

# 人 TACFlinker-BR3 双受体融合基因真核表达载体构建及其在 COS-7 细胞中的表达

王 燕<sup>1</sup>, 窦恒利<sup>2</sup>, 曹伟娟<sup>1</sup>, 钱 瑛<sup>1</sup>, 梁 艳<sup>1</sup>, 杨再兴<sup>1</sup>, 陆慧琦<sup>1</sup>, 朱 烨<sup>1</sup>, 周 晔<sup>1</sup>, 仲人前<sup>1\*</sup>

(1. 第二军医大学长征医院实验诊断科, 解放军临床免疫中心, 上海 200003; 2. 济南市第四医院外三科, 济南 250031)

[摘要] 目的: 构建人双受体融合基因真核表达载体——pCDNA3.1(+)-TACFlinker-BR3-IgGfc, 观察其在 COS-7 细胞中的表达。方法: 应用基因工程技术构建重组载体, 脂质体转染 COS-7 细胞, 通过 Western 印迹、ELISA 以及免疫组化方法, 检测目的蛋白的表达及其与 BAFF、APRIL 蛋白相互作用情况。结果: 融合基因在瞬时转染的真核细胞中获得表达, 并分泌至上清, 转染效率能达到 48%, 融合蛋白能与 BAFF、APRIL 蛋白有效结合而且融合蛋白中分子标签 IgGfc 未影响双受体融合蛋白的结构及其生物学活性。结论: 人 TACFlinker-BR3 双受体基因与 IgGfc 融合基因载体构建成功, 表达的融合蛋白具有生物学活性, 为进一步探讨 SLE 等自身免疫疾病的发病机制和生物学治疗方法奠定了基础。

[关键词] BAFF; APRIL; TACI; BR3; 融合蛋白; 真核表达

[中图分类号] Q 786 [文献标识码] A [文章编号] 0258-879X(2006)11-1190-06

## Construction of a eukaryotic vector containing human TACFlinker-BR3-IgGfc double receptor fusion gene and its expression in COS-7 cells

WANG Yan<sup>1</sup>, DOU Heng-li<sup>2</sup>, CAO Wei-juan<sup>1</sup>, QIAN Cheng<sup>1</sup>, LIANG Yan<sup>1</sup>, YANG Zai-xing<sup>1</sup>, LU Hui-qi<sup>1</sup>, ZHU Ye<sup>1</sup>, ZHOU Ye<sup>1</sup>, ZHONG Ren-qian<sup>1\*</sup> (1. Department of Clinical Diagnosis, Changzheng Hospital, Second Military Medical University, Clinical Immunology Center of PLA, Shanghai 200003, China; 2. The Third Department of Surgery, The Fourth Hospital of Ji 'nan, Ji 'nan 250031)

[ABSTRACT] Objective: To construct a eukaryotic vector containing human TACFlinker-BR3-IgGfc double receptor fusion gene and to investigate its expression in COS-7 cells. Methods: The standard cloning technology was employed to construct the title vector, which was then used to transfect COS-7 cells by lipofectamine 2000. The expression of target protein and their interaction with BAFF and APRIL protein were examined by Western blot, ELISA, and immunohistochemistry methods. Results: The expression of the fusion protein was observed in transiently transfected COS-7 cells, with the transfection efficiency being 48%. The fusion protein was detected in the supernatant. It suggested that the fusion protein interacted well with BAFF and APRIL proteins; the IgGfc tag did not influence the natural assembly and the biological activity of fusion proteins. Conclusion: A vector containing TACFlinker-BR3 double receptor and IgGfc fusion gene has been successfully constructed and the subsequent fusion protein is bioactive, which paves a way for further research on the pathogenesis of autoimmune diseases and biotherapy strategy.

[KEY WORDS] BAFF; APRIL; TACI; BR3; fusion protein; eukaryotic expression

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2006, 27(11): 1190-1195]

配体 B 淋巴细胞刺激因子 (B lymphocyte stimulator, BLyS) 是新发现的一种新型 TNF 超家族相关配体, 与人体免疫系统调节密切相关, 又名 BAFF、TALL-1、THANK、TNFSF20、zTNF4<sup>[1]</sup>。增殖诱导配体 (A proliferation-inducing ligand, APRIL) 是 1998 年由 Hahne 等<sup>[2]</sup> 发现的一种新 TNF 相关配体, 因其与 BAFF 具有较高同源性, 因此也被称为 TALL-2。BAFF 主要由单核细胞表达, 在体内、外实验中能介导 B 细胞的增殖和分泌免疫球蛋白<sup>[3,4]</sup>。研究<sup>[5]</sup> 发现, BAFF 基因突变小鼠可以产生广泛的 B 细胞增生和狼疮样自身免疫性疾

病, 表现为机体产生抗核抗体, 肾脏中出现免疫复合物沉积。APRIL 与 BAFF 功能相似, 在外周血淋巴细胞、单核细胞/巨噬细胞上有较高水平的表达, 但活性却不完全相同。APRIL 转基因小鼠中, T 细胞增殖显著, 存活时间延长, B 细胞增殖并使脾重量增加, 同时 T 细胞依赖性体液免疫反应加强, IgM 升高, APRIL 有可能作为 BAFF 的一种协同刺激分子在发挥作用<sup>[6]</sup>。

[作者简介] 王 燕, 博士生, 主管技师。

\* Corresponding author. E-mail: rqzhong@yahoo.com

BR3 是 BLyS 的特异性受体,是 BAFF 发挥促进成熟 B 细胞增殖、分化作用的关键性受体<sup>[7]</sup>。APRIL 竞争结合穿膜蛋白活化物受体 (transmembrane activator and CAML-interactor, TACI) 和 B 细胞成熟抗原受体 (B cell maturation antigen, BCMA),其中 TACI 与 APRIL 结合后的作用效果是 BCMA-APRIL 结合后的 10 倍。BAFF-APRIL 与 TACI-BCMA-BR3 的结合与 B 细胞增殖性自身免疫性疾病 (SLE、RA、SS 等) 发生发展关系密切,因此,降低 BAFF 和 APRIL 在血液中的含量及其生物活性可能会为自身免疫性疾病的治疗提供一种新方法。

本研究通过构建人 TACI-BR3 受体融合蛋白真核表达载体,体外表达双受体融合蛋白,与膜结合性受体竞争结合 BAFF 和 APRIL,封闭和减弱配体 BAFF 和 APRIL 发挥的生理功能,可能对 SLE、RA 等自身免疫性疾病的治疗起一定作用,为探索自身免疫性疾病新的生物治疗方法提供了新思路。

## 1 材料和方法

### 1.1 材料

双受体融合基因载体 pEGFP-N1-TACIlinker-BR3 已由本实验室构建。非洲绿猴肾细胞系 COS-7、DH5 感受态菌株购自天为时代公司;真核表达载体 pcDNA3.1(+), TRIZol 购自 Invitrogen 公司。Ex Taq DNA 多聚酶、LA Taq DNA 多聚酶、Probest DNA 多聚酶、PCR 用 GC Buffer、T4 DNA Ligase、pMD 18-T simple vector、逆转录试剂盒 mRNA Selective PCR Ver. 1.1 购自 TaKaRa 公司。DMEM、胎牛血清为 Gibco 公司产品。引物合成于上海鼎安公司,测序由大连宝生物公司完成。

### 1.2 载体构建

#### 1.2.1 引物设计与合成

由于本室已经成功构建 pEGFP-N1-TACIlinker-BR3,为了转染细胞后融合蛋白能进行分泌性表达和方便纯化,以其为模板,通过设计引物改变酶切位点,PCR 后将 TACIlinker-BR3 片段连入 pcDNA3.1(+) 载体中,linker 分子由 (Gly<sub>4</sub>Ser)<sub>3</sub> 组成,在融合基因 5 端加入 CD33 信号肽序列,3 端添加 IgGFc 序列。构建 CD33-TACIlinker-BR3-IgGFc 分泌型融合基因模式,见图 1。

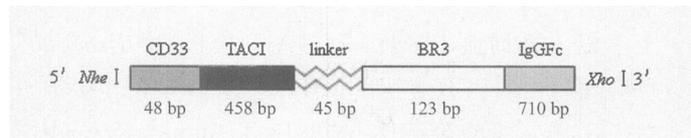


图 1 CD33-TACIlinker-BR3-IgGFc 融合基因构建模式图

Fig 1 Construction of CD33-TACIlinker-BR3-IgGFc fusion gene

TACI and BR3 gene are fused by a flexible hydrophobic polypeptide linker; moreover, CD33 signal peptide is added to the 5-terminal and IgGFc symbol is added to the 3-terminal

CD33 信号肽序列通过设计一对互补引物完成,引物退火后可形成两端带 *Nhe*I、*Hind* 限制性内切酶位点的黏性末端,为了提高目的蛋白的真核表达效率,在 5 端起始密码子前附加 Kozak 翻译起始密码,上游:5'-CTA GCG CCA CCA TGC CGC TGC TGC TAC TGC TGC CCC TGC TGT GGG CAG GGG CCC TGG CTA-3',下游:5'-AGC TTA GCC AGG GCC CCT GCC CAC AGC AGG GGC AGC AGT AGC AGC AGC GGC ATG GTG GCG-3'。

TACIlinker-BR3 片段扩增引物,上下游引物各引入 *Hind*、*Eco*R 限制性内切酶位点和保护碱基,上游:5'-CGA AGC TTA GTG GCC TGG GCC GGA GCA G-3',下游:5'-AAG AAT TCC CGC GGC GTG CGC AGG A-3'。

人免疫球蛋白 IgG1Fc 基因扩增以人外周血 PBMCs cDNA 为模板,用 *probest* DNA 多聚酶,上、下游引物各引入 *Eco*R、*Xho* 限制性内切酶位点和保护碱基,上游 5'-CGG AAT TCG AGC CCA AAT CTT GTG ACA A-3',下游 5'-CCC TCG AGT CAT TTA CCC GGA GAC AGG GAG-3'。

#### 1.2.2 目的基因 PCR 扩增和载体构建

CD33 信号肽互补引物退火后,形成两端带 *Nhe*I、*Hind* 限制性内切酶位点的黏性末端,连入 pcDNA3.1(+) 载体,命名为 pcDNA3.1(+)-CD33。

以 pEGFP-N1-TACIlinker-BR3 为模板,PCR 扩增 TACIlinker-BR3 片段,因为 TACIlinker-BR3 片段 GC 含量高,因此选用 LA Taq DNA 多聚酶和高 GC 缓冲液体系进行扩增。PCR 产物连入亚克隆载体 pMD 18-T simple 载体,经 *Hind*、*Eco*R 双酶切后连入 pcDNA3.1(+)-CD33 载体,命名为 pcDNA3.1(+)-CD33-TACIlinker-BR3 载体。

以人外周血 PBMCs cDNA 为模板,用 *Probest* DNA 多聚酶 PCR 扩增 IgGfc 片段,PCR 产物加“ A ”后,连入亚克隆载体 pMD 18-T simple,经 *EcoR*、*Xho* 双酶切后连入 pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3 载体,命名 pcDNA3.1(+)-CD33-

TACFlinker-BR3-IgGfc 载体。载体构建好后用分别用 *Nhe*、*Hind*、*EcoR*、*Xho* 进行酶切鉴定并送测序鉴定。

载体构建流程见图 2。

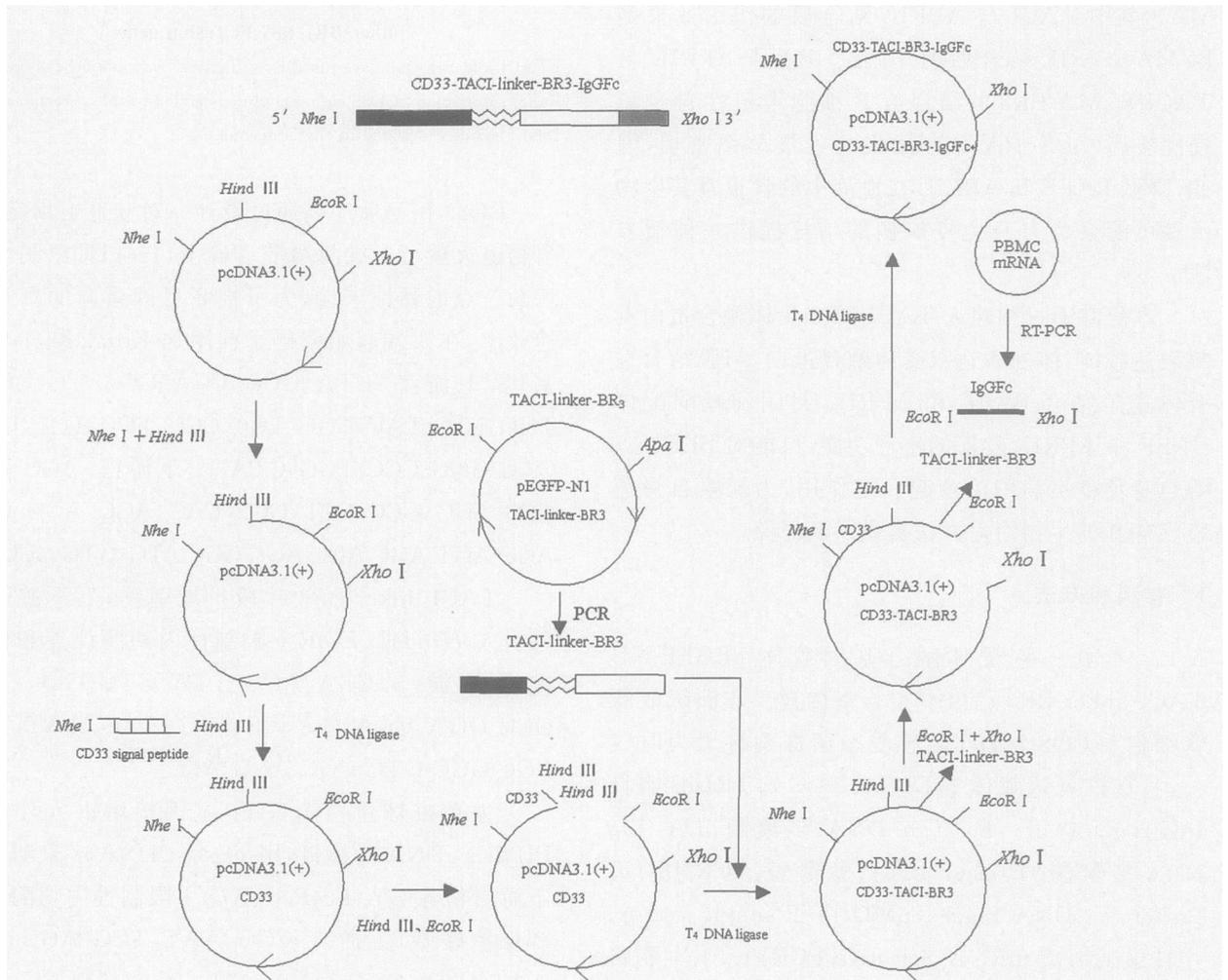


图 2 重组真核表达载体 pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-IgGfc 构建示意图

Fig 2 Construction route of eukaryotic vector pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-IgGfc

1.3 TACFlinker-BR3-IgGfc 双受体融合蛋白在 COS-7 细胞中表达

1.3.1 转染 COS-7 细胞 COS-7 细胞常规培养于含 10%胎牛血清的 DMEM 高糖培养基中,转染前 1 d,以  $2 \times 10^5$  /ml 密度接种于 24 孔细胞培养板,每孔加入 0.5 ml 无抗生素 DMEM 完全培养基,使其在次日达到 90%~95% 细胞融合度。转染时,每孔细胞用 50  $\mu$ l 无血清 DMEM 培养基稀释 0.8  $\mu$ g DNA,混匀;50  $\mu$ l 无血清 DMEM 培养基稀释 2  $\mu$ l lipofectamine 2000 转染试剂,混匀,室温孵育 5 min。将混合稀释的 DNA 和稀释的 lipofectamine

2000,混匀后,室温下放置 20 min,使得 DNA-lipofectamine 2000 复合物形成。将 24 孔板中旧培养液吸出,用无血清培养基清洗 2 次,加入 0.5 ml 无血清培养基。将 100  $\mu$ l 脂质体/DNA 混合物逐滴加到每孔中,轻轻混匀。37、5% CO<sub>2</sub> 中孵育 6 h 后换含血清无抗生素的新鲜培养基,继续培养。以 pcDNA3.1(+)-空载体同时转染作阴性对照。

1.3.2 COS-7 细胞中双受体融合基因 mRNA 的检测 TRIzol 试剂提取 48 h 培养的细胞中 RNA,RT-PCR 检测细胞中双受体融合基因 mRNA 的转录。

1.3.3 Western 印迹分析 转染 48 h 后,收集转染后的 COS-7 细胞,加入 1 ml RIPA buffer 和 10  $\mu$ l PMSF(10 mg/ml) 裂解细胞,与经 30% PEG8000/2.5 mol/L NaCl 溶解浓缩细胞蛋白提取液,Bradford 比色法测定蛋白浓度,将提取蛋白与 2  $\times$ SDS loading buffer 等体积混合,100 煮沸 5 min。快速离心后取上清,行 SDS-PAGE 电泳,转印至硝酸纤维素膜,以 HRP-羊抗人 IgG 抗体为标记抗体,新鲜配制的 DAB 为显色底物检测目的蛋白的表达。

1.3.4 夹心 ELISA 方法检测 BAFF、APRIL 与融合蛋白的结合 连续 7 d 收集 COS-7 瞬转细胞上清中的目的蛋白进行检测。分别用 APRIL、BAFF 蛋白、溶菌酶以 500 ng/ml 包被 96 孔板,5%脱脂奶粉封闭,加入浓缩后的细胞培养上清,37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h,1 mol/L PBST 洗板后,用 HRP-羊抗人 IgG 检测与固定化蛋白结合的目的蛋白。加入 TMB 显色底物,显色 3~5 min 后加 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 终止反应,测定各孔 D<sub>450</sub> 值。阴性对照为未转染细胞培养上清。

1.3.5 细胞爬片免疫组化方法检测双受体融合蛋白的表达 细胞爬片,加入 80%冷丙酮固定 10~15 min,PBS 洗 3 次  $\times$ 5 min,加入 0.02% Triton X-100,室温下孵育 20 min,PBS 洗涤后,用 5%脱脂奶粉 37  $^{\circ}$ C 封闭 30 min,加入 1:1 000 稀释的 HRP-羊抗人 IgG 抗体,37  $^{\circ}$ C 孵育 1 h,PBS 充分洗涤后,滴加新鲜配制的 DAB 显色 5~10 min 后,终止反应,行苏木精复染。以转染空质粒 pcDNA3.1(+) 作为阴性对照。

1.4 统计学处理 用 SPSS 10.0 软件进行 *t* 检验。

## 2 结果

2.1 重组表达 Fc 标记真核质粒 pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-Fc 的构建及鉴定 经 PCR 反应、酶切和测序,证实 pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3 与预期相符。重组载体 PCR 及酶切鉴定结果见图 3。

2.2 RT-PCR 鉴定融合基因的整合和表达 TRIZol 法提取细胞总 RNA,RT-PCR 结果显示在转染细胞中出现融合基因,而非转染细胞中未见目的基因的表达。PCR 扩增的片段有 TACFlinker-BR3-IgGFc 以及目的基因全长(CD33-TACFlinker-BR3-IgGFc) 片段,大小分别为 620、710、1 300 bp (图 4)。

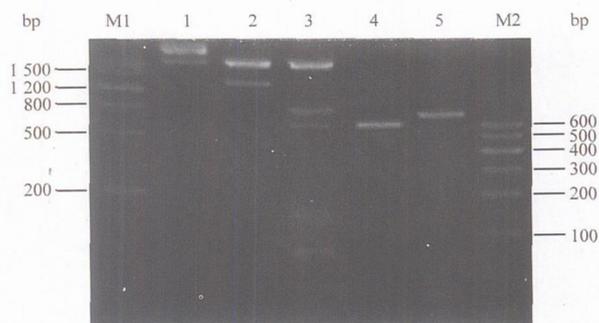


图 3 pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-Fc 的酶切及 PCR 鉴定

Fig 3 Identification of plasmid pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3 by restriction endonuclease digestion and PCR

M1, M2: DNA marker; 1: pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-Fc; 2: pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-Fc/ *Nhe* + *Xho*; 3: pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-Fc/ *Sal* + *Apa*; 4: TACFlinker-BR3 PCR; 5: IgGFc PCR

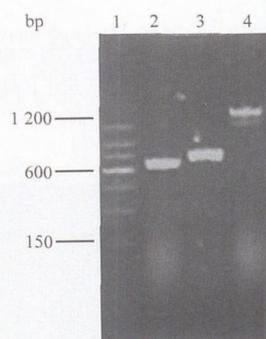


图 4 RT-PCR 结果

Fig 4 The results of RT-PCR

1: 150 bp DNA marker; 2: TACFlinker-BR3 RT-PCR products from COS-7; 3: IgGFc RT-PCR products from COS-7; 4: Total length of purpose protein RT-PCR products from COS-7

2.3 重组 pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-IgGFc 载体在 COS-7 细胞中表达鉴定 用 pcDNA3.1(+)-CD33-TACFlinker-BR3-IgGFc 转染 COS-7 细胞,同时以空载体 pcDNA3.1(+) 作阴性对照。取目的质粒转染后 COS-7 细胞裂解产物进行 Western 印迹分析,可见有特异蛋白条带。其相对分子质量与目的蛋白基本一致,而 pcDNA3.1(+) 对照未见表达产物(图 5)。

2.4 ELISA 检测 BAFF、APRIL 与 TACFlinker-BR3-IgGFc 融合蛋白的特异性结合 固定于 96 孔板上的背景蛋白溶菌酶与阴性对照相比,结合信号无明显区别,BAFF 与 APRIL 包板,结合信号显著增强,*D*<sub>450</sub> 值分别为 0.875、0.593,经 *t* 检验,与阴性对照和背景蛋白结果相比有显著性差异 ( $P <$

0.01)。说明 BAFF 和 APRIL 与双受体融合蛋白 TACFlinker-BR3-IgGFc 有明显的相互作用。

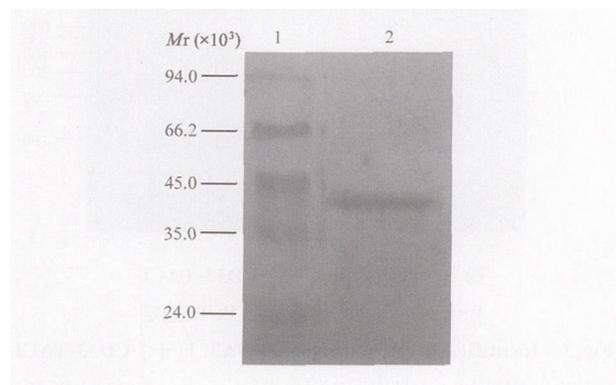


图5 TACFlinker-BR3-Fc 融合蛋白 Western 印迹结果

Fig 5 Western blotting of TACFlinker-BR3-Fc fusion protein

1: Protein marker; 2: Purpose protein

2.5 免疫组化检测结果 以转染后细胞爬片做免疫组化,可见阳性转染细胞胞质中蛋白表达强阳性,最高阳性率可达到 48% (图 6)。

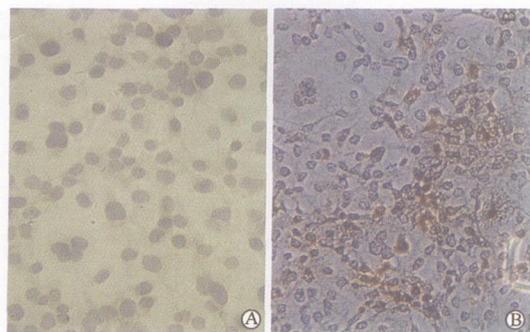


图6 融合蛋白在 COS-7 细胞中的表达

Fig 6 Expression of biceptor fusion protein in COS-7 cells( x200)

A: COS-7 cells transfected with pcDNA3.1 (+); B: COS-7 cells transfected with pcDNA3.1 (+)-CD33-TACFlinker-BR3-IgGFc

### 3 讨论

通过对 BAFF 转基因小鼠以及基因敲除小鼠模型的研究已经证实,BAFF 在自身免疫病(如 SLE)的形成和发展中起重要作用,BAFF 能提供共刺激信号对抗 TCR 刺激后的 T 细胞增殖反应<sup>[8]</sup>,还参与调节 Th1 型炎症反应<sup>[9]</sup>。在对 B 细胞的生长和分化调节作用中,BAFF 是一个关键因子,APRIL 有可能作为一个协同刺激因子在发挥作用<sup>[10]</sup>。在骨髓瘤患者中,BAFF 和 APRIL 通过活化骨髓瘤细

胞中 NF- $\kappa$ B、PI3 激酶和 MA KP 激酶通路,使 Mcl-1 和 Bcl-2 抗凋亡蛋白表达上调,促进骨髓瘤细胞增殖以及降低细胞对地塞米松治疗后的凋亡反应<sup>[11]</sup>。同样的,在 B 细胞型慢性淋巴细胞白血病患者中,BAFF、APRIL 蛋白可通过自分泌的方式作用于相应受体活化 NF- $\kappa$ B 途径抑制白血病细胞凋亡<sup>[12]</sup>。

阻断相关配体的生理学作用,构建重组可溶性受体是一个行之有效的方法。为了同时阻断或抑制 BAFF、APRIL 的作用,本研究选择了构建双受体融合蛋白的方法。

目前,在体内研究结果证实:TACI 作为一个可溶性受体,可以有效阻断 BAFF 在自身免疫疾病中的生物活性功能<sup>[9]</sup>。向 SLE 模型小鼠注射可溶性 TACIFc 融合蛋白会使其蛋白尿和死亡率下降<sup>[13]</sup>。注射 TACI 也可以阻断 APRIL 介导的细胞效应,而不是单纯的 BAFF 介导的细胞效应<sup>[10]</sup>。TACI 将是研究自身免疫病生物治疗的一个有用靶点。BR3 是 BAFF 的特异性受体,BR3-Fc 可以抑制(NZB x NZW) F1 小鼠模型抗-DNA 抗体的产生<sup>[14]</sup>。

本研究成功构建了双受体融合蛋白,5 端引物 CD33 信号肽序列,使目的蛋白分泌性表达,有利于蛋白的收集和纯化。Fc 融合蛋白主要是将生物活性蛋白与 Ig 的铰链区及 CH<sub>2</sub>、CH<sub>3</sub> 区结合。Fc 融合蛋白多数具有如下特征:(1)通过与抗 Ig 或蛋白 A 结合便于检测或纯化,如用抗人 Fc 抗体标记物可识别融合蛋白的 Fc 段,可鉴定融合蛋白识别的组织 and 细胞,此外 Fc 段易于被 I<sub>2</sub> 及酶标记,用于流式细胞术及免疫组化检测,有利于 Fc 融合蛋白作为一种研究用的工具。(2)通过该蛋白分子与其配体的相互作用将 Fc 段的生物学效应引到特定目标,如 AD-CC、固定补体及免疫调节作用等。(3)延长该蛋白在血液中的半衰期,利于重组蛋白作为治疗药物在临床中的实际应用。(4)IgG、IgM 和 IgA 的 Fc 结构域可形成多聚合分子,使重组蛋白具有更强的抗原结合力。将双受体融合蛋白基因片段和 hIgG1 Fc 片段连接在一起,表达分泌型的 CD33-TACFlinker-BR3-Fc 融合蛋白,使表达产物的免疫原性和活性增高,可介导 ADCC 和 CDC 等效应功能,IgG1 Fc 区能够结合 NK 细胞表面的 CD16 受体以及启动补体级联反应的 C1q 蛋白,由此可以触发强烈的溶细胞反应,另外,Fc 片段可使融合蛋白易于用抗-Fc 抗体和 proteinA 亲和层析柱进行分离纯化和鉴定。

TACI 和 BR3 受体之间引入 Linker 结构,这是一含 15 个氨基酸的疏水性多肽,具有良好的柔韧性和折叠性,并具有足够的长度保证融合蛋白中 TACI 和 BR3 能形成与天然蛋白类似的空间结构,而且不会互相干扰正确空间结构的形成。

评价外源性蛋白是否构建成功,我们还需要进行大量的蛋白功能和活性研究,这也是下一步工作的重点和难点,为探索自身免疫病的发病机制和寻求新的生物治疗方法奠定基础。

### [参考文献]

- [1] Thompson JS, Schneider P, Kalled SL, et al. BAFF binds to the tumor necrosis factor receptor-like molecule B cell maturation antigen and is important for maintaining the peripheral B cell population [J]. *J Exp Med*, 2000, 192: 129-135.
- [2] Hahne M, Kataoka T, Schröter M, et al. APRIL, a new ligand of the tumor necrosis factor family, stimulates tumor cell growth [J]. *J Exp Med*, 1998, 188: 1185-1190.
- [3] Nardelli B, Belvedre O, Roschke V, et al. Synthesis and release of B-lymphocyte stimulator from myeloid cells [J]. *Blood*, 2001, 97: 198-204.
- [4] Mukhopadhyay A, Ni J, Zhai Y, et al. Identification and characterization of a novel cytokine, THANK, a TNF homologue that activates apoptosis, nuclear factor- $\kappa$ B, and c-Jun NH<sub>2</sub>-terminal kinase [J]. *J Biol Chem*, 1999, 274: 15978-15981.
- [5] Mackay F, Woodcock SA, Lawton P, et al. Mice transgenic for BAFF develop lymphocytic disorders along with autoimmune manifestations [J]. *J Exp Med*, 1999, 190: 1697-1710.
- [6] Roschke V, Sosnovtseva S, Ward CD, et al. BLyS and APRIL form biologically active heterotrimers that are expressed in patients with systemic immune-based rheumatic diseases [J]. *J Immunol*, 2002, 169: 4314-4321.
- [7] Moore PA, Belvedere O, Orr A, et al. BLyS: member of the tumor necrosis factor family and B lymphocyte stimulator [J]. *Science*, 1999, 285: 260-263.
- [8] Ng LG, Sutherland AP, Newton R, et al. B cell-activating factor belonging to the TNF family (BAFF)-R is the principal BAFF receptor facilitating BAFF costimulation of circulating T and B cells [J]. *J Immunol*, 2004, 173: 807-817.
- [9] Sutherland AP, Ng LG, Fletcher CA, et al. BAFF augments certain Th1-associated inflammatory responses [J]. *J Immunol*, 2005, 174: 5537-5544.
- [10] Wu Y, Bressette D, Carrell JA, et al. Tumor necrosis factor (TNF) receptor superfamily member TACI is a high affinity receptor for TNF family members APRIL and BLyS [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275: 35478-35485.
- [11] Moreaux J, Legouffe E, Jourdan E, et al. BAFF and APRIL protect myeloma cells from apoptosis induced by interleukin 6 deprivation and dexamethasone [J]. *Blood*, 2004, 103: 3148-3157.
- [12] Kern C, Comuel JF, Billard C, et al. Involvement of BAFF and APRIL in the resistance to apoptosis of B-CLL through an autocrine pathway [J]. *Blood*, 2004, 103: 679-688.
- [13] Sasaki Y, Casola S, Kutok JL, et al. TNF family member B cell-activating factor (BAFF) receptor-dependent and -independent roles for BAFF in B cell physiology [J]. *J Immunol*, 2004, 173: 2245-2252.
- [14] Kayagaki N, Yan M, Seshasayee D, et al. BAFF/BLyS receptor 3 binds the B cell survival factor BAFF ligand through a discrete surface loop and promotes processing of NF- $\kappa$ B2 [J]. *Immunity*, 2002, 10: 515-524.

[收稿日期] 2006-06-28

[修回日期] 2006-10-20

[本文编辑] 尹 茶

## 《中华肝病专家论坛》已出版

本书由吴孟超、邬祥惠等一百多位国内知名肝病专家撰稿,对肝病的理论进展、现代诊断与治疗技术等诸多方面进行了详尽的阐述,并结合多年的实践经验加以分析评述;科学性、系统性及可读性均较强;可供感染病科、消化内科、肝胆外科等临床相关科室医生参考阅读。

由第二军医大学出版社出版、发行,ISBN 7-81060-581-X/R. 443,定价:160.00 元。

订购电话:021-65493093,地址:上海市翔殷路 800 号 第二军医大学出版社发行科,邮编:200433