

## 磷脂酶 C $\gamma$ 2 对自身反应性 B 细胞的调控作用

何颖红, 赵文珍, 杨勇琴, 王一心

(大理学院基础医学院, 云南 大理 671000)

**[摘要]** **目的** 应用基因敲除小鼠模型研究磷脂酶 C $\gamma$ 2 对无能 B 细胞产生的调节机制. **方法** 采用流式细胞术分析野生型和 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠无能 B 细胞的表型; 同时用末端转移酶标记技术检测无能 B 细胞凋亡; 溴脱氧尿嘧啶核苷掺入标记技术研究无能 B 细胞增殖情况. **结果** PLC $\gamma$ 2 缺失小鼠与 PLC $\gamma$ 2 野生小鼠相比, 无能 B 细胞数量显著减少 ( $P < 0.01$ ), 无能 B 细胞凋亡率显著增加 ( $P < 0.01$ ), 而无能 B 细胞增殖率无明显差异 ( $P > 0.05$ ). **结论** PLC $\gamma$ 2 信号提供了存活信号, PLC $\gamma$ 2 参与了无能 B 细胞的调控过程.

**[关键词]** 磷脂酶 C $\gamma$ 2; 无能 B 细胞; 自身反应性 B 细胞; 小鼠

**[中图分类号]** R253 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003 - 4706 (2012) 06 - 0008 - 05

## Regulation of Self-reactive B Cells by Phospholipase C $\gamma$ 2

HE Ying-hong, ZHAO Wen-zhen, YANG Yong-qin, WANG Yi-xin

(School of Basic Medicine, Dali University, Dali Yunnan 671000, China)

**[Abstract]** **Objective** To study the regulatory effect of phospholipase C $\gamma$ 2 (PLC $\gamma$ 2) on anergic B cells in knockout mouse model. **Methods** Flow cytometry analysis was performed on anergic B cells in both wild-type and PLC $\gamma$ 2-deficient mice. The apoptosis rate of anergic B cells in wild-type and PLC $\gamma$ 2-deficient mice was determined by terminal deoxynucleotidyl transferase-mediated dUTP nick end-labeling (TUNEL) assay. Bromodeoxyuridine (BrdU) labeling assay was used to directly assess the proliferation of PLC $\gamma$ 2-deficient anergic B cells. **Results** Anergic B cells were found in spleen, lymph nodes and peripheral blood. The number of anergic B cells was markedly decreased in the spleens of PLC $\gamma$ 2-deficient mice compared to that of wild-type mice ( $P < 0.01$ ). TUNEL positive cells were found significantly more in PLC $\gamma$ 2-deficient anergic B cells than those in the wild-type anergic B cells ( $P < 0.01$ ). However, the proliferation rates were similar between PLC $\gamma$ 2-deficient anergic B cells and the wild-type B cells ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** These data demonstrate that PLC $\gamma$ 2 signaling pathway may play an essential role in regulation of B cell anergy by controlling the survival of anergic B cells.

**[Key words]** Phospholipase C $\gamma$ 2; Anergic B cells; Self-reactive B cell; Mice

免疫系统的一个最基本和重要的特征是识别外来抗原, 并保持对自身组织的无反应性, 对自身细胞产生耐受, 而对病原菌和恶性细胞产生免疫应答. 在 B 细胞前体的生长发育过程中, 众多的 V、D 和 J 基因片段随机连接, 经过体细胞高频突变产生针对各种抗原的受体即 B 细胞抗原受体 (B cell antigen receptor, BCR). BCR 基因的随机重排可以使 BCR 拥有极为丰富的多样性, 能够识别众多微生物等非己抗原. 但是在这一过程中不可避免会产生一些针对自身抗原的受体. 通过 V (D) J

基因重排产生的 BCR 有 55% ~ 75% 能和自身抗原结合, 而人群中仅有 1% ~ 3% 患自身免疫性疾病, 表明正常机体免疫系统能通过各种有效调节机制抑制这些自身反应性 B 细胞的扩增和促进 B 细胞免疫耐受的形成<sup>[1,2]</sup>. 在对转基因鼠的研究中发现, 早期 B 细胞发育过程产生的自身反应性抗体清除途径在中枢是通过受体编辑 (Receptor editing) 和克隆清除 (Clonal deletion) 来实现的, 而逃逸中枢阴性选择到外周的自身反应性 B 细胞则经历克隆无能 (Clonal anergy) 以达到免疫耐受<sup>[3-6]</sup>. 研究表明

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目 (81060248); 云南省自然科学基金资助项目 (2010CD084)

**[作者简介]** 何颖红 (1962~), 女, 云南大理市人, 医学博士, 副教授, 主要从事细胞信号传导研究工作.

约 50% 新近产生自身反应性 B 细胞是通过克隆无能这一途径来实现免疫耐受<sup>[2]</sup>. 最近一项研究结果显示从野生型小鼠体内检测出了 BCR 刺激下无应答的 B 细胞, 被称为无能 B 细胞 (anergic B cells, 被命名为 An1 B 细胞), 就是曾被称为过渡 3 型 (transitional type 3, T3) 的 B 细胞<sup>[2]</sup>. 维持 B 细胞的无应答状态需要自身抗原的持续刺激<sup>[7]</sup>, 也就是需要来自 BCR 发出信号不断刺激, 然而, 目前这些信号分子的本质仍然不十分清楚.

BCR 信号转导是 B 细胞发育和生存的关键, 它不仅指导 B 细胞的成熟和活化, 而且影响着对潜在自身反应性 B 淋巴细胞的清除. 磷脂酶 C $\gamma$ 2 (PLC $\gamma$ 2) 是 B 细胞发育过程中前 B 细胞抗原受体 (pre-BCR) 和 BCR 信号途径中的一个重要分子. 当 BCR 被刺激时, PLC $\gamma$ 2 与信号途径的上游分子如 Syk、Btk、Scr 和 BLNK 相互作用而被激活, 激活的 PLC $\gamma$ 2 水解磷脂酰肌醇 4, 5 二磷酸 (PIP2) 产生第二信使分子三磷酸肌醇 (IP3) 和二酰基甘油 (DAG), 它们分别介导钙离子的释放和激活蛋白激酶 C (PKC)<sup>[8]</sup>. PLC $\gamma$ 2 缺失的小鼠表现为早期和晚期 B 细胞发育受损, 不能对抗原发生应答, 表明 PLC $\gamma$ 2 在 B 细胞发育和功能发挥中起着关键的作用<sup>[9,10]</sup>. 为了探讨 PLC $\gamma$ 2 对无能 B 细胞的影响, 笔者通过比较野生型和 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠的无能 B 细胞差异, 研究 PLC $\gamma$ 2 对自身反应性 B 细胞的可能调控作用.

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 实验小鼠** 正常及 PLC $\gamma$ 2 缺失小鼠的操作按文献<sup>[9]</sup>所述. 所有小鼠由威斯康辛医学院 (Medical College of Wisconsin) 生物资源中心 (Biological Resource Center) 饲养与繁殖. 动物实验规程均由 Medical College of Wisconsin Animal Care Use 委员会批准执行.

**1.1.2 试剂** 荧光抗体 CyChome-anti-B220 (15-0452), PE-Cy7-anti-B220 (25-0452), APC-anti-IgM(17-5790), Streptavidin-PE-Cy7 (25-4317) 购自 eBioscienc; PE-anti-CD23 (553139), biotin-anti-CD93 (550434), anti-CD16/32 (14-0161), Streptavidin-APC (554067) 和 FITC BrdU Flow Kit (55916) 购自 BD Bioscience; FITC-anti-IgM (1140-02) 购自 Southern Biotech; In Situ Cell Death Detection Kit 购自 Roche; BrdU 购自 Sigma.

**1.1.3 仪器** 流式细胞仪 (LSRII, Becton Dickin-

son).

### 1.2 方法

**1.2.1 流式细胞术** 8~12 周龄的野生型和 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠各 6 只, 分别取小鼠的外周血 (肝素抗凝)、脾脏和淋巴结, 将它们在含 2% 胎牛血清的 PBS 溶液中制成单细胞悬液, 离心后加入红细胞裂解液充分混匀, 室温放置 2~5 min, 离心弃上清, 以 PBS 洗涤 1 次, 调整细胞浓度为  $1 \times 10^6/\mu\text{L}$  单细胞悬液备用. 然后取  $1 \times 10^6$  细胞加入 anti-CD16/32 和 Biotin-anti-CD93 抗体, 4 $^{\circ}\text{C}$  下孵育 30 min 后以 PBS 洗涤, 离心去上清加入 Cychrome-anti-B220, PE-anti-CD23, APC-anti-IgM 和 Streptavidin-APC, 于 4 $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 30 min 后 PBS 重复洗涤 2 次; PBS 重悬已染色的细胞, 细胞样品用流式细胞仪 (LSRII, Becton Dickinson) 进行荧光检测数据收集, 分析使用 FACS DIVA 软件 (Becton Dickinson).

**1.2.2 脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记 (terminal-deoxynucleotidyl transferase mediated nick end labeling, TUNEL)** 8~12 周龄的野生型和 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠的脾脏从体内分离并在含 2% 胎牛血清的 PBS 溶液中制成单细胞悬液. 由 Cychrome-anti-B220, Bio-anti-CD93, PE-anti-CD23, APC-anti-IgM 进行常规细胞表面染色后, 再用 Streptavidin-PE-Cy7 进行第二步染色. 之后用 4% 多聚甲醛常温下孵育 2 h 固定细胞, PBS 清洗细胞 1 次后, 用 0.1% Triton-X100 和 0.1% 柠檬酸钠冰上孵育 2 h 以改变细胞通透性, PBS 清洗细胞. 按照 In situ cell death detection kit 说明书中步骤加入 fluorescein-conjugated-dUTP 进行细胞标记, 在 37 $^{\circ}\text{C}$  避光孵育 1 h 之后 PBS 清洗, 细胞样品用流式细胞仪 (LSRII, Becton Dickinson) 进行荧光检测. FACS DIVA 软件分析 B220 $^+$ CD93 $^+$ IgM $^{\text{low}}$ CD23 $^+$  无能 B 细胞在 B220 $^+$ B 细胞中 TUNEL 的阳性百分比.

**1.2.3 溴脱氧尿嘧啶核苷 (Bromodeoxyuridin, BrdU) 掺入技术** 8~12 周龄的野生型和 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠通过腹腔连续 4 d 注射 5 mg/mL BrdU 的 PBS 溶液 (0.2 mL/只), 2 次/d. BrdU 处理过的小鼠脾脏细胞用荧光偶联的 B220、CD23、IgM、CD93 进行细胞表面染色. 然后用 BrdU Flow Kits 按照试剂盒的说明书操作进行染色. FACS DIVA 软件分析 B220 $^+$ CD93 $^+$ IgM $^{\text{low}}$ CD23 $^+$  无能 B 细胞在 B220 $^+$ B 细胞中 BrdU 阳性百分比.

### 1.3 统计学处理

所有数据使用 Student's T-test 进行统计学分

析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 在脾、淋巴结和外周血均分布有无能 B 细胞

笔者用流式细胞术分析了 8~12 周龄野生型小鼠的脾脏、淋巴结和外周血单个核细胞无能 B 细胞的表型。以 B220、CD93、IgM 和 CD23 作为细胞发育表面标记分子对处在不同发育阶段的 B 细胞, 即过渡 B 细胞 1 (transitional B cells 1, T1=B220<sup>+</sup>CD93<sup>+</sup>, CD23<sup>-</sup>, IgM<sup>+</sup>); 过渡 B 细胞 2 (transitional B cells 2, T2 = B220<sup>+</sup>CD93<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, IgM<sup>+</sup>); 无能 B 细胞 (Anergic B cells = B220<sup>+</sup>, CD93<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, IgM<sup>-</sup>) 和滤泡 B 细胞 (follicular B cell, FO=B220<sup>+</sup>CD93<sup>-</sup>, CD23<sup>+</sup>, IgM<sup>+</sup>/IgM<sup>+</sup>) 进行区分, 结果显示无能 B 细胞不仅仅存在于脾脏, 在淋巴结和外周血也分布有无能 B 细胞 (见图 1)。

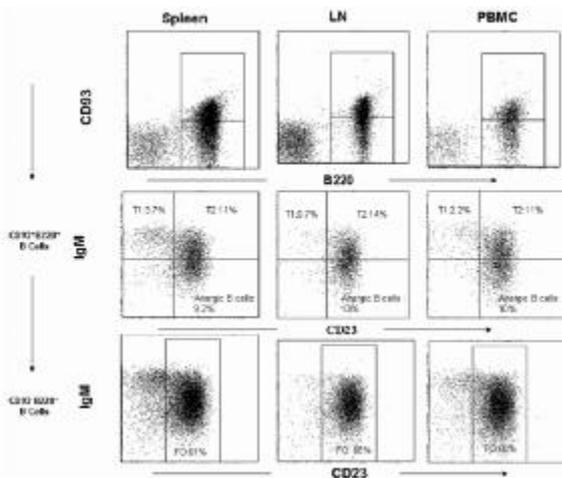


图 1 流式细胞术分析野生型小鼠脾细胞、淋巴结细胞和外周血单个核细胞中无能 B 细胞

Fig. 1 Flow cytometric analysis of anergic B cells from spleen, lymph-node (LN) and peripheral-bheral-blood mononuclear cells(PBMC) in wild-type mice

### 2.2 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠无能 B 细胞数量显著下降

既往的研究已证明 PLC $\gamma$ 2 缺失可导致 BCR 的信号传导障碍, 造成 B 细胞发育和功能的缺陷, 引起血清免疫球蛋白水平降低, 以及对胸腺非依赖性抗原的反应能力丧失, 最终导致免疫缺陷疾病。那么, PLC $\gamma$ 2 缺陷是否会影响无能 B 细胞, 笔者

用流式细胞术分析了 8~12 周龄 PLC $\gamma$ 2 野生型和缺失型小鼠的脾脏 B 细胞。以 B220、CD93、IgM 和 CD23 作为细胞发育表面标记分子, 对处在不同发育阶段的 B 细胞进行区分, 笔者发现 PLC $\gamma$ 2 缺失小鼠与 PLC $\gamma$ 2 野生小鼠相比无能 B 细胞 (Anergic B cells = B220<sup>+</sup>, CD93<sup>+</sup>, CD23<sup>+</sup>, IgM<sup>-</sup>) 的数量显著下降 ( $n = 6$ ,  $P < 0.01$ , 见图 2)。这表明缺失 PLC $\gamma$ 2 在 B 细胞发育和分化过程中特异性的影响了自身反应性 B 细胞被阴性选择进入无能 B 细胞的过程。这样一种无能 B 细胞的特异性缺失, 其产生原因可能是由于在缺乏 PLC $\gamma$ 2 的条件下, 自身反应性 B 细胞不能正常产生; 或者由于自身反应性 B 细胞产生后立即引发细胞凋亡, 因此很快被清除体外不能被检测到。

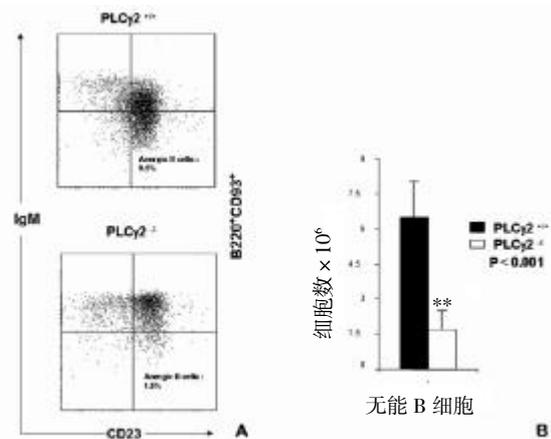


图 2 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠无能 B 细胞的数量显著下降

Fig. 2 Marked reduction of anergic B cells in PLC $\gamma$ 2-deficient mice (PLC $\gamma$ 2<sup>-/-</sup>)

A:流式细胞术分析野生型和 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠脾细胞中的无能 B 细胞群; B:统计分析野生型和 PLC $\gamma$ 2 缺失型小鼠脾细胞中无能 B 细胞数。

### 2.3 PLC $\gamma$ 2 缺失小鼠无能 B 细胞凋亡水平增加

笔者用脱氧核糖核苷酸末端转移酶介导的缺口末端标记法测定了 PLC $\gamma$ 2 正常小鼠和缺失型小鼠体内无能 B 细胞凋亡率, 从而检验 PLC $\gamma$ 2 缺失导致无能 B 细胞消失的第 2 种可能性。细胞凋亡过程中会伴随产生染色体 DNA 的断裂。在内源性 DNA 水解酶的作用下, 染色体 DNA 首先降解为 50~300 kb 的大片段, 随后在依赖 Ca<sup>2+</sup> 和 Mg<sup>2+</sup> 的核酸内切酶作用下降解为 180~200 bp 的核小体 DNA 多聚体。染色体 DNA 断裂后暴露的 3' -OH 可以在末端脱氧核糖核苷酸转移酶的催化下加上荧光素标记的 dUTP (fluorescein-dUTP), 因此, 利用流式细胞仪检测细胞内荧光强弱则能量化因细胞

凋亡产生的染色体 DNA 的断裂程度, 同时与细胞表面标记分子染色联合使用, 则可以用于分析某一特殊类群细胞的细胞凋亡情况。

笔者从 8~12 周龄的野生型和 PLC  $\gamma$  2 缺失型小鼠分离脾细胞, 用荧光偶联的 B220、CD23、IgM、CD93 抗体染色标记; 之后加入末端脱氧核糖核苷酸转移酶 (TdT) 孵育, 最后流式细胞仪分析无能 B 细胞 (B220<sup>+</sup>CD93<sup>+</sup>CD23<sup>+</sup>IgM<sup>low</sup>) 中凋亡细胞阳性表达率。结果显示在无能 B 细胞中, PLC  $\gamma$  2 缺失小鼠的无能 B 细胞的细胞凋亡率与野生型小鼠无能 B 细胞相比则有显著的增加 ( $n=6$ ,  $P<0.01$ , 见图 3)。实验结果表明, 与 PLC  $\gamma$  2 缺失的小鼠 B 细胞中的无能 B 细胞占有所有 B 细胞数量显著减少相一致, PLC  $\gamma$  2 的缺失导致了无能 B 细胞的细胞凋亡率显著增加。

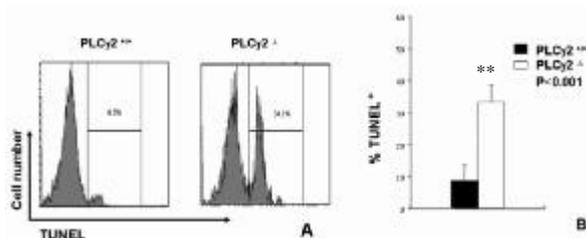


图 3 PLC  $\gamma$  2 型缺失小鼠无能 B 细胞的凋亡显著增加

Fig. 3 Increase of the apoptosis of anergic B cells in PLC  $\gamma$  2-deficient mice (PLC  $\gamma$  2<sup>-/-</sup>)

A: TUNEL 检测野生型和 PLC  $\gamma$  2 缺失型小鼠脾细胞中无能 B 细胞的凋亡; B: 统计分析野生型和 PLC  $\gamma$  2 缺失型小鼠脾细胞中无能 B 细胞凋亡阳性表达率。

#### 2.4 PLC $\gamma$ 2 缺失小鼠无能 B 细胞增殖未受影响

为进一步探明 PLC  $\gamma$  2 缺失型小鼠中无能 B 细胞数量显著下降的原因, 笔者还进行了体内 BrdU 掺入实验以检测无能 B 细胞在小鼠体内的增殖水平。经 BrdU 处理过的小鼠脾脏细胞用荧光偶联的 B220、CD23、IgM、CD93 进行细胞表面染色。然后, 利用 BrdU Flow Kits 进行染色, FACS 分析野生型和 PLC  $\gamma$  2 缺失小鼠的 BrdU 阳性百分比。实验结果显示 PLC  $\gamma$  2 缺失小鼠无能 B 细胞与野生型小鼠无能 B 细胞的 BrdU 阳性百分比没有显著性差异 ( $n=6$ ,  $P>0.05$ , 见图 4)。即在体内的 BrdU 掺入实验中, 并没有检测到 PLC  $\gamma$  2 缺失带来的无能 B 细胞 BrdU 掺入水平下降。

### 3 讨论

2006 年, Merrell 等人采用识别 B220、CD93、

IgM 和 CD23 的荧光抗体对小鼠脾脏细胞进行细胞表面染色, 确定一类表达 B220<sup>+</sup>CD93<sup>+</sup>CD23<sup>+</sup>IgM<sup>low</sup>

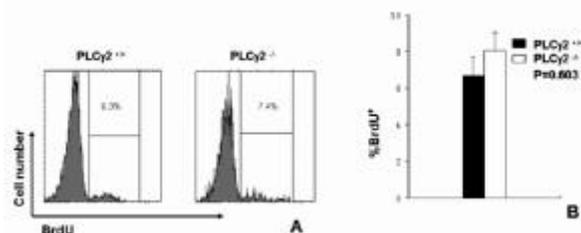


图 4 PLC  $\gamma$  2 缺失小鼠的无能 B 细胞的细胞增殖率未受影响

Fig. 4 Normal proliferation of anergic B cell in PLC  $\gamma$  2-deficient mice (PLC  $\gamma$  2<sup>-/-</sup>)

A: BrdU 检测野生型和 PLC  $\gamma$  2 缺失型小鼠脾细胞中无能 B 细胞的增殖; B: 统计分析野生型和 PLC  $\gamma$  2 缺失小鼠脾细胞中无能 B 细胞 BrdU 阳性百分率。

的 B 细胞, 现已证实是正常小鼠体内的无能 B 细胞, 实际上它们是 B 细胞发育过程中由于自身反应性而进入无应答状态的细胞。笔者结果显示小鼠的脾脏、淋巴结和外周血有无能 B 细胞的存在 (见图 1), 其结果与以往的文献报道一致<sup>[2]</sup>。

自身反应性 B 细胞阴性选择的机制主要有: 克隆删除 (Clonal deletion)、受体编辑 (Receptor editing) 和克隆无能 (Clonal anergy)<sup>[3,4]</sup>, 从而达到自身免疫耐受。尽管由自身抗体和自身反应性 BCR 结合产生的信号强度被认为参与了自身反应性 B 细胞进入阴性选择的调控, 但其具体的分子机制并未被完全探明。本文中, 野生型和 PLC  $\gamma$  2 缺失型小鼠应用 anti-B220、CD93、CD23 和 IgM 的荧光抗体染色的结果显示, PLC  $\gamma$  2 缺失型小鼠处于无应答阶段的 B 细胞数量显著减少 (见图 2), 而在剩余可检测到的无能 B 细胞其细胞凋亡水平则显著增加 (见图 3), 显示了缺失 PLC  $\gamma$  2 导致自身反应性 B 细胞更多由于细胞凋亡而被克隆删除, 而不是像正常小鼠中进入无应答状态而形成无能 B 细胞。因此, 笔者提出假设: 在诱导 B 细胞进入无应答状态的过程中, PLC  $\gamma$  2 所在的信号通路提供了尤为关键的存活信号, 帮助无能 B 细胞维持在无应答状态; 而缺失 PLC  $\gamma$  2 使得维持无能 B 细胞存活信号的通路受到显著影响, 无能 B 细胞进入细胞凋亡而被清除, 因此大部分 B 细胞被克隆删除。所以, 从某种程度上说, PLC  $\gamma$  2 蛋白的存在与否决定了自身反应的 B 细胞是进入无应答状态还是被克隆删除。

除了自身反应性 BCR 与自身抗原提供的内源

信号在 B 细胞的阴性选择中起到了重要的调节作用, 细胞因子提供的细胞外源生存信号也起到了非常重要的辅助调控作用. 其中 B 细胞活化因子 (B cell-activating factor of TNF family, BAFF) 是非常重要的细胞因子之一. 尽管 BAFF 缺失小鼠严重影响除 B1-B 细胞以外的其他 B 细胞的发育和成熟<sup>[11]</sup>, BAFF 转基因小鼠中 BAFF 过量表达, 会导致 B 细胞获得过量的存活信号, 因此 B 细胞总数显著扩增, 最终产生严重的自身免疫性疾病. 这些小鼠体内产生不依赖 T 细胞的自身免疫反应, 最终表现类似系统红斑狼疮 (SLE) 和 Sjogren 综合症 (SS) 的症状<sup>[12]</sup>. 然而对于 PLC  $\gamma$  2 是否同样参与 BAFF 的信号传导途径从而在 BAFF 调控自身反应 B 细胞的阴性选择中起作用, 至今仍没有相关研究给予明确的答案. 因此, 了解 PLC  $\gamma$  2 的缺失对于 BAFF 通路的可能影响以及由此产生的对自身反应性 B 细胞阴性选择机制决定的影响也是非常有意义的, 这将成为今后研究的方向.

#### [参考文献]

- [1] GOODNOW C C, SPRENT J, FAZEKAS DE ST GROTH, et al. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity[J]. *Nature*, 2005, 435(7 043):590 - 597.
- [2] MERREL K T, BENSCHOP R J, GAULD S B, et al. Identification of anergic B cells within a wild-type repertoire [J]. *Immunity*, 2006, 25(6):953 - 962.
- [3] HARDY R R, HAYAKAWA K. B cell development pathways[J]. *Annual Review of Immunology*, 2001, 19:595 - 621.
- [4] SHLOMCHIK M J. Sites and Stages of Autoreactive B Cell Activation and Regulation[J]. *Immunity*, 2008, 28(1):18 - 28.
- [5] CASELLAS R, SHIH T A, KLEINWIETFIELD M, et al. Contribution of receptor editing to the antibody repertoire [J]. *Science*, 2001, 291(5 508):1 541 - 1 544.
- [6] NIRO H, EDWARD A C. Regulation of B-cell fate by antigen-receptor signals[J]. *Nature Reviews Immunology*, 2002, 2(11):945-956.
- [7] GAULD S B, BENSCHOP R J, MERRELL K T, et al. Maintenance of B cell anergy requires constant antigen receptor occupancy and signaling[J]. *Nature Immunology*, 2005, 6(11):1 160 - 1 167.
- [8] RETH M, WIENANDS J, SCHAMEL W W, et al. An unsolved problem of the clonal selection theory and the model of an oligomeric B-cell antigen receptor[J]. *Immunological Reviews*, 2000, 176(1):10 - 18.
- [9] WANG D, FENG J, WEN R, et al. Phospholipase Cr2 is essential in the functions of B cell and several Fc receptors [J]. *Immunity*, 2000, 13(1):25 - 35.
- [10] WEN R, CHEN Y, SCHUMAN J, et al. An important role of phospholipase Cr1 in pre-B-cell development and allelic exclusion[J]. *EMBO J*, 2004, 23(23):4 007 - 4 017.
- [11] SCHIEMANN B, GOMMERMAN J L, VORA K, et al. An essential role for BAFF in the normal development of B cells through a BCMA-independent pathway [J]. *Science* 2001, 293(5 537):2 111 - 2 114.
- [12] GROOM J, SUSAN L K, ANNE H C, et al. Association of BAFF/BlyS overexpression and altered B cell differentiation with Sjogren's syndrome [J]. *J Clin Invest*, 2002, 109(1):59 - 68.

(2012 - 03 - 10 收稿)