



Universiteit
Leiden
The Netherlands

Regulatory B cells in allergic asthma and schistosomiasis : controlling inflammation

Vlugt, E.P.M. van der

Citation

Vlugt, E. P. M. van der. (2015, February 12). *Regulatory B cells in allergic asthma and schistosomiasis : controlling inflammation*. Retrieved from <https://hdl.handle.net/1887/31852>

Version: Corrected Publisher's Version

License: [Licence agreement concerning inclusion of doctoral thesis in the Institutional Repository of the University of Leiden](#)

Downloaded from: <https://hdl.handle.net/1887/31852>

Note: To cite this publication please use the final published version (if applicable).

Cover Page



Universiteit Leiden



The handle <http://hdl.handle.net/1887/31852> holds various files of this Leiden University dissertation

Author: Vlugt, Luciën van der

Title: Regulatory B cells in allergic asthma and schistosomiasis : controlling inflammation

Issue Date: 2015-02-12



Addendum

Nederlandse samenvatting

Dankwoord / Acknowledgements

Curriculum Vitae

List of publications

Nederlandse samenvatting

Afweerreacties in allergisch astma

Het afweersysteem, ook wel het immuunsysteem genoemd, heeft als doel mensen te beschermen tegen schadelijke indringers zoals bacteriën, virussen en wormen. Het afweersysteem kan worden onderverdeeld in een aspecifiek (aangeboren) en adaptief (verworven) deel. Het aspecifiek afweersysteem bestaat uit een eerstelijnsafweer van huid en slijmvliezen die een mechanische barrière vormen om het binnendringen van ziekteverwekkers tegen te gaan. Mocht een ziekteverwekker toch het lichaam binnendringen, dan stuit deze op een tweedelijnsafweer die bestaat uit witte bloedcellen. Deze afweercellen kunnen ziekteverwekkers opnemen en verteren. Hierna worden de kleine stukjes (antigeen) van de indringer gepresenteerd aan witte bloedcellen van het adaptieve immuunsysteem, zoals T cellen en B cellen. Het type afweerreactie dat geactiveerd wordt, hangt af van de binnendringende ziekteverwekker. Zo ontwikkelen T cellen zich tot T helper (Th) 1 cellen tijdens virale infecties en worden juist Th2 cellen gevormd tijdens worminfecties. De belangrijkste functie van B cellen in het afweersysteem is de productie van antistoffen, ook wel immuunglobulinen genoemd. Deze antistoffen herkennen heel specifiek een bepaald antigeen afkomstig van een ziekteverwekker en zullen vervolgens na binding aan het antigeen een reactie starten die uiteindelijk leidt tot de opruiming van deze ziekteverwekker. Aangezien dit soort afweerreacties ontstekingen bevorderen, kan het ook schade aanrichten aan de omliggende weefsels. Een goed functionerend afweersysteem zal er naar streven om de schade aan het lichaam zelf, als gevolg van heftige afweerreacties, in zekere mate af te remmen. Deze tak van het afweersysteem wordt het 'regulatorische afweersysteem' genoemd en bestaat uit verschillende regulatorische witte bloedcellen die signaalstoffen uitscheiden en zorgen voor tolerantie.

Als de verschillende componenten van het afweersysteem uit balans zijn, worden afweerreacties tegen een onschuldige antigeen of een antigeen afkomstig van het eigen lichaam niet afgeremd en kunnen ontstekingsziekten ontstaan zoals allergieën en auto-immuunziekten. Allergie is een complexe ziekte die wordt veroorzaakt door een combinatie van erfelijke aanleg die iemand heeft om allergie te ontwikkelen en omgevingsfactoren. Voorbeelden van allergische ziekten zijn eczeem, hooikoorts en astma. In dit proefschrift richten we ons op allergisch astma. Allergisch astma is een chronische longaandoening die ontstaat doordat het afweersysteem een hevige Th2-specifieke reactie ontketent tegen ingeademde onschuldige stoffen zoals huisstofmijtdeeltjes, kattenhuidschilfers of boom- en graspollen, terwijl gezonde mensen daar niet of nauwelijks op reageren. Deze onschuldige stoffen worden allergenen genoemd. Tijdens een Th2 afweerreactie komen mediators, zoals histamine vrij die zorgen dat de gladde spiercellen van de luchtwegen samentrekken en de bloedvaten zich verwijden. Verder zorgt een verhoogde slijmproductie en activatie van andere

ontstekingscellen voor irritatie van het weefsel en vernauwing van de luchtwegen. Als gevolg treedt er weefselschade op waardoor de luchtwegwand stugger wordt en de spierlaag verdikt. Dit leidt uiteindelijk tot symptomen zoals benauwdheid, kortademigheid, hoesten en piepende ademhaling in astmapatiënten. Tot op heden is astma niet te genezen, wel te onderdrukken met luchtwegverwijdende en ontstekingsremmende medicatie.

Parasitaire wormen beschermen tegen allergie

In de afgelopen decennia, vooral vanaf begin jaren '70, zijn allergisch ziekten bij kinderen sterk toegenomen in de geïndustrialiseerde landen. Deze bevinding kon niet verklaard worden vanuit een verandering in erfelijke aanleg, maar leidden tot de zogenaamde 'hygiënehypothese' die een verband trok tussen het elimineren van infecties en infectiebronnen door veranderingen in levensstijl en een verbeterde hygiëne, en de forse toename van allergieën in de geïndustrialiseerde landen. Epidemiologisch onderzoek toonde aan dat in ontwikkelingsgebieden, waar veel chronisch worminfecties voorkomen, allergisch aandoeningen veel zeldzamer waren en de prevalentie in de afgelopen decennia nauwelijks gestegen was. Behandeling gericht op de verwijdering van deze worminfecties resulteerde juist in een toename van prevalentie van allergieën. Verder bleek dat allergie en astma ook minder voorkwam bij kinderen die tijdens hun jeugd opgegroeid waren in een omgeving die rijk was aan micro-organismen, zoals bacteriën en schimmels. Voorbeelden zijn kinderen die opgroeiden op een boerderij, met meerdere broers en zussen, of die regelmatig in een kinderdagverblijf verbleven. Dit leidde tot de veronderstelling dat juist de micro-organismen waarmee wij tezamen zijn geëvolueerd zoals huid- en darmbacteriën en indringers die chronisch in het lichaam verblijven zoals parasitaire wormen, invloed hebben op een evenwichtige uitrijping van ons afweersysteem. Door de eliminatie of veranderde samenstelling van deze micro-organismen in onze omgeving wordt verondersteld dat het regulatoire afweersysteem minder hard hoeft te werken waardoor de balans doorslaat naar een ontstekingsbevorderende afweersysteem. Als gevolg hiervan kunnen overdreven ontstekingsreacties ontstaan tegen onschuldige stoffen. Uit verschillende onderzoeken is inderdaad gebleken dat bepaalde witte bloedcellen van het regulatoire afweersysteem, waaronder de regulatoire T (Treg) cellen, verminderd zijn in aantallen in mensen met allergisch aandoeningen en auto-immuunziekten.

Regulatoire netwerk tijdens worminfecties

Uit verscheidene muismodellen en humaan onderzoek is aangetoond dat een langdurige infectie met parasitaire wormen, zoals met de platworm van het geslacht *Schistosoma*, leidt tot een versterking van het regulatoire immuunsysteem. Men veronderstelt dat deze opgewekte onderdrukking van het afweersysteem gunstig is voor de worm omdat het de wormen beschermt tegen uitroeiing, maar ook gunstig voor de geïnfecteerde gastheer omdat die dan beschermd wordt tegen al te heftige ontstekingsreacties met mogelijk orgaanschade als gevolg. Als bijeffect



zou naast de worm-specifieke afweer, ook tegelijkertijd reacties tegen andere moleculen, zoals allergenen, kunnen worden onderdrukt. Een belangrijke en centrale speler in het door wormen opgewekte regulatoire afweersysteem bleek het ontstekingsremmende signaalmolecuul interleukine-10 (IL-10) te zijn dat onder anderen geproduceerd wordt door T cellen. Tevens werden tijdens infectie meer Treg cellen aangemaakt die met behulp van signaalstoffen, maar ook via directe interactie met andere afweercellen, de sterkte van een opkomende immuunrespons verder konden matigen.

Muismodellen van auto-immuunziekten toonden aan dat naast T of Treg cellen, ook B cellen een belangrijke bron van IL-10 konden zijn. B cellen staan eigenlijk meer bekend om hun versterkende functie binnen afweerreacties, maar onderzoek heeft aangetoond dat B cellen wel degelijk ook een regulerende en onderdrukkende functie kunnen hebben. Zij doen dit door de productie van veel IL-10 en deze cellen worden dan ook regulatoire B (Breg) cellen genoemd. Al snel werd duidelijk dat Breg cellen naast de productie van IL-10 ook op andere manieren deze rol kon uitoefenen, bijvoorbeeld door de productie van ontstekingsremmende signaalmolecuul TGF- β en/of het remmen van celdeling en signaalstofproductie van Th cellen. Verder kunnen Breg cellen het regulatoire netwerk versterken door het opwekken van meer Treg cellen. In muizen zijn verscheidene Breg celpopulaties aangetoond die gekenmerkt worden door hoge expressie van moleculen op het oppervlakke zoals CD1d, CD5 en/of CD23 en die zich voornamelijk in de milt, buikholte en in de lymfeklieren bevinden. Onlangs zijn er in het bloed van mensen ook verschillende IL-10 producerende Breg celpopulaties geconstateerd. Tevens is aangetoond dat bepaalde Breg celpopulaties in patiënten met auto-immune ziekten verminderd zijn in aantallen en/of activiteit in vergelijking met Breg cellen van gezonde mensen. In analogie met hun rol in bescherming tegen auto-immuniteit, is er wellicht ook een functie voor Breg cellen weggelegd in de bescherming tegen allergische astma tijdens chronische worminfecties.

Onderzoek beschreven in dit proefschrift

Het doel van het onderzoek beschreven in dit proefschrift is om beter inzicht te krijgen hoe chronische worminfecties bescherming kunnen bieden tegen allergisch astma en wat de rol van regulatoire B cellen hierin is. In **Hoofdstuk 2** hebben wij gebruik gemaakt van een gecombineerd muizenmodel voor astma en de parasitaire worm *Schistosoma (S.) mansoni*. Experimenten toonden aan dat ook in de longen van muizen een verminderde allergische ontstekingsreactie plaats vond tijdens een chronische worminfectie. Met behulp van muizen die geen IL-10 producerende B cellen konden aanmaken, bleek dat de aanwezigheid van IL-10 producerende B cellen essentieel was voor bescherming tegen allergie tijdens infectie. Wanneer B cellen van worm-geïnfecteerde dieren afkomstig van de milt of de longen werden overgebracht naar allergische ontvangstmuizen, resulteerde dit in bescherming tegen allergisch astma. Vervolgens werd het mechanisme waarmee deze B cellen bescherming boden onderzocht. B cellen uit

de milt beschermen tegen allergisch astma via IL-10 productie en de aanmaak van Treg cellen in de longen. Daarentegen, experimenten met beschermende B cellen uit de longen toonden aan dat ze ontsteking onderdrukten onafhankelijk van IL-10 of Treg cellen. Verder onderzoek liet zien dat de verantwoordelijke Breg celpopulatie in de milt gekenmerkt werd door de expressie van moleculen CD21⁺CD23⁺CD1d⁺, dat sterk overeenkomt met de marginale zone B celpopulatie. Om een beter beeld te krijgen of *Schistosoma* infecties in mensen ook Breg cellen aanmaken, hebben we een veldstudie uitgevoerd in Gabon (centraal Afrika), waar *S. haematobium* infecties endemisch voorkomt. In het bloed van schoolkinderen met worminfecties werden verhoogde aantallen IL-10 producerende B cellen met een hoge CD1d expressie gevonden in vergelijking met niet-geïnfecteerde kinderen. Na een behandeling tegen worminfecties daalden het aantal IL-10 producerende B cellen weer naar aantallen die ook in niet-geïnfecteerde kinderen waren aangetoond. Hiermee hebben we een directe relatie tussen *Schistosoma* en Breg celaanmaak aangetoond zowel in de muis als in de mens.

In **Hoofdstuk 3** hebben wij de beschermende functie van de B cellen uit de longen verder onderzocht. De B cellen uit de longen bleken geen kenmerken of functies te delen die tot nu toe aan Breg cellen waren toegekend. In celkweek met T cellen bleek dat B cellen uit geïnfecteerde dieren een verminderde capaciteit hadden om T celdeling en Th2 cellen aan te maken in vergelijking met B cellen uit allergische controle dieren. Dit suggereert dat B cellen via dit mechanisme zou kunnen bijdragen aan de bescherming tegen allergisch ontsteking tijdens een worminfectie. Het is nog onduidelijk via welk mechanisme de B cellen uit de longen dit bewerkstelligen en hiervoor is nog verder onderzoek nodig.

Met oog op een eventuele therapeutische toepassing van Breg cellen in de bescherming of genezing van allergische aandoeningen, is het belangrijk om te identificeren onder invloed van welke prikkels de Breg cellen worden geactiveerd of aangemaakt. Wormmoleculen of andere moleculaire structuren van micro-organismen kunnen herkend worden door receptoren, waarvan de "Toll-like" receptoren (TLR) een van de meest bekende receptoren zijn. Naast de ontstekingsreactie die opgewekt wordt na TLR herkenning, wordt de laatste jaren ook onderzoek gedaan naar de ontstekingsremmende reacties van TLR. Uit onderzoek blijkt dat activatie van B cellen via bepaalde TLR receptoren leidt tot het aanmaken of activeren van Breg cellen. Daarom hebben wij in **Hoofdstuk 4** in detail beschreven hoe B cellen afkomstig van mens of muis in reactie op verschillende TLR receptoren geanalyseerd en gevalideerd kunnen worden in kweekmodellen. Het is belangrijk om verschillende kweekmodellen te gebruiken om te bepalen of de gestimuleerde B cellen wel ontstekingsremmende signaalstoffen maken en of de cellen zich wel gedragen als functionele Breg cellen.

Met behulp van de informatie uit de voorgaande hoofdstukken wilden we bestuderen of het verhoogde aantal IL-10 producerende B cellen in mensen met *S. haematobium* infecties ook een functionele invloed had op T cellen (**Hoofdstuk 5**). In Gabon werd het bloed van jonge volwassenen met en zonder infectie onderzocht op de aanwezigheid van Breg cellen. Ook in deze studie

bleken geïnfecteerde personen meer B cellen te hebben die IL-10, maar ook TGF- β tot expressie brachten in vergelijking met B cellen van niet-geïnfecteerde personen. De celpopulatie CD1d⁺ B cellen bleek verantwoordelijk te zijn voor meer IL-10 expressie, terwijl een andere celpopulatie, de CD24⁺CD27⁺ B cellen, meer TGF- β op hun oppervlakte lieten zien tijdens infectie. Vervolgens hebben we onderzocht wat het effect was van deze verschillende Breg celpopulaties op de functie van T cellen. B cellen van geïnfecteerde donoren remden het uitscheiden van signaalstoffen door T cellen in vergelijking met B cellen van niet-geïnfecteerde donoren. Bovendien bleken de B cellen meer Treg cellen en IL-10 producerende T cellen te kunnen opwekken. Wanneer wij de CD1d⁺ populatie uit de totale B cel pool verwijderden, werd het percentage IL-10 producerende T cellen weer vergelijkbaar met die van mensen zonder infectie terwijl nog steeds verhoogde aantallen Treg cellen werden opgewekt. Dit betekent dat CD1d⁺ Breg cellen belangrijk zijn voor het versterken van het regulatoire afweersysteem door het vermeerderen van het aantal IL-10 producerende T cellen, terwijl een andere, nog onbekende Breg celpopulatie meer Treg cellen weet op te wekken.

Ten slotte is bestudeerd of de frequentie van regulatoire B cellen en de aanmaak van IL-10 afwijkt in patiënten met allergisch astma in vergelijking met gezonde individuen (**Hoofdstuk 6**). Wij vonden dat juist de CD24⁺CD27⁺ B cellen verminderd waren in aantal en in hun capaciteit om IL-10 te maken na blootstelling aan TLR-4 ligand LPS. Vervolgens bleek de vermindering in IL-10 producerende B cellen te leiden tot een functioneel defect in geheugen T cellen in de aanwezigheid van huisstofmijt allergenen: de T cellen maakten namelijk minder IL-10. Deze data impliceren dat een verminderde productie van IL-10 door B cellen, vooral de CD24⁺CD27⁺ populatie, kan leiden tot een verzwakte IL-10 productie in T cellen. Een verzwakte Breg celfunctie zou daardoor een mogelijk bijdrage kunnen leveren aan een verzwakte onderdrukking van overdreven allergische reacties zoals die in allergisch astma patiënten gevonden worden.

Conclusie

Het onderzoek beschreven in dit proefschrift heeft geleid tot een beter begrip hoe wormen het afweersysteem beïnvloeden en hoe zij via een verhoogde aanmaak van Breg cellen bescherming kunnen bieden tegen de ontwikkeling van astma in muizen. Momenteel bestaat er nog geen afdoende therapie voor allergisch astma. Wel is duidelijk dat verschillende witte bloedcellen die deel uitmaken van het ontstekingsremmende deel van het afweersysteem, waaronder de Breg cellen, verminderd voorkomen en hun functie verzwakt is in patiënten met allergische astma. Een nieuwe therapeutische strategie gericht op het versterken van het regulatoire deel van het afweersysteem via Breg cellen zou hoopgevend kunnen zijn om allergieën en astma te genezen of te voorkomen (**Hoofdstuk 7**). Daarom is het belangrijk om verder onderzoek te verrichten naar moleculen van wormen of signaaltransductieroutes die specifiek Breg cellen kunnen vermeerderen of activeren om zo een centrale plaats te kunnen innemen in een toekomstige therapie voor allergisch astma.

Dankwoord

Na vijf jaar promoveren komt een eind aan een groot hoofdstuk van mijn leven dat ik afsluit met dit mooie proefschrift. Het behalen van het doctoraat was net een achtbaan die heel snel voorbij ging met pieken, maar ook met wat dalen. Deze was niet blijven rollen zonder de steun, vertrouwen en interesse van mijn familie, vrienden en collega's.

Begeleiding: Als eerste wil ik mijn co-promotor en directe begeleidster, Hermelijn, bedanken. Ik heb het zeer gewaardeerd dat je tijdens mijn promotie altijd beschikbaar was voor het bespreken van de laatste resultaten tot privé gerelateerde dingen. Door je aanstekelijke enthousiasme, positivisme en wetenschappelijke visie kwamen er mooie proeven uit die nu in dit proefschrift staan. Bedankt voor al je snelle (nachtelijke) input, steun bij zware momenten en wijsheiden. Beste Maria, mijn promotor, bedankt voor al je kritisch inzichten, adviezen en betrokkenheid in mijn project. De gegeven kans om veldwerk in Gabon uit te voeren was voor mij een spannende, maar ook onvergetelijke mooie ervaring zowel wetenschappelijk als persoonlijk. Ik draag nu een stukje Gabon in mijn hart mee. Veel dank hiervoor.

Paranimfen: Arifa, dankzij jouw persoonlijkheid, steun, grapjes, en inzet voor het onderzoek werden onze lange sectie-dagen in het lab wel erg aangenaam en gezellig. Leonie; het is erg fijn om een naaste vriendin te hebben om de grappige en moeilijke momenten te bespreken van onze OIO-periode. Ik ben erg blij en dankbaar dat jullie mij willen bijstaan op de verdediging.

Foreign collaborations: It was a wonderful experience to visit the labs of Prof. D. Gray (University of Edinburgh, UK) and Prof P.G. Kremsner and Dr. A. A. Adegnika (Centre de Recherches Médicales de Lambaréné, Gabon). Thanks for the opportunity to collaborate.

Samenwerkingen: Verder wil ik al mijn parasitologie collega's bedanken voor het genereren van een fijne omgeving op werk en daarbuiten. For my (international) T5-48 crew (Abena, Anouk, Cua, Dian, Eddy, Firdaus, Honorine, Katja, Linda, Łucja, Maria, Simone, Ulysse and Yenny); Thank you so much for the multicultural experience, sharing PhD-student difficulties and joy. I am also very glad that the Breg work will be continued by the "Breg-girls" Simone and Katja. Beste Anouk, Moniek en Maurice, het was leuk om met jullie in de personeelsvereniging te zitten en het PARA-ontvoer-de-professor-labuitje te organiseren. Ook heb ik studenten (deels) onder mijn hoede gehad: Montse, Tyrill, Wouter, Eva, Eline, Tessa, Leonie, en Luke. Ook al was het de bedoeling om jullie op te leiden, van ieder van jullie leerde ik iets nieuws en het was leuk om de progressie van jullie wetenschappelijke inzicht te zien groeien. Heel veel succes in de toekomst. Het



LUMC is ondertussen ons-kent-ons, daarom wil ik graag de mannen Marcel, Roel, Bram en Richard bedanken voor jullie luisterend oor, gezelligheid, en pauzes met iets lekkers. Het is bijzonder jullie te hebben leren kennen.

Voor de emotionele ondersteuning

Lieve vrienden, jullie zorgen soms bewust of niet bewust voor de nodige uitlaatklep momenten, een luisterend oor, en afleiding. De OIO periode was niet altijd makkelijk en daarom dank aan ieder, die er voor me was. In het bijzonder wil ik een paar vrienden bedanken. Lieve Angela, Inge, Henry, Marianne, Ronald, Ylva en Willeke bedankt voor jullie ontspanning en gezelligheid. Met jullie afspreken is altijd een feest, zo hoort het ook te zijn! Bedankt Laura voor het weekje Boedapest toen ik er hard aan toe was en m'n ei altijd kwijt kon bij je. Bedankt voor ICT support toen de stress hoog opliep omdat mijn laptop continu crashte, Johan, en de gezellig filmavonden samen met Hilde. Ook dank aan Moniek, Rianne en Riet voor de relativerende, fijne gesprekken.

Als laatste en ook wel het belangrijkste is dank aan mijn familie en vriend. Lieve pap, mam en Charlotte, de weg naar deze titel had ik nooit kunnen doorlopen zonder jullie steun, liefde, aanwezigheid, vertrouwen en toewijding. Ook al is mijn werk moeilijk te bevatten, dit boekje is voor en door jullie tot stand gekomen. Lieve Jan, jouw grapjes, adviezen en buddy-skills brachten ontspanning en plezier precies op de goede momenten. Bedankt voor alle liefde, begrip en steun tijdens de allerlaatste loodjes, want die wogen echt het zwaarst.

Curriculum Vitae

Elisabeth Petronella Maria (given name Luciën) van der Vlugt was born on September 25th 1985 in Ter Aar, the Netherlands. She attended secondary school at the “Scala College” in Alphen aan den Rijn, where she passed her VWO exam in 2003. In that same year she started her study Biomedical Sciences at the University of Leiden. During her education, she carried out three research projects at the departments of Tumor Immunology, Medical Microbiology and Parasitology (LUMC). In December 2008, Luciën received her master degree (M.Sc) in Biomedical Sciences at the University of Leiden, the Netherlands.

After her graduation, her last internship project turned into a PhD program at the department of Parasitology under supervision of Prof. Dr. Maria Yazdanbakhsh and Dr. Hermelijn H. Smits. Her research project was part of a program aiming at understanding interactions between the host and helminth infections and their subsequent role in the protection against allergic disorders. She focused at the role of helminth-induced IL-10-producing regulatory B (Breg) cells in both murine models and in humans. During her training period, she visited the Centre de Recherches Médicales de Lambaréné in Gabon for three months, where she studied Breg cells in peripheral blood of *S. haematobium*-infected and uninfected young adults. The findings obtained during her PhD training are presented in this thesis.

Currently, Luciën works as a postdoctoral researcher at the department of Pulmonology (LUMC) in the group of Prof. Dr. Pieter S. Hiemstra. Here, she is involved in a project investigating how farms can protect against childhood asthma, by studying the effect of farm dust on the airway epithelial cell function.



List of publications

1. **Luciën E.P.M. van der Vlugt**, Jeannot F. Zinsou *et al.*, IL-10-producing CD1d^{hi} B cells from *Schistosoma haematobium*-infected individuals induce IL-10-positive T cells and suppress effector T-cell cytokines, *J Infect Dis*, 2014 Oct; 210(8): 1207-16
2. **Luciën E.P.M. van der Vlugt**, Simone Häberlein *et al.*, Toll-like receptor ligation for the induction of regulatory B cells, *Methods in Molecular Biology*, published by Humana Press, Chapter 10, 2014 July; 1190: 127-41
3. **Luciën E.P.M. van der Vlugt***, Eline Mlejnek* *et al.*, CD24^{hi}CD27⁺ B cells from patients with allergic asthma have impaired regulatory activity in response to lipopolysaccharide, *Clin Exp Allergy*, 2014 April; 44(4): 517-28
4. Lucja A. Labuda, Ulysse Ateba-Ngoa, Eliane Nguone Feugap, Jorn J. Heeringa, **Luciën E. P. M. van der Vlugt** *et al.*, Alterations in peripheral blood B cell subsets and dynamics of B cell responses during human Schistosomiasis, *PLoS Negl Trop Dis*, 2013 March; 7(3)
5. **Luciën E.P.M. van der Vlugt***, Susanne Sattler* *et al.*, In J.R. Kanwar, ed. Recent Advances in Immunology to Target Cancer, Inflammation and Infections. Chapter 9 Regulatory B cells - implications in allergy and autoimmunity, InTech, 2012 May, Chapter 9: 177-200
6. **Luciën E.P.M. van der Vlugt**, Lucja A. Labuda *et al.*, Schistosomes induce regulatory features in human and mouse CD1d^{hi}B cells: inhibition of allergic inflammation by IL-10 and regulatory T cells, *PLoS One*, 2012 Feb; 7(2)
7. Alwine A. Hellingman, **Luciën E.P.M. van der Vlugt** *et al.*, A limited role for regulatory T cells in post-ischemic neovascularization, *J Cell Mol Med*, 2012 Feb; 16(2): 328-36
8. Leonie Husaarts, **Luciën E.P.M. van der Vlugt** *et al.*, Regulatory B-cells induction by helminths: implications for allergic disease, *J Allergy Clin Immunol*, 2011 Oct; 128(4): 733-9

* These authors contributed equally to this work