

CD83⁺ B 细胞在动脉粥样硬化斑块中富集并具有衰老表型

刘凯^{1*}, 潘子翯^{2*}, 赵鹏媛², 薛瑞璐¹, 王志强^{2,3}, 刘荣花²

(1. 济源市第二人民医院 心内科, 济源 459000; 2. 复旦大学 生物医学研究院, 上海 200032; 3. 复旦大学附属儿科医院, 上海 201102)

摘要: 本研究旨在探讨动脉粥样硬化斑块中 B 细胞表型特征及其与斑块炎症的潜在关系。通过单细胞测序数据分析动脉粥样硬化患者斑块与外周血中的免疫细胞谱, 发现两群 CD83⁺ B 细胞在患者斑块中富集, 其在白细胞中的占比相较外周血分别上调 46.74% 和 19.18%。与其他 B 细胞亚群相比, CD83⁺ B 细胞高表达衰老相关基因 (CDKN1A、IL-6、TNF- α 和 GADD45B), 具有衰老样表型。为验证这一发现, 该研究采用西方饮食 (Western diet-fed, WD) 喂养 *ApoE*^{-/-} 小鼠诱导动脉粥样硬化模型, 相较对照小鼠, WD 喂养的模型小鼠动脉组织中 CD83⁺ B 细胞的占比显著升高 (差异倍数 5.36, $P=0.0108$)。与单细胞测序结果相一致, 流式细胞术检测结果显示, 模型小鼠组织中的 CD83⁺ B 细胞相较于 CD83⁻ B 细胞高表达衰老相关炎性因子 IL-6、IFN- γ 、TNF- α , 差异倍数分别为 1.95 ($P=0.0202$)、4.25 ($P=0.0030$)、4.20 ($P=0.0169$)。该研究揭示了 CD83⁺ B 细胞在动脉粥样硬化斑块中的富集并具有衰老样表型, 产生较高水平的衰老相关炎性因子参与动脉炎症。

关键词: 动脉粥样硬化; 斑块; B 细胞; CD83; 炎性因子

中图分类号: R392.1

文献标志码: A

文章编号: 1001-2478(2025)06-0656-08

动脉粥样硬化是一组以动脉管壁增厚硬化、弹性降低和管腔变窄为特征的血管疾病^[1]。受影响动脉的病变通常从内膜开始, 依次出现多种病变, 包括局部脂质和复杂糖类积聚、纤维组织增生和钙化、中动脉逐渐退化以及斑块内出血、斑块破裂和局部血栓形成的继发性病变^[2]。

先前的研究表明动脉粥样硬化是一种慢性炎症性疾病^[3]。各种炎症介质如 IL-6、TNF- α 、单核细胞趋化蛋白 1、高敏 C 反应蛋白、基质金属蛋白酶等均被报道与斑块形成和破裂相关, 是临床心血管事件如继发性缺血性卒中和心肌梗死的风险因素^[4-6]。

目前, 大多数关于斑块炎症起源的研究集中在单核细胞、巨噬细胞、中性粒细胞等髓系来源的免疫细胞上^[5,7]。随着单细胞技术的应用, 对动脉粥样硬化小鼠模型和新鲜人体样本的单细胞检测显示, 除了先天免疫细胞外, B 细胞也在动脉斑块中

浸润。B 细胞是体内唯一分泌抗体的重要适应性免疫细胞, 除了抗体分泌功能外, 越来越多的研究还表明, B 细胞可以产生 IL-6、IL-10、IL-35 等多种细胞因子, 参与炎性疾病、自身免疫病的发生和发展, 然而, 斑块中的 B 细胞表型与功能以及是否参与斑块炎症进展需要研究揭示。

在本研究中, 通过动脉粥样硬化小鼠模型和人类样本单细胞测序数据分析, 发现与外周血相比, 动脉斑块中 B 细胞的总体比例下调, 其中类似衰老样 B 细胞亚群 (CD83⁺ B 细胞) 的比例显著增加。这些 CD83⁺ B 细胞具有高水平的 CD83、FOSB、EGR1 和 NR4A1 基因表达, 并且高表达多种炎性介质, 包括 IL-6、TNF- α 等, 这表明其是斑块炎症的潜在风险。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 7 周龄的 *ApoE*^{-/-} 雄性小鼠购买于北京维通立华实验动物技术有限公司 (合格证号: 11400700248689)。实验动物饲养于复旦大学上海医学院实验动物房, 每日光照 12 h, 并于实验开始前 1 周适应饲养。所有动物实验饲养及操作严格遵守复旦大学实验动物伦理及国家和上海市动物福利伦理与保护相关规定。

收稿日期: 2025-01-20

基金项目: 国家科技部重大研究计划(2023FYA1800204); 中国博士后科学基金面上项目(2024M760543)

作者简介: 刘凯(1986—), 男, 学士, 主治医师, 主要从事心血管病的临床诊断和发病机理研究; 潘子翯(2001—), 女, 硕士研究生, 主要从事肿瘤免疫学方面的相关研究; * 为共同第一作者

通信作者: 刘荣花(E-mail: ronghualiu@fudan.edu.cn)

1.1.2 主要试剂 anti-mouse CD45 (BV510), anti-mouse CD19 (PE-cy7), anti-mouse CD3 (Per-CP-cy5.5), anti-mouse CD11b (PE), anti-mouse CD83 (FITC), anti-mouse IL-6 (V450), anti-mouse IFN- γ (APC), anti-mouse TNF- α (PE), 流式抗体购买自 Biolegend 公司。GEXSCOPE 组织解离液购自新格元生物科技。油红 O(O0625)购买自 Sigma-Aldrich 公司。西方饮食(Western diet-fed, WD)饲料由上海灵自灵生物技术有限公司提供, 普通饲料由复旦大学上海医学院实验动物房提供。

1.2 方法

1.2.1 动脉粥样硬化小鼠模型的建立 将 7 周龄的 *ApoE*^{-/-} 小鼠随机分为对照饮食(chow diet-fed, CD)的对照组和 WD 饲料喂养的模型组。饲料都经过高温灭菌处理。WD 饲料喂养 10 周后, 动物禁食过夜。眼底静脉丛取血, 放置肝素抗凝血收集管, 4 ℃冰箱储存。脱颈椎处死小鼠后固定小鼠, 剪开胸腔, 剪去胸骨, 暴露心脏, 用 10 mL PBS 进行心脏灌注。之后分离自主动脉至髂骨总分支的动脉全长, 放置于 4 ℃预冷 PBS 中保存备用。

1.2.2 动脉组织消化与单细胞获取 在解剖显微镜(Leica 公司, DM2500)下小心去除主动脉周围的脂肪组织及其他组织, 用 Hanks 平衡盐溶液清洗两次, 切成长 1~2 mm 的小块。随后, 在 15 mL 离心管中加入 2 mL GEXSCOPE 组织解离液, 在 37 ℃下持续搅拌消化 15 min。消化后, 样品通过 40 μ m 尼龙无菌过滤器过滤, 并以 350 $\times g$ 离心 5 min。移除上清液, 沉淀物重新悬浮于 1 mL PBS 中。

1.2.3 单细胞数据调取与分析 人类动脉粥样硬化斑块组织及其配对的外周血样本的单细胞测序数据, 来源于复旦大学附属浦东医院与附属华山医院, 公开于中国科学院上海营养与健康研究所生物医学大数据中心(Bio-Med Big Data Center, BMDC)平台下的单细胞数据集 [OEP001731]^[8]。本研究使用 Seurat R 包(版本 5.0.3)对该数据集进行处理。为了确保数据质量, scRNA-seq 数据通过以下设置进行了过滤: 每个细胞的基因计数 > 500 , 线粒体基因的比例 $< 25\%$, 核糖体基因 $> 3\%$ 。为了消除黏连体, 使用 DoubletFinder R 包(版本 2.0.4)识别并移除这些黏连体细胞。接下来, 处理后的数据进行了对数标准化, 并根据总细胞 UMI 计数缩

放为标量数据。聚类以 0.6 的分辨率进行, 并使用 RunUmap 函数进行了可视化。为了注释合并数据集中每个聚类的细胞类型, 应用了 SingleR 包(v1.4.1)。此外, 本研究根据 CD79A 的表达提取了 B 细胞, 并使用上述方法进行了下游再分析。

1.2.4 流式细胞染色 将获得细胞悬液浓度调节为 $1 \times 10^7 / \text{mL}$ 。取 100 μL 细胞悬液, 放入流式管中, 加入 1 mL 加入流式缓冲液, 充分洗涤细胞 2 次。每管加入含有 0.25 μL 细胞 Fc 段封闭抗体的流式缓冲液 25 μL , 4 ℃避光孵育 15 min, 加入 10 μL 含有 0.25~0.5 μL 荧光抗体的流式缓冲液, 4 ℃避光孵育 30 min 后, 加入 1 mL 流式缓冲液, 充分洗涤细胞 2 次。洗去未结合的游离抗体, 用 500 μL 流式缓冲液重悬, 用 Cytek Aurora/NL 全光谱流式细胞仪检测各种细胞表面分子的表达, 用 spectroFlo 软件分析。

1.2.5 油红 O 染色 油红 1 g 溶入 100 mL 异丙醇配成储存液, 4 ℃避光保存, 使用时加蒸馏水稀释至 60%, 滤纸过滤后使用。取 WD 和 CD 饲食小鼠的主动脉的冰冻切片, 放入 4% 多聚甲醛中固定组织 5 min, 蒸馏水清洗后放入 60% 异丙醇浸泡 1 min, 60% 油红 O 染色液染色 10~15 min, 之后用 60% 异丙醇分色。蒸馏水清洗后苏木素复染 1 min, 自来水清洗 1 min 蓝化, 蒸馏水清洗后甘油封片, 显微镜观察。

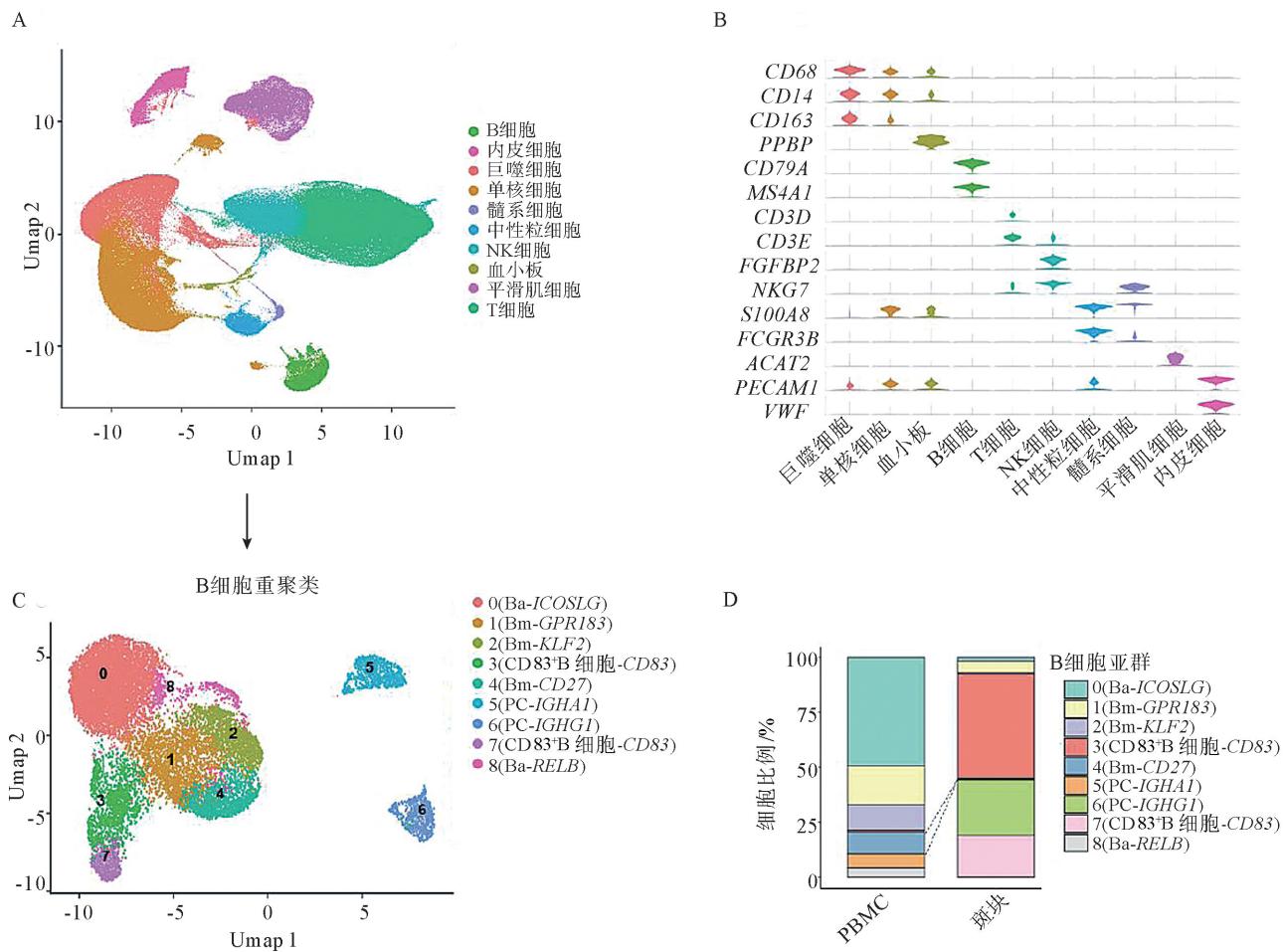
1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 9.4.1 软件进行数据的统计分析, 组间比较应用非配对 t 检验、单因素方差分析和多重比较。检验水准(α)为 0.05。

2 结果

2.1 单细胞测序分析显示 CD83⁺ B 细胞在人类动脉粥样硬化斑块中富集 本研究调取了动脉粥样硬化患者斑块组织和配对外周血样本的单细胞测序数据, 构建了一个包含 325 155 个细胞的单细胞图谱(图 1A)。根据已知标志基因的指导, 聚类分析划分了 10 群广泛的细胞类型: B 细胞、内皮细胞、巨噬细胞、单核细胞、髓系细胞、中性粒细胞、NK 细胞、血小板、平滑肌细胞和 T 细胞(图 1B)。随后, 提取了所有 B 细胞(共 15 822 个高质量的 B 细胞)用于进一步分析, 得到斑块组织和配对外周血中的

9个B细胞亚群，包括2个激活的B细胞(active B cell, Ba)亚群、3个记忆B细胞(memory B cell, Bm)亚群、2个浆细胞(plasma cell, PC)亚群和2个CD83⁺B细胞亚群(图1C)。值得注意的是，本研究发现2个CD83⁺B细胞亚群(3和7)，高表达

CD83、EGR1、FOSB、CD69，与配对的外周血相比，在斑块组织中增加，CD83⁺B细胞群3和7在总体B细胞中的占比，分别上升了46.74%、19.18%，而Ba和总的Bm减少，比例分别下降47.80%、33.01%(图1D)。

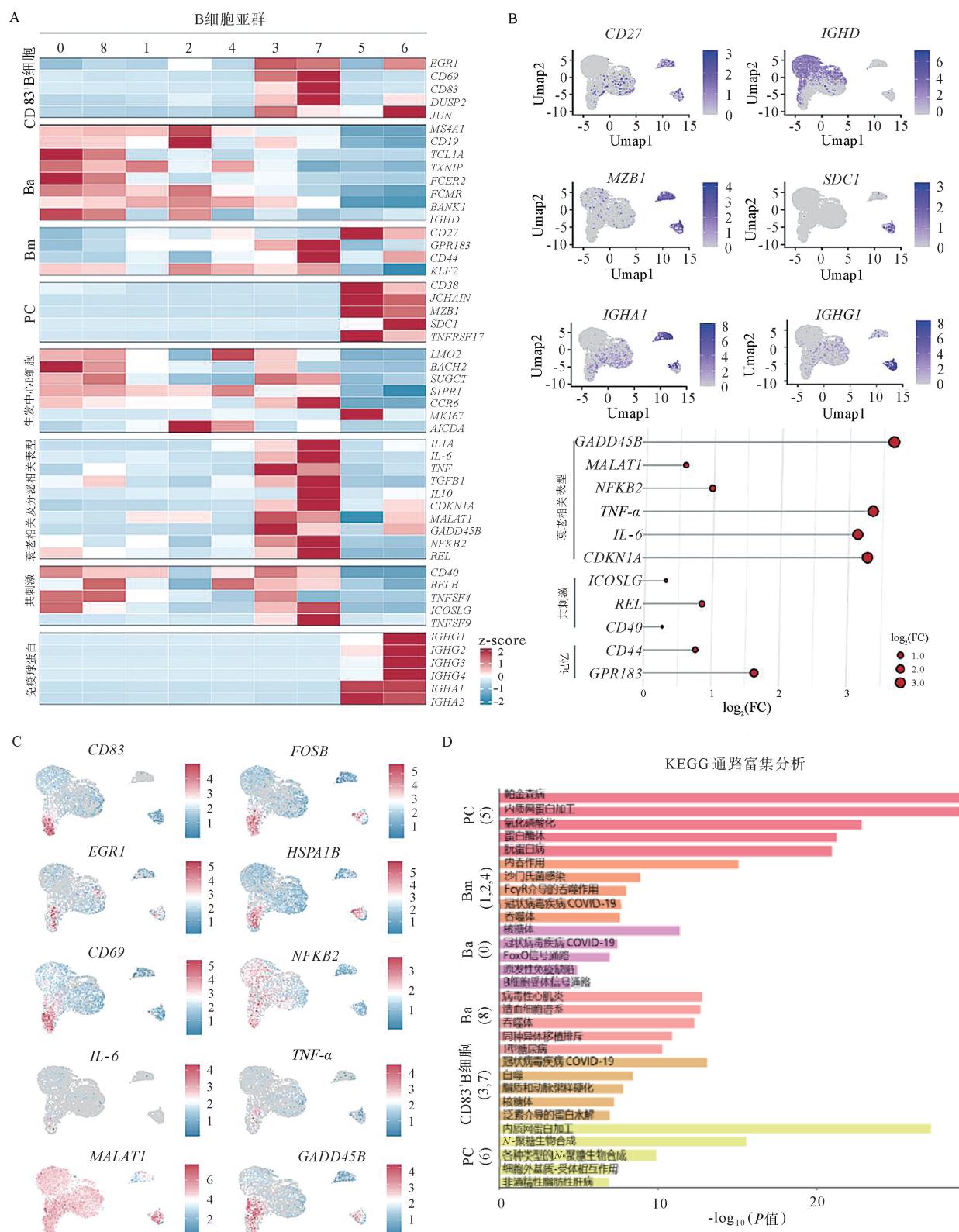


注：A. 人类动脉粥样硬化斑块组织和配对外周血样本的全局细胞 Umap 图；B. 各类型细胞群标志基因的表达水平；C. B 细胞和 PC 亚群注释；D. 斑块和 PBMC 中 B 细胞亚群的百分比。

图 1 单细胞测序分析发现 CD83⁺ B 细胞在动脉粥样硬化的斑块中富集

2.2 CD83⁺ B 细胞具有衰老表型 为了明确2群CD83⁺ B 细胞的特征，本研究对 B 细胞特征进行了单细胞数据深度挖掘。结果发现，与其他 B 细胞亚群相比，CD83⁺ B 细胞在分化水平上接近 Bm，高表达 Bm 部分特征基因，如 GPR183、CD44，且具有较高的共刺激分子表达，包括 CD40、REL、ICOSLG，活跃度较高(图 2)。更明显的是，CD83⁺ B 细胞高表达衰老相关基因，如 CDKN1A [$\log_2(\text{FC}) = 3.319$]、IL-6 [$\log_2(\text{FC}) =$

3.176]、TNF- α [$\log_2(\text{FC}) = 3.404$] 和 GADD45B [$\log_2(\text{FC}) = 3.717$] 等(图 2A~C)，表明在斑块中增多的 CD83⁺ B 细胞存在衰老趋势，是衰老相关 B 细胞。此外，本研究对衰老相关 CD83⁺ B 细胞及其他 B 细胞进行差异基因的通路分析(KEGG)，结果显示衰老相关 CD83⁺ B 细胞的差异基因富集在自噬 [$-\log_{10}(P \text{ 值}) = 8.43$]、脂质与动脉粥样硬化 [$-\log_{10}(P \text{ 值}) = 7.80$] 等通路，表明 B 细胞衰老与动脉粥样硬化相关(图 2D)。



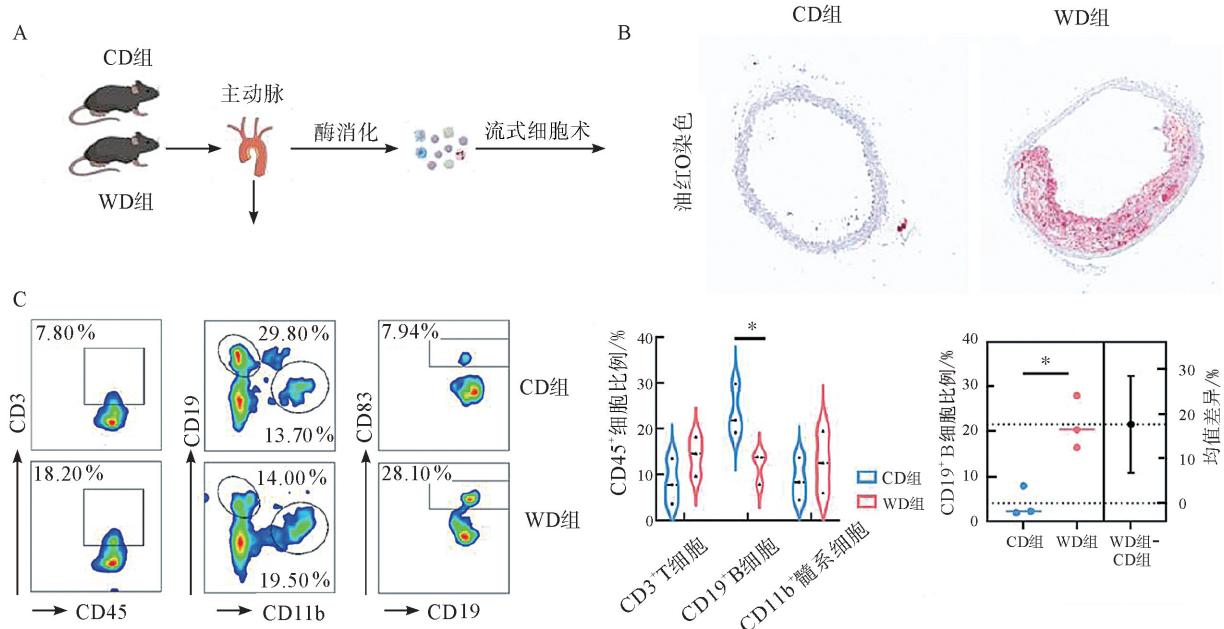
注: A. B 细胞亚群中标志基因的热图; B. B 细胞亚群中标志基因的特征图以及 B 细胞特征基因表达的变化; C. B 细胞亚群中衰老相关基因的表达; D. B 细胞各亚群标志基因的 KEGG 富集分析。FC 为倍数变化(fold change); KEGG 为京都基因和基因组数据库(Kyoto encyclopedia of genes and genomes)。

图 2 单细胞测序分析显示斑块中的 CD83⁺ B 细胞具有衰老表型

2.3 小鼠模型中证实 CD83⁺ B 细胞在斑块中富集

为了验证单细胞测序的结果,本研究构建了动脉粥样硬化小鼠模型并分析了 B 细胞亚群和表型。对载脂蛋白 E 缺乏 (*ApoE*^{-/-}) 小鼠分别给予 WD 以及 CD 饲喂 12 周,建立动脉粥样硬化模型(图 3A)。取部分 WD 模型鼠及 CD 对照鼠的主动脉,通过油红 O 染色确定斑块形成,建模成功(图 3B)。将剩余的新鲜主动脉消化成单细胞悬液后,进行流式染色分析斑块免疫格局以及 B 细胞。同时取 PBMC 进行匹配分析。结果显示,相比 CD 组,WD 喂养的模型小鼠的动脉组织和外周血中的 CD3⁺ T 细胞

比例增高,但无统计学意义($P=0.4471$)。CD11b 表达的髓系细胞差异不明显($P=0.7453$)。相比之下,CD19⁺ B 细胞在 WD 组小鼠的动脉组织中的比例显著减少,其在 CD45 阳性免疫细胞中的平均占比由 23.63% 减少到 11.90% ($P=0.0427$, (图 3C))。进一步对 B 细胞亚群分析发现,相比 CD 组,WD 小鼠的动脉组织中 CD83⁺ B 细胞占整体 B 细胞的比例显著增加,平均值由 4.05% 增加到 21.70%,差异倍数为 5.36 ($P=0.0108$)。结果证实 CD83⁺ B 细胞在小鼠动脉粥样硬化组织中富集。



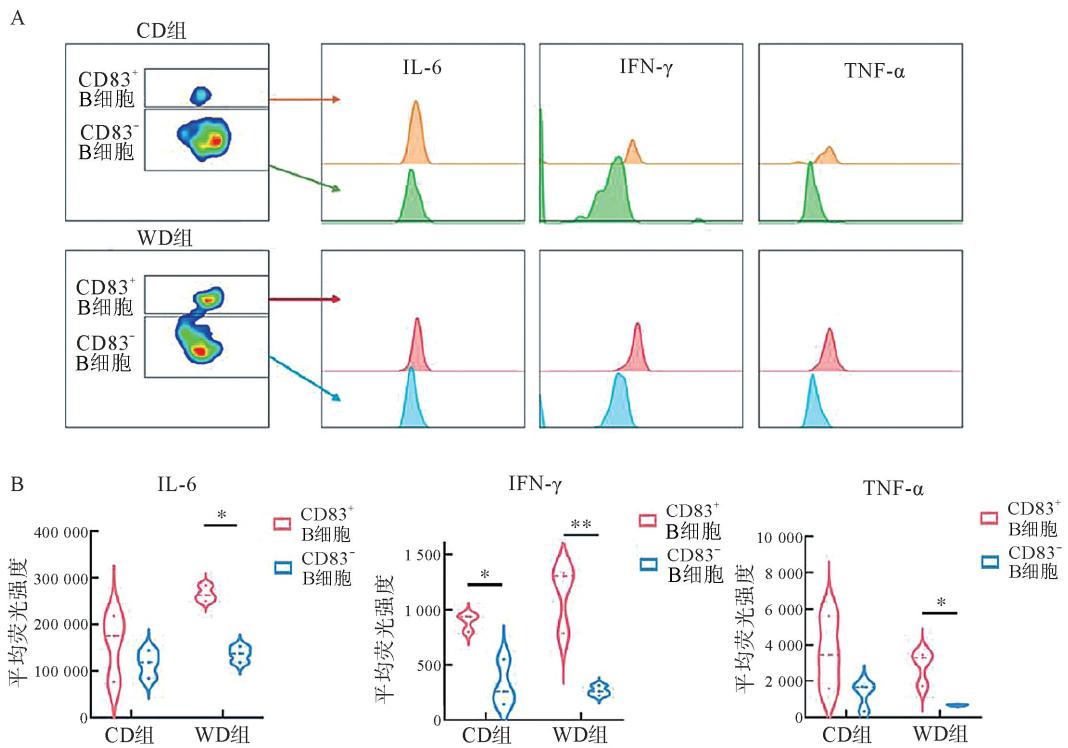
注: A. *ApoE*^{-/-} 小鼠分别喂以 WD 和 CD 12 周,以诱导动脉粥样硬化模型; B. 油红 O 染色评估 WD 组和 CD 组小鼠的主动脉斑块的形成情况($\times 10$); C. 流式细胞术分析斑块免疫格局以及 CD83⁺ B 细胞比例的变化。 $n=3$ 。* $P<0.05$ 。

图 3 动脉粥样硬化模型中确认 CD83⁺ B 细胞在斑块中升高

2.4 小鼠模型中证实 CD83⁺ B 细胞高分泌衰老相关炎性因子

接下来,本研究通过流式细胞术分析了 WD 及 CD 组小鼠动脉组织中的 CD83⁺ B 细胞和 CD83⁻ B 细胞的衰老相关炎性因子。与单细胞测序结果相一致,流式细胞术结果(图 4A)显示,CD 组小鼠动脉组织中,CD83⁺ B 细胞的含量较少,其 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 的平均荧光强度分别是 CD83⁻ B 细胞的 1.35、2.16、2.88 倍,均有不同程度的表达上调。而在 WD 喂养的模型小鼠中,CD83⁺ B 细胞与 CD83⁻ B 细胞的炎性因子表达差异更为显

著,IL-6、IFN- γ 和 TNF- α 在 CD83⁺ B 细胞中的平均荧光值分别是 CD83⁻ B 细胞的 1.95 倍($P=0.0202$)、4.25 倍($P=0.0030$)和 4.20 倍($P=0.0169$)。此外,WD 组相较于 CD 组,CD83⁺ B 细胞的炎性因子表达也有增高趋势,尤其 IL-6、IFN- γ ,WD 组相比 CD 组的差异倍数分别是 1.70 和 1.20 倍(图 4B)。结果表明 CD83⁺ B 细胞具有较强的衰老相关炎性因子分泌的能力,而这种能力在动脉粥样硬化的组织环境中得到进一步提升。



注: A. 流式细胞术检测 CD 和 WD 组 CD83⁺ B 细胞中 IL-6、IFN-γ 和 TNF-α 的表达水平; B. IL-6、IFN-γ 和 TNF-α 平均荧光强度的统计图。n=3。* P<0.05, ** P<0.01。

图 4 动脉粥样硬化模型中确认 CD83⁺ B 细胞高表达炎性因子

3 讨论

炎症反应是动脉粥样硬化发生发展的重要驱动因素,不仅参与疾病初始阶段的病理改变,还在其进展和并发症的形成中起到决定性作用^[9]。通过抑制炎症反应,可能有助于减缓动脉粥样硬化的进程,甚至改善已有病变^[10]。因此,炎症已成为动脉粥样硬化研究和治疗中的重要靶点。然而,目前导致动脉组织炎症持续存在的具体原因和机制尚不完全明确。既往研究主要关注固有免疫细胞在动脉炎症中的作用,炎症引起的趋化因子促使单核细胞迁移到血管壁并转化为巨噬细胞,进一步吞噬氧化低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)形成泡沫细胞,并在动脉壁内积聚造成炎症^[11]。本研究发现 B 细胞亚群 CD83⁺ B 细胞在斑块中富集,并具有衰老样表型,高分泌炎性因子,提示其可能是介导斑块炎症的新型细胞群体。

B 细胞根据其来源、功能和表型可分为胎肝来源的 B1 细胞和骨髓发育的 B2 细胞^[12]。既往研究显示 B 细胞对动脉粥样硬化的效应具有亚型特异性,B1 细胞具有保护作用,B2 细胞则促进动脉粥

样硬化^[13-14]。具体来说,B1 细胞通过分泌 IgM 结合巨噬细胞上 LDL 的氧化特异性表位,阻止其脂质吸收和炎性因子产生,从而减少泡沫细胞的形成并限制动脉炎症^[15-16]。B2 细胞则主要通过产生致病性 IgG 来激活 T 细胞,诱导促炎细胞因子如 IFN-γ 产生来促进动脉粥样硬化。在高脂血症小鼠中,使用 CD20 单克隆抗体或 B 细胞活化因子受体敲除(BAFFR^{-/-})小鼠中的 B 细胞可显著减轻动脉粥样硬化症状^[16-17]。尽管现有研究发现 B2 细胞在动脉粥样硬化中的致病作用,其内部具体是哪些亚群参与动脉粥样硬化过程仍缺乏清晰认识。本研究在此基础上,识别出一种在动脉粥样硬化斑块中富集的 CD83⁺ B 细胞亚群,该亚群不具备 B1 细胞的经典标记(CD5、CD11b 和 CD43),并呈现出典型的衰老表型及高水平炎性因子表达,可能属于 B2 细胞谱系中具有促炎作用的特异亚群。本研究的研究不仅进一步支持了 B2 细胞在动脉粥样硬化中的促炎作用,也揭示了具有衰老表型 CD83⁺ B 细胞可能是其中关键的致炎效应细胞。该发现有助于理解 B 细胞在动脉粥样硬化疾病中的功能异质性,并为靶向 B 细胞的治疗策略提供了新的潜在干预

靶点。

以往研究表明，衰老细胞分泌具有促炎性质的相关因子，称为衰老相关分泌表型(senescence-associated secretory phenotype, SASP)^[18-21]。炎症被认为是免疫衰老的标志之一，SASP通过炎症小体介导的旁分泌效应向邻近细胞扩散，从而形成正反馈，加剧衰老和炎症^[22]。近期一项研究发现了一群随着年龄增长而增多的CD11c⁺ B细胞^[23]，被认为是年龄相关B细胞(age-associated B cell, ABC)。该研究在ApoE^{-/-}小鼠中观察到，脾脏和骨髓中CD11c⁺ B细胞的数量随年龄增加，并与主动脉斑块增加正相关。本研究中观察到的这群在动脉粥样硬化斑块中富集的CD83⁺ B细胞亚群，其表型与上述ABC有一定相似性，如缺乏CD27和IgD的表达。然而，与文献中描述的在外周淋巴器官中随年龄扩增的ABC不同，本研究发现的CD83⁺ B细胞主要富集于动脉粥样硬化斑块中，仅部分表达CD11c，而显著高表达CD83及一系列衰老相关基因。因此，尽管二者具有一定的表型重叠，但并不完全一致。进一步分析显示，与CD喂养的小鼠相比，WD喂养的模型小鼠的动脉粥样硬化组织中CD83⁺ B细胞的炎性因子表达水平较高，这也提示动脉粥样硬化的组织微环境对CD83⁺ B细胞的衰老表型和功能具有促进作用。

CD83是一种细胞表面跨膜糖蛋白，具有典型的免疫球蛋白样结构域，主要表达在DC、激活的T细胞和部分B细胞中^[24]。CD83在调控免疫系统的激活、成熟和耐受中发挥重要作用，如调控DC激活，在黏膜免疫中发挥保护性作用^[25]，或作为T细胞耗竭前体细胞的标记，调节T细胞的功能^[26]，基于其在免疫调节中的作用，现有研究提示CD83可能与多种免疫性疾病(如自身免疫性疾病、过敏性疾病等)相关^[26]。在B细胞中，CD83主要表达在活化的B细胞表面，介导细胞活化及其抗原特异性抗体反应^[27]。在本研究中，本研究发现CD83与B细胞衰老和动脉炎症相关，这不仅为B细胞衰老和动脉粥样硬化提供了生物标志物，也为基于B细胞的动脉炎症防治提供了潜在靶点。但是，目前尚没有研究显示CD83如何在炎症环境中被上调，其参与衰老表型的机制也有待深入研究。

综上，本研究发现了促进斑块炎症的B细胞亚群CD83⁺ B细胞，并通过分析单细胞测序数据揭示了其衰老表型和炎性因子分泌特点。CD83⁺ B细胞

为动脉粥样硬化发病提供新型生物标志物。后续通过进一步探讨CD83⁺ B细胞是否促进斑块炎症进展，以及如何在斑块微环境中获得衰老和炎症表型，将可能为基于B细胞的动脉粥样硬化干预提供新策略。

参考文献

- [1] Libby P. Inflammation and the pathogenesis of atherosclerosis [J]. *Vascul Pharmacol*, 2024, 154: 107255.
- [2] Herrington W, Lacey B, Sherliker P, et al. Epidemiology of atherosclerosis and the potential to reduce the global burden of atherothrombotic disease [J]. *Circ Res*, 2016, 118(4): 535-546.
- [3] Ajoolabady A, Pratico D, Lin L, et al. Inflammation in atherosclerosis: pathophysiology and mechanisms [J]. *Cell Death Dis*, 2024, 15(11): 817.
- [4] Shoaran M, Maffia P. Tackling inflammation in atherosclerosis [J]. *Nat Rev Cardiol*, 2024, 21(7): 442.
- [5] Lin A, Miano JM, Fisher EA, et al. Chronic inflammation and vascular cell plasticity in atherosclerosis [J]. *Nat Cardiovasc Res*, 2024, 3(12): 1408-1423.
- [6] 孙颖, 姜林娣. 基质金属蛋白酶(MMPs)在大动脉炎病情评估中的价值[J]. 复旦学报(医学版), 2012, 39(5): 541-544.
- [7] Natarajan N, Florentin J, Johny E, et al. Aberrant mitochondrial DNA synthesis in macrophages exacerbates inflammation and atherosclerosis [J]. *Nat Commun*, 2024, 15(1): 7337.
- [8] Tan J, Liang Y, Yang Z, et al. Single-cell transcriptomics reveals crucial cell subsets and functional heterogeneity associated with carotid atherosclerosis and cerebrovascular events [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2023, 43(12): 2312-2332.
- [9] Libby P. Inflammation during the life cycle of the atherosclerotic plaque [J]. *Cardiovasc Res*, 2021, 117(13): 2525-2536.
- [10] Libby P. The changing landscape of atherosclerosis [J]. *Nature*, 2021, 592(7855): 524-533.
- [11] Hou J, Zheng L, Li X, et al. CircZNF609 sponges miR-135b to up-regulate SEMA3A expression to alleviate ox-LDL-induced atherosclerosis [J]. *Mol Cell Biochem*, 2025, 480(2): 1105-1120.
- [12] Märklin M, Heitmann JS, Kauer J, et al. Genetic loss of NFAT2 (NFATc1) impairs B cell development of B1 and B2 B cells [J]. *Cell Immunol*, 2020, 349: 104048.
- [13] Pattarabanjird T, Li C, McNamara C. B cells in atherosclerosis: mechanisms and potential clinical applications [J]. *JACC Basic Transl Sci*, 2021, 6(6): 546-563.
- [14] Ghosh EE, Sadate-Ngatchou P, Yang Y, et al. Distinct progenitors for B-1 and B-2 cells are present in adult mouse spleen [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(7): 2879-2884.
- [15] Srikkalapu P, Hu D, Yin C, et al. Artery tertiary lymphoid organs control multilayered territorialized atherosclerosis B-cell responses in aged ApoE^{-/-} mice [J]. *Arterioscler Thromb*

- Vasc Biol, 2016, 36(6): 1174-1185.
- [16] Kyaw T, Tay C, Krishnamurthi S, et al. B1a B lymphocytes are atheroprotective by secreting natural IgM that increases IgM deposits and reduces necrotic cores in atherosclerotic lesions[J]. Circ Res, 2011, 109(8): 830-840.
- [17] Kyaw T, Tay C, Hosseini H, et al. Depletion of B2 but not B1a B cells in BAFF receptor-deficient ApoE mice attenuates atherosclerosis by potently ameliorating arterial inflammation [J]. PLoS One, 2012, 7(1): e29371.
- [18] Xu W, Guo Y, Zhao L, et al. The aging immune system: a critical attack on ischemic stroke[J]. Mol Neurobiol, 2025, 62(3): 3322-3342.
- [19] Saad EE, Michel R, Borahay MA. Senescence-associated secretory phenotype (SASP) and uterine fibroids: Association with PD-L1 activation and collagen deposition[J]. Ageing Res Rev, 2024, 97: 102314.
- [20] Liang R, Qi X, Cai Q, et al. The role of NLRP3 inflammasome in aging and age-related diseases[J]. Immun Ageing, 2024, 21(1): 14.
- [21] Naunton RF. Studies of human temporal bone pathologies: the nH perspective[J]. Acta Otolaryngol Suppl, 1985, 423: 5-8.
- [22] Karabag D, Heneka MT, Ising C. The putative contribution of cellular senescence to driving tauopathies[J]. Trends Immunol, 2024, 45(10): 837-848.
- [23] Pattarabanjird T, Sriakulapu P, Ransegnaola B, et al. Single-cell profiling of CD11c⁺ B cells in atherosclerosis[J]. Front Immunol, 2023, 14: 1296668.
- [24] Grosche L, Knippertz I, König C, et al. The CD83 molecule—an important immune checkpoint[J]. Front Immunol, 2020, 11: 721.
- [25] Bates JM, Flanagan K, Mo L, et al. Dendritic cell CD83 homotypic interactions regulate inflammation and promote mucosal homeostasis[J]. Mucosal Immunol, 2015, 8(2): 414-428.
- [26] Wu Z, Yoshikawa T, Inoue S, et al. CD83 expression characterizes precursor exhausted T cell population[J]. Commun Biol, 2023, 6(1): 258.
- [27] Wong KY, Baron R, Seldon TA, et al. CD83 antibody inhibits human B cell responses to antigen as well as dendritic cell-mediated CD4 T cell responses[J]. J Immunol, 2018, 200(10): 3383-3396.

CD83⁺ B cells are enriched in atherosclerotic plaques and exhibit a senescent phenotype

LIU Kai^{1*}, PAN Zihe^{2*}, ZHAO Pengyuan², XUE Ruilu¹, WANG Zhiqiang^{2,3}, LIU Ronghua²
 (1. Department of Cardiology, Jiyuan Second People's Hospital, Jiyuan 459000, China; 2. Institutes of Biomedical Sciences, Fudan University, Shanghai 200032, China; 3. Children's Hospital of Fudan University, Shanghai 201102, China)

Abstract: This study aimed to identify the B cell phenotypic characteristics in atherosclerotic plaques and explore the potential relationship between B cells and plaque inflammation progression. By comparing the immune cell profiles from single-cell sequencing data of plaques and peripheral blood in atherosclerotic patients, 2 CD83⁺ B cell clusters enriched in human atherosclerotic plaques were identified, with increased percentages of 46.74% and 19.18%, respectively. Compared to other B cell subpopulations, CD83⁺ B cells expressed higher levels of aging-related genes including CDKN1A, IL-6, TNF- α , MALAT1, and GADD45B, suggesting that the increased CD83⁺ B cells in plaques exhibited a senescent phenotype. To validate these findings, *ApoE* gene knockout (*ApoE*^{-/-}) mice were fed with Western diet (WD) to induce atherosclerosis. The proportion of CD83⁺ B cells in total B cells was significantly higher in the arterial tissues of WD mice (fold change = 5.36, $P = 0.010\text{--}8$). Consistently, in WD mice, the average fluorescence intensities of senescence-associated inflammatory cytokines including IL-6, TNF- α , and IFN- γ in CD83⁺ B cells were significantly higher than those of the CD83⁻ B cells, with significant fold changes of 1.95 ($P = 0.020\text{--}2$), 4.25 ($P = 0.003\text{--}0$), and 4.20 ($P = 0.016\text{--}9$), respectively. This study reveals that CD83⁺ B cells are enriched in atherosclerotic plaques and exhibit a senescence-like phenotype, producing higher levels of senescence-associated inflammatory factors that may contribute to arterial inflammation.

Key words: atherosclerosis; plaques; B cell; CD83; inflammatory factors