

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.01.006

## IRF5 调控 AChR 特异性 T 细胞参与 EAMG 疾病发生、发展的实验研究 \*

孔庆飞<sup>1</sup> 张晓莉<sup>2</sup> 朱伟<sup>2</sup> 王丹丹<sup>1</sup> 曲思盈<sup>1</sup> 崔英哲<sup>1</sup> 敬佳<sup>1</sup> 穆莉莉<sup>1</sup> 李呼伦<sup>1Δ</sup>

(1 哈尔滨医科大学神经生物学教研室 黑龙江 哈尔滨 150081; 2 牡丹江医学院 黑龙江 牡丹江 157000)

**摘要 目的:** 体内外实验探讨干扰素调节因子 5 (Interferon regulatory factor 5, IRF5) 在乙酰胆碱受体 (Acetylcholine Receptor, AChR) 特异性 T、B 细胞中的表达情况以及与实验性自身免疫性重症肌无力 (Experimental Autoimmune Myasthenia Gravis, EAMG) 疾病的发生存在的可能关系。**方法:** ELISA 法检测不同发病时相大鼠血清中 IRF5 的含量; 流式细胞仪法检测早期晚期发病时相 CD4<sup>+</sup>T 细胞以及 CD45R<sup>+</sup>B 细胞中 IRF5 的表达情况; QPCR 法及 Western blotting 法分别检测体外 AChR 刺激不同时间点的 T、B 细胞中 IRF5 的 mRNA 和蛋白水平的表达差异。**结果:** 血清学检测结果显示, IRF5 高表达于 EAMG 大鼠的晚期发病时相的血清中, 并随着疾病进程的不断加重呈现逐渐增高的表达, 与 CFA 对照组大鼠相比较差异显著, 有统计学意义 (\*\*\*,  $P < 0.001$ ); 流式结果表明, 来自 EAMG 大鼠早、晚期发病时相的无论是淋巴结还是脾脏中的 AChR 特异性 T 细胞均高表达 IRF5, 且与 CFA 对照组相比较, 有统计学差异, 而 B 细胞中 IRF5 的表达即便是在晚期发病时相也与 CFA 对照组无明显区别; QPCR 结果发现, EAMG 晚期发病时相的 AChR 特异性 T 细胞在经过 AChR 体外刺激 0 h, 72 h 后, 均可见 IRF5 mRNA 水平的高表达, 而 B 细胞中 IRF5 的 mRNA 水平则在两组中无统计学差异; Western blotting 结果进一步证实, IRF5 蛋白水平在 AChR 特异性 T 细胞中呈现高表达。**结论:** IRF5 是通过对 AChR 特异性 T 淋巴细胞的调控进而参与 EAMG 疾病的发生和发展过程的。

**关键词:** 重症肌无力; 干扰素调节因子 5; 实验性自身免疫性重症肌无力; 乙酰胆碱受体

**中图分类号:** R-33; R746.1; R392.12 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-6273(2018)01-27-05

## IRF5 was involved in the Occurrence and Development of EAMG via Regulating AChR-specific T cells\*

KONG Qing-fei<sup>1</sup>, ZHANG Xiao-li<sup>2</sup>, ZHU Wei<sup>2</sup>, WANG Dan-dan<sup>1</sup>, QU Si-ying<sup>1</sup>, CUI Ying-zhe<sup>1</sup>, JING Jia<sup>1</sup>, MU Li-li<sup>1</sup>, LI Hu-lun<sup>1Δ</sup>

(1 Harbin Medical University, Neurobiological Department, Harbin, Heilongjiang, 150081, China;

2 Mudanjiang Medical University, Mudanjiang, Heilongjiang, 157000, China)

**ABSTRACT Objective:** To explore the expression of IRF5 on AChR-specific T and B cells, as well as the potential relationship between IRF5 and EAMG occurrence via both in vivo and in vitro tests. **Methods:** The contents of IRF5 in serum at different phases of disease were detected by ELISA. The expression of IRF5 on CD4<sup>+</sup>T cells and CD45R<sup>+</sup>B cells at both early and late phases of this disease was measured by flow cytometry. QPCR and western blotting were selected to evaluate IRF5 mRNA and protein expression levels on AChR-specific T and B cells after different time of AChR incubation. **Results:** Compared with CFA group, IRF5 highly expressed in the serum of the late phase of EAMG rats, and IRF5 in serum presented a gradual increase in expression increased with the severer process of EAMG disease, (\*\*\*,  $P < 0.001$ ). Flow data showed that, AChR-specific T cells from lymph nodes and spleen expressed higher levels of IRF5 compared with that of CFA group (\*\*,  $P < 0.01$ , \*\*\*,  $P < 0.001$ ), while no significance of IRF5 expression between AChR-specific B cells and non-specific B cells from CFA rats. QPCR results replied that AChR-specific T cells from late phase of EAMG disease had more IRF5 mRNA expression with 0 h and 72 h AChR in vitro incubation, while no difference was found in AChR-specific B cells, compared with cells from CFA rats. What's more, we also detected more IRF5 protein expression levels in AChR stimulated T cells. **Conclusion:** IRF5 was involved in the occurrence and development of EAMG via regulating AChR-specific T cells.

**Key words:** Myasthenia Gravis; Interferon regulatory factor 5; Experimental Autoimmune Myasthenia Gravis; Acetylcholine Receptor

**Chinese Library Classification (CLC):** R-33; R746.1; R392.12 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2018)01-27-05

## 前言

重症肌无力(Myasthenia Gravis, MG)是 B 细胞介导、T 细胞依赖的自身免疫性疾病, 尽管其抗原抗体较为明确, 但其具体发病机制及相关的治疗手段仍然是医学工作者的研究重

点。研究表明 T 细胞、B 细胞以及巨噬细胞等免疫细胞均参与了 MG 疾病的发生和发展。而干扰素调节因子(Interferon regulatory factor, IRF)作为 I 型干扰素表达及信号的调控者, 在诸如类风湿性关节炎, 系统性红斑狼疮<sup>[1,2]</sup>, 多发性硬化<sup>[3]</sup>等自身免疫性疾病的发病过程中均发挥着不可忽视的致病作用。其中,

\* 基金项目: 黑龙江省教育厅科学技术研究重点项目(12541Z008)

作者简介: 孔庆飞(1982-), 博士, 副教授, 主要从事神经免疫学的工作, E-mail: kqfangel@hrbmu.edu.cn

Δ 通讯作者: 李呼伦(1975-), 博士, 教授, 从事神经生物学, 神经免疫学的工作, E-mail: lihl@hrbmu.edu.cn

(收稿日期: 2017-06-11 接受日期: 2017-06-30)

IRF5 高表达于促炎性巨噬细胞中,可作为炎症发生过程中促炎性巨噬细胞的表面标志物,其首先被发现能够诱导 I 型干扰素以及促炎性细胞因子的分泌<sup>[4]</sup>,随即研究者证实了 IRF5 的这种促炎性作用是通过 Toll 样受体信号通路实现的<sup>[5]</sup>。IRF5 同样也参与核苷酸结合寡聚化结构域 2 (nucleotide-binding oligomerization domain 2, NOD2) 的下游包括 DNA 损伤, Fas 配体, TRAIL 等的凋亡信号通路<sup>[6]</sup>。IRF5 能够促进 Th1/Th17 细胞的免疫反应,以及 LPS 刺激的 M1 型巨噬细胞的极化<sup>[4]</sup>。IRF5 基因缺失能够缓解多种动物模型疾病严重程度<sup>[7,8]</sup>。因此, IRF5 在免疫细胞功能发挥以及自身免疫性疾病的发病过程中作用不同忽视。那么,作为多种免疫细胞参与的自身免疫性疾病之一, MG 的疾病进展过程中是否有 IRF5 的参与,其角色如何,目前尚未见相关的研究报道。

## 1 材料与方法

### 1.1 实验材料

1.1.1 实验动物 健康纯系的 Lewis 雌性大鼠, 体重约 140-150 g, 购买于北京维通利华实验动物技术有限公司。

1.1.2 试剂及仪器 结核菌素 (H37RA) 购自美国 Difco Laboratories; 不完全弗氏佐剂 (incomplete freund adjuvant, IFA), 大鼠来源的 AChR, rat-AChR<sub>α97-116</sub>, 购买于西安联美生物科技有限公司, IRF5 多克隆抗体购买于美国 proteintech, anti-rat-CD4-FITC, anti-rat-CD45R-FITC, anti-rat-IRF5-cy3 均购自 BD 公司 (美国), 兔抗大鼠 IgG 和辣根标记的山羊抗兔抗体, 均购自北京中杉。

### 1.2 实验方法

1.2.1 EAMG 实验动物模型的建立 将 Lewis 大鼠随机分为阴性对照组 (完全弗氏佐剂, complete freund's adjuvant, CFA) 和 EAMG 模型组。EAMG 组大鼠以 100 μL PBS + 100 μL IFA + 50 μg AChR + 2 mg H37RA/ 大鼠, 尾根部免疫。于免疫后第 30 天以 100 μL PBS + 100 μL IFA + 50 μg AChR/ 大鼠, 尾根部追加免疫一次。CFA 阴性对照组大鼠免疫方法同 EAMG 大鼠, 其中以 PBS 替代 AChR 补充至 200 μL<sup>[9]</sup>。

1.2.2 临床症状评定 依据 Lennon 分级法<sup>[9]</sup>, 隔天进行体重检测和临床症状双盲评定: 0 分: 无确定的肌无力现象; 1 分: 轻度活动减少, 撕咬抓取无力, 易疲劳; 2 分: 明显活动减少, 体重下降, 休息时身体呈隆起姿势, 头尾下垂, 前肢趾屈曲, 行走不稳, 震颤; 3 分: 严重的全身无力, 无抓取、撕咬动作, 身体震颤, 濒死状态; 4 分: 死亡。

1.2.3 流式细胞仪染色法 获取大鼠淋巴结和脾脏的单个细胞悬液, 体外 AChR 72 h 后, 分别用 CD4-FITC, CD45R-FITC, IRF5-cy3 按照胞内细胞因子染色试剂盒说明书进行染色, 细胞因子染色后 2 h 内上机检测。

1.2.4 ELISA 法 用 Coating buffer 稀释 IRF5 抗原至 3 μg/L 浓度包被 96 孔板 (Nunc, 丹麦), 100 μL/ 孔, 37 °C 孵育 2 h, 10 % 的 FCS 室温封闭 2 h。逐孔加入经 200 稀释后的不同时间点的动物血清, 4 °C 过夜。加入兔抗大鼠 IgG (1:2000 倍稀释) 100 μL/ 孔, 室温孵育 2 h; 加入二抗辣根标记的山羊抗兔 (1:5000 倍稀释) 室温孵育 1 h; 显色液显色, 并在 490 nm 波长下测定吸光度。

1.2.5 实时荧光定量 PCR 以 SYBR Green PCR 试剂盒和 7500 Real-Time PCR 检测系统 (Applied Biosystems) 检测不同处理后的 AChR 特异性 T、B 细胞中 IRF5 mRNA 的表达水平。引物名称及序列分别如下: IRF5, 正向引物序列 5'-GACATCC-CCAGTGACAAGCA-3', 反向引物序列 5'-AGAACACCTTG-CACTGACACA-3'; β-tubulin, 正向引物序列, 5'-AGGAGTAC-GATGAGTCCGGC-3', 反向引物序列 5'-AAGAAAGGGTG-TAAACGCAGC-3'。

1.2.6 Western blotting 法检测相关蛋白 获取分选后的淋巴结 CD4 细胞蛋白样本, 12 % 的分离胶和 4 % 的浓缩胶, 上样电泳, 转膜完成后将 PVDF 膜用 5 % 的脱脂奶粉摇床室温封闭 1 h。将相应的目的蛋白一抗及内参一抗 (IRF5, GAPDH) 用 TBST 稀释到合适的浓度后加到相应的膜上, 室温 2 h。TBST 洗涤 3 次。将碱性磷酸酶标记的相应的二抗以 TBST 稀释到适宜浓度后加到相应的膜上, 室温孵育 1 h。TBST 洗涤 3 次后, ECL 显色, 去离子水终止显色。扫膜, 分析整理数据。

### 1.3 数据统计

所有数据显示为均数 ± 标准差, 两组之间比较用 Student's t 检验, 三组及以上数据分析用单因素方差分析, 以 P < 0.05 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IRF5 高表达于 EAMG 晚期发病的动物血清中

如图 1A 所示为一免后第 12 天和第 50 天, 实验组与对照组动物血清中 IRF5 的含量, 可见, 在早期疾病阶段, 两组动物血清中 IRF5 的含量无差异, 而在晚期疾病阶段, IRF5 的血清含量显著升高, 并具有统计学意义 (\*, P < 0.05)。接下来, 我们留取免疫后第 6, 12, 18, 24, 30, 36 和 45 天的 CFA 对照组和 EAMG 模型组动物血清, 并检测整个发病过程中 IRF5 的血清动态变化过程, 结果如图 1B 所示, 在一免第三十天前, 两组实验动物中血清 IRF5 含量并无差异, 而在第 30 天后, EAMG 大鼠由于 AChR 的特异性肽段免疫, 而出现血清中 IRF5 的高含量, 且与对照组相比较, P < 0.001, 具有显著性统计学差异。结果提示, 血清的 IRF5 高含量出现在 EAMG 疾病的高峰期。

### 2.2 IRF5 高表达于 AChR 特异性 CD4<sup>+</sup>T 细胞中

IRF5 常见表达于巨噬细胞, 树突状细胞<sup>[10]</sup>等, 而在 T、B 细胞上是否有表达并未见相关报道。因此, 我们分别选取一免后第 12 天和 36 天的淋巴结细胞以及脾脏细胞, 进行 CD4-IRF5 以及 CD45R-IRF5 的染色, 用以分析 IRF5 在 AChR 特异性 T、B 细胞中的表达情况, 结果如图 2 所示, 可见, 无论免疫后 12 天还是 36 天, 淋巴结和脾脏来源的 AChR 特异性 CD4<sup>+</sup>T 细胞中均明显高表达 IRF5 (图 2A, 图 2C-D), 而即便是疾病出现典型的临床症状后 (一次免疫后的第 36 天), IRF5 无论是在淋巴结来源还是脾脏来源的 AChR 特异性的 B 细胞中并未见明显的高表达 (图 2B, 图 2D)。由此可见, IRF5 仅高表达于不同发病时向的 AChR 特异性 T 细胞中。

### 2.3 AChR 特异性 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 IRF5 的 mRNA 和蛋白均呈现高水平表达

为进一步予以验证, 我们将晚期发病时相的 EAMG 大鼠淋巴结和脾脏来源的 CD4<sup>+</sup>T 细胞、CD45R<sup>+</sup>B 细胞予以磁珠分

选后,并在体外进行 AChR 特异性刺激 72 h 后,进行 IRF5 的 mRNA 和蛋白水平的检测。结果如图 3A 所示,IRF5 mRNA 水平在未经 AChR 孵育和经过 AChR 72 h 孵育的 AChR 特异性 T 细胞均有明显的高表达,并且,AChR 体外刺激 72 h 后,与对照组相比较,差异更为显著(\*,  $P<0.05$ , \*\*\*,  $P<0.001$ ),然而,在 B 细胞中,无论是否经过 AChR 的特外刺激,IRF5 的 mRNA 表

达与对照组相比,均无显著差异。同时对于 IRF5 的蛋白水平,我们检测了 AChR 体外刺激 72 h 的 CD4<sup>+</sup>T 细胞中 IRF5 的蛋白表达,结果如图 3B 所示,可见,在 EAMG 组中,IRF5 的蛋白表达明显高于 CFA 对照组。结果提示,IRF5 无论是 mRNA 和蛋白水平,均显著高表达于 AChR 特异性 T 细胞中,与上一流式结果相吻合。

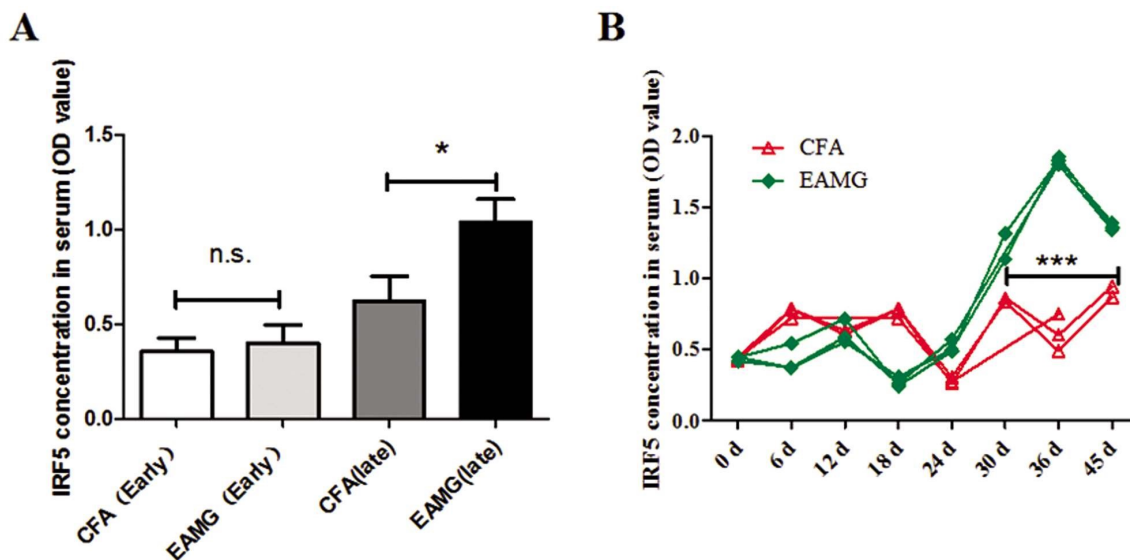


图 1 IRF5 在 EAMG 大鼠血清中的动态表达

\*,  $P<0.05$ , \*\*\*,  $P<0.001$ .

Fig.1 The dynamic expression of IRF5 in the serum of EAMG rats

\*,  $P<0.05$ , \*\*\*,  $P<0.001$ .

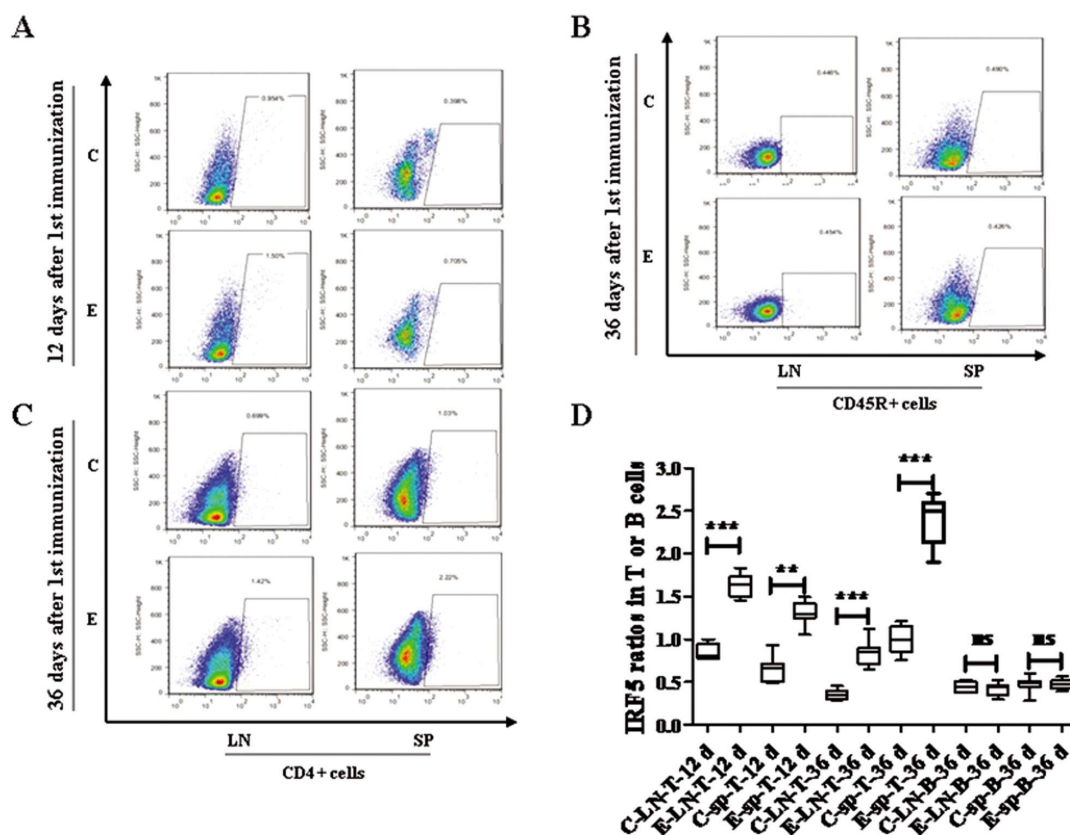


图 2 IRF5 在 AChR 特异性 T、B 细胞中的表达

\*\*,  $P<0.01$ , \*\*\*,  $P<0.001$ .

Fig. 2 The expression of IRF5 on AChR-specific T and B cells

\*\*,  $P<0.01$ , \*\*\*,  $P<0.001$ .

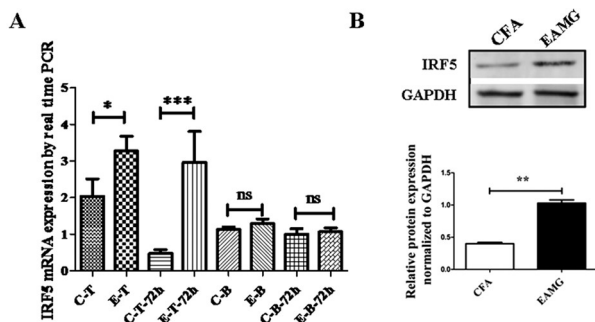


图3 IRF5在T、B细胞中mRNA和蛋白水平的表达

\*, P<0.05, \*\*, P<0.01, \*\*\*, P<0.001.

Fig. 3 IRF5 mRNA and protein expression levels on AChR-specific T and B cells

\*, P<0.05, \*\*, P<0.01, \*\*\*, P<0.001.

### 3 讨论

重症肌无力(Myasthenia Gravis, MG)是一种发生在神经肌肉接头处(neuromuscular junction, NMJ)由自身抗体介导的器官特异性自身免疫性疾病,乙酰胆碱(Acetylcholine receptor, AChR)特异性T细胞重新被激活并辅助B细胞产生大量与神经肌肉接头处AChR高效结合的特异性抗体,导致神经肌肉接头处传递障碍,是疾病发生的主要因素<sup>[11-13]</sup>,提示,MG是由抗原-抗体反应介导的自身免疫性疾病。因此,B细胞的抗体分泌功能在MG疾病发生过程中担负着不可替代的致病作用。然而,在针对MG的研究过程中,尤其是针对血清AChR抗体阳性的MG患者的研究,人们发现:T细胞是疾病的始动者,没有T细胞的辅助,单纯的B细胞是无法诱导疾病发生的<sup>[14-16]</sup>。

而干扰素调节因子(Interferon regulatory factor, IRF)作为I型干扰素表达及信号的调控者,目前在哺乳动物中已经被认定其家族的至少9个成员(IRF1, IRF2, IRF3, IRF4, IRF5, IRF6, IRF7, IRF8, IRF9)。近年来的研究显示,IRF5在多种自身免疫性疾病的发病过程中均发挥着不可忽视的致病作用,然而,在MG及其动物模型EAMG中,IRF5是否参与,作用如何,并未见相关报道。因此,我们首先检测了模型组动物血清中IRF5的含量,如结果2.1所示,血清的IRF5高含量出现在EAMG疾病的高峰期,并且与CFA对照组相比较,具有显著性差异,提示IRF5在B细胞介导、T细胞依赖的自身免疫性疾病中也有参与。

研究证实,EAMG实验动物模型发病过程中,T、B细胞是两种关键性致病细胞,其中B细胞作为抗体分泌细胞,针对AChR的特异性抗体分泌,是本病发生的关键性步骤,而T细胞对B细胞的辅助性作用也是B细胞抗体分泌功能必不可少的过程,那么,IRF5是否同样表达于AChR特异性的B细胞、T细胞?结果如图2所示,无论是来源于淋巴结还是脾脏的AChR特异性CD4<sup>+</sup>T细胞在疾病模型建立的第12天和36天,均明显高表达IRF5,且与对照组相比较具有统计学差异,然而,来源于淋巴结或者脾脏的即便是在免疫后的第36天的AChR特异性B细胞中,其IRF5的表达与对照组相比并无差异,可见IRF5仅高表达于不同发病时相的AChR特异性T细胞中。为进一步证实IRF5的mRNA和蛋白水平在AChR特异性T、B细胞中的表达情况,本研究中对AChR特异性的T、B

细胞进行体外72h的AChR刺激,并收集刺激前后的细胞予以QPCR和western blotting检测,结果如图3A显示,IRF5的mRNA表达水平在未经AChR孵育和经过AChR 72h孵育的AChR特异性T细胞均有明显的高表达,与对照组相比较,差异显著,同时对于IRF5的蛋白水平,我们检测了AChR体外刺激72h的CD4<sup>+</sup>T细胞中IRF5的蛋白表达,结果如图3B所示,AChR特异性T细胞中IRF5的蛋白表达明显高于CFA对照组。然而,在B细胞中,无论是否经过AChR的额外刺激,IRF5的mRNA表达与对照组相比,均无显著差异。提示,IRF5无论是mRNA和蛋白水平,均显著高表达于AChR特异性T细胞中。结合上述结果,说明,IRF5仅高表达于AChR特异性T细胞中,且,IRF5在T细胞中的高表达,对于B细胞的抗体分泌具有非常必要的辅助作用。

以往的研究证实,表达IRF5的巨噬细胞能够促进T细胞的增殖和活化,并通过IL-12或IL-23的分泌使活化后的T细胞向Th1或Th17细胞分化<sup>[4]</sup>;同时,IRF5还能够直接促进Th1/Th17细胞的免疫反应,IRF5<sup>-/-</sup>的小鼠Th1细胞的功能发生缺陷,且IRF5<sup>-/-</sup>的狼疮性小鼠体内I型IFN表达显著降低;而IRF5基因缺失后,Th2细胞因子分泌水平则显著增高。IRF5基因缺失小鼠还表现为致死性中毒性休克抵抗<sup>[17,18]</sup>。此外,IRF5的mRNA水平被发现高表达于自身免疫性疾病好发的小鼠脾细胞中,而IRF5基因缺失小鼠中Th1和Th17细胞因子的表达则发生严重损伤。这些结果提示,针对IRF5的免疫疗法将能够有效影响自身免疫性疾病的病程。同时,针对临床系统性红斑狼疮患者的研究发现,其体内的血细胞中IRF5也同样呈现高表达,可见,IRF5对于自身免疫性疾病有着非常重要的价值。IRF5基因缺失能够缓解多种动物模型的疾病严重程度<sup>[17,19]</sup>。因此,IRF5被认为是自身免疫性疾病以及其他炎症性疾病的潜在治疗靶点<sup>[20]</sup>。

然而,IRF5在重症肌无力及其动物模型中担任怎样的角色,目前仍无相关的研究。我们的研究结果中高水平的血清IRF5含量出现在EAMG疾病动物模型的疾病晚期阶段,且IRF5的表达差异,仅体现在AChR特异性的T淋巴细胞中,而非AChR特异性的B淋巴细胞中,可见,IRF5是通过对AChR特异性T淋巴细胞的调控进而参与EAMG疾病的发生和发展过程的。尽管,MG是目前抗原抗体最为明确的自身免疫性疾病,其发病过程仍有诸多环节是我们无法解释的,且目前尚无有效治疗手段,因此,搞清楚MG发病机理,寻找有效治疗方案,对临床MG患者的康复有着极为重要的意义。

### 参考文献(References)

- [1] Manni M, Gupta S, Nixon BG, et al. IRF4-Dependent and IRF4-Independent Pathways Contribute to DC Dysfunction in Lupus [J]. PLoS One, 2015, 10(11): e0141927
- [2] Xu WD, Pan HF, Xu Y, et al. Interferon regulatory factor 5 and autoimmune lupus[J]. Expert Rev Mol Med, 2013, 15: e6
- [3] Fitzgerald DC, O'Brien K, Young A, et al. Interferon regulatory factor (IRF) 3 is critical for the development of experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. J Neuroinflammation, 2014, 11: 130
- [4] Krausgruber T, Blazek K, Smallie T, et al. IRF5 promotes inflammatory macrophage polarization and TH1-TH17 responses [J]. Nat Immunol,

- 2011, 12(3): 231-238
- [5] Saigusa R, Asano Y, Taniguchi T, et al. Multifaceted contribution of the TLR4-activated IRF5 transcription factor in systemic sclerosis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2015, 112(49): 15136-15141
- [6] Chang Foreman HC, Van Scoy S, Cheng TF, et al. Activation of interferon regulatory factor 5 by site specific phosphorylation [J]. PLoS One, 2012, 7(3): e33098
- [7] Eames HL, Corbin AL, Udalova IA. Interferon regulatory factor 5 in human autoimmunity and murine models of autoimmune disease[J]. Transl Res, 2016, 167(1): 167-182
- [8] Feng D, Barnes BJ. Bioinformatics analysis of the factors controlling type I IFN gene expression in autoimmune disease and virus-induced immunity[J]. Front Immunol, 2013, 4: 291
- [9] Lennon VA, Lindstrom JM, Seybold ME. Experimental autoimmune myasthenia: A model of myasthenia gravis in rats and guinea pigs[J]. J Exp Med, 1975, 141(6): 1365-1375
- [10] Hammami A, Charpentier T, Smans M, et al. IRF-5-Mediated Inflammation Limits CD8<sup>+</sup> T Cell Expansion by Inducing HIF-1 $\alpha$  and Impairing Dendritic Cell Functions during Leishmania Infection[J]. PLoS Pathog, 2015, 11(6): e1004938
- [11] Gilhus NE. Myasthenia Gravis [J]. N Engl J Med, 2016, 375 (26): 2570-2581
- [12] Punga T, Bartoccioni E, Lewandowska M, et al. Disease specific enrichment of circulating let-7 family microRNA in MuSK<sup>+</sup> myasthenia gravis[J]. J Neuroimmunol, 2016, 292: 21-26
- [13] Li Y, Zhang Y, Cai G, et al. Anti-LRP4 Autoantibodies in Chinese Patients with Myasthenia Gravis[J]. Muscle Nerve, 2017
- [14] Zhang GX, Xiao BG, Bakhiet M, et al. Both CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>T cells are essential to induce experimental autoimmune myasthenia gravis [J]. The Journal of experimental medicine, 1996, 184(2): 349-356
- [15] Shi FD, He B, Li H, et al. Differential requirements for CD28 and CD40 ligand in the induction of experimental autoimmune myasthenia gravis [J]. European journal of immunology, 1998, 28 (11): 3587-3593
- [16] Baggi F, Annoni A, Ubiali F, et al. Breakdown of tolerance to a self-peptide of acetylcholine receptor  $\alpha$ -subunit induces experimental myasthenia gravis in rats [J]. J Immunol, 2004, 172 (4): 2697-2703
- [17] Ouyang X, Negishi H, Takeda R, et al. Cooperation between MyD88 and TRIF pathways in TLR synergy via IRF5 activation [J]. Biochem Biophys Res Commun, 2007, 354(4): 1045-1051
- [18] Takaoka A, Yanai H, Kondo S, et al. Integral role of IRF-5 in the gene induction programme activated by Toll-like receptors[J]. Nature, 2005, 434(7030): 243-249
- [19] Feng D, Yang L, Bi X, et al. Irf5-deficient mice are protected from pristane-induced lupus via increased Th2 cytokines and altered IgG class switching[J]. Eur J Immunol, 2012, 42(6): 1477-1487
- [20] Ban T, Sato GR, Nishiyama A, et al. Lyn Kinase Suppresses the Transcriptional Activity of IRF5 in the TLR-MyD88 Pathway to Restrain the Development of Autoimmunity [J]. Immunity, 2016, 45 (2): 319-332
- 
- (上接第 26 页)
- [21] Seo EJ, Efferth T. Interaction of antihistaminic drugs with human translationally controlled tumor protein (TCTP) as novel approach for differentiation therapy[J]. Oncotarget, 2016, 7(13): 16818-16839
- [22] Amson R, Pece S, Lespagnol A, et al. Reciprocal repression between P53 and TCTP[J]. Nat Med, 2011, 18(1): 91-99
- [23] Li S, Chen M, Xiong Q, et al. Characterization of the Translationally Controlled Tumor Protein (TCTP) Interactome Reveals Novel Binding Partners in Human Cancer Cells[J]. J Proteome Res, 2016, 15(10): 3741-3751
- [24] Kumar R, Maurya R, Saran S. Identification of novel inhibitors of the translationally controlled tumor protein (TCTP): insights from molecular dynamics[J]. Mol Biosyst, 2017, 13(3): 510-524
- [25] Bae SY, Kim HJ, Lee KJ, et al. Translationally controlled tumor protein induces epithelial to mesenchymal transition and promotes cell migration, invasion and metastasis[J]. Sci Rep, 2015, 5: 8061
- [26] Jung J, Kim HY, Maeng J, et al. Interaction of translationally controlled tumor protein with Apaf-1 is involved in the development of chemoresistance in HeLa cells[J]. BMC Cancer, 2014, 14: 165
- [27] Sirois I, Raymond MA, Brassard N, et al. Caspase-3-dependent export of TCTP: a novel pathway for antiapoptotic intercellular communication[J]. Cell Death Differ, 2011, 18(3): 549-562
- [28] Huang Q, Li F, Liu X, et al. Caspase 3-mediated stimulation of tumor cell repopulation during cancer radiotherapy [J]. Nat Med, 2011, 17 (7): 860-866
- [29] Lavoie JR, Ormiston ML, Perez-Iratxeta C, et al. Proteomic analysis implicates translationally controlled tumor protein as a novel mediator of occlusive vascular remodeling in pulmonary arterial hypertension[J]. Circulation, 2014, 129(21): 2125-2135