致免疫失调,在MG发生、发展中起重要作用。有研究通过共培养Treg细胞与MG患者胸腺上皮细胞,发现MG患者胸腺上皮细胞可导致Treg体外抑制功能减弱^[7],表明MG胸腺上皮细胞在Treg细胞功能缺损中起重要作用,但由于细胞—细胞共培养体系成分复杂,故不能明确有哪些因素起作用。不同细胞来源的外泌体参与多种自身免疫性疾病中Treg细胞功能的调控^[13-16],因此,我们推测TAMG患者瘤旁胸腺上皮细胞外泌体可能作用于Treg细胞,导致Treg细胞

功能失调,参与MG发展。本研究通过分离培养TAMG患者瘤旁和对照患者胸腺上皮细胞并提取其外泌体,验证TAMG患者与对照患者胸腺上皮细胞外泌体对Treg细胞功能的影响,进一步探索胸腺上皮细胞外泌体在TAMG致病机制中的作用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2021年9月至2023年12月在广西医科大学第一附属医院心胸外科住院行胸腺瘤切除术的MG合并胸腺瘤患者的瘤旁胸腺组织共10例(TAMG组);选择年龄、性别相匹配在本院行开胸手术的先天性心脏病患者术后的胸腺组织共10例(对照组)。TAMG组纳入标准:(1)具有全身型MG典型的临床症状:晨轻暮重、活动后症状加重、休息后减轻等;(2)新斯的明试验阳性、重复电刺激及血清AchR-Ab等辅助检查结果可确证为MG的患者;(3)胸腺CT或MRI提示胸腺瘤,且病理诊断为胸腺瘤的患者。对照组纳入标准:先天性心脏病患者因暴露或扩大术野而切除的胸腺组织;胸腺病理诊断排除胸腺疾病。排除标准:(1)合并有系统性红斑狼疮、甲状腺功能亢进症、类风湿性心脏病、类风湿关节炎、皮炎等其他自身免疫性疾病;(2)胸腺组织病理诊断为胸腺增生或胸腺癌者;(3)不能明确诊断为MG的患者;(4)不愿配合研究或临床资料不完整者。TAMG组中男7例,女3例,平均(40.50 $\pm$ 11.17)岁,溴吡斯的明试验阳性10例,重复电刺激阳性6例;对照组中男7例,女3例,平均(38.40 $\pm$ 10.12)岁。两组患者性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。本研究经广西医科大学第一附属医院医学伦理委员会批准,所有受试者明确知晓并已签署知情同意书。

1.2 主要仪器与试剂 倒置荧光显微镜(日本Olympus公司)、H-7650透射电子显微镜(TEM,日本Hitachi公司);DMEM高糖培养基、胎牛血清、0.25%胰蛋白酶-EDTA消化液购自美国Gibco公司;100 $\times$ 青/链霉素、PBS缓冲液、DPBS缓冲液、胶原酶I及脱氧核糖核酸酶I购自北京索莱宝科技有限公司;广谱角蛋白(p-CK)抗体购自美国Cell Signaling Technology公司;波形蛋白(Vimentin)抗体购自爱必信(上海)生物科技有限公司;CD9、CD63抗体购自武汉三鹰生物技术有限公司;TSG101抗体购自江苏亲科生物研究中心有限公司;FOXP3抗体购自美国NOVUS公司;RNA逆转录试剂盒、qPCR试剂

盒购自日本 TAKARA 公司;U6、FOXP3 引物订购于南宁捷尼斯生物科技有限公司;外泌体提取试剂盒购自德国 QIAGEN 公司;PKH26 染料购自上海宇玫博生物科技有限公司;Treg 细胞分选试剂盒、人 T 细胞扩增培养基、rhIL-2、CD3/CD28 磁珠购自加拿大 STEMCELL 公司;Zombie NIR 死/活细胞染料购自美国 BioLegend 公司;CD4、CD25、CD127 流式抗体购自美国 BD 公司;TGF- β 1、IL-10 细胞因子酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒购自凡科维(上海)科技有限公司。

1.3 胸腺上皮细胞原代培养 在手术室取得新鲜胸腺组织,TAMG 组取胸腺瘤组织旁开 2 cm 以外的瘤旁胸腺组织;对照组取开胸手术切除的正常胸腺组织。将胸腺组织浸没于预冷的 PBS 中,立刻带回实验室处理。将胸腺样本置于冰上,用镊子钝性分离组织表面的黏膜、脂肪组织和血管,剪碎后加入 2 mL 脱氧核糖核酸酶 I/胶原酶 I 混合消化液,置于 37 °C 恒温水浴锅内水浴消化 2 h。消化完全后,加入 2 倍体积完全培养基终止消化,室温 1 000 r/min 离心 5 min。加入适量完全培养基重悬沉淀,分装接种至培养瓶中,37 °C、5%CO₂ 条件下持续培养。每 3~4 d 更换新鲜完全培养基,注意观察细胞形态和生长状态。

1.4 胸腺上皮细胞免疫荧光鉴定 收集传至 3 代的胸腺上皮细胞,以 5×10^4 个/孔密度接种至置有无菌细胞爬片的 24 孔板内。行固定、通透、封闭,孵育混合一抗(p-CK 抗体 1:250、Vimentin 抗体 1:250),孵育混合荧光二抗(1:200),滴加适量含 DAPI 的荧光淬灭封片剂封片,在倒置荧光显微镜下观察、记录并采集图像。

1.5 胸腺上皮细胞外泌体提取及鉴定 使用 QIAGEN 外泌体提取试剂盒提取胸腺上皮细胞培养上清液中的外泌体。TEM 检测:使用超滤管将外泌体悬液中的 XE Buffer 置换为 PBS 缓冲液,取 10 μ L 滴在铜网上,室温静置 1 min。在铜网上滴加 10 μ L 磷钨酸染液,室温负染 30 s,干燥 30 min,置于 TEM 下观察外泌体形态并采集图像。粒径分析(NTA)检测:将外泌体悬液置于 4 °C 备用。清洁样品池并安装至 NTA 激光仪上,使用 DPBS 缓冲液清洗管道。将外泌体悬液稀释 50 倍后加入样品池进行检测。蛋白免疫印迹(western blotting)检测:提取外泌体蛋白质,行 SDS-PAGE 电泳分离蛋白,转膜后快速封闭 15 min。分别加入 CD9 抗体(1:1 000)、CD63 抗体(1:1 000)和 TSG101 抗体(1:5 000)孵育过夜,

TSBT 洗膜后加入酶标二抗(1:10 000)孵育,ECL 法显色,在扫膜仪下观察成像。

1.6 Treg 细胞分离培养 收集正常胸腺组织,反复研磨、300 目网过滤,收集滤液离心获得为胸腺细胞悬液,以分选缓冲液重悬细胞,调整细胞浓度为 5×10^7 个/mL。依次加入 CD25 阳性分选试剂、CD4 阳性 T 细胞富集试剂、CD127 高消耗试剂分离 CD4⁺CD127^{low}CD25⁺T 细胞。加入人 T 细胞扩增培养基,调整细胞浓度为 1×10^6 个/mL,接种于 24 孔板内。按 25 μ L/mL 加入人 CD3/CD28 磁珠 T 细胞激活剂,按 30 ng/mL 添加 rhIL-2,置于培养箱内培养。观察细胞生长状态并测定细胞浓度,加入培养基稀释细胞,调整细胞浓度为 1.5×10^5 个/mL,添加 rhIL-2 继续培养。

1.7 外泌体染色示踪实验 避光条件下,用 Diluent C 试剂将 PKH26 染料储存液稀释 10 倍,配置浓度为 100 μ mol/L 的染料工作液。使用超滤柱将外泌体悬液中的 XE Buffer 置换为 DPBS 缓冲液,加入 50 μ L 染料工作液,涡旋振荡混匀 1 min,室温避光孵育 10 min。加入 10 mL DPBS 混匀,按照外泌体提取方法再次提取外泌体。将 PKH26 标记的外泌体以 80 μ g/mL 浓度与 Treg 细胞避光共培养 24 h。洗涤、收集细胞,薄涂于载玻片上制片,固定、染核、封片,在倒置荧光显微镜下观察并拍照记录。

1.8 共培养后 Treg 细胞 FOXP3 表达及 TGF- β 1、IL-10 水平检测 调整 Treg 细胞浓度为 5×10^5 个/mL,接种于 24 孔板。将 TAMG 组与对照组胸腺上皮细胞外泌体(TAMG-Exo、NC-Exo)以 100 μ g/mL 分别与 Treg 细胞共培养。4 d 后收集细胞及培养上清液。Trizol 法提取 Treg 细胞总 RNA,逆转录为 cDNA,以 GAPDH 为内参,检测 FOXP3 表达水平。提取 Treg 细胞总蛋白,行 western blotting 检测 FOXP3 表达水平。收集细胞培养上清液 1 000 r/min 离心 15 min,收集上清液,采用 ELISA 检测 TGF- β 1 和 IL-10 水平。

1.9 统计学方法 采用 SPSS 23.0 软件进行统计分析,数据以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用独立样本 *t* 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 胸腺上皮细胞原代培养与免疫荧光鉴定

原代培养胸腺上皮细胞呈长梭形,生长状态良好(图 1)。免疫荧光结果显示,p-CK 呈阳性,Vimentin 呈阴性,符合上皮细胞特征(图 2)。

2.2 胸腺上皮细胞外泌体鉴定 TEM结果显示,外泌体为类圆形或茶托状囊泡,具有双层膜结构(图3)。NTA结果显示,提取物粒径分布于30~150 nm范围内(图4)。Western blotting结果显示,外泌体CD9、CD63、TSG101蛋白表达呈阳性,胸腺上皮细胞这些蛋白的表达呈阴性,见图5。以上结果表明提取物为外泌体。

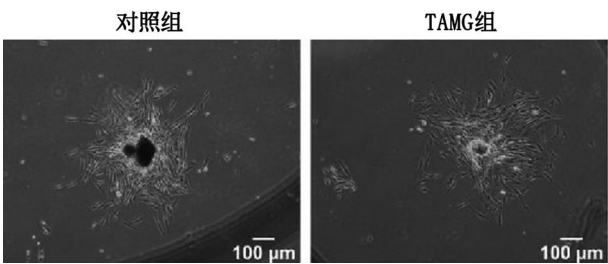
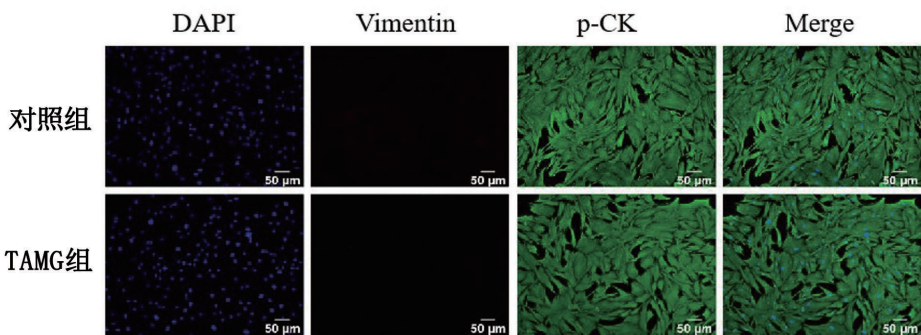


图1 胸腺上皮细胞原代培养



DAPI:细胞核;Merge:合成图。
图2 胸腺上皮细胞免疫荧光

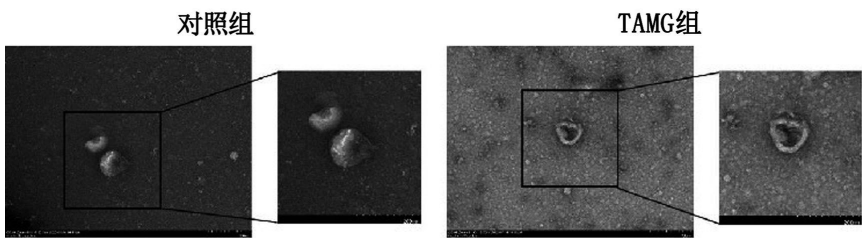


图3 外泌体TEM观察结果

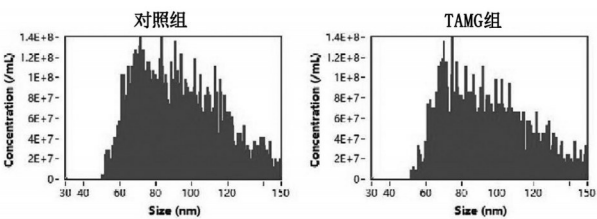


图4 外泌体NTA结果

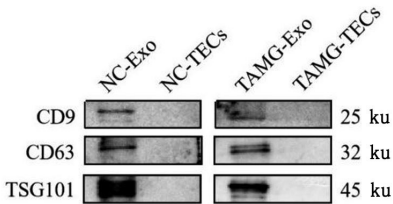
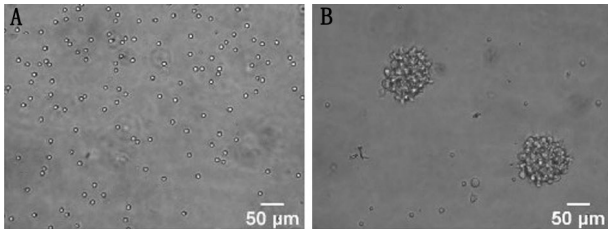


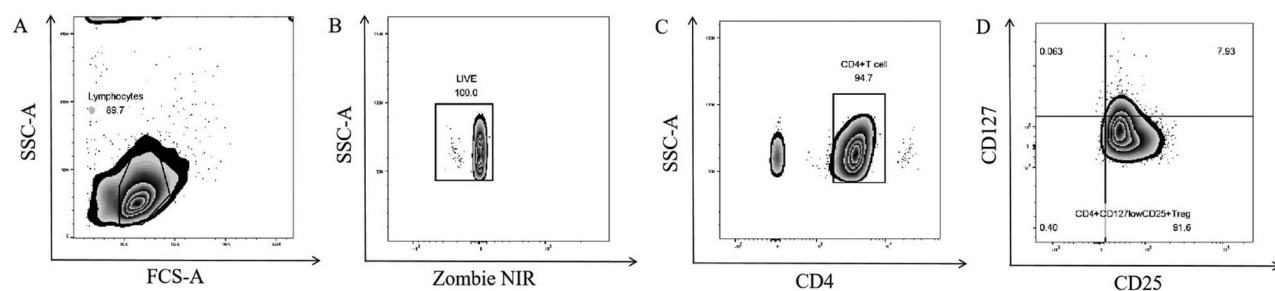
图5 外泌体CD9、CD63、TSG101蛋白western blotting结果

2.3 Treg细胞体外培养与流式细胞术结果 分离的Treg细胞在倒置显微镜下观察,细胞呈圆球形,激活后细胞聚团增殖(图6)。流式细胞术检测到Treg细胞纯度>90%(图7)。



A:Treg原代培养;B:Treg细胞激活后聚团增殖。

图6 Treg细胞原代培养



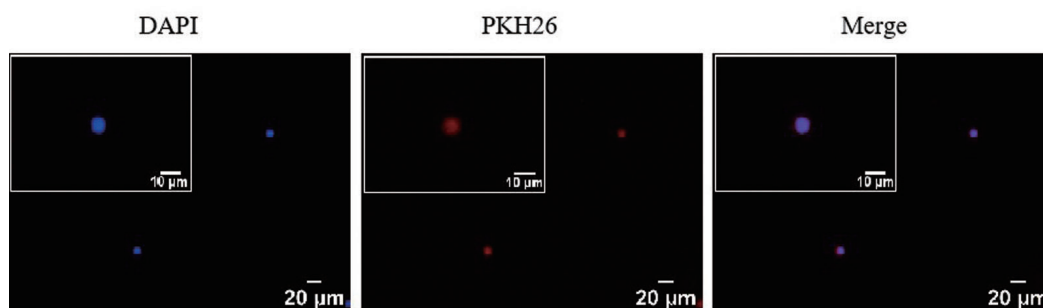
A: 淋巴细胞群; B: 活细胞群; C: CD4⁺T 细胞群; D: CD4⁺T 细胞群中 CD127^{low}CD25⁺T 细胞群, 即 Treg 细胞群。

图7 Treg 细胞流式细胞术检测结果

2.4 外泌体染色示踪实验 PKH26 标记对照组胸腺上皮细胞外泌体与 Treg 细胞共培养 24 h, 经 DAPI 对细胞核染色, 在倒置荧光显微镜下观察, 结果显示: Treg 细胞可摄取胸腺上皮细胞来源外泌体(图8)。

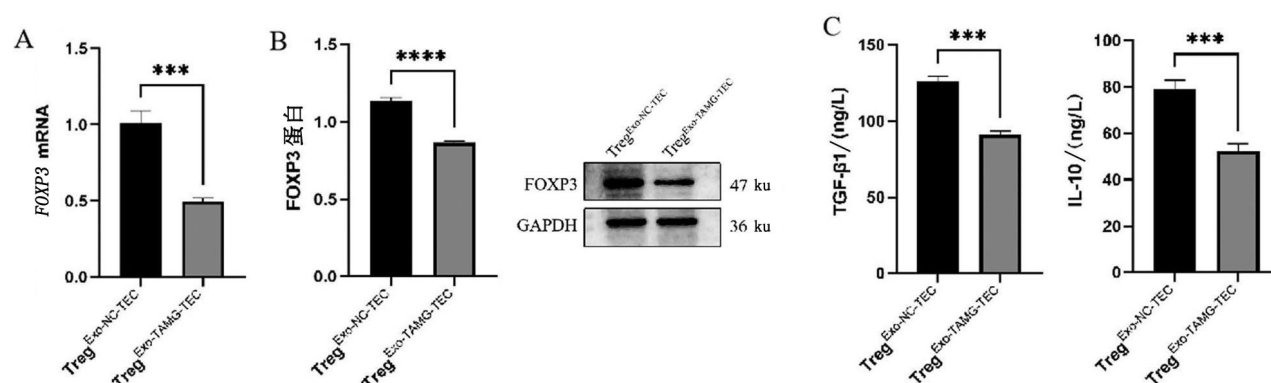
2.5 Treg 细胞与外泌体共培养后 FOXP3 表达与 TGF- β 1、IL-10 水平 qPCR 结果显示, Treg^{Exo-TAMG-TEC} 内 *FOXP3* mRNA 相对表达量较 Treg^{Exo-NC-TEC} 降低

($P < 0.001$)。Western blotting 结果显示, Treg^{Exo-TAMG-TEC} 内 FOXP3 蛋白表达较 Treg^{Exo-NC-TEC} 降低, 趋势与 qPCR 一致, 差异有统计学意义($P < 0.0001$)。ELISA 结果显示, Treg^{Exo-TAMG-TEC} 分泌 TGF- β 1、IL-10 较 Treg^{Exo-NC-TEC} 减少, 趋势同前, 差异有统计学意义($P < 0.001$), 见图9。



DAPI: Treg 细胞核; PKH26: 标记的胸腺上皮细胞来源外泌体; Merge: 合成图。

图8 外泌体染色示踪实验结果



A: 共培养后 Treg 细胞 *FOXP3* mRNA 表达水平; B: 共培养后 Treg 细胞 FOXP3 蛋白表达水平; C: 共培养后 Treg 细胞分泌 TGF- β 1、IL-10 水平; 组间比较, *** $P < 0.001$, **** $P < 0.0001$ 。

图9 共培养后 Treg 细胞 FOXP3 表达和分泌 TGF- β 1、IL-10 水平

3 讨 论

MG是一种具有高度特异性抗体的获得性自身免疫性疾病,由T细胞介导B细胞产生自身抗体引起自身免疫应答,同时自身抗体激活补体系统加重神经肌肉接头损伤,导致信号传递障碍而发病。AChR-Ab是MG是最常见的致病性抗体,约85%的MG患者血清AChR-Ab呈阳性。极少部分MG患者血清抗体检测呈阴性。约80%的MG患者伴有胸腺异常,其中约10%~15%为胸腺瘤。胸腺瘤是一种罕见的起源于胸腺上皮细胞的前纵膈肿瘤,其生物学特征是合并多种自身免疫性疾病,尤其T细胞依赖性T细胞缺乏相关的自身免疫性疾病^[17-19]。

Treg细胞是一种由胸腺产生的免疫抑制性T细胞,通过抑制其它效应T细胞功能防止过度免疫应答和维持自身免疫耐受。大量研究表明,Treg细胞数量减少和功能缺陷参与包括MG在内的多种自身免疫性疾病的发生^[20-22],提示Treg功能障碍引起的自身免疫耐受受损、自身反应性T细胞功能活跃是自身免疫性疾病发生的重要原因。Truffault等^[7]发现,与MG患者胸腺上皮细胞共培养后Treg细胞免疫抑制功能下降,这与胸腺上皮细胞分泌的胸腺基质淋巴细胞生成素(thymic stromal lymphopoietin, TSLP)有关,他们提出胸腺上皮细胞病理生理状态可以影响Treg细胞免疫抑制功能,表明胸腺上皮细胞可以通过某些途径调控Treg细胞功能在MG胸腺致病中起作用。本研究使用TAMG-外泌体与Treg细胞共培养后发现,Treg细胞FOXP3表达减少、分泌TGF- β 1、IL-10功能下降。TGF- β 1、IL-10是Treg细胞分泌的免疫抑制性细胞因子,该结果提示TAMG-外泌体可能导致Treg细胞免疫抑制功能下降,在TAMG免疫失调机制中发挥作用。此外,TAMG患者接受胸腺瘤切除术后肌无力症状缓解效果不佳、MG易复发可能与残留的胸腺组织有关。因此,胸腺瘤瘤旁的胸腺组织也可能参与TAMG胸腺致病机制。尽管瘤旁胸腺上皮细胞没有直接获得肿瘤细胞的生物学特性,但可能受胸腺瘤微环境影响导致其功能改变,进而影响Treg细胞功能。本研究证实了TAMG瘤旁胸腺上皮细胞外泌体可导致Treg细胞功能下降,提示TAMG患者即

使切除胸腺瘤后Treg细胞功能仍受损可能与残留的胸腺上皮细胞功能异常有关。

本研究结果提示TAMG患者胸腺上皮细胞外泌体参与Treg细胞功能失衡可能在TAMG发病机制中起重要作用。

参考文献:

- [1] DOMEIER P P, SCHELL S L, RAHMAN Z S M. Spontaneous germinal centers and autoimmunity[J]. *Autoimmunity*,2017,50(1):4-18.
- [2] ÁLVAREZVELASCO R, GUTIÉRREZGUTIÉRREZ G, TRUJILLO J C, et al. Clinical characteristics and outcomes of thymoma associated myasthenia gravis[J]. *European journal of neurology*,2021,28(6):2083-2091.
- [3] KIM H, LIM Y, LEE E, et al. Factors predicting remission in thymectomized patients with acetylcholine receptor antibody-positive myasthenia gravis[J]. *Muscle nerve*,2018, 58(6):796-800.
- [4] MARX A, YOSUKE Y, KATJA S, et al. Thymus and autoimmunity[J]. *Seminars in Immunopathology*,2021,43(1):1-20.
- [5] STEVEN Z J, Lu L, ALEXANDER Y R. Regulatory T cells: Mechanisms of differentiation and function[j]. *annual review of immunology*, 2012, 30: 531-564.
- [6] SHOHEI H, TAKASHI N, SHIMON S. Control of regulatory T cell development by the transcription factor Foxp3 [J]. *Science*,2003,299(5609):1057-1061.
- [7] TRUFFAULT F, NAZZAL D, VERDIER J, et al. Comparative analysis of thymic and blood Treg in myasthenia gravis: Thymic epithelial cells contribute to thymic immunoregulatory defects[J]. *Frontiers in immunology*, 2020, 11782.
- [8] YUE B, YANG H, WANG J, et al. Exosome biogenesis, secretion and function of exosomal miRNAs in skeletal muscle myogenesis[J]. *Cell proliferation*,2020,53(7): e12857.
- [9] COLOBARA M, ANTONINI V, RIVIERA A P, et al. Constitutive activation of p38 and ERK1/2 MAPKs in epithelial cells of myasthenic thymus leads to IL-6 and RANTES overexpression: effects on survival and migration of peripheral T and B cells[J]. *Journal of immunology*, 2005, 175(10):7021-7028.
- [10] MERAOUNA A, CIZERON-CLAIRAC G, PANSE R L,

- et al. The chemokine CXCL13 is a key molecule in autoimmune myasthenia gravis[J]. *Blood*, 2006, 108(2): 432-440.
- [11] COHEN-AMINSKY S, DELATTRE R, DEVERGEN O, et al. High IL-6 gene expression and production by cultured human thymic epithelial cells from patients with myasthenia gravis[J]. *Annals of the New York academy of sciences*, 1993, 681: 97-99.
- [12] AIME C, COHEN-AMINSKY S, BERRIH-AKNIN S. In vitro interleukin-1 (IL-1) production in thymic hyperplasia and thymoma from patients with myasthenia gravis [J]. *Journal of clinical immunology*, 1991, 11(5): 268-278.
- [13] ZHANG M, JOHNSON S T K, WANG W, et al. Mesenchymal stem cell-derived exosome-educated macrophages alleviate systemic lupus erythematosus by promoting efferoctocytosis and recruitment of IL-17⁺ regulatory T cell[J]. *stem cell research therapy*, 2022, 13(1): 484.
- [14] SUN W, YANG S, YANG C, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes ameliorate lupus by inducing M2 macrophage polarization and regulatory T cell expansion in MRL/lpr mice[J]. *Immunological investigations*, 2022, 51(6): 11-19.
- [15] ASEMANI Y, NAJAFI S, EZZATIFAR F, et al. Recent highlights in the immunomodulatory aspects of Treg cell-derived extracellular vesicles: special emphasis on autoimmune diseases and transplantation[J]. *Cell Bioscience*, 2022, 12(1): 67.
- [16] LI B, XING Y, GAN Y, et al. Labial gland-derived mesenchymal stem cells and their exosomes ameliorate murine Sjögren's syndrome by modulating the balance of Treg and Th17 cells[J]. *Stem cell research therapy*, 2021, 12(1): 478-478.
- [17] GUASP M, LANDA J, MARTINEZHERNANDEZ E, et al. Thymoma and autoimmune encephalitis: Clinical manifestations and antibodies [J]. *Neurology- neuroimmunology & neuroinflammation*, 2021, 8(5): e1053.
- [18] GU B, LIU K, MCKENZIE C, et al. Gastrointestinal: Autoimmune enteropathy associated with thymoma[J]. *Journal of gastroenterology and hepatology*, 2021, 37(4): 606-606.
- [19] KOO C W, LO Y. Good's Syndrome: Thymoma with acquired immunodeficiency[J]. *American journal of respiratory and critical care medicine*, 2023, 208(3): 322-324.
- [20] CHEN Y, ZHANG X, WANG Y, et al. Imbalance of Th17 and Tregs in thymoma may be a pathological mechanism of myasthenia gravis[J]. *Molecular immunology*, 2021: 13367-13376.
- [21] GUO C, LIU Q, ZONG D, et al. Single-cell transcriptome profiling and chromatin accessibility reveal an exhausted regulatory CD4⁺ T cell subset in systemic lupus erythematosus[J]. *Cell reports*, 2022, 41(6): 111606-111606.
- [22] SU R, LI B, WU R, et al. Stratified distribution of Th17 and Treg cells in patients with multi-stage rheumatoid arthritis[J]. *Arthritis research therapy*, 2023, 25(1): 55-55.
- 本文引用格式:
陈柳伶, 谭舒婷, 包效燃, 等. 胸腺瘤相关重症肌无力患者瘤旁胸腺上皮细胞外泌体对Treg细胞功能的影响[J]. 广西医科大学学报, 2024, 41(7): 1056-1062. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.07.015
CHEN L L, TAN S T, BAO X R, et al. Effects of exosomes of paratumoral thymus epithelial cells on Treg cell function in patients with thymoma-associated myasthenia gravis[J]. *Journal of Guangxi medical university*, 2024, 41(7): 1056-1062. DOI: 10.16190/j.cnki.45-1211/r.2024.07.015