

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2017.30.033

重症肌无力风险基因挖掘*

孙雪松 王 宁 李 杰 王 娜 王健健 王丽华[△]

(哈尔滨医科大学附属第二医院神经内科 黑龙江 哈尔滨 150081)

摘要 目的:挖掘重症肌无力(Myasthenia gravis, MG)可能的风险基因。**方法:**通过人工挖掘在 PubMed 数据库收集重症肌无力风险基因,通过 Gene 数据库获取重症肌无力风险基因编号,用以表示基因或者其相应的蛋白。应用基因功能分析软件 DAVID(<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>)对重症肌无力风险基因进行 KEGG 通路富集分析,挖掘重症肌无力风险通路,进而对任意两个通路进行关联分析。应用基因功能分析软件 DAVID 的 Gene Ontology,对 MG 风险基因进行功能注释,以 $P<0.01$ 来判定注释是否有显著意义。**结果:**(1)本研究挖掘出 97 个重症肌无力的风险基因,KEGG 基因富集分析共筛选出 44 条与重症肌无力显著相关的通路,主要包括多种自身免疫性疾病相关通路、信号转导相关通路、肿瘤相关通路、抗原的加工提呈通路等等。(2)以上 44 条风险通路两两通路间均具有相关性($P<0.01$)。**结论:**本研究共挖掘出 44 条重症肌无力风险通路,8 个重症肌无力风险基因,分别为: NF- κ B、TNFR、MEK、AP-1、Raf、MEK1/2、MSK1、TAPBP。其中, MEK 同时出现在多个风险通路中,考虑其风险性更高。

关键词:重症肌无力;风险基因;通路

中图分类号: R746.1; R-058 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2017)30-5944-06

Identification of the Risk Genes of Myasthenia Gravis*

SUN Xue-song, WANG Ning, LI Jie, WANG Na, WANG Jian-jian, WANG Li-hua[△]

(Department of neurology, The second affiliated hospital of Harbin medical university, Harbin, Heilongjiang, 150081, China)

ABSTRACT Objective: To explore the possible risk genes of myasthenia gravis. **Methods:** In this study, the risk genes of myasthenia gravis were collected by artificial digging in the PubMed database. The myasthenia gravis risk genes number were obtained from the Gene database to express the gene or its corresponding protein. KEGG pathway enrichment analysis of myasthenia gravis risk genes were carried out by using gene functional analysis software DAVID (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>), and the risk genes of myasthenia gravis was explored, and then any two pathways were analyzed. The MG risk gene were functionally annotated with the gene functional analysis software DAVID gene Ontology. $P<0.01$ was used to determine whether the note has significant significance. **Results:** (1) In this study, 97 risk genes of myasthenia gravis were excavated. KEGG gene enrichment analysis was used to screen out 44 channels which were related to myasthenia gravis, including a variety of autoimmune diseases related pathways, signal transduction Pathways, tumor-related pathways, antigen processing pathways and so on. (2) Correlation analysis of these 44 risk pathways was conducted, we found that there is a correlation between the two pathways. **Conclusion:** A total of 44 myasthenia gravis risk pathways and 8 myasthenia gravis risk genes were identified: NF- κ B, TNFR, MEK, AP-1, Raf, MEK1/2, MSK1, TAPBP. MEK appeared simultaneously in multiple risk pathways, which is taking into having a higher risk of myasthenia gravis.

Key words: Myasthenia gravis; Risk gene; Pathway

Chinese Library Classification(CLC): R746.1; R-058 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2017)30-5944-06

前言

重症肌无力(Myasthenia gravis, MG)是一种神经-肌肉接头传递功能障碍的获得性自身免疫疾病,临床主要表现为部分或全身骨骼肌无力和易疲劳,活动后症状加重,经休息和胆碱酯酶抑制剂治疗后症状减轻。其起病隐匿,缓解与复发交替,多数病例迁延数年致数十年,致残致死率高,威胁患者健康。近年来,越来越多的研究显示遗传因素和环境因素与 MG 的发病密

切相关。MG 的发病原因和遗传机制复杂,是一种较少见的获得性多基因病。近年来,从群体遗传学角度进行 MG 遗传机制探讨也在不断开展,为我们从分子遗传学角度了解 MG 发病机制积累了大量信息。本研究旨在通过现有已知的重症肌无力风险基因,通过生物信息学方法挖掘出更多的重症肌无力风险基因,以期进一步揭示重症肌无力的遗传发病机制。

1 材料与方法

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81571166, 81371324);2016 年哈尔滨市应用技术与开发计划项目(优秀学科带头人):

2016RAXYJ067

作者简介:孙雪松(1986-),女,硕士研究生,住院医师,研究方向:神经免疫疾病,电话:13796060693, E-mail: sun.xuesong1986@163.com

[△] 通讯作者:王丽华,女,主任医师/三级教授,研究方向:神经免疫疾病及脑血管疾病, E-mail: 1060264656@qq.com

(收稿日期:2017-06-15 接受日期:2017-07-06)

1.1 数据库信息

(1) 重症肌无力风险基因数据来自 PubMed 数据库, 基因名称统一时采用 NCBI 的 Gene 数据库。(2) 京都基因与基因组百科全书数据库^[2](Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG) 是系统分析基因功能、基因组信息数据库, 整合了基因组学、生物化学以及系统功能组学的信息, 有助于把基因及表达信息作为一个整体进行研究。我们从该数据库获取人类通路数据。(3) 基因本体数据库^[3](gene ontology, GO) 是一个结构化的标准生物学模型, 涵盖了基因的细胞组分、分子功能以及生物学过程。我们对已获得的重症肌无力风险基因进行 GO 功能注释, 以 $P < 0.01$ 选取具有显著意义的注释, 获得一组重症肌无力显著相关的功能结点, 其中免疫注释显著性最高。

1.2 软件信息

(1) 采用 DAVID^[4] 软件分析基因富集分析和功能注释 (Gene Ontology, GO)。(2) 采用 R 包中包含通路基因数据信息及通路富集分析方法的 SubpathwayMiner 工具计算两通路之间的关联性分析。(3) 采用 SPSS 21.0 进行统计学分析。

1.3 方法

(1) 人工挖掘重症肌无力的风险基因: 在 PubMed 数据库中, 以 "myasthenia gravis" 为关键词检索 1980.1.1 至 2016.12.31 期间内收录的英文文献, 共检索到了 6682 个 PubMed 条目。纳入文献标准:(1) 样本量(外周血标本或胸腺标本) ≥ 5 例;(2) 可靠的生物学实验验证数据;(3) 检测基因表达的 mRNA 或蛋白质水平, 病例与对照之间存在显著性 ($P < 0.05$);(4) 检测基因中的 SNP 与 MG 显著关联, 包括 DNA、RNA 及蛋白质水平上, 使用 NCBI 的 Gene 数据库将其名称统一为

基因的名称。

(2) 基因富集分析和功能注释: 利用 NCBI 的 Gene 数据库将基因的编号统一为 Entrez Gene ID 来表示基因或者其相应的蛋白。应用基因功能分析软件 DAVID^[4] (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/>) 的 Functional Annotation Tool, 对 MG 风险基因进行 KEGG 基因富集分析, 挖掘 MG 相关的 pathways, 以 $FDR < 0.05$ 为标准筛选 MG 显著相关的 pathways。应用基因功能分析软件 DAVID 的 Gene Ontology, 对 MG 风险基因进行功能注释。以 $P < 0.01$ 为有显著意义的注释。

(3) 对重症肌无力风险基因显著富集的通路进行分析, 如果某个基因前后均为重症肌无力的风险基因, 则我们认为该基因也可能为重症肌无力的风险基因。

2 结果

本研究共挖掘出 97 个与 MG 相关的风险基因(见表 1), 提取 97 个风险基因在文献中的实验结果及所用样本大小与检测方法, 主要的检测方法有聚合酶链式反应(PCR), 聚合酶链反应-限制性片段长度多态性 (PCR-RFLP)、酶联免疫吸附分析 (ELISA)、免疫组化(immunohistochemical staining)、免疫共沉淀技术 (immunoprecipitation assay)、Northern blotting, TaqMan 探针方法等。

于 NCBI 的 Gene 数据库对以上风险基因进行功能注释, 利用 KEGG 基因富集分析共筛选出 44 条与重症肌无力显著相关的通路(见表 2), 主要包括多种自身免疫性疾病相关通路、信号转导相关通路、肿瘤相关通路、抗原的加工提呈通路等等。且这 44 条风险通路两两具有相关性。

表 1 重症肌无力的风险基因
Table 1 Risk genes of Myasthenia gravis

Gene	Gene ID	Reference	Gene	Gene ID	Reference
ERBB4	2066	21168922	FCGR3B	2215	9521619
MYC	4609	11282171	TAP2	6891	9062975
MAX	4149	11282171	IL-4	3565	8182116
ACHE	43	17272501			10809941
CCL21	6366	19847900	CNTFR	1271	11694333
CCL19	6363	19847900	IP-10/CXCL10	3627	15843529
LGALS8	3964	22683700	CXCR3	2833	15843529
MAPK1	5594	16272363	ESR1	2099	15661863
MAP3K1	4214	16272363	PRSS16	10279	15592422
MAP3K3	4215	16272363	TRB@ (sjTREC)	6957	14592884
MAP3K4	4216	16272363	MMP2	4313	21212676
MAP3K11	4296	16272363	MMP9	4318	21212676
BRAF	673	16272363	MMP3	4314	18262287
NRAS	4893	16272363			
HRAS	3265	16272363	KCNA4	3739	16182377
KRAS	3845	16272363	TNFSF13B	10673	18852352
DUSP1	1843	16272363			

表 1 重症肌无力的风险基因(续表 1)

Table 1 Risk genes of Myasthenia gravis

Gene	Gene ID	Reference	Gene	Gene ID	Reference
IL6	3569	16272363	AGER	177	22405771
CCL5	6352	16272363	NGF	4803	15763921
GZMB	3002	18675462	IGF1	3479	18254780
HLA-A	3105	15301866	IGF1R	3480	18254780
		14700596	TFRC	7037	11706095
		19278738	Bcl-2	596	8619530
		19490212			9130628
HLA-B	3106	15301866			11574213
		14700596	BAX	581	11574213
		19490212	MKI67	4288	11574213
HLA-C	3107	14700596	IL18	3606	12136075
HLA-DQA1	3117	14700596	CTLA-4	1493	16178018
		21917268			18088253
HLA-DQB1	3119	14700596	CHRNA1	1134	17687331
		21917268	CHRNA1	1140	9649579
HLA-DRB1	3123	19490212	CHRNA1	1144	14735155
IL32	9235	21487807	CHRNA1	1145	9649579
TNFRSF4	7293	16367941	CTSL2	1515	17869649
CD55	1604	19675582	FCGR2A	2212	14597109
IL2	3558	12646760			18071035
IL17A	3605	21755509	APOE	348	20644276
TLR4	7099	15972959	ADRB2	154	10606977
CXCL13	10563	20223524			10606977
TNF	7124	18071035	IFNG	3458	17509455
PTPN22	26191	16437561	IL-10	3586	1929902
		18533277			18071035
		19693092	IL-1A	3552	11777547
		19406179	IL2RB	3560	20728947
TGFB1	7040	22458981	IL4R	3566	22119518
IL1B	3553	9521608	LGALS1	3956	20728947
ENOX1	55068	22744667	HSP90B1	7184	21774995
TNFRSF11A	8792	4856525	CA 3	761	19301202
NFAT5	10725	5090074	IL-12B	3593	18054287
CAMTA1	23261	5090074	IL12A	3592	18054287
CXCR5	643	5466736	TNIP1	10318	23055271
GM-CSF [†] (CSF2)	1437	4761502	STAT4	6775	23055271
RXR3	6263	3990093	IKZF1	10320	23055271
CD226	10666	23055271	IRF5	3663	23055271
PTTG1	9232	23055271	NKX2-3	159296	23055271
FOXP3	50943	23228687	ORMDL3	94103	23055271

表 2 重症肌无力的风险通路
Table 2 Risk pathways of Myasthenia gravis

Category	Term	P-Value	FDR
KEGG_PATHWAY	Inflammatory bowel disease (IBD)	9.50E-23	1.10E-19
KEGG_PATHWAY	Cytokine-cytokine receptor interaction	1.40E-19	1.70E-16
KEGG_PATHWAY	Rheumatoid arthritis	6.30E-17	1.30E-13
KEGG_PATHWAY	Allograft rejection	6.80E-17	1.30E-13
KEGG_PATHWAY	Type I diabetes mellitus	4.70E-16	5.30E-13
KEGG_PATHWAY	Graft-versus-host disease	7.10E-16	8.00E-13
KEGG_PATHWAY	Leishmaniasis	1.20E-15	1.50E-12
KEGG_PATHWAY	Tuberculosis	8.50E-13	1.00E-09
KEGG_PATHWAY	HTLV-I infection	5.00E-11	6.10E-08
KEGG_PATHWAY	Autoimmune thyroid disease	2.60E-10	3.10E-07
KEGG_PATHWAY	MAPK signaling pathway	3.20E-09	3.90E-06
KEGG_PATHWAY	Proteoglycans in cancer	6.30E-09	7.50E-06
KEGG_PATHWAY	Hepatitis B	8.40E-09	1.00E-05
KEGG_PATHWAY	Influenza A	8.70E-09	1.00E-05
KEGG_PATHWAY	Chagas disease (American trypanosomiasis)	2.30E-08	2.80E-05
KEGG_PATHWAY	Intestinal immune network for IgA production	4.90E-08	5.90E-05
KEGG_PATHWAY	Malaria	6.90E-08	8.30E-05
KEGG_PATHWAY	African trypanosomiasis	7.20E-08	8.60E-05
KEGG_PATHWAY	Jak-STAT signaling pathway	8.20E-08	9.80E-05
KEGG_PATHWAY	Toxoplasmosis	8.70E-08	1.10E-04
KEGG_PATHWAY	Herpes simplex infection	1.40E-07	1.70E-04
KEGG_PATHWAY	T cell receptor signaling pathway	2.40E-07	2.90E-04
KEGG_PATHWAY	Bladder cancer	3.50E-07	4.20E-04
KEGG_PATHWAY	Hematopoietic cell lineage	4.80E-07	5.70E-04
KEGG_PATHWAY	Pertussis	2.00E-06	2.50E-03
KEGG_PATHWAY	Antigen processing and presentation	2.30E-06	2.70E-03
KEGG_PATHWAY	Measles	2.60E-06	3.10E-03
KEGG_PATHWAY	Toll-like receptor signaling pathway	3.10E-06	3.80E-03
KEGG_PATHWAY	Amoebiasis	3.10E-06	3.80E-03
KEGG_PATHWAY	Prostate cancer	6.90E-06	8.30E-03
KEGG_PATHWAY	PI3K-Akt signaling pathway	7.50E-06	9.00E-03
KEGG_PATHWAY	Chemokine signaling pathway	8.30E-06	1.00E-02
KEGG_PATHWAY	Neurotrophin signaling pathway	8.80E-06	1.10E-02
KEGG_PATHWAY	GnRH signaling pathway	8.90E-06	1.10E-02
KEGG_PATHWAY	Phagosome	9.20E-06	1.10E-02
KEGG_PATHWAY	Natural killer cell mediated cytotoxicity	1.00E-05	1.20E-02
KEGG_PATHWAY	Thyroid cancer	1.80E-05	2.10E-02
KEGG_PATHWAY	Asthma	2.10E-05	2.50E-02
KEGG_PATHWAY	FoxO signaling pathway	2.10E-05	2.60E-02

表 2 重症肌无力的风险通路(续表 2)
Table 2 Risk pathways of Myasthenia gravis

Category	Term	P-Value	FDR
KEGG_PATHWAY	TNF signaling pathway	2.70E-05	3.30E-02
KEGG_PATHWAY	Legionellosis	3.30E-05	4.00E-02
KEGG_PATHWAY	Prion diseases	3.40E-05	4.10E-02
KEGG_PATHWAY	Pathways in cancer	3.60E-05	4.30E-02
KEGG_PATHWAY	NOD-like receptor signaling pathway	3.70E-05	4.40E-02

3 讨论

重症肌无力是影响神经肌肉接头的自身免疫性疾病,是一种特异性抗体介导的神经肌肉接头功能障碍疾病^[5],其特征是免疫失调和(或)免疫增强^[6,7]。通过家族遗传性分析,目前已经明确 MG 是一种多基因参与的神经系统复杂疾病。在临床研究中, MG 患者的多种亚型分类和复杂的临床表现体现出较强的遗传异质性和基因多效性特点。本研究共挖掘出 97 个经过实验验证的重症肌无力风险基因,通过对这些基因进行功能注释,其组织学特异性在一定程度上提示了其可能的致病机制。在 Toll 样受体信号转导通路中,细胞外的脂多糖作用于细胞膜上的 TLR4 从而上调或下调 NF- κ B 基因,进而作用于 TNF- α ,同时, ERK1/2 通过 AP-1 作用于 TNF- α 。在重症肌无力患者中 TNF- α 可以作用在细胞因子及其网络中,通过激活 IL-6 产物来影响重症肌无力患者的免疫反应过程。有研究表明,重症肌无力患者中 Th1 细胞、Th1 细胞及其细胞因子 IL-1, IL-6, IL-17, IFN- γ 表达上调^[8]。在 T 细胞信号转导通路中, TNF- α 通过作用于 TNFR 来调控 MEK1 的表达。在 MAPK 信号转导通路中, Ras 作用于 Raf-1,进而影响 MEK 的表达,作用于 ERK。MEK1 被称为细胞外信号调节激酶,作为多个生化信号的整合点。这种蛋白激酶位于 MAP 激酶的上游,作为 MAP 激酶信号转导途径的重要组成部分,该激酶参与许多细胞过程,如增殖,分化,转录调节和发育。在 MHC I 通路中,在内质网内, MHC I 通过 TAPBP 作用于 TAP1/2。他们共同参与了自身免疫激活、神经递质作用减退等 MG 相关病理过程,存在分子层面的相互作用,特别是在同种异体移植排斥、细胞因子-细胞因子受体相互作用、1 型糖尿病、哮喘、自身免疫性甲状腺疾病,以及 T 细胞受体(TCR)信号转导通路、MAPK 信号转导通路、Toll 样受体信号转导通路、酪氨酸激酶-转录因子(janus kinase-signal transducer and activator of transcription, Jak-STAT) 信号转导通路、神经营养因子信号转导通路等的生物学过程中。这些通路之间密切相关,形成相互作用网络,以紧密的模块化方式共同参与 MG 的发生发展过程,体现了显著的分子遗传学特质,提示从分子相互作用水平探索 MG 发病机制的必要性。

CD4⁺T 细胞可以分为 Th1、Th2、Th17、Treg 细胞。Th1 分泌促炎因子 INF- γ 、IL-2、IL-12 等,主要促进细胞免疫。Th2 分泌抗炎因子 IL-4、IL-6、IL-10、IL-13 等,可促进 B 细胞生长、分化、产生抗体,促进体液免疫。Th17 细胞是一种区别于 Th1 及 Th2 细胞的,能够促进宿主清除病原体的免疫细胞,主要分泌促炎因子 IL-17。Treg 细胞被认为是一种抗炎细胞,可以移植细

胞免疫反应,以维持免疫系统稳态及自身免疫耐受。越来越多的研究表明, Treg 细胞对神经系统炎症反应部位的功能可能具有深远的影响^[9]。Tregs 主要通过抑制 Teff 细胞来调节外周的免疫反应,重症肌无力患者中 Treg 细胞的抑制作用较正常人显著降低^[10]。被移植了 Treg 细胞的 EAMG 大鼠可以显著减少了自身反应性 T 细胞的数量,降低 AChR 抗体水平,从而延缓疾病的进展^[11]。Treg 细胞的抑制作用主要由 IL-10 介导。IL-10 可以使绝大多数 EAE 模型的症状得到缓解^[12], IL-10 的疗法虽然在临床前模型中获得成功,它并没有在其他自身免疫疾病中进行临床试验,比如 Crohn's 病和风湿性关节炎^[13]。IL-27 可以通过 T-bet 信号激活 Th1 反应;然而,它也抑制 Th17 发育并诱导 IL-10 的产生^[14]。此外, TGF- β 可促使从 CD4⁺CD25⁻FoxP3⁻ Teff 细胞分化成 iTregs^[15]。穿孔素和粒酶 B 是 CXCR5⁺FoxP3⁺滤泡细胞 T(TFR)重要调节因子,对生发中心的 B 细胞有抑制作用,在 MG 患者显著减少^[16,17]。TGF- β 是产生 iTreg 的 Treg 细胞的有效激活剂。在培养实验性系统性红斑狼疮小鼠(NZB/W)的 B 细胞时, TGF- β 可以减少 B 细胞活化并降低自身抗体水平^[18]。CD46 也增强 CD25 表达,提高粒酶 B 的产生^[19]。在对于恶性疾病的研究中,发现 CCL17 与 Foxp3⁺细胞之间存在相关性,暗示 CCL17 可以招募 Treg 细胞^[20]。研究者发现尽管作用靶点不同,但 IFN- β 及 GA 可以显著增加 Treg 细胞数量^[21-24]。IL-35 可以上调 T 细胞程序性死亡蛋白 1 的抑制因子以及淋巴细胞活化蛋白 3^[25]。IL-35 并不由人 Treg 细胞的 FoxP3 产生,但对人 T 细胞的离体实验已经能够诱导 iT35 表明它可能在人体中具有类似的作用^[26]。CCL17 导致人体 Treg 离体增殖的募集和迁移^[27]。RANKL 的抑制阻碍 Treg 增殖,而 RANKL 上调可以诱导 Treg 细胞的增殖^[28]。虽然机理还不清楚, Treg 细胞可以增强那些不以其本身为作用靶点的药物的治疗效果,如吡啶斯的明,利妥昔单抗,硫唑嘌呤^[29,30]。免疫抑制伴随着 IL-17 的降低和 IL-6 的瞬时抑制,同时增加 IL-2 和 IL-4 的表达^[31]。研究表明,生发中心的 B 细胞及 T 细胞中表达的 CXCR5,可以使 CD4⁺T 细胞在重症肌无力患者中高表达,并且与疾病严重程度相关^[32]。利妥昔单抗可以与 B 淋巴细胞上的 CD20 结合,并引发 B 细胞溶解的免疫反应,治疗重症肌无力有效表明 B 细胞在重症肌无力患者的发病机制中占有一定作用^[33]。

基于对本研究挖掘出的重症肌无力风险通路分析,探索出 8 个位于重症肌无力两两风险基因之间的"特殊"基因,虽目前尚未有实验验证,但可能也与重症肌无力具有相关性的新基因,分别为: NF- κ B、TNFR、MEK、AP-1、Raf、MEK1/2、MSK1、

TAPBP。其中,MEK 同时出现在多个风险通路中,考虑其风险性更高,后续我们也将进行生物学实验验证。

近年来,分子遗传学的卓越发展,以及新一代测序技术的兴起,为我们了解 MG 的遗传易感性、发展更具个体化的临床治疗措施开辟了一个全新的领域。目前,对于 MG 风险基因的识别已经取得阶段性的成果,但距离阐明 MG 的遗传和发病机制还差很远。在今天人类基因结构和功能的研究成果日新月异的形势下,在识别新的、更为全面的 MG 风险基因的同时,通过对更多的 MG 候选基因型进行分析,剖析 MG 的发病机制,探索 DNA 层面的疾病亚型分类方法,明确疾病的基因分型与 MG 发病和预后之间的联系是未来 MG 临床研究的一个重要方向,也是目前将人类基因研究应用于临床医学的一个最现实的途径。在未来的研究中,从临床角度出发,把握分子遗传学研究与临床应用的结合将进一步推进我们对 MG 机制的阐明,提高 MG 的整体诊断和治疗水平,将相应的研究思路向其他疾病扩展,可促进复杂疾病的研究,指导临床治疗。

参考文献(References)

- [1] Jayam Trough A, Dabi A, Solieman N, et al. Myasthenia gravis: a review[J]. Autoimmune Dis, 2012, 2012: 874680
- [2] Kanehisa M, Goto S. KEGG: kyoto encyclopedia of genes and genomes[J]. Nucleic Acids Res, 2000, 28: 27-30
- [3] Ashburner M, Ball CA, Blake JA, et al. Gene ontology: tool for the unification of biology. The Gene Ontology Consortium[J]. Nat Genet, 2000, 25: 25-29
- [4] Huang da W, Sherman BT, Lempicki RA. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics resources[J]. Nat Protoc, 2009, 4: 44-57
- [5] Fraussen J, de Bock L, Somers V, et al. B cells and antibodies in progressive multiple sclerosis: Contribution to neurodegeneration and progression[J]. Autoimmun Rev, 2016, 15: 896-899
- [6] Mastorodemos V, Ioannou M, Verginis P, et al. Cell-based modulation of autoimmune responses in multiple sclerosis and experimental autoimmune encephalomyelitis: therapeutic implications [J]. Neuroimmunomod, 2015, 22: 181-195
- [7] Ha JC, Richman DP. Myasthenia gravis and related disorders: Pathology and molecular pathogenesis [J]. Biochim Biophys Acta, 2015, 1852: 651-657
- [8] Raphael I, Nalawade S, Eagar TN, et al. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases [J]. Cytokine, 2015, 74: 5-17
- [9] Keil M, Sonner JK, Lanz TV, et al. General control non-derepressible 2 (GCN2) in T cells controls disease progression of autoimmune neuroinflammation[J]. J Neuroimmunol, 2016, 297: 117-126
- [10] Noori-Zadeh A, Mesbah-Namin SA, Bistoon-Beigloo S, et al. Regulatory T cell number in multiple sclerosis patients: A meta-analysis[J]. Mult Scler Relat Disord, 2016, 5: 73-76
- [11] Aricha R, Reuveni D, Fuchs S, et al. Suppression of experimental autoimmune myasthenia gravis by autologous T regulatory cells [J]. J Autoimmun, 2016, 67: 57-64
- [12] Kwilas AJ, Grace PM, Serbedzija P, et al. The therapeutic potential of interleukin-10 in neuroimmune diseases [J]. Neuropharmacol, 2015, 96: 55-69
- [13] Saxena A, Khosraviani S, Noel S, et al. Interleukin-10 paradox: A potent immunoregulatory cytokine that has been difficult to harness for immunotherapy[J]. Cytokine, 2015, 74: 27-34
- [14] Iwasaki Y, Fujio K, Okamura T, et al. Interleukin-27 in T Cell Immunity[J]. Int J Mol Sci, 2015, 16: 2851-2863
- [15] Hall BM, Tran GT, Robinson CM, et al. Induction of antigen specific CD4 (+)CD25 (+)Foxp3 (+)T regulatory cells from naive natural thymic derived T regulatory cells[J]. Int Immunopharmacol, 2015, 28: 875-886
- [16] Wen Y, Yang B, Lu J, et al. Imbalance of circulating CD4(+)CXCR5 (+)FOXP3(+) Tfr-like cells and CD4(+)CXCR5(+)FOXP3(-) Tfh-like cells in myasthenia gravis[J]. Neurosci Lett, 2016, 630: 176-182
- [17] McDonald-Hyman C, Ryan Flynn, Angela Panoskaltis-Mortari, et al. Therapeutic regulatory T-cell adoptive transfer ameliorates established murine chronic GVHD in a CXCR5-dependent manner[J]. Blood, 2016, 128: 1013-1017
- [18] Xu A, Liu Y, Chen W, et al. TGF-beta-Induced Regulatory T Cells Directly Suppress B Cell Responses through a Noncytotoxic Mechanism[J]. J Immunol, 2016, 196: 3631-3641
- [19] Torok K, Dezso B, Bencsik A, et al. Complement receptor type 1 (CR1/CD35) expressed on activated human CD4+ T cells contributes to generation of regulatory T cells[J]. Immunol Lett, 2015, 164: 117-24
- [20] Yang G, Li H, Yao Y, et al. Treg/Th17 imbalance in malignant pleural effusion partially predicts poor prognosis[J]. Oncol Rep, 2015, 33: 478-484
- [21] Haas J, Schwarz A, Korporal-Kunke M, et al. Fingolimod does not impair T-cell release from the thymus and beneficially affects Treg function in patients with multiple sclerosis [J]. Mult Scler, 2015, 21: 1521-1532
- [22] Olsen PC, Kitoko JZ, Ferreira TP, et al. Glucocorticoids decrease Treg cell numbers in lungs of allergic mice[J]. Eur J Pharmacol, 2015, 747: 52-58
- [23] Longbrake EE, Ramsbottom MJ, Cantoni C, et al. Dimethyl fumarate selectively reduces memory T cells in multiple sclerosis patients[J]. Mult Scler, 2016, 22: 1061-1070
- [24] Ochoa-Repá raz J, Colpitts SL, Kircher C, et al. Kasper Induction of gut regulatory CD39(+) T cells by teriflunomide protects against EAE [J]. Neurol Neuroimmunol Neuroinflamm, 2016, 3: e291
- [25] Turnis ME, Sawant DV, Szymczak-Workman AL, et al. A. Interleukin-35 Limits Anti-Tumor Immunity [J]. Immunity, 2016, 44: 316-329
- [26] Choi J, Leung PS, Bowlus C, et al. IL-35 and Autoimmunity: a Comprehensive Perspective[J]. Clin Rev Allergy Immunol, 2015, 49: 327-332
- [27] Ehrichou D, Muller YD, Chicheportiche R, et al. Chemoattractant Signals and Adhesion Molecules.Promoting Human Regulatory T Cell Recruitment to Porcine Endothelium [J]. Transplantation, 2016, 100: 753-762
- [28] Wang J, Yu L, Jiang C, et al. Cerebral ischemia increases bone marrow CD4 + CD25 + FoxP3+ regulatory T cells in mice via signals from sympathetic nervous system [J]. Brain Behav Immun, 2015, 43: 172-183

- [19] 黄斯瑜, 钟丽玲. 亚甲蓝光化学疗法病毒灭活新鲜冰冻血浆在广州增城地区的临床应用可行性 [J]. 中国医药科学, 2015, 4(8): 196-198
Huang Si-yu, Zhong Li-ling. Clinical application and effectiveness of virus inactivation by methylene blue photochemical method in freshly frozen blood plasma in the regions of Guangzhou Zengcheng[J]. China Medicine and Pharmacy, 2015, 4(8): 196-198
- [20] 黄斯瑜, 李尔凡, 钟丽玲. 亚甲蓝光化学疗法血浆病毒灭活技术的应用分析[J]. 国际医药卫生导报, 2014, 20(12): 1683-1686
Huang Si-yu, Li E-fan, Zhong Li-ling. Application of methylene blue photochemical therapy plasma virus inactivation technology[J]. International Medicine and Health Guidance News, 2014, 20 (12): 1683-1686
- [21] Daiyu LI, Zhang H, Feng Q, et al. Impacts of leukocyte filtration and irradiation on coagulation factors in fresh frozen plasma [J]. Experimental & Therapeutic Medicine, 2015, 9(2): 598-602
- [22] Zhang C, Liu HW, Jiang XC, et al. The influence of melting plasma time on part coagulation factors and plasma protein in fresh frozen plasma[J]. Journal of Kunming Medical University, 2015, 36(3): 55
- [23] Abe H, Wagner SJ. Analysis of viral DNA, protein and envelope damage after methylene blue, phthalocyanine derivative or merocyanine 540 photosensitization [J]. Photochemistry & Photobiology, 1995, 61(4): 402-409
- [24] 肖乐宇, 李建伟, 任红霞, 等. WBC 过滤及病毒灭活对血浆主要成分的影响[J]. 现代预防医学, 2014, 41(13): 2435-2436
Xiao Le-yu, Li Jian-wei, Ren Hong-xia, et al. Study on influence of leukocyte filter and virus inactivation on the main contents of plasma [J]. Modern Preventive Medicine, 2014, 41(13): 2435-2436
- [25] 莫琴, 黄宇闻, 张博, 等. 新型亚甲蓝病毒灭活套材对血浆成分的质量影响[J]. 中国输血杂志, 2015, 28(8): 876-878
Mo Qin, Huang Yu-wen, Zhang Bo, et al. The influence of the new methylene blue system on the quality of plasma components [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2015, 28(8): 876-878
- [26] 赵凯. 新鲜冰冻血浆不同融解温度对凝血因子及 FIB 活性的影响 [J]. 临床研究, 2016, 24(1): 8, 10
Zhao Kai. Influences of fresh frozen plasma with different melting temperatures on coagulation factor and fibrinogen activity[J]. Clinical Research, 2016, 24(1): 8, 10
- [27] 钱维雯, 林居红. 光动力学疗法控制口腔菌斑生物膜中光敏剂的研究进展[J]. 激光杂志, 2013, 34(3): 57-58
Qian Wei-wen, Lin Ju-hong. Research advances of photosensitizer in dental plaque biofilm control in photodynamic therapy[J]. Laser Journal, 2013, 34(3): 57-58
- [28] 田秀花, 明文娟, 张晓香. 2012-2015 年山东省东营市个体和团体无偿献血者的血液不合格影响因素分析[J]. 国际输血及血液学杂志, 2016, 39(6): 484-489
Tian Xiu-hua, Ming Wen-juan, Zhang Xiao-xiang. Influencing factors of disqualification blood of individuals and groups donors in Dongying City of Shandong Province from 2012 to 2015 [J]. International Journal of Blood Transfusion and Hematology, 2016, 39(6): 484-489
- [29] 张丹, 刁荣华, 王世春, 等. 输注病毒灭活血浆和新鲜冰冻血浆输血反应发生率的比较[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(10): 1028-1029
Zhang Dan, Diao Rong-hua, Wang Shi-chun, et al. Comparison of transfusion reactions between the virus-inactivated and non-treated plasma [J]. Chinese Journal of Blood Transfusion, 2014, 27 (10): 1028-1029
- [30] 陆乐, 卢小东, 王树亚, 等. 输血不良反应 101 例次临床分析[J]. 江苏医药, 2015, 40(19): 2292-2293
Lu Le, Lu Xiao-dong, Wang Shu-ya, et al. A clinical analysis of transfusion-related adverse reactions in 101 case-times[J]. Jiangsu Medical Journal, 2015, 40(19): 2292-2293

(上接第 5949 页)

- [29] Rocha JA, Ribeiro SP, Franca CM, et al. Consolim-Colombo FM. Increase in cholinergic modulation with pyridostigmine induces anti-inflammatory cell recruitment soon after acute myocardial infarction in rats [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2016, 310: R697-706
- [30] Tselios K, Sarantopoulos A, Gkougkourelas I, Boura P. The influence of therapy on CD4⁺ CD25^(high) FOXP3⁺ regulatory T cells in systemic lupus erythematosus patients: a prospective study[J]. Scand J Rheumatol, 2015, 44: 29-35
- [31] Badawi AH, P Kiptoo, TJ. Siahaan. Immune Tolerance Induction against Experimental Autoimmune Encephalomyelitis (EAE) Using A New PLP-B7AP Conjugate that Simultaneously Targets B7/CD28 Costimulatory Signal and TCR/MHC-II Signal[J]. J Mult Scler, 2015, 2: 1-10
- [32] Fan X, Lin C, Han J, et al. Follicular Helper CD4⁺ T Cells in Human Neuroautoimmune Diseases and Their Animal Models [J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 638968
- [33] Peres J, Martins R, Alves JD, et al. Rituximab in generalized myasthenia gravis: Clinical, quality of life and cost-utility analysis[J]. Porto Biomed J, 2017, 2: 81-85