

文章编号:1000-5404(2013)02-0109-05

论著

IBP 表达抑制后活化 T 淋巴细胞基因表达谱变化分析

向莉,李鹏,张竹君,杨明珍,陈安,胡川闽 (400038 重庆,第三军医大学医学检验系临床生物化学教研室)

[摘要] **目的** 利用全基因组寡核苷酸芯片检测干扰素调节因子-4 结合蛋白(IRF-4 binding protein, IBP)表达抑制后活化 T 淋巴细胞基因表达谱的差异。**方法** 采用本室构建的 IBP 表达抑制的 Jurkat T 细胞及相应对照细胞为实验对象, Anti-CD3、CD28 mAb 处理细胞后提取刺激 24、48 h 的细胞总 RNA, 利用北京博奥生物有限公司 22K Human Genome Array 芯片检测基因表达的差异, 以 MAS. doc. V1 软件, 结合 KEGG、NCBI 等生物信息学数据库检索分析差异表达基因功能和网络关系。**结果** IBP 基因表达抑制的 Jurkat T 细胞在 TCR 信号刺激 24、48 h 后, 细胞能量代谢、周期生长、转录调控及凋亡等多种类型的基因发生差异表达改变, 2 个时相组共有 56 个差异表达趋势一致基因, 其中 17 个基因共同上调, 39 个基因共同下调。**结论** 在活化的 Jurkat T 细胞中 IBP 表达抑制所致多个基因差异表达。

[关键词] 干扰素调节因子-4 结合蛋白; T 淋巴细胞; 基因芯片

[中图分类号] R392.12; R394.33; R394.3

[文献标志码] A

Gene expression profiles of activated T lymphocyte with IBP deficient by oligonucleotide microarray

Xiang Li, Li Peng, Zhang Zhujun, Yang Mingzhen, Chen An, Hu Chuanmin (Department of Clinical Biochemistry, College of Laboratory Medicine, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the difference of gene expression between activated IBP-deficient and wild T lymphocyte by oligonucleotide microarray in order to determine the role of IBP in T lymphocyte activation. **Methods** Total RNA was isolated from IBP-deficient and its parental Jurkat T cells with anti-CD3 and anti-CD28 mAb stimulation for 24 or 48 h, and synthesized into double-stranded cDNA that was then synthesized into biotin-labeled cRNA probe by *in vitro* transcription. The cRNA probes were separately hybridized with 22K Human Genome Array Chip, and the signals were scanned by the GeneArray Scanner. The results were analyzed by bioinformatics. **Results** In comparison with the expression profile of parental Jurkat T cells, anti-CD3 and anti-CD28 mAb stimulation for 24 or 48 h resulted in that 56 genes were found to have no change in the expression, 17 genes were up-regulated and 39 genes down-regulated in activated IBP-deficient Jurkat T cells. According to Gene Ontology and Tree View analysis, these genes were involved in energy metabolism, cell cycle, transcription and apoptosis and so on. **Conclusion** IBP-deficient causes differential expression in many genes in Jurkat T cells.

[Key words] IRF-4 binding protein; T lymphocyte; gene chip

Supported by the General Program (81072154) and Youth Program (30901458) of National Natural Science Foundation of China. Corresponding author: Hu Chuanmin, E-mail: chuminhu@163.com

干扰素调节因子-4 结合蛋白 (IRF-4 binding protein, IBP) 是 2002 年美国哥伦比亚大学 Pernnis 领导的研究小组在研究干扰素调节因子-4 (IRF-4) 对细胞因子表达的调控机制时, 通过酵母双杂交技术, 从人淋巴

结 cDNA 文库中筛选得到的一个与 SWAP-70 具有高度同源性的基因^[1]。通过序列比对分析, IBP 实际上就是 DEF-6 (differentially expressed in FDCP 6 homolog), 一种在人与鼠间差异表达的分子。相关研究^[1-2]发现, IBP 主要表达于 T 淋巴细胞, 具有 Rho GTP 酶鸟苷酸交换因子 (Rho GEF) 活性, 不但能够激活 Rac1、Cdc42 与 RhoA^[3], 还能直接与 Rac1 结合^[4]。其与 TCR 信号刺激所致免疫突触的形成关系密切^[5], 可通过选择性抑制 ZAP-70 介导的磷酸化事件, 参与 T

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81072154); 国家自然科学基金青年项目(30901458)

[通信作者] 胡川闽, E-mail: chuminhu@163.com

[优先出版] <http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20121123.0943.010.html> (2012-11-23)

细胞的极化过程,使 Th 细胞向 Th2 方向分化^[2]。IBP 缺失小鼠表现为系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)样症状,特征为血清 IgG 水平明显升高、产生自身抗体、效应 T 细胞和记忆 T 细胞积聚, T 细胞抵抗凋亡的能力明显增强^[6]。然而,值得关注的是,尽管上述研究均提示 IBP 在 T 淋巴细胞,尤其是 T 淋巴细胞活化的过程中发挥重要的功能,但其在这一过程中所影响的具体信号传导通路尚不明确,部分报道间还存在相互矛盾之处。为确认 IBP 在 T 淋巴细胞激活过程中的作用,进一步研究其影响的信号传导通路,我们利用 RNA 干扰技术构建成功的 IBP 表达抑制的 Jurkat 细胞模型^[7],采用博奥生物有限公司的寡核苷酸芯片,通过模拟 TCR 刺激信号,研究了 IBP 对激活状态 T 淋巴细胞基因表达谱的影响,为进一步明确 IBP 参与的信号传导通路奠定基础。

1 材料与方法

1.1 细胞株及实验分组

人白血病 T 淋巴细胞(Jurkat)、IBP 抑制表达 Jurkat 细胞(Jurkat^{IBP low})及其空载体转染对照细胞(Jurkat^{control})均为本实验室保存,构建及模拟 TCR 信号刺激培养方法见文献^[7],以 5 μg/mL anti-CD3 mAb、anti-CD28 mAb(eBioscience 公司)包被 96 孔细胞培养板 4 °C 过夜,分别接种 1 × 10⁵/mL 细胞密度的 Jurkat^{IBP low} 和 Jurkat^{control},100 μL/孔,同时将细胞平行接种未包被孔作为未刺激对照。37 °C、5% CO₂ 条件分别培养 24、48 h 后收集细胞。各组细胞均做了 3 复孔,重复 3 次。

1.2 免疫印迹验证 RNAi 抑制效果

收集 Jurkat、Jurkat^{IBP low} 及 Jurkat^{control} 细胞,提取细胞总蛋白,BCA 法定量,以 50 g/孔上样,进行 SDS-PAGE 凝胶电泳。将蛋白电转至 PVDF 膜上,5% 脱脂奶室温封闭 1 h,用本室制备的特异性抗 IBP 多克隆抗体^[8]为一抗 4 °C 过夜,TBST 洗 3 次,二抗(1:5 000)37 °C 孵育 1 h,TBST 洗 3 次,化学发光显影,扫描后分析各细胞株 IBP 的表达情况。

1.3 RNA 提取和探针制备

用 Trizol 试剂提取细胞总 RNA,经紫外分光光度法及 1.5% 甲醛变性琼脂糖凝胶电泳检测 RNA 质量。取 5 g 总 RNA,按照反转录试剂盒操作说明进行反转录合成 cDNA,纯化后经体外转录合成 cRNA 并纯化,取 2 g 纯化的 cRNA,以 Random Primer 为引物进行 KLENOW 酶(TaKaRa 公司)标记。标记过程中 dATP、dGTP、dTTP 终浓度为 120 μmol/L,dCTP 终浓度为 60 μmol/L,Cy5-dCTP、Cy3-dCTP 终浓度为 40 μmol/L。

1.4 杂交和扫描

实验所用芯片为博奥生物有限公司的晶芯® 人类全基因组寡核苷酸微阵列芯片,共包含 2.2 万个转录本,标记的 DNA 溶于 30 μL 杂交液中(3 × SSC, 0.2% SDS, 5 × Denhart's, 25% 甲酰胺),于 42 °C 与芯片杂交过夜。杂交结束后,先在 42 °C 左右含 0.2% SDS,2 × SSC 的液体中洗 5 min,而后在 0.2 × SSC 中室温洗 5 min。玻片甩干后即由 LuxScan 10KA 双通道激光扫描仪(CapitalBio 公司)进行扫描,两时相 Jurkat^{IBP low} 和 Jurkat^{control}

组均进行 Cy3/Cy5 荧光交换染色重复杂交。

1.5 数据分析

扫描所得数据用 LuxScan 3.0 图像分析软件分析,Lowess 法归一化,对同组荧光交换染色标记的 2 张芯片上均有表达的数据取均值,数据满足以下条件的作进一步分析:①Cy3 或 Cy5 任一信号强度 > 800。②Cy3 和 Cy5 分别扣减各自背景后信号强度的中位值比值相差 2 倍以上。③Cy3 和 Cy5 信号比值在荧光交换重复的 2 张芯片上均有表达并呈一致趋势。采用博奥 MAS.doc.V1 软件,结合 KEGG、NCBI 等生物信息学数据库检索分析差异表达基因功能和网络关系。

1.6 芯片数据可靠性验证

选择其中 4 个差异表达基因 CD28、CDK6、CD24、DAPK1 采用 SYBR Green I 荧光定量 PCR 验证芯片检测数据可靠性,引物序列如下:CD28,正义链 5'-TTTGGGTGCTGGTGGTGGTT-3',反义链 5'-GCTGTAATGCTTCCGGGTG-3';CDK6,正义链 5'-TATGATGTTTCAGCTTCTCCGAGGT-3',反义链 5'-ACGACCACTGAGGTTAGAGCCATC-3';CD24,正义链 5'-GCTCCTACCACGCAGATTATTC-3',反义链 5'-GGTGGTGGCATTAGTTG-GATTTC-3';DAPK1,正义链 5'-TGTCTGATGGGAGCCAGCGT-3',反义链 5'-GAAGACTCTCGGTGCCGTATCCT-3';内参基因 GAPDH,正义链 5'-GGTGGTCTCCTCTGACTTCAACA-3',反义链 5'-GTTGCTGTAGCCAAATTCGTTGT-3'。反应体系与循环条件如下:引物 0.8 μL(10 μmol/μL),MgCl₂ 1.6 μL,DNA Master SYBR Green I MIX (Roche)2 μL,模板 1.0 μL,加水补足 20 μL 体系。95 °C 预变性 10 min,95 °C 15 s,60 °C 5s,72 °C 15 s,72 °C 3 min,共 40 个循环。结果以 Ct 值表示。用相对表达率 2^{-ΔΔCt} 计算获得目的基因的差异表达倍数。实时荧光定量 PCR 由北京博奥生物有限公司完成。

1.7 统计学分析

采用 SPSS 13.0 统计软件进行配对样本 t 检验。

2 结果

2.1 RNAi 抑制 Jurkat 细胞 IBP 的表达

通过免疫印迹试验,野生型 Jurkat 及空质粒转染对照组 Jurkat^{control} 在 74 × 10³ 附近均出现明显条带,与 IBP 蛋白的分子量一致,而 RNAi 处理组 Jurkat^{IBP low} 细胞相同位置出现的条带明显减弱,通过光密度扫描,与几种样品的 β-actin 条带光密度值的比值分别为 Jurkat:0.53, Jurkat^{control}:1.38, Jurkat^{IBP low}:0.08。Jurkat^{IBP low} 中 IBP 的表达为 Jurkat 的 15%,为对照组 Jurkat^{control} 的 6%,可以确认 RNAi 的抑制效率在 80% 以上(图 1)。

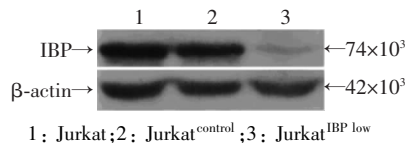


图 1 免疫印迹检测 RNAi 抑制 Jurkat 细胞 IBP 的表达

2.2 RNA 提取效果

用紫外分光光度法检测各组细胞 RNA 的提取质量。用甲醛变性电泳对 RNA 进行分析,可见各组 RNA 样品电泳条带清晰,28S 比 18S rRNA 条带亮度约为 2:1,各检测指标均符合芯片检测质量要求。

2.3 芯片杂交结果

实验采用同组荧光交换染色标记, Cy5 标记为红色, Cy3 标记为绿色。图2为其中1次杂交后扫描所得样品芯片杂交双色荧光标记叠加图, 实验组 RNA 采用 Cy3 荧光标记, 对照组 RNA 采用荧光 Cy5 标记, 表达上调基因显示为绿色; 表达下调基因显示为红色; 表达无明显差异的呈现黄色。

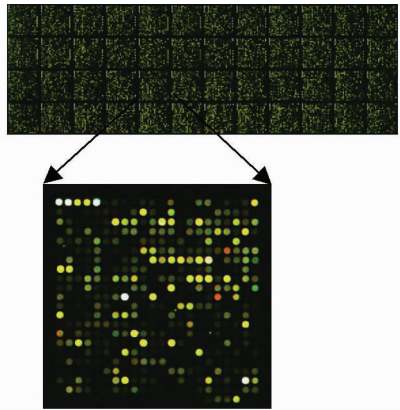


图2 基因的双色荧光标记叠加图

2.4 芯片结果评价

经检查 Hex、外标、内标等阳性对照信号正常, 阴性对照检测为阴性, 片内看家基因重复性好, Ratio 值 CV 不超过 0.3; 无影响数据的污染, 漏点率不超过 5%, 确定检测率正常。图3所示为 IBP 表达抑制组与对照组刺激 24 h (图 3A) 及 48 h (图 3B) 比较的散点图, 样品芯片杂交散点图, 可以直观地看出在 2 个样品之间基因表达的差异情况。其中 X 轴和 Y 轴分别以 2 个样品的荧光信号强度值为坐标, 图中每一个数据点代表芯片上一个基因点的杂交信号, 红色标记和绿色标记的数据点分别表示 Y/X 的 Ratio 值 ≥ 2.0 和 ≤ 0.50 , 可能是属于表达有差异的基因, 黑色标记表示 Y/X 的 Ratio 值在 0.5 ~ 2.0, 表达基本无差异。

2.5 芯片结果初步分析

对 2 组样本差异表达基因数进行统计, 当 CD3/CD28 刺激 24 h 后, Jurkat^{IBP low} 与 Jurkat^{control} 细胞比较共有 109 个差异表达基因, 其中下调 60 个, 上调 49 个。CD3/CD28 刺激 48 h 后 Jurkat^{IBP low} 与 Jurkat^{control} 细胞比较共有 139 个差异表达基因, 其中下调 100 个, 上调 39 个。2 组样本共同差异表达基因 56 个, 其中下调 39 个, 上调 17 个。表 1 所示为部分差异表达基因, 包括: MAPK 信号通路相关的 DDIT3, T 细胞受体信号途径的 PRKCQ、CD28, 与自身免疫性疾病发生机制密切相关的多个基因如 CCL2、HMHA1、CCL4、CDK6 等, 与凋亡相关的多个基因如 DAPK1、PP1044 (NALP1)、SCYA2 (CCL2; CCL4)、SCNA 等。

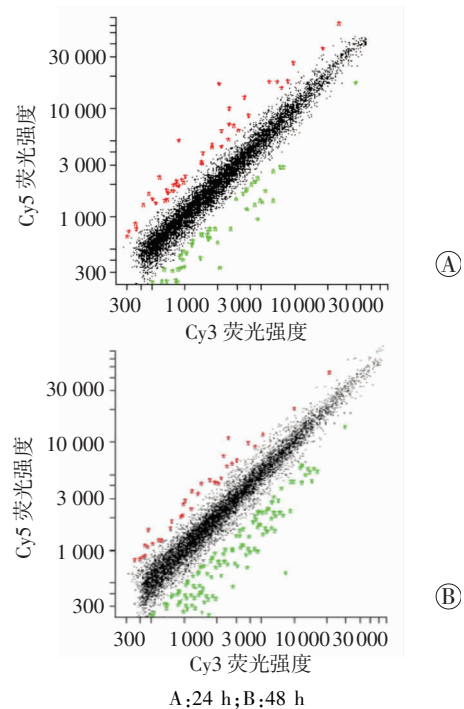


图3 anti-CD3 mAb, anti-CD28 mAb 刺激不同时间基因的杂交信号强度散点图

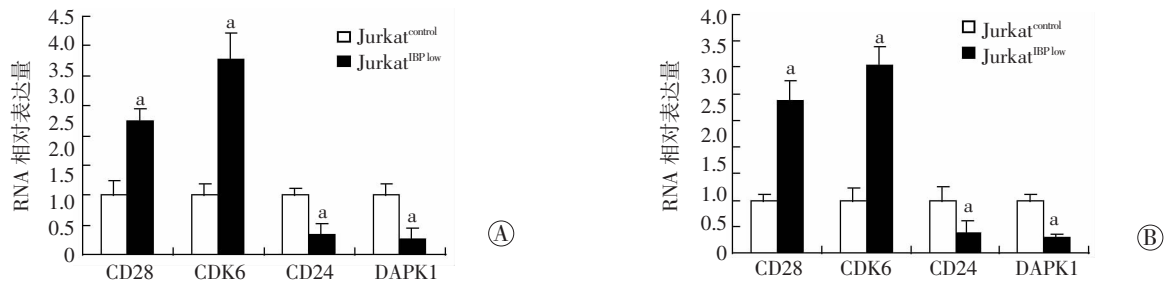
表 1 IBP 表达抑制致活化 T 淋巴细胞部分基因表达变化情况

基因名称	GB. 序号	24 h 比值	48 h 比值	基因描述
C11orf74	AK095997	0.1 580 225	0.146 7	Homo sapiens, Similar to RIKEN cDNA B230118H07 gene, clone MGC:10116 IMAGE:3900485, mRNA, complete c
GFRA1	NM_005264	0.2 054 212	0.182 0	GDNF family receptor alpha 1
DAPK1	NM_004938	0.2 197 926	0.244 0	Death-associated protein kinase 1
DNTT	NM_004088	0.2 231 343	0.076 3	Deoxynucleotidyltransferase, terminal
FLJ20037	NM_017633	0.2 274 735	0.196 6	Hypothetical protein FLJ12973
AHNAK	M80899	0.2 376 018	0.115 4	AHNAK nucleoprotein (desmoyokin)
KIAA1157	XM_350880	0.2 701 553	0.389 3	Minor histocompatibility antigen HA-1
RAG2	NM_000536	0.2 904 070	0.186 1	Recombination activating gene 2
DDIT3	NM_004083	0.2 932 946	0.421 2	DNA-damage-inducible transcript 3
BITE	NM_024491	0.2 982 714	0.339 3	P10-binding protein
PFN2	NM_053024	0.3 082 686	0.416 4	Profilin 2
NAP1L3	NM_004538	0.3 111 894	0.335 9	Nucleosome assembly protein 1-like 3
ABCC1	NM_019900	0.3 260 233	0.401 2	Multidrug resistance-associated protein 1 (ATP-binding cassette, sub-family C, member 1)

(后续表)

(续表1)

基因名称	GB. 序号	24 h 比值	48 h 比值	基因描述
CD24	NM_013230	0.3 400 574	0.322 5	CD24 antigen (small cell lung carcinoma cluster 4 antigen)
FLJ11000	NM_018295	0.3 606 642	0.378 4	hypothetical protein FLJ11000
EBI2	NM_004951	0.3 641 121	0.243 4	Epstein-Barr virus induced gene 2 (lymphocyte-specific G protein-coupled receptor)
FKBP1B	NM_004116	0.3 644 676	0.314 8	FK506 binding protein 1B (12.6 kD)
SMARCA1	NM_003069	0.3 691 390	0.464 2	Possible global transcription activator SNF2L1.
LENG3	AF211968	0.3 804 110	0.268 9	Leukocyte receptor cluster (LRC) member 3
CD1E	NM_030893	0.3 902 967	0.298 1	T-cell surface glycoprotein CD1e precursor (CD1e antigen) (R2G1)
SNX9	NM_016224	0.4 098 914	0.457 3	Sorting nexin 9 (SH3 and PX domain-containing protein 1)
KIAA0922	NM_015196	0.4 172 908	0.320 4	KIAA0922 protein
PP1044	XM_498654	0.4 214 420	0.464 1	Death effector filament-forming Ced-4-like apoptosis protein.
ABO	NM_020469	0.4 336 305	0.380 3	ABO blood group
RAB26	NM_014353	0.4 555 580	0.375 0	Ras-related protein Rab-26
MUC6	XM_290540	0.4 636 943	0.472 8	Mucin 6, gastric
FLJ22635	NM_025092	0.4 766 886	0.478 6	Hypothetical protein FLJ22635
MD-2	NM_015364	0.4 794 195	0.489 1	Lymphocyte antigen 96 precursor (MD-2 protein)
NEFL	NM_006158	0.4 833 602	0.472 9	Neurofilament, light polypeptide (68kD)
SLC12A7	NM_006598	0.4 992 948	0.462 3	Solute carrier family 12 (potassium/chloride transporters), member 7
VIM	NM_003380	2.0 535 952	2.051 0	Vimentin (intermediate filament cytoskeleton)
H4FG	NM_003542	2.1 114 096	2.017 7	H4 histone family, member M
KIAA0223	NM_012292	2.1 564 531	2.851 3	minor histocompatibility antigen HA-1
MSRA	NM_012331	2.1 746 317	2.160 9	methionine sulfoxide reductase A
CLP	NM_021149	2.1 990 804	2.068 0	Coactosin-like protein.
TKTL1	NM_012253	2.4 320 809	2.460 3	transketolase-like 1.
G3A	NM_019101	2.4 614 926	2.600 0	Apolipoprotein M
CDK6	NM_001259	2.4 664 603	2.286 5	Cell division protein kinase 6
ADD3	NM_019903	2.5 711 565	2.913 7	Adducin 3 (gamma)
N33	NM_006765	2.6 598 831	3.222 1	Putative prostate cancer tumor suppressor
KCNK17	NM_031460	2.7 065 357	3.058 4	Potassium channel, subfamily K, member 17 (TASK-4)
PRKCQ	NM_006257	2.8 502 379	2.589 9	Protein kinase C, theta
CD28	NM_006139	3.3 837 167	2.248 4	CD28 antigen (Tp44)
SCYA2	NM_002982	3.3 992 424	6.565 9	Small inducible cytokine A2 (monocyte chemotactic protein 1)
SNCA	NM_000345	3.3 963 460	4.205 2	Synuclein, alpha (non A4 component of amyloid precursor)



a: $P < 0.05$, 与 Jurkat^{control} 比较
A: 24 h; B: 48 h

图4 荧光定量PCR检测刺激不同时间4种基因RNA表达

2.6 荧光定量PCR对芯片结果的验证

图4所示为对芯片中包括的4种基因(CD28、CDK6、CD24、DAPK1)进行荧光定量PCR的比较结果。结果显示2个实验组中4种基因表达量有差异($P < 0.05$),经比较其相对表达率,并与芯片结果进行比较,可以确认芯片与荧光定量PCR比较基因表达差异趋势完全符合。

3 讨论

免疫系统中IBP特异表达于T细胞并与其免疫效应功能密切相关,动物模型显示IBP缺失可能会导致免疫细胞功能异常而引起以SLE症状为主的自身免疫病。由于凋亡异常在自身免疫病的发生、发展中

占据重要地位,前期我们成功构建了 IBP 基因表达抑制的 Jurkat 稳定转染细胞模型,利用³H-TdR 掺入实验及 Annexin-v/PI 凋亡检测实验,用 Anti-CD3、CD28 mAb 活化该细胞模型,观测 IBP 缺失对 TCR 信号刺激下 Jurkat 细胞增殖和凋亡的影响,发现 IBP 可能参与了激活状态 T 细胞凋亡的调节^[7]。本研究中芯片结果显示,IBP 基因抑制的 Jurkat 细胞在 TCR 信号刺激 24 h 和 48 h 后,细胞能量代谢、周期生长、转录调控及凋亡等多种类型的基因发生差异表达改变,其中两个时相组共有 56 个差异表达趋势一致基因,可能涉及 IBP 抑制影响细胞生理功能的多种机制,如 MAPK 信号通路相关的 DDIT3 下调、T 细胞受体信号途径的 PRKCQ、CD28 上调,及与自身免疫性疾病发生机制密切相关的多个基因如 CCL2、HMHA1、CCL4、CD28、CDK6 等和与凋亡相关的多个基因均发生显著改变。

本研究凋亡相关基因的变化中,下调的凋亡相关基因包括:DAPK1、PP1044 (NALP1)。DAPK1 (死亡相关蛋白激酶)是细胞凋亡的正调控因子,它是一种 CaM 调节的丝/苏氨酸蛋白激酶,相对分子质量为 160 × 10³,定位于染色体 9q34.1。DAPK1 分子的 C 端死亡区是 DAPK1 诱导凋亡所必需的,死亡区参与由 TNF-α, FasL 所诱导的细胞凋亡,Bcl-2 能抑制由 DAPK1 过表达所启动的细胞凋亡,表明它也参与由线粒体释放的凋亡因子所激活的内源性凋亡途径^[9];NALP1 也称为 DEFCAP/NAC/CARD7,为凋亡诱导基因,可以通过直接与 caspase2、caspase9 结合,或间接与 APAF-1 反应从而激活凋亡功能^[10]。上调的凋亡相关基因包括:CD28、SCYA2 (CCL2; CCL4)、SCNA。CD28 可通过诱导 T 细胞 Bcl-2 及 Bcl-XL 表达的增高而阻止细胞凋亡;SCYA2 有抑制细胞凋亡,促进炎症反应的特点^[11-12];SCNA 是第一个被发现的与常染色体显性遗传帕金森病有关的基因,具有抑制凋亡发生的作用。本研究结果提示 IBP 表达的缺失会导致部分抗凋亡基因表达的上调及凋亡基因表达的下调,可能具有促进细胞凋亡的作用。

近年关于 IBP 的研究主要集中于其参与 T 淋巴细胞激活及自身 GEF 活性等方面。近期的研究成果提示 IBP 可能还具有除这些作用外更重要的生理学功能,如对细胞凋亡的影响。我们在前期的研究工作中利用 Fas 途径凋亡诱导剂观察到了 IBP 缺失状态下细胞凋亡的变化,但 IBP 的缺失并不会导致细胞 Fas 或

FasL 的表达发生变化,推测 IBP 可能的作用部位是位于 Fas 传导通路中胞浆区的某一环节,本研究中基因芯片的结果也提示众多胞浆分子参与了 IBP 缺失所致细胞凋亡的改变,将为进一步深入研究,揭示 IBP 在细胞凋亡中的作用奠定基础。

参考文献:

- [1] Gupta S, Lee A, Hu C, *et al.* Molecular cloning of IBP, a SWAP-70 homologous GEF, which is highly expressed in the immune system[J]. *Hum Immunol*, 2003, 64(4): 389-401.
- [2] Tanaka Y, Bi K, Kitamura R, *et al.* SWAP-70-like adapter of T cells, an adapter protein that regulates early TCR-initiated signaling in Th2 lineage cells[J]. *Immunity*, 2003, 18(3): 403-414.
- [3] Mavrakis K J, McKinlay K J, Jones P, *et al.* DEF6, a novel PH-DH-like domain protein, is an upstream activator of the Rho GTPases Rac1, Cdc42, and RhoA[J]. *Exp Cell Res*, 2004, 294(2): 335-344.
- [4] Oka T, Ihara S, Fukui Y. Cooperation of DEF6 with activated Rac in regulating cell morphology[J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(3): 2011-2018.
- [5] Gupta S, Fanzo J C, Hu C, *et al.* T cell receptor engagement leads to the recruitment of IBP, a novel guanine nucleotide exchange factor, to the immunological synapse [J]. *J Biol Chem*, 2003, 278(44): 43541-43549.
- [6] Fanzo J C, Yang W, Jang S Y, *et al.* Loss of IRF4-binding protein leads to the spontaneous development of systemic autoimmunity[J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(3): 703-714.
- [7] 周玉,李鹏,李淑慧,等. siRNA 介导的 IBP 表达抑制对 T 细胞凋亡的影响[J]. *免疫学杂志*, 2007, 23(3): 248-251.
- [8] 张竹君,周玉,李鹏,等. 一个新的高保守自身免疫反应相关分子 IRF4 结合蛋白多克隆抗体制备[J]. *第三军医大学学报*, 2008, 30(13): 1242-1245.
- [9] Maiuri M C, Zalckvar E, Kimchi A, *et al.* Self-eating and self-killing: crosstalk between autophagy and apoptosis[J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2007, 8(9): 741-752.
- [10] Park H H, Lo Y C, Lin S C, *et al.* The death domain superfamily in intracellular signaling of apoptosis and inflammation[J]. *Annu Rev Immunol*, 2007(25): 561-586.
- [11] Eugenin E A, D'Aversa T G, Lopez L, *et al.* MCP-1 (CCL2) protects human neurons and astrocytes from NMDA or HIV-tat-induced apoptosis[J]. *J Neurochem*, 2003, 85(5): 1299-1311.
- [12] Mirzadegan T, Diehl F, Ebi B, *et al.* Identification of the binding site for a novel class of CCR2b chemokine receptor antagonists: binding to a common chemokine receptor motif within the helical bundle [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(33): 25562-25571.

(收稿:2012-09-17;修回:2012-11-05)

(编辑 吴培红)