

防和治疗开辟了一条重要的途径。

参考文献

- Mueller R. The monkey (macaca fascicularis) heart neural structures and conducting system; an immunochemical study of selected neural biomarkers and glutamate receptors [J]. Toxicologic Pathology, 2003, 31(2): 227-234
- Gill S, Veinot J, Kavanagh M, *et al.* Human heart glutamate receptors—implications for toxicology, food safety, and drug discovery [J]. Toxicologic Pathology, 2007, 35: 411-417
- Leung J, Travis B, Verlander J, *et al.* Expression and developmental regulation of the NMDA receptor subunits in the kidney and cardiovascular system [J]. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol, 2002, 283: R964-R971
- Torii K, Moriyama Y. Physiology and pharmacology of the gut nutrient perception [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(10): 1841-1843
- Santiago R, Hughes M, Kamphuis W, *et al.* Diabetes changes ionotropic glutamate receptor subunit expression level in the human retina [J]. Brain Research, 2008, 1198: 153-159
- Santiago R, Gaspar J, Baptista F, *et al.* Diabetes changes the levels of ionotropic glutamate receptors in the rat retina [J]. Molecular Vision, 2009, 15: 1620-1630
- Santiago R, Hughes M, Kamphuis W, *et al.* Diabetes changes ionotropic glutamate receptor subunit expression level in the human retina [J]. Brain Research, 2008, 1198: 153-159
- Anu J, Kumar T, Nandhu M, *et al.* Enhanced NMDAR1, NMDA2B and mGlu5 receptors gene expression in the cerebellum of insulin induced hypoglycaemic and streptozotocin induced diabetic rats [J]. European Journal of Pharmacology, 2010, 630: 61-68
- Iwaki K, Sukhatme VP, Shubaita HE, *et al.* Alpha- and beta-adrenergic stimulation induces distinct patterns of immediate early gene expression in neonatal rat myocardial cells. fos/jun expression is associated with sarcomere assembly. Egr-1 induction is primarily an alpha 1-mediated response [J]. J Biol Chem, 1990, 265(23): 13809-13817
- Gao X, Xu XB, Pang J, *et al.* NMDA receptor activation induces mitochondrial dysfunction, oxidative stress and apoptosis in cultured neonatal rat cardiocyte [J]. Physiol Res, 2007, 56(5): 559-569
- Liu Y, Zhou L, Xu HF, *et al.* A preliminary experimental study on the cardiac toxicity of glutamate and the role of α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor in rats [J]. Chin Med J, 2013, 126(7): 1323-1332
- Meng L, Zhang Z, Xu K, *et al.* HIV-1 gp120 induces autophagy in cardiomyocytes via the NMDA receptor [J]. Int J Cardiol, 2013, 167(6): 2517-2523

(收稿日期: 2014-05-16)

(修回日期: 2014-05-26)

支架蛋白 JLP 调控 B 细胞上 CD40 诱导的 MAPK 信号通路活化及细胞增殖

颜 奇 王惠明 丁国华

摘 要 目的 对支架蛋白 JLP 在小鼠 B 细胞上 CD40 诱导信号通路活化及细胞增殖中的作用进行研究, 探索支架蛋白 JLP 在 CD40 诱导小鼠 B 细胞信号通路及后续生物学效应中的作用。方法 磁珠分选法分选出 jlp 野生型和 jlp 基因敲除小鼠模型脾脏 B 细胞, 使用免疫印迹法检测在接受 CD40 配体 (CD40L) 刺激后 jlp 野生型和 jlp 基因敲除型小鼠脾脏 B 细胞 p38、Erk 和 Jnk MAPK, 磷酸化 c-Jun 以及 NF- κ B 信号通路及的活化情况, 并使用 CFSE 检测两种基因型小鼠 B 细胞在接受 CD40L 刺激后细胞增殖情况。结果 jlp 基因敲除小鼠 B 细胞在受到 CD40L 刺激后其 p38、Erk、Jnk MAPK 信号通路以及 c-Jun 活化情况均较 jlp 野生型小鼠 B 细胞明显减弱, 而 NF- κ B 信号通路的激活情况在两种基因型 B 细胞中并无明显差异, jlp 基因敲除小鼠 B 细胞中 CD40 诱导的细胞增殖水平较 jlp 野生型 B 细胞明显降低。结论 支架蛋白 JLP 参与调控 B 细胞上 CD40 诱导的 MAPK 信号通路活化及细胞增殖。

关键词 支架蛋白 JLP B 细胞 MAPK 信号通路 细胞增殖

[中图分类号] R3 [文献标识码] A

Scaffolding Protein JLP Regulates CD40L-Induced MAPK Signal Pathway Activity and Cell Proliferation in B Lymphocyte. Yan Qi,

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (81370800, 81172793); 国家科技支撑计划项目 (2011BAI10B04); 重庆市自然科学基金资助项目 (2011BB5028)

作者单位: 430006 武汉大学人民医院肾内科

通讯作者: 丁国华, 教授, 电子信箱: ghxding@gmail.com

Wang Huiming, Ding Guohua. Department of Nephrology, Wuhan University Renmin Hospital, Hubei 430006, China

Abstract Objective To investigate the role of scaffolding protein JLP in regulating CD40L – induced activation of signal pathways and B cell proliferation, thus to explore whether JLP is involved in CD40L – triggered signals activity and downstream biological outcomes. **Methods** B lymphocyte were purified from splenocytes from $jlp^{+/+}$ and $jlp^{-/-}$ mice by magnetic sorting for the negative selection. Western blotting was used for detecting the p38, Erk, Jnk MAPK, c – Jun and I κ – B α phosphorylation. CFSE was performed to analyze the proliferation of two genotypic B cells. **Results** The phosphorylated forms of p38, Erk and Jnk were impaired in $jlp^{-/-}$ splenic B cells comparing with control B cells upon CD40 treatment. CD40 engagement also resulted in a marginal decrease in c – Jun phosphorylation in $jlp^{-/-}$ B cells. However, no substantial differences in the level of phosphorylated I κ B α could be observed between two genotypic of B cells. **Conclusion** Scaffolding protein JLP is involved in regulating CD40 – triggered activation of MAPK signal pathway and the proliferation in B lymphocyte.

Key words Scaffolding protein JLP; B lymphocyte; MAPK signal pathway; Proliferation

B 细胞介导的免疫应答,在机体的免疫系统中发挥十分重要的作用。B 细胞通过抗原递呈,T 细胞共活化,产生抗体,分泌细胞因子,形成对特定病原体的记忆性 B 细胞等多方面来提高机体在抵御外来病原体入侵时的免疫能力^[1]。B 细胞表面某些重要表面抗原在 B 细胞存活和功能发挥中起至关重要的作用,其中一个关键的共刺激分子就是 CD40。CD40 分子属于肿瘤坏死因子受体 TNFR 超家族中的 1 个成员,它是位于 20 号染色体上 q12 ~ q12.3 片段所编译 1 个(47 ~ 48)kDa 大小的 I 类跨膜蛋白,由 277 个氨基酸序列所构成,分 1 个 170 个氨基酸序列组成的胞外段,1 个跨膜段和 1 个短的胞内段 3 部分^[2]。目前研究表明 CD40 在诸多免疫细胞上均有表达,包括 B 细胞、树突状细胞(DC)、巨噬细胞、单核细胞等,除免疫细胞外,其他细胞如血管上皮细胞,平滑肌细胞,成纤维细胞等也报道有 CD40 的表达^[3]。

既往研究表明 CD40 分子对于 B 细胞生理功能的发挥起重要的作用,B 细胞表面的 CD40 分子在受到其配体 CD40(CD40L)的结合后,表面 CD40 分子将会聚集并内化,定位于脂筏,其胞内段与 TRAFs 接头蛋白相结合,形成一个信号复合体,进一步聚集信号通路中的一系列激酶如 NF – κ B 诱导激酶(NIK)、NF – κ B 激活因子 – 1(Act – 1)、受体结合激酶 RIP 和 MAPK 通路中的激酶,产生信号级联反应,并最终导致一系列信号通路的活化。CD40 诱导可活化的信号通路包括:经典或非经典的 NF – κ B 通路,MAPK 激酶 p38、Erk 和 Jnk 通路,PI₃K 通路以及 STAT3 通路等。这些信号通路的激活进一步活化 B 细胞并介导 B 细胞一系列生理功能。MAPK 和 NF – κ B 信号通路介导了 CD40 诱导的 B 细胞增殖、活化、抗体 Ig 类别转换,细胞因子分泌等功能,并使 B 细胞免于 CD40L 诱导的细胞凋亡。PI₃K 和 STAT 通路的激活

则可能参与 B 细胞抗凋亡能力,并能够上调 ICAM1、CD23 和淋巴毒素 – 1 的表达^[4]。

支架蛋白 c – Jun NH2 – terminal kinase – associated leucine zipper protein (JLP)为 p38 和 Jnk MAPK 信号通路中的 1 个支架蛋白,它由 Reddy 小组于 2002 年首次发现,后续的一系列研究报道了 JLP 在神经细胞中的对细胞胞膜和胞质的囊泡转运重要调控作用^[5]。笔者前期的研究发现支架蛋白 JLP 可以调控树突状细胞(DC)表面 CD40 分子的跨膜穿梭转运^[6]。如上所述,CD40 分子诱导的信号通路激活在 B 细胞的生物学功能的发挥中起重要作用,然而关于支架蛋白 JLP 在 CD40 诱导免疫细胞的信号通路及后续生物学效应作用的探讨国内外目前尚无研究报道,本研究中使用 jlp 基因敲除小鼠脾脏 B 细胞来研究以上问题,以期进一步探索支架蛋白 JLP 在免疫细胞中发挥的一系列的作用。

材料与方法

1. 材料:(1)实验动物: jlp 杂合基因($jlp^{+/-}$) C57/BL6 背景小鼠由日本金泽大学 Katsuji Yoshioka 教授惠赠,小鼠饲养并繁殖于武汉大学动物实验中心,实验所用小鼠均为 SPF 级别。 jlp 野生型($jlp^{+/+}$)和 jlp 敲除($jlp^{-/-}$)小鼠均由 $jlp^{+/-}$ 小鼠繁殖所得,使用 PCR 及免疫印迹法对繁殖小鼠后代进行基因鉴定,下述实验均使用同窝中体重和性别匹配的 $jlp^{+/+}$ 和 $jlp^{-/-}$ 小鼠进行。(2)细胞培养:小鼠脾淋巴细胞分离液购自北京达科为公司;B 细胞分选所用分选溶液、分选用 Cocktail antibody、链霉素偶联磁珠、磁架均来自美国 BD 生物公司;RPMI1640 细胞培养基购自美国 Hyclone 公司,胎牛血清购自 Life Gibco 公司,1% 青霉素链霉素溶液购自北京吉泰公司。(3)试剂:重组小鼠 CD40 配体蛋白购自美国 R&D 公司,CFSE 细胞增殖检测试剂盒购自 Life Molecular probes 公司,p38、Jnk MAPK 通路特异性激动剂 Anisomycin 购自美国 Sigma – Aldrich 公司,0.45 μ m PVDF 膜购自 Merck Millipore 公司,远红外抗小鼠及抗兔 IRDye 800CW 二抗购自 Li – cor 公司,抗

Erk, 抗 Jnk, 抗 p38, 抗磷酸化 Erk (Thr202/Tyr204), 抗磷酸化 Jnk (Thr183/Tyr185), 抗磷酸化 p38 (Thr180/Tyr182), 抗磷酸化 I κ B α (Ser32), 抗磷酸化 c-Jun (Ser73) 抗体均购自美国 Cell Signaling Technology 公司。(4) 仪器: 流式细胞仪 Accuri C6 购自美国 BD 公司; 奥德赛近红外激光扫描系统 Odyssey CLx Infrared Imaging System (Li-Cor 公司), 本部分实验在武汉大学人民医院中心实验室完成。

2. 方法: (1) B 细胞磁珠分选: 无菌取出脾脏, 200 目滤网碾磨, 过滤脾脏获得单个细胞, 将细胞重悬于淋巴细胞分离液中, 水平离心 $800 \times g$, 30min 小心吸取中间白膜层, 即为脾脏淋巴细胞。洗涤并裂红后重悬细胞于磁珠分选液中, 计数所得脾脏淋巴细胞后每 1×10^6 个/毫升细胞数加入小鼠 B 淋巴细胞阴性分选 cocktail $5 \mu\text{l}$, 冰上孵育 15min, 洗涤细胞悬液后加入链霉素偶联磁珠, 4°C 反应 30min 后过磁架, 即为阴性分选所得 B 细胞。使用流式细胞仪计数 B 细胞分选纯度, 本实验中 B 细胞分选纯度为 88% ~ 95%。(2) 免疫印迹: 使用 Life 预制胶系统进行电泳, 恒压 80V, 30min 后转 100V 2 ~ 3h, 待 Marker 分开后关闭电源结束电泳。配制电转液 1L (Tris-base 3g, 甘氨酸 14.4g, 甲醇 200ml), 调整电转仪 200mA 1 ~ 2h, 低分子如 β -actin 1h 即可, 高分子一般需 2h 电转时间; 电转完成后, 取出 PVDF 膜放置 TBS 中洗涤 5min, 将 PVDF 膜加入 TBST 配制 5% 的脱脂奶粉溶液 (封闭液), 摇床孵育 1h, 将封闭好的 PVDF 膜放入相应一抗内, 于 4°C 冰箱过夜。第 2 天, 取出 PVDF 膜于 TBST 中放置摇床上洗涤 3 次, 每次 5min, 洗涤完毕后加入二抗, 室温下反应 1h。二抗反应完毕后同样以 TBST 置摇床上洗涤 3 次, 每次 5min。使用奥德赛近红外激光扫描系统对 PVDF 膜进行曝光, 并使用配套软件进行数据整理和分析。(3) CFSE 染色: 调整 B 细胞浓度为 10^7 个/毫升, 离心后重悬于 $500 \mu\text{l}$ 含 0.1% BSA 的 PBS 内, 加入 CFSE (终浓度为 $5 \mu\text{mol/L}$) 后将细胞悬液置于 37°C 培养箱内孵育 8min; 孵育结束后加入 4°C 预冷 20% FBS 完全培养基离心洗涤 1500r/min, 10min, 3 遍; 加入 rCD40L ($1 \mu\text{g}/\mu\text{l}$) 于 37°C 培养箱中培养 5 天。培养结束后, 收集细胞上流式细胞仪于 FL1 通道上检测 CFSE 荧光改变。

3. 统计学方法: 使用 SPSS 16.0 统计学软件对实验数据进行分析, 数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 两组之间的数据使用 t 检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

结 果

1. 两种不同基因型 B 细胞 CD40L 诱导信号通路激活情况: 笔者首先探索支架蛋白 JLP 对 CD40L 诱导活化 B 细胞信号通路的作用。通过免疫印迹法检测信号通路中蛋白磷酸化水平改变来对信号通路的活化进行分析。笔者发现 $jlp^{-/-}$ B 细胞的 p38、Erk 和 Jnk MAPK 通路的磷酸化水平表达较 $jlp^{+/+}$ B 细胞有明显的降低, 同时 Jnk 下游通路中磷酸化 c-Jun 表达水平同样受到了抑制, 表明支架蛋白 JLP 的缺失

使 CD40 诱导 B 细胞 MAPK 信号通路的活化受到限制。然而我们观察到 I κ B α 的磷酸化水平在两种基因型的 B 细胞上未存在明显差异 (图 1)。

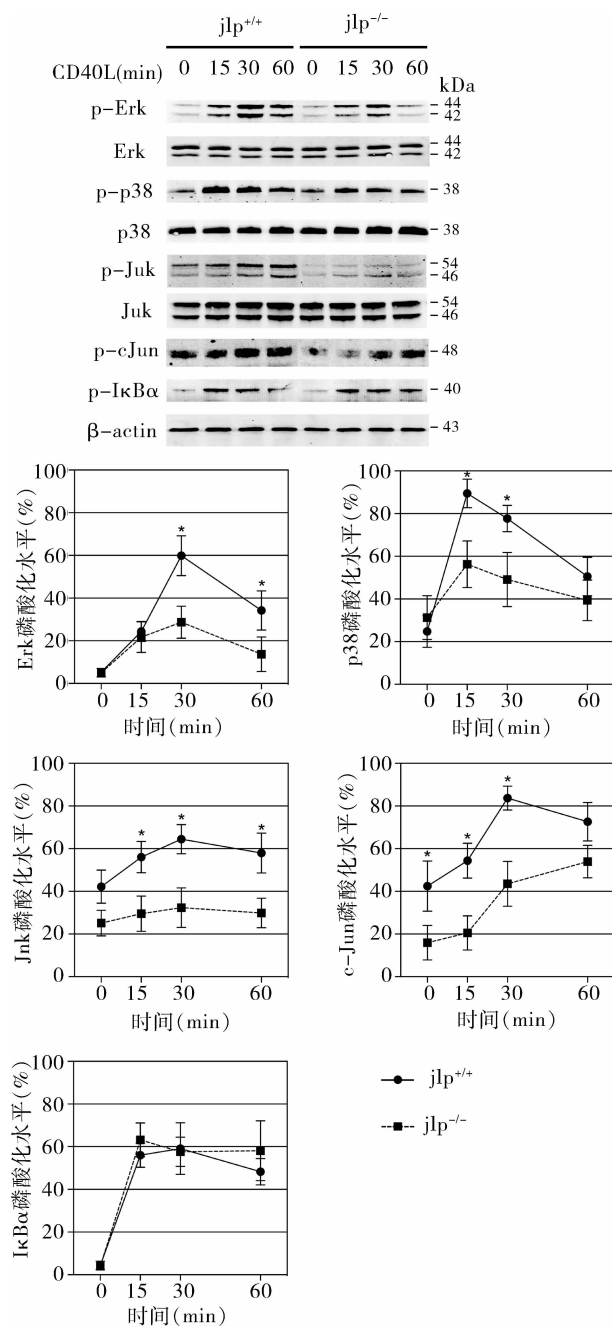


图 1 $jlp^{+/+}$ 和 $jlp^{-/-}$ B 细胞给予不同时间段 CD40L 的刺激后, 收集细胞进行免疫印迹 Western blot 法检测 p38、Erk、Jnk 及其磷酸化形式, 磷酸化 I κ B α 、磷酸化 c-Jun 的改变情况

使用 Quantity One 软件对免疫印迹条带进行光密度值分析, 与 0min 相比, * $P < 0.05$

2. anisomycin 诱导 $jlp^{+/+}$ 和 $jlp^{-/-}$ B 细胞 p38 和 Jnk 信号通路活化改变: 因为 JLP 为 p38 和 Jnk 通路

中的一个支架蛋白,为了进一步明确 $jlp^{-/-}$ B 细胞其 MAPK 信号通路减弱是固有支架蛋白 JLP 缺失还是 CD40 诱导特异性所致,本研究使用 p38 和 Jnk MAPK 通路特异性激动剂 anisomycin 来诱导两种不同基因型 B 细胞 p38 和 Jnk 通路的磷酸化,并比较两者磷酸化程度的差异。anisomycin 刺激后, $jlp^{+/+}$ 和 $jlp^{-/-}$ B 细胞的 p38 和 Jnk 磷酸化水平并未发生改变(图 2)。

3. CD40L 诱导两种基因型 B 细胞增殖率:CFSE 结果表明,两种基因型 B 细胞在未接受刺激时其增殖情况无明显差异,在给予 CD40L 刺激 5 天后, $jlp^{+/+}$ B 细胞增殖率为 54.8%,而 $jlp^{-/-}$ B 细胞增殖率则明显下降,仅为 17.4%(图 3)。

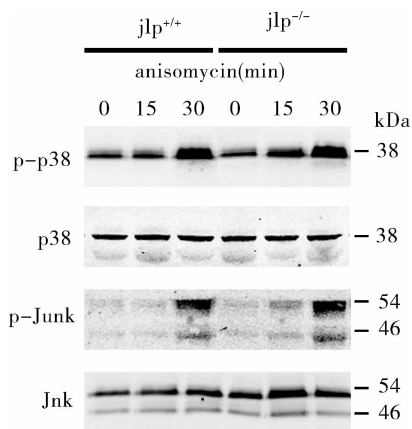


图 2 两种不同基因型 B 细胞给予不同时间段 anisomycin (250ng/ml) 刺激后,收集细胞进行免疫印迹 Western blot 法检测 p38、Jnk 及其磷酸化形式的改变情况

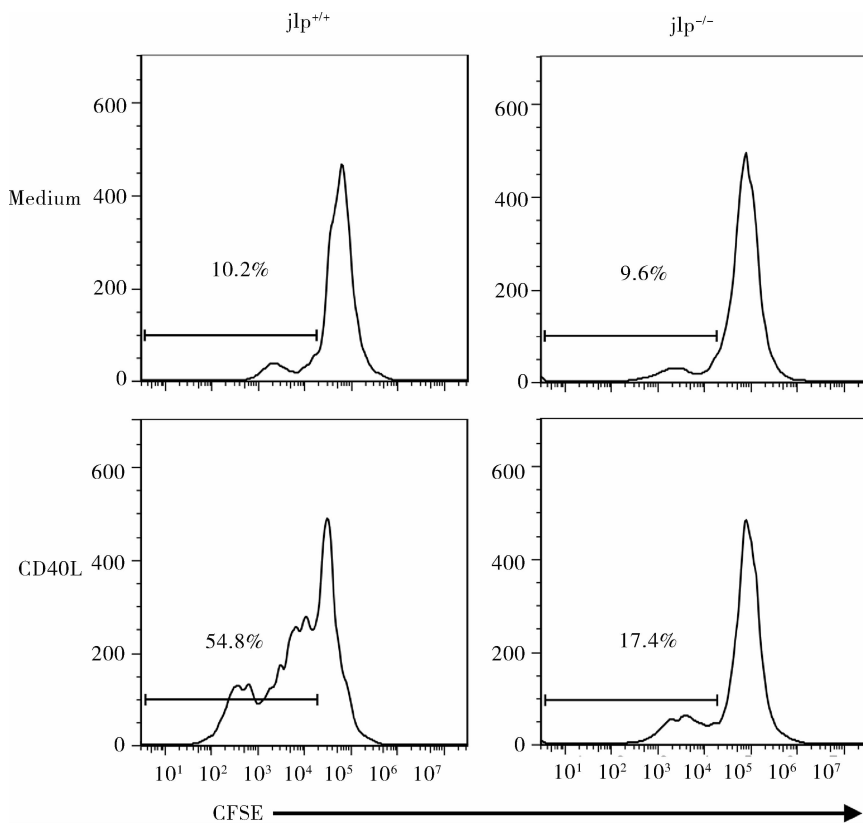


图 3 两种不同基因型的 B 细胞先给予 CFSE 染色,染色完毕后细胞再不给予 Medium 或给予 CD40L 培养 5 天,5 天后收集细胞进行流式荧光染色,圈门的 $CD19^+$ B 细胞使用流式细胞仪的第 1 通路检测 CFSE 荧光表达情况

讨 论

CD40 诱导的信号通路对于 B 细胞存活及发挥正常生理功能具有非常重要的作用,其中 NF- κ B 和 MAPK 信号通路广泛报道与 B 细胞发挥生物学功能密切相关,NF- κ B 和 MAPK 信号通路的激活参与 B 细胞存活、活化、增殖、分泌免疫球蛋白、产生记忆性 B 细胞等一系列生理过程,然而目前关于 CD40 诱导

这些信号通路的具体分子机制尚未研究透彻^[2]。本研究发现,支架蛋白 JLP 参与调控 CD40 诱导 MAPK 信号通路的过程,而对 CD40 诱导 NF- κ B 通路的激活影响不大。JLP 并未通过其固有 p38 和 Jnk 通路中支架蛋白的缺失介导 MAPK 通路的激活减弱,提示支架蛋白 JLP 特异性地在 CD40L 诱导 B 细胞 MAPK 信号通路的活化中发挥重要作用。此外,笔者也观察到 JLP

缺失导致 CD40 诱导 B 细胞的增殖水平明显降低。

CD40 在受到 CD40L 刺激后,表面 CD40 分子将聚集于脂筏区,并在此募集一系列 TRAFs 接头蛋白,而 TRAFs 接头蛋白在 CD40 诱导的下游信号通路中发挥十分重要作用。TRAFs 有 1~6 个成员,其中 TRAF2、3、6 参与 CD40 诱导下游 MAPK 信号通路的激活,而 TRAF1、2、3、5、6 均报道可介导 CD40 诱导下游 NF- κ B 通路的激活^[7]。在本研究中 JLP 缺失降低了 CD40 诱导 MAPK 通路的活性,本实验中使用 p38 和 Jnk 通路特异性激动剂作用后并未发现 JLP 缺失对 B 细胞 p38 和 Jnk 通路产生影响,在另一个研究中同样发现在给予 UV 照射和渗透压应激后 JLP 缺失的成纤维细胞其 Jnk 通路活化未发生明显差异,这提示固有 JLP 支架蛋白的缺失并不会导致 p38 通路和 Jnk 通路活化减弱^[8]。综合以上结果表明 JLP 缺失产生 CD40 特异性诱导 B 细胞 MAPK 通路激活减弱并非为其通路固有支架蛋白 JLP 的缺失所致,提示可能存在其他机制导致 MAPK 信号通路活化的减弱。一个可能性为支架蛋白 JLP 的缺失致使 CD40 和 TRAFs 的结合减弱所导致,进而影响下游信号通路的激活;我们前期研究发现使用 shRNA 干扰 JLP 表达后阻滞了树突状细胞表面 CD40 分子的内化,而 CD40 内化是启动下游信号通路的一个必要途径,JLP 的缺失是否阻滞了 B 细胞上 CD40 内化进而影响下游信号通路则有待进一步研究证实^[6]。

本实验中发现,支架蛋白 JLP 介导 CD40 诱导的 B 细胞增殖。既往研究表明,B 细胞上 Jnk 信号通路活化后可以进一步激活下游 c-Jun 信号分子,而 c-Jun 信号分子参与了 AP-1 转录因子的形成,Jnk 依赖的 AP-1 转录因子的活化对于 B 细胞增殖起重要作用^[9]。在本研究中 JLP 缺失降低了 Jnk 信号通路以及下游 c-Jun 信号分子活化程度,而这也与后续本实验观察到的 jlp^{-/-} B 细胞增殖水平的降低相关。大量研究表明 NF- κ B 通路的激活同样可以导致 B 细胞增殖^[10]。本实验中未观察到支架蛋白 JLP 对 NF- κ B 通路活化的影响作用,支架蛋白 JLP 缺失对于 CD40 诱导 B 细胞 NF- κ B 通路的活化没有明显的影响,这提示 JLP 缺失所致 B 细胞增殖减弱并未通过 NF- κ B 通路依赖的细胞增殖途径所致。

本实验中观察到,JLP 缺失仅导致了 CD40 诱导 MAPK 通路活化程度的降低,而对 NF- κ B 通路的激活无明显影响,有研究报道在 B 细胞淋巴瘤上 CD40 定位于脂筏并形成的 CD40 信号小体是 NF- κ B 通路

激活的一个重要步骤,这提示 CD40 的脂筏定位参与了 NF- κ B 通路的活化,而另一篇文章则发现 B 细胞上 MAPK 信号通路的活化并不依赖于 CD40/脂筏定位的参与,这表明 MAPK 和 NF- κ B 两种信号通路的激活可能通过不同途径来实现^[11]。既往研究表明,在血管上皮细胞中 CD40 内化后可以进一步定位于 Rab5+核内体,而 CD40/Rab5+核内体的定位在 CD40 诱导的信号通路中的作用目前尚不明确,支架蛋白 JLP 介导的 MAPK 通路激活是否通过 CD40/Rab5+核内体的定位来实现有待本课题组后续实验验证。

综上所述,本研究发现,支架蛋白 JLP 参与调控 B 细胞上 CD40 诱导 MAPK 信号通路的活化,并对后续 B 细胞的增殖水平产生影响。目前关于支架蛋白在免疫细胞中的作用知之甚少,未来则需要更多的研究来对其进一步深入地探索。

参考文献

- 1 Khan WN, Wright JA, Kleiman E, *et al.* B-lymphocyte tolerance and effector function in immunity and autoimmunity [J]. *Immunol Res*, 2013, 57(1-3): 335-353
- 2 Elgueta R, Benson MJ, de Vries VC, *et al.* Molecular mechanism and function of CD40/CD40L engagement in the immune system [J]. *Immunol Rev*, 2009, 229(1): 152-172
- 3 Chatzigeorgiou A, Lyberis M, Chatzilymperis G, *et al.* CD40/CD40L signaling and its implication in health and disease [J]. *Biofactors*, 2009, 35(6): 474-483
- 4 Graham JP, Arcipowski KM, Bishop GA. Differential B-lymphocyte regulation by CD40 and its viral mimic, latent membrane protein 1 [J]. *Immunol Rev*, 2010, 237(1): 226-248
- 5 Ikononov OC, Fligger J, Sbrissa D, *et al.* Kinesin adapter JLP links PIKfyve to microtubule-based endosome-to-trans-Golgi network traffic of furin [J]. *J Biol Chem*, 2009, 284(6): 3750-3761
- 6 Wang H, Zhao C, Zhang M, *et al.* A novel role of the scaffolding protein JLP in tuning CD40-induced activation of dendritic cells [J]. *Immunobiology*, 2013, 218(6): 835-843
- 7 Bishop GA, Moore CR, Xie P, *et al.* TRAF proteins in CD40 signaling [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2007, 597: 131-151
- 8 Iwanaga A, Wang G, Gantulga D, *et al.* Ablation of the scaffold protein JLP causes reduced fertility in male mice [J]. *Transgenic Res*, 2008, 17(6): 1045-1058
- 9 Gallagher E, Enzler T, Matsuzawa A, *et al.* Kinase MEKK1 is required for CD40-dependent activation of the kinases Jnk and p38, germinal center formation, B cell proliferation and antibody production [J]. *Nat Immunol*, 2007, 8(1): 57-63
- 10 Hostager BS, Bishop GA. CD40-Mediated Activation of the NF- κ B Pathway [J]. *Front Immunol*, 2013, 4: 376
- 11 Nadiri A, Polyak MJ, Jundi M, *et al.* CD40 translocation to lipid rafts: signaling requirements and downstream biological events [J]. *Eur J Immunol*, 2011, 41(8): 2358-2367

(收稿日期:2014-03-19)

(修回日期:2014-04-22)