

doi:10.3969/j.issn.1672-5565.2013.02.11

## 应用 PPIN 分析肝移植临床耐受 患者 PBMC 基因表达特点

徐洪来<sup>1</sup>, 肖敏<sup>2\*</sup>, 杨超<sup>1</sup>, 高义<sup>1</sup>, 雒真龙<sup>1</sup>, 周鸿敏<sup>1\*</sup>, 陈忠华<sup>1\*</sup>

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院 器官移植研究所, 湖北 武汉 430030;

2. 华中科技大学同济医学院附属协和医院 皮肤科, 湖北 武汉 430022)

**摘要:**应用生物信息学方法分析肝移植临床耐受患者 PBMC 基因表达特征, 筛选临床耐受关键基因。从 GEO 数据库获取 19 个肝移植临床耐受病例及 22 个非临床耐受病例基因表达谱数据。应用 DAVID 网络软件进行差异基因功能注释与聚类分析; 通过 Cytoscape 软件的 MiMI 插件构建蛋白质相互作用网络 (PPIN) 筛选肝移植临床耐受关键基因。差异基因涉及蛋白质及 RNA 代谢、免疫应答、膜结构调节等复杂生物过程。PPIN 网络分析获得 10 个临床耐受核心基因。我们的研究表明: 肝移植临床耐受涉及外周血免疫细胞复杂的基因表达调控机制及蛋白质间相互作用; RNA 的转录后加工及蛋白质降解在免疫耐受的形成中发挥了重要作用; RBM8A、DHX9、CBL、IKBKB、CSNK2A1、HSPA8 等核心基因发挥重要的免疫调节功能。

**关键词:**肝移植; 临床耐受; 基因表达谱; 蛋白质相互作用网络

中图分类号: R617; R392.4; Q-332 文献标识码: B 文章编号: 1672-5565(2013)-02-136-06

## Apply protein-protein interaction network to analyze characteristics of the gene expression in PBMC of operational tolerant liver transplant recipients

XU Hong-lai<sup>1</sup>, XIAO Min<sup>2\*</sup>, YANG Chao<sup>1</sup>, GAO Yi<sup>1</sup>, LUO Zhen-long<sup>1</sup>, ZHOU Hong-min<sup>1\*</sup>, CHEN Zhong-hua<sup>1\*</sup>

(1. Institute of Organ Transplantation, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan, 430030, China; 2. Department of Dermatology, Union Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430022, China)

**Abstract:** In this paper we use methods of bioinformatics to explore the characteristics of the gene expression and screen key genes in PBMCs of operational tolerant patients receiving liver transplantation using bio-informatics. A data-set of gene expression profiles of 19 operational tolerant samples of liver transplantation and 22 non-tolerant was downloaded from database GEO. We applied DAVID network software to annotate and functionally classified the differential genes. The MiMI plug-in for cytoscape was used to screen key genes related to operational tolerance by protein-protein interaction network (PPIN) analysis. Differential genes were involved in complicated and diversified biological processes such as metabolism of protein and RNA, immune response, membrane organization and so on. 10 core genes highly related to operational tolerance were obtained by PPIN analysis. Our results indicate that the immune mechanism of operational tolerance of liver grafts involves sophisticated regulation mechanism of gene expression and extensive protein-protein interaction in PBMCs; RNA post-transcriptional processing and proteins degradation are important participants in regulation of operational tolerance; Core genes such as RBM8A, DHX9, CBL, IKBKB, HSPA8 etc., play key regulatory roles in immune functions.

**Keywords:** Liver Transplantation; Operational Tolerance; Gene Expression Profile; PPIN

收稿日期: 2012-12-27; 修回日期: 2013-02-27.

基金项目: 国家重点基础研究发展计划 (973 计划) (2009CB522407)。

作者简介: 徐洪来, 博士, E-mail: xuhonglai1973@163.com

\* 通讯作者: 陈忠华, 博士, 教授, E-mail: zc104@med.mail.com.cn; 周鸿敏, 博士后, 副教授, E-mail: amhongmin@yahoo.com.cn;

肖敏, 博士, E-mail: 501880191@qq.com.

排斥反应是阻碍器官移植受者长期存活和导致移植失败的主要原因。而有近 20% 的肝移植受者由于各种原因停用免疫抑制剂,但肝功能却能长期维持稳定,并未出现排斥反应<sup>[1]</sup>,这种现象被称为临床耐受 (operational tolerance)。阐明肝移植临床耐受的免疫机制,对于解决移植排斥问题具有重要意义,但由于免疫调节的复杂性,目前关于其具体机制还知之甚少。基因表达谱芯片可以同时定量分析大量基因的表达水平,拥有传统方法不具备的优势。特别是近年来随着基因芯片表达谱数据的急剧增加,以及相应共享数据库的相继出现,如何利用合适的生物信息学方法从不同研究视角挖掘这些数据中蕴藏的生物信息已成为一个新的挑战。而作为系统生物学主要研究方法之一的蛋白质-蛋白质相互作用网络 (protein-protein interactions network, PPIN) 分析是阐释复杂生物机制的理想手段。本研究利用基因表达谱数据,通过对差异表达基因进行蛋白质-蛋白质相互作用网络分析,探讨肝移植受者外周血单个核细胞 (PBMC) 的基因表达特点,筛选相关核心基因,探索肝移植临床耐受的免疫机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 获取基因表达谱数据

检索 NCBI 的基因表达共享数据库 (Gene Expression Omnibus, GEO) 收集以 PBMC 为实验材料,并应用相同芯片平台的病例样本。临床耐受病例的入选标准为肝移植术后  $\geq 3$  年,停用免疫抑制剂  $\geq 1$  年,无排斥反应表现且肝功能良好;非临床耐受病例为接受常规免疫抑制治疗的肝移植受者。共获得临床耐受样本 19 例,非临床耐受样本 22 例 (来自数据集 GSE12187、GSE22229),两组样本年龄、性别均一,实验平台均为 Affymetrix Human Genome U133 Plus 2.0 芯片为<sup>[2-3]</sup>。该芯片覆盖了 38 500 多种已经被证实的人类基因,是目前覆盖基因数目最多的一种人类全基因组表达谱芯片。

### 1.2 原始数据的预处理

采用 Affymetrix Expression Console 软件对基因芯片 CEL 原始数据进行质量控制,使用 RMA 算法进行数据的标准化处理和  $\log_2$  转换。

### 1.3 差异表达基因筛选

应用基因表达差异显著性分析 (significance analysis of microarray, SAM) 软件进行筛选。SAM 是非参数统计分析方法,根据排列组合 (permutation)

的原理来推导检验统计量的理论抽样分布,通过控制误判率 (false discovery rate, FDR) 得到准确的结果,是一种理想的差异表达基因分析工具。

### 1.4 差异基因功能注释与功能分类

应用 DAVID (Database for Annotation, Visualization and Integration Discovery) 网络软件进行基因功能注释与聚类分析,该软件集中了几乎所有主要的公共生物信息学资源,通过典型的基因-术语富集分析解释与基因相关的生物学机制<sup>[4]</sup>。应用 GO 的生物学过程 (Biological Process, BP),对基因进行功能注释。

### 1.5 蛋白质相互作用网络分析

使用 Cytoscape 软件 (V 2.8.3) 的 MiMI 插件对差异基因进行 PPI 可视化网络分析<sup>[5-6]</sup>。MiMI 数据库整合了 BIND、BioGRID、HPRD、IntAct、InterPro、SwissProt 等主要的分子相互作用数据库资源。PPI 网络由代表蛋白质的节点 (Node) 和代表相互作用的连线 (Connection) 构成。Cytoscape 通过 Degree sorted 工具计算节点的度 (degree) 值筛选网络的中心节点 (hub),其对应的基因多为具有重要生理调节功能的关键基因 (核心基因)。

## 2 结果

### 2.1 SAM 差异基因分析

检验方法选用两组样本间非配对的  $t$  检验 (Two class unpaired),排列组合 (permutation) 次数设为 1 000 次,基因表达改变最小倍数 (Minimum fold change) 设为 1, FDR 为 5%,以  $P < 0.05$  为显著性标准,共获得 139 个差异表达基因,均为上调基因。

### 2.2 DAVID 基因功能注释及分类

登陆 DAVID 生物信息学资源网站 (<http://david.abcc.ncifcrf.gov/home.jsp>),输入差异基因列表,选择 GO 生物过程 (GO TERM BP FAT) 功能注释, EASE 值设为 0.1。将重复注释合并,基因功能注释结果如表 1。

应用 DAVID 基因功能分类工具 (Gene Functional Classification Tool) 进行功能聚类。术语相似性阈值 (Term Similarity Threshold) 设为 0.35,可将差异基因分为 6 个功能组 (见表 2)。按聚类程度 (富集得分) 排序依次为:泛素相关蛋白激酶、GTP 酶激活蛋白、高尔基体蛋白、WD 重复序列相关蛋白、RNA 转录后加工蛋白、免疫相关蛋白。

表 1 差异基因功能注释

Table 1 Functional annotation of differential genes

GO 术语 ID	功能描述	代表基因
GO:0015031	蛋白质运输	ARL6IP1, SCAMP1, ARFIP1, MAPK1, AP2B1, GNPTAB, RAB35, FXC1, USO1, CHM, GOSR2, EXOC5,
GO:0006508	蛋白质降解	ERMP1, BRCC3, UBE3B, CBL, UBE2H, CDC27, DCUN1D1, UCHL5, KRT1, ERAP1, USP10, CTSC
GO:0007049	细胞周期调控	MAPK1, MPHOSPH9, FANCI, RAD51L3, FANCA, CDC27, SMC2, SMC3, UHMK1, BARD1
GO:0006259	DNA 修复	BRCC3, FANCI, SUPT16H, APAF1, FANCG, RAD51L3, FANCA, SMC3, BARD1
GO:0006955	免疫应答	IL7, CD300A, KRT1, ERAP1, APOBEC3G, CTSC, SLAMF7, MR1, APOBEC3F
GO:0016044	膜结构调节	SCAMP1, ADRB2, FXC1, USO1, GOSR2, CHRNB1, BCL2L1, HSPA8
GO:0009628	非生物刺激应答	DHX9, ADRB2, BRCC3, FECH, TGFBR1, FANCG, BCL2L1
GO:0060341	细胞定位	NUDT4, TGFBR1, ARFIP1, UHMK1, BARD1

表 2 差异基因功能分类

Table 2 Functional classification of differential genes

组别	基因表达产物	富集得分	代表基因
1	泛素相关激酶	3.0	CDK13, HSPH1, USP10, UHMK1, JAK1, UBE3B, IKKKB, DCUN1D1, UCHL5, UBE2H, SMC2
2	GTP 酶激活蛋白	1.3	TBC1D22B, TBC1D24, RABGAP1L
3	高尔基体相关蛋白	1.2	ARFIP1, MLC1, MCOLN2, TSPAN5, ARL6IP1, GOSR2, TMEM64, EXOC5, USO1, ORMDL3
4	WD 重复序列相关蛋白	1.1	DCAF7, DCAF12, WDR1, HIRA
5	RNA 转录后加工蛋白	1.0	APOBEC3G, MBNL3, APOBEC3F
6	免疫相关蛋白	0.5	CD244, PTGDR, FCRL3, TSPAN5, NCR1, SLAMF7, CD300A, TRD@, TIGIT

### 2.3 蛋白质-蛋白质相互作用分析

将差异基因列表导入 Cytoscape 软件,应用 MiMi 插件构建差异基因与邻近节点相互作用的 PPI 网络(见图 1A)。以节点的 degree > 50 为标准筛选中心节点;获得核心基因 10 个,分别为:TGFBR1(转化生长因子  $\beta$ I 型受体)、MAPK1(丝裂原激活蛋白激酶 1)、CSNK2A1(蛋白激酶 2,  $\alpha$  亚基)、DHX9(DEAH

盒蛋白多肽 9)、CBL(Casitas B-cell lineage lymphoma, Cbl)、RBM8A(核糖核酸结合模体蛋白 8A)、HSPA8(热休克蛋白 A8)、IKKKB(B 细胞编码  $\kappa$  轻链多肽基因抑制激酶 beta)、JAK1(Janus 蛋白酪氨酸激酶 1)、BCL2L1(B-cell lymphocyte/leukemia-2)。再以筛选出的核心基因构建与邻近节点相互作用的网络(见图 1B),仍然保留了图 1A 的主体网络结构。

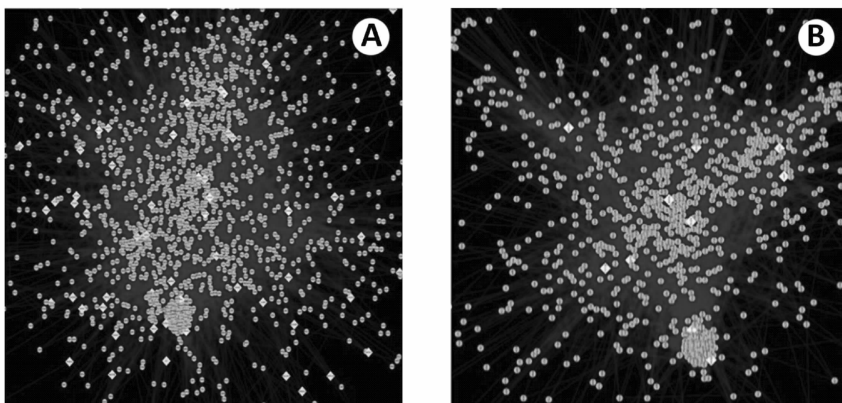


图 1 差异基因及核心基因与邻近节点的蛋白质相互作用网络 (PPIN)

A 所有差异基因与邻近作用节点的 PPIN, B 核心基因与邻近作用节点的 PPIN

Fig. 1 Protein-protein interactions network (PPIN) of differential genes or core genes with nearest neighbor nodes

A PPIN of all differential genes with nearest neighbor nodes, B PPIN of core genes with nearest neighbor nodes

注: 差异基因中非核心基因 核心基因 临近作用基因

以 Cytoscape 软件生成核心基因与临近蛋白质节点(同时与 2 个以上核心基因相互作用)的 PPIN(图 2)。基因在网络中大致分为 A、B 两个基因群。A 群基因的编码产物主要为核糖体蛋白、剪切子组

分、RNA 聚合酶组等主要参与 RNA 转录、转录后加工的蛋白质;包括核心基因 RBM8A 和 DHX9。B 群主要为关于信号传导及蛋白质代谢的基因,包含的核心基因为: CBL、JAK1、BCL2L1、IKKKB、

MAPK1、CSNK2A1、HSPA8、TGFB1。

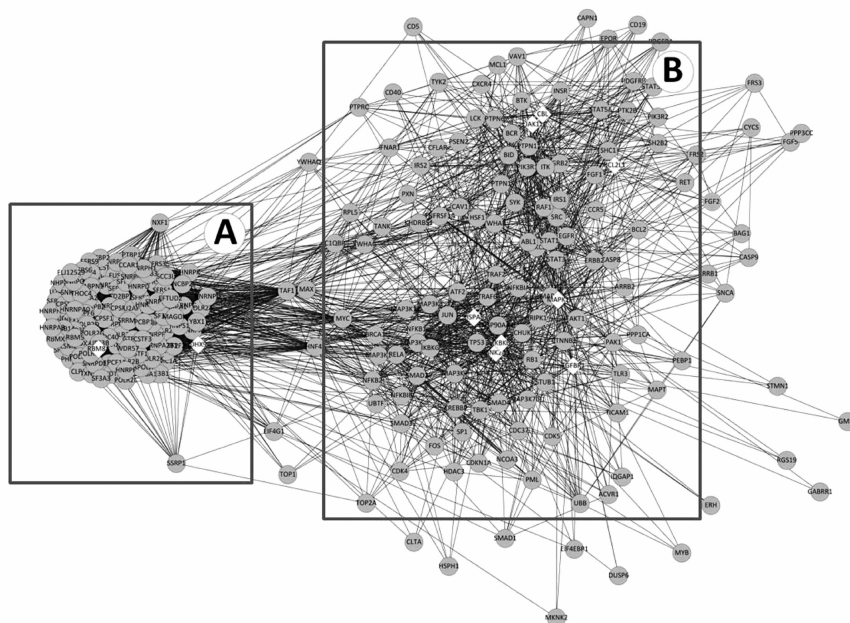


图 2 核心基因与临近节点(邻近节点同时与 2 个以上核心基因相互作用)的 PPIN

Fig. 2 PPIN of core genes with nearest neighbor nodes that shared more than one core genes

### 3 讨论

GEO 数据库已成为目前最大而且完全公开的主要储存基因表达数据的数据库,其中也存储了大量关于肝移植临床耐受的基因芯片表达谱原始数据。但由于受到数据提交者的研究领域、目标及视角以及数据分析分析方法的限制,这些数据并没有得到充分的利用。外周血单个核细胞(PBMC)是免疫系统重要组成部分,其基因表达的变化可以有效反应移植受者的免疫功能状态<sup>[7]</sup>。本研究利用基因芯片表达谱数据,通过 PPIN 等生物信息学方法分析肝移植临床耐受患者 PBMC 的基因表达特征,探索其免疫机制。

GO 的生物学过程注释表明差异表达基因的功能涉及蛋白质运输及降解、细胞周期调控、DNA 代谢、免疫应答、膜结构调节等复杂功能。其中关于蛋白质运输、降解的基因在分类注释结果中数量最多,表明蛋白质翻译后调节在外周血免疫细胞的功能调控中发挥了重要的作用,与肝移植免疫耐受的形成有密切关系。特别作为目前研究热点的蛋白质降解体系,具有清除衰老、损伤以及错误折叠蛋白的功能,在细胞周期调控、信号转导、细胞凋亡等生命活动中发挥重要作用;但其在免疫调控中的作用及机制的研究仍处于起步阶段,特别是有关临床耐受的研究较少,还需要进一步探索。

DAVID 的功能分类工具将差异基因主要分为以

下 6 类:泛素相关蛋白激酶、GTP 酶激活蛋白、高尔基体蛋白、WD 重复序列相关蛋白、RNA 转录后加工蛋白、免疫相关蛋白。其中泛素相关蛋白激酶、高尔基体蛋白、WD 重复序列相关蛋白的功能均涉及蛋白质合成、组装、降解。近年来, RNA 转录后加工的生物机制及意义开始受到关注; RNA 转录后加工包括 5' 及 3' 端修饰、mRNA 的剪接及编辑等过程;对 mRNA 的稳定、成熟及降解发挥生物功能具有重要作用,是重要的基因表达调控机制。目前,已有研究已致力于探索转录后调控机制如何参与调节免疫应答过程。

全部差异基因的 PPIN(图 1A)显示,基因表达产物与相关蛋白质形成了复杂的网络,表明与临床耐受相关的免疫机制非常复杂,涉及众多基因及基因间广泛的相互作用。中心节点(核心基因)均位于网络节点密集的区域;图 1B 是仅由 10 个核心基因(去除差异基因中的非核心基因)构建的 PPI 网络,但仍保留了图 1A 的基本结构,表明在免疫细胞中这些核心基因是肝移植临床耐受 PPI 网络的基础,发挥核心的调节功能。在图 2 中, A 群基因的编码产物主要参与 RNA 转录、转录后加工的蛋白质,包括核心基因 RBM8A 和 DHX9。A 群基因数量多、相互作用复杂、联系紧密,表明了 mRNA 转录后调控机制的复杂性及重要性。B 群基因的转录产物一类为信号传导蛋白,涉及广泛的信号通路,包含的核心基因为: JAK1、BCL2L1、IKBKB、MAPK1、CSNK2A1、TGFB1。另一类为参与蛋白质代谢的基因,包括 CBL

及 HSPA8。

RBM8A(核糖核酸结合模体蛋白 8A)表达产物含有 mRNA 结合位点,是外显子联结点复合体(exon-junction complex, EJC)的核心蛋白。参与 mRNA 剪切及无义介导的 mRNA 降解(Nonsense-mediated mRNA decay, NMD)过程,是 mRNA 质量监控的重要环节并发挥广泛的调节作用<sup>[8-9]</sup>。DHX9(DEAH 盒蛋白多肽 9)是一种人类 RNA 螺旋酶(human RNA helicase, HRH),参与 RNA 的转录、剪切、转运等过程;已有研究显示其与树突状细胞的抗病毒免疫反应及自身免疫性疾病有关<sup>[10]</sup>。RBM8A 及 DHX9 的表达上调表明 mRNA 的剪切、降解参与了肝移植临床耐受的免疫调控,但二者的靶基因及具有调控机制还有待探索。

泛素-蛋白酶体通路是真核细胞中选择性降解蛋白分子的重要途径。CBL(Casitas B-cell lineage lymphoma)是一种反向调节细胞活化的泛素连接酶,分子泛素连接酶能够泛素化 T、B 淋巴细胞活化信号途径中的酪氨酸激酶 ZAP70、Lck、Fyn 等,促使其通过蛋白酶体的途径降解,从而达到抑制淋巴细胞活化的作用<sup>[11-12]</sup>。HSPA8(热休克蛋白 A8)是 HsP70 家族成员,具有与核苷酸结合的特性,是主要的分子伴侣之一,HSPA8 主要参与细胞内蛋白质的从头合成和运输、蛋白质的折叠和降解,以维持细胞蛋白的稳定性<sup>[13]</sup>;也具有抑制细胞凋亡的作用和抑制炎症反应的作用。CBL 及 HSPA8 均参与蛋白质修饰及降解代谢,证明在肝移植临床耐受中相关蛋白质的结构稳定及降解对于免疫细胞的功能调控具有重要意义,具有良好的研究前景。

核心基因中大部分为参与 MAPK、JAK/STAT、转化生长因子、凋亡等信号通路的基因,这些信号通路对于维持细胞的生存至关重要。MAPK1(丝裂原激活蛋白激酶 1),是将各种细胞外刺激信号传递到细胞内的最重要的信号途径,在细胞的炎症性反应、生长、分化、增殖和生存等生理过程中起重要调控作用<sup>[14]</sup>。关于该基因已有较多研究,但也存在较多争议<sup>[15]</sup>。JAK1(Janus 蛋白酪氨酸激酶 1)为非受体型蛋白酪氨酸激酶(protin tyrosine kinase, PTK),是 JAK 蛋白酪氨酸激酶家族 4 个成员之一,主要通过 JAK/STAT 信号通路启动相应基因的转录和表达<sup>[16]</sup>,参与免疫细胞分化、免疫应答调节、介导炎症反应等生物学作用。Zouein 等研究显示 JAK1 还可以不依赖 STAT 而进入细胞核启动相关基因表达<sup>[16]</sup>,其调节功能及机制还有待深入探索。近年来 JAK1 阻断剂在治疗自身免疫性疾病中取得了进展<sup>[17]</sup>,对治疗移植排斥反应及诱导免疫耐受具有借

鉴意义。转化生长因子  $\beta 1$  (TGF- $\beta 1$ )是一种可以抑制同种移植免疫反应的重要细胞因子,TGFB1(转化生长因子  $\beta 1$  型受体)为跨膜的丝氨酸-苏氨酸激酶,可抑制 CD8、NK、DC 等免疫细胞的增殖,并可诱导调节性 T 细胞的分化<sup>[18]</sup>。KB 抑制蛋白激酶(IKB kinase, IKK)为核因子 KB(nuclear factor KB, NF- $\kappa$ B)信号转导途径的上游激酶。而 IKBKB(B 细胞编码  $\kappa$  轻链多肽基因抑制激酶 beta)是 IKK 复合体催化亚基的主要成分,介导固有免疫反应与适应性免疫应答<sup>[19-20]</sup>。BCL-2 家族通过操控线粒体膜的通透性对细胞凋亡加以调控,分为抗凋亡和促凋亡两个亚族,BCL2L1(B-cell lymphocyte/leukemia-2)为抑制凋亡的家族成员,Yang, Y 等研究显示 BCL2L1 具有抑制淋巴细胞凋亡的作用<sup>[21]</sup>。CSNK2A1(蛋白激酶 2,  $\alpha$  亚基)是蛋白激酶 2(CK-2)的一个亚基,CK-2 是一个重要的转录调控子,具有抑制凋亡的作用,对于细胞存活至关重要<sup>[22]</sup>。这些信号蛋白所引起的生物机制较为复杂,有些可促进或抑制免疫应答,有些作用具有双重性或者还不明确。而关于细胞凋亡调控的基因 BCL-2 及 CSNK2A1,均发挥凋亡抑制作用,表明抑制 PBMC 凋亡对于临床耐受具有重要意义。

综上所述,肝移植临床耐受涉及外周血免疫细胞复杂的基因表达调控机制及蛋白质间相互作用;RNA 转录及转录后加工参与了临床耐受的免疫调控;蛋白质降解在免疫耐受的形中发挥了重要作用;抑制 PBMC 凋亡对于临床耐受具有重要意义;RBM8A、DHX9、CBL、IKBKB、CSNK2A1、HSPA8 等核心基因在临床耐受中可能发挥重要调节功能,其作用机制及相互关系仍需要深入研究。

#### 参考文献(References)

- [1] Li L, Wozniak L J, Rodder S, Talisetti A, Wang Q, Esquivel C, Cox K, Chen R, McDiarmid S V. A Common Peripheral Blood Gene Set for Diagnosis of Operational Tolerance in Pediatric and Adult Liver Transplantation [J]. American Journal of Transplantation, 2012, 12(5): 1218-1228.
- [2] Martinez-Llordella M, Puig-Pey I, Orlando G, Ramoni M, Tisone G, Rimola A, Lerut J, Latinne D, Margarit C, Bilbao I, Brouard S, Hernandez-Fuentes M, Soullou J P, Sanchez-Fueyo A. Multiparameter immune profiling of operational tolerance in liver transplantation [J]. Am J Transplant, 2007, 7(2): 309-319.
- [3] Bohne F, Martínez-Llordella M, Lozano J J, Miquel R, Benítez C, Londoño M C, Manzia T M, Angelico R, Swinkels D W, Tjalsma H. Intra-graft expression of genes involved in iron homeostasis predicts the development of operational tolerance in human liver transplantation [J]. The Journal of clinical investigation, 2012, 122(1): 368.
- [4] Huang D W, Sherman B T, Lempicki R A. Systematic and integrative analysis of large gene lists using DAVID bioinformatics re-

- sources[J]. *Nat Protoc*, 2009,4(1):44-57.
- [5] Smoot M E, Ono K, Ruscheinski J, Wang P L, Ideker T. Cytoscape 2.8: new features for data integration and network visualization[J]. *Bioinformatics*, 2011,27(3):431-432.
- [6] Gao J, Ade A S, Tarcea V G, Weymouth T E, Mirel B R, Jagadish H V. Integrating and annotating the interactome using the MIMI plugin for cytoscape[J]. *Bioinformatics*, 2009,25(1):137-138.
- [7] Heidt S, San S D, Shankar S, Mittal S, Muthusamy A S, Friend P J, Fuggle S V, Wood K J. Peripheral blood sampling for the detection of allograft rejection: biomarker identification and validation[J]. *Transplantation*, 2011,92(1):1-9.
- [8] Michelle L, Cloutier A, Toutant J, Shkreta L, Thibault P, Durand M, Garneau D, Gendron D, Lapointe E, Couture S, Le Hir H, Klinck R, Elela S A, Prinos P, Chabot B. Proteins associated with the exon junction complex also control the alternative splicing of apoptotic regulators[J]. *Mol Cell Biol*, 2012,32(5):954-967.
- [9] Chuang T W, Peng P J, Tarn W Y. The exon junction complex component Y14 modulates the activity of the methylosome in biogenesis of spliceosomal small nuclear ribonucleoproteins[J]. *J Biol Chem*, 2011,286(11):8722-8728.
- [10] Vazquez-Del M M, Palafox-Sanchez C A, Munoz-Valle J F, Orozco-Barocio G, Oregon-Romero E, Navarro-Hernandez R E, Salazar-Paramo M, Armendariz-Borunda J, Gamez-Nava J I, Gonzalez-Lopez L, Chan J Y, Chan E K, Satoh M. High prevalence of autoantibodies to RNA helicase A in Mexican patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Res Ther*, 2010,12(1):R6.
- [11] Katkere B, Rosa S, Drake J R. The Syk-binding ubiquitin ligase c-Cbl mediates signaling-dependent B cell receptor ubiquitination and B cell receptor-mediated antigen processing and presentation[J]. *J Biol Chem*, 2012,287(20):16636-16644.
- [12] Paolino M, Penninger J M. Cbl-b in T-cell activation[J]. *Semin Immunopathol*, 2010,32(2):137-148.
- [13] Tzankov S, Wong M J, Shi K, Nassif C, Young J C. Functional divergence between co-chaperones of Hsc70[J]. *J Biol Chem*, 2008,283(40):27100-27109.
- [14] Roskoski R J. ERK1/2 MAP kinases: structure, function, and regulation[J]. *Pharmacol Res*, 2012,66(2):105-143.
- [15] Chang C F, DSouza W N, Chen I L, He Pouyssegur J, Drick S M. Polar opposites: Erk direction of CD4 T cell subsets[J]. *J Immunol*, 2012,189(2):721-731.
- [16] Zouein F A, Duhe R J, Booz G W. JAKs go nuclear: emerging role of nuclear JAK1 and JAK2 in gene expression and cell growth[J]. *Growth Factors*, 2011,29(6):245-252.
- [17] Fridman J S, Scherle P A, Collins R, Burn T C, Li Y, Li J, Covington M B, Thomas B, Collier P, Favata M F, Wen X, Shi J, McGee R, Haley P J, Shepard S, Rodgers J D, Yeleswaram S, Hollis G, Newton R C, Metcalf B, Friedman S M, Vaddi K. Selective inhibition of JAK1 and JAK2 is efficacious in rodent models of arthritis: preclinical characterization of INCB028050[J]. *J Immunol*, 2010,184(9):5298-5307.
- [18] Yoshimura A, Muto G. TGF- $\beta$  function in immune suppression[J]. *Negative Co-Receptors and Ligands*, 2011:127-147.
- [19] Kalia M, Kukol A. Structure and dynamics of the kinase IKK-beta-A key regulator of the NF-kappa B transcription factor[J]. *J Struct Biol*, 2011,176(2):133-142.
- [20] Lupino E, Ramondetti C, Piccinini M. IkappaB kinase beta is required for activation of NF-kappaB and AP-1 in CD3/CD28-stimulated primary CD4(+) T cells[J]. *J Immunol*, 2012,188(6):2545-2555.
- [21] Yang Y, Xiong Z, Zhang S, Yan Y, Nguyen J, Ng B, Lu H, Brendese J, Yang F, Wang H, Yang X F. Bcl-xL inhibits T-cell apoptosis induced by expression of SARS coronavirus E protein in the absence of growth factors[J]. *Biochem J*, 2005,392(Pt 1):135-143.
- [22] Battistutta R, Lolli G. Structural and functional determinants of protein kinase CK2alpha: facts and open questions[J]. *Mol Cell Biochem*, 2011,356(1-2):67-73.