

T细胞活化核因子5与胸腺瘤合并重症肌无力的相关性研究

樊心童¹, 金吕程², 董晓彤¹, 范艳萍¹, 张云香², 徐国栋², 马昊²

1. 潍坊医学院基础医学院, 山东 潍坊 261053

2. 潍坊医学院第一附属医院病理科, 山东 潍坊 261041

摘要:目的 T细胞活化核因子5(NFAT5)具有促进T细胞发育和激活T细胞作用,通过诱导不同靶基因实现免疫调节功能。该研究旨在探讨NFAT5与胸腺瘤合并重症肌无力(MG)的相关性及其作用机制。**方法** 免疫组织化学(IHC)检测NFAT5在胸腺瘤中蛋白表达与是否合并MG有关。通过生物信息网站预测NFAT5的微小RNA(miRNA)及下游靶基因,应用RT-qPCR与IHC在临床病理样本中对miRNA和靶基因进行验证。**结果** 应用IHC在56例胸腺瘤石蜡标本中检测NFAT5,NFAT5在单一胸腺瘤组(T组,32例)阳性率高于伴MG胸腺瘤组(MT组,24例),差异具有统计学意义($P=0.006$)。通过生物信息网站预测NFAT5的microRNA和下游基因,得出NFAT5的下游基因为CD4,miRNA-17-5p靶向调控NFAT5。在10例胸腺瘤石蜡标本中(T组5例;MT组5例),通过RT-qPCR检测miRNA-17-5p,结果显示miRNA-17-5p在T组表达低于MT组,差异有统计学意义($P=0.033$)。在56例胸腺瘤石蜡标本中,应用IHC检测到CD4在T组阳性率高于MT组,差异有统计学意义($P=0.034$)。在T组和MT组中,NFAT5与CD4表达均呈正相关($P<0.05$)。**结论** NFAT5在T组中的表达高于MT组,说明NFAT5在胸腺瘤中对MG发病起到一定抑制作用。miRNA-17-5p可能在胸腺瘤微环境中靶向抑制NFAT5,从而抑制CD4⁺T细胞表面的CD4,减少CD4⁺T细胞反应,促进MG的发生。

[国际神经病学神经外科学杂志, 2021, 48(3): 256-262]

关键词:重症肌无力;胸腺瘤;T细胞活化核因子5;microRNA-17-5p;CD4

中图分类号:R746.1

DOI:10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2021.03.009

Relationship between nuclear factor of activated T cells 5 and thymoma with myasthenia gravis

FAN Xin-Tong¹, JIN Lv-Cheng², DONG Xiao-Tong¹, FAN Yan-Ping¹, ZHANG Yun-Xiang², XU Guo-Dong², MA Hao²

1. Basic Medical College of Weifang Medical College, Weifang, Shandong 261053, China

2. Department of Pathology, the First Affiliated Hospital of Weifang Medical College, Weifang, Shandong 261041, China

Corresponding author: ZHANG Yun-Xiang, E-mail: zhangbing199592@163.com

Abstract: Objective Nuclear factor of activated T cells 5 (NFAT5) can promote T cell development and activation, and exert immunoregulatory function by inducing different target genes. This study aims to investigate the relationship between NFAT5 and thymoma with myasthenia gravis (MG) and the underlying mechanisms. **Methods** Immunohistochemistry (IHC) was used to determine whether the protein expression of NFAT5 in thymoma was associated with the presence of MG. The microRNA (miRNA) and downstream target gene of NFAT5 were predicted using bioinformatic tools, and were validated in clinicopathological samples using RT-qPCR and IHC. **Results** A total of 56 paraffin-embedded thymoma samples were examined for NFAT5 by IHC. The positive rate of NFAT5 was significantly higher in thymomas without MG (group T, 81.25%, 26/32) than in thymomas with MG (group MT, 45.83%, 11/24) ($P=0.006$). Bioinformatic analysis predicted that miRNA-17-5p targeted and regulated NFAT5, and the downstream gene of NFAT5 was CD4. Ten paraffin-embedded thymo-

收稿日期:2021-01-26;修回日期:2021-05-10

作者简介:樊心童(1991-),女,病理学与病理生理学全日制硕士研究生,主要从事肿瘤病理与免疫病理的研究。

通信作者:张云香(1971-),女,病理科主任,主任医师,教授,山东大学博士(2021年6月毕业),主要从事淋巴瘤、胸腺瘤、乳腺肿瘤、肺肿瘤的研究。Email:zhangbing199592@163.com。

ma samples were examined for miRNA-17-5p expression by RT-qPCR, with 5 from group T and 5 from group MT. The expression of microRNA-17-5p in group T was significantly lower than that in group MT ($P=0.033$). Among the 56 thymoma samples, the positive rate of CD4 was significantly higher in group T (96.87%, 31/32) than in group MT (79.16%, 19/24) ($P=0.034$). There was a positive correlation between the expression of NFAT5 and CD4 for both group T ($P=0.017$) and group MT ($P=0.020$). **Conclusions** The higher expression of NFAT5 in thymoma without MG than in thymoma with MG indicates that NFAT5 plays an inhibitory role in the development of MG in thymoma. MiRNA-17-5p may target and inhibit NFAT5 in the microenvironment of thymoma, which suppresses CD4 on the surface of CD4⁺ T cells, reduces the response of CD4⁺ T cells, and thus promotes the development of MG.

[Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2021, 48(3): 256-262]

Keywords: myasthenia gravis; thymoma; nuclear factor of activated T cells 5; microRNA-17-5p; CD4

胸腺肿瘤均带有恶性隐患^[1-2],约1/2的胸腺瘤患者伴发重症肌无力(myasthenia gravis, MG)。据报道1%~9%单纯胸腺瘤患者切除胸腺后易发生MG,而伴发MG的胸腺瘤患者在切除胸腺后,肌无力症状消失后复发或更严重^[3]。由此可见,探索胸腺瘤合并MG的发病机制成为关键。T细胞活化核因子5(T cell activating nuclear factor 5, NFAT5)也称张力调节增强子结合蛋白(TonEBP),是Rel家族中新型转录因子^[4]。最新研究表明,NFAT5在人和小鼠中高表达与炎症及自身免疫性疾病的发生有关^[5]。

微小RNA(microRNA, miRNA)是一类小内源性非编码RNA,使mRNA降解或翻译抑制^[6]。通过改变miRNA表达及其下游功能导致的过程障碍可以启动或维持自身免疫状态^[7]。有文献报导miRNA-17可以调节调节性T细胞、刺激T细胞介导的宿主免疫反应抑制肿瘤生长及调节人类T细胞的发育^[8]。miRNA-17-5p为miRNA-17的成熟体,具有同源性,因此我们推测miRNA-17-5p可能与自身免疫性疾病有关。

本研究先应用免疫组织化学(immunohistochemistry, IHC)在胸腺瘤组织芯片中检测NFAT5蛋白表达情况,运用生物信息网站预测NFAT5的miRNA和下游基因,采用RT-qPCR和IHC在组织芯片中进行验证,探索胸腺瘤合并MG的可能发病机制。

1 对象与方法

1.1 研究对象

收集潍坊市人民医院病理科2017年至2020年的56例通过手术切除且经病理检查确诊为胸腺瘤的样本,其中单一胸腺瘤32例,合并MG24例。在干预前无任何治疗。所有病理标本均通过潍坊医学院第一附属医院医学伦理委员会同意。

1.2 研究方法

1.2.1 生物信息网站、统计软件及方法 从基因表达文库(Gene Expression Omnibus, GEO, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)获取单一胸腺瘤(GSE131027、GSE29695)和伴MG胸腺瘤(GSE11967、GSE103974)的mRNA。STRING数据库(<http://string-db.org>)设置置信度 ≥ 0.4 。使

用R包igraph和reshape2得出NFAT5下游基因。

通过TargetScan(<http://www.targetscan.org/>)、miRDB(<http://mirdb.org/>)与miRWalk(<http://zmf.umm.uniheidelberg.org/>)3个网站预测靶向NFAT5的miRNA取交集。从GEO数据库获取单一胸腺瘤(GSE79978)和伴MG胸腺瘤(GSE103812)的miRNA数据,差异表达阈值为logFold-Change绝对值 ≥ 1 且Padjust < 0.05 。用R包VennDiagram将网站预测NFAT5的miRNA与GEO中miRNA取交集,得到靶向NFAT5的miRNA。

1.2.2 IHC及结果判读 在HE切片上选择有代表性的肿瘤区域进行标记,用穿刺针从相对应的蜡块上取下组织(直径2 mm),石蜡包埋(4×3阵列),间距约1 mm,深约3 mm。切成4 μm 薄片贴在玻片上,对切片实施二甲苯脱蜡、梯度酒精化处理。接着置于高压锅内,5 min高火、15 min低火处理,完成抗原热恢复,浓度3%过氧化氢、80%的甲醇室温条件30 min,去除内源性过氧化酶。兔抗人NFAT5抗体(美国Abbkine,稀释浓度1:400),CD4(北京中杉金桥公司,工作液)4℃温育整晚,选择PBS清理,PV9000室温温育,DAB着色,苏木素复染,1%盐酸及75%乙醇分化,1%氨水着色,经梯度乙醇脱水和树胶封片。PV9000和DAB显色液均购于北京中杉金桥公司。

IHC结果由两位高资历病理医生对各IHC染片进行双盲独立判读。NFAT5核、浆染色均为阳性。结果根据细胞染色强度评分为0、1、2、3和4;根据阳性细胞的百分数评分0($\leq 5\%$)、1($> 5\% \sim 25\%$)、2($> 25\% \sim 50\%$)、3($> 50\% \sim 75\%$)、4($76\% \sim 100\%$)。计算芯片上每个组织点的染色强度和阳性细胞数的评分乘积:0分为阴性, ≥ 0 分为阳性。对CD4的细胞质免疫反应进行半定量:0=阴性;1%~5%=1+;6%~20%=2+;>20%=3+。

1.2.3 石蜡组织提取miRNA、cDNA合成与RT-PCR 使用试剂盒(中国,百泰克),从5例单一胸腺瘤和5例伴MG胸腺瘤石蜡组织中提取microRNA。逆转录(RT)反应采用cDNA合成试剂盒(美国,GeneCopoeia)。实时荧光定量逆转录聚合酶链反应(RT-PCR)采用7500 PCR仪(美国应用生物系统公司)进行。

结果分析: $\Delta CT = CT(\text{目的基因}) - CT(U6)$; 相对表达量 = $2^{-\Delta Ct}$ 。

1.3 统计学方法

基于SPSS 22.0软件进行统计学处理。计数资料以例和百分比[n(%)]表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 χ^2 检验分别统计T组与MT组NFAT5、CD4表达差异性;采用t检验统计miRNA-17-5p在T组与MT组表达量的差异性;所采取的皆是双侧检验,存在显著区别的标准为P<0.05。采用Spearman检验进行相关性分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 NFAT5在胸腺瘤中与临床和病理特征的关系

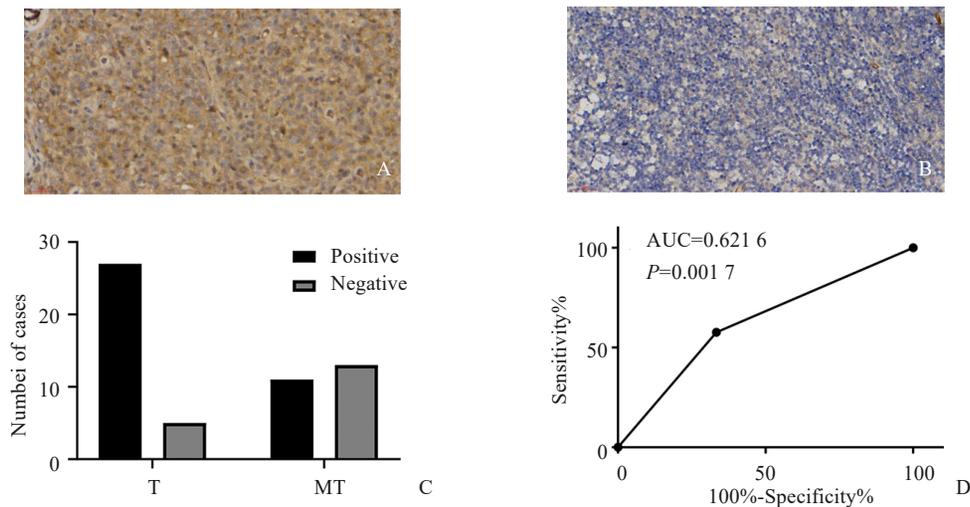
NFAT5在胸腺瘤组织中的阳性染色为棕黄色(图1A),其主要表达在胸腺上皮性肿瘤的细胞核与细胞质

中。NFAT5在T组阳性率高于MT组($\chi^2=7.674, P=0.006$),与不表达NFAT5的患者相比,表达NFAT5的患者并发MG的几率更低(图1C)。ROC曲线分析结果显示,NFAT5能有效区分胸腺瘤患者是否合并MG(AUC=0.6216, P=0.0017,图1D)。在胸腺瘤中NFAT5的表达与患者年龄、性别、病理分型和肿瘤分期无关(表1)。

2.2 生物信息分析结果

2.2.1 GEO数据库中NFAT5表达量 GEO数据库中T组和MT组中NFAT5表达量不同(图2A),T组NFAT5与MT组相比呈现出高表达模式,且差异有统计学意义(图2B)。

2.2.2 STRING数据库中基因与NFAT5相互作用 STRING数据库中有20个基因与NFAT5相互作用,包括PLCG1、CD19、CD4、S100A4等(图3A)。GEO数据库中显示胸腺瘤中与NFAT5表达呈正相关的基因(图3B)。

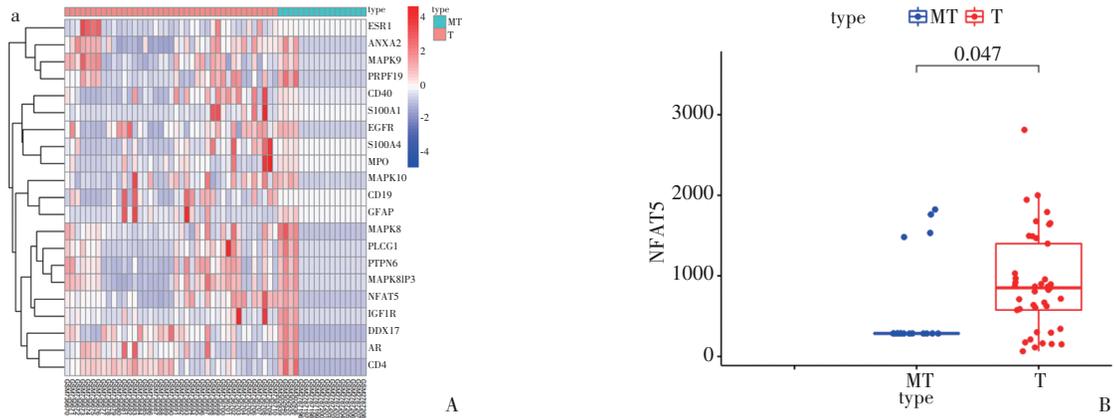


A: NFAT5 阳性, IHC×200; B: NFAT5 阴性, IHC×200; C: NFAT5 在 T 组中的阳性率显著高于 MT 组; D: NFAT5 对胸腺瘤合并 MG 具有较好的诊断价值。

图1 NFAT5在胸腺瘤中与临床病理特征的关系

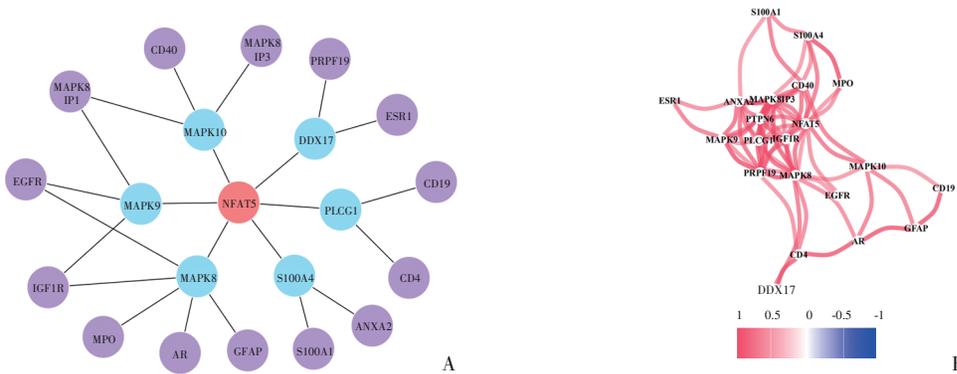
表1 胸腺瘤中NFAT5表达与临床和病理特征的关系 [n(%)]

指标	例数	阳性(阳性率)	阴性	χ^2 值	P值	指标	例数	阳性(阳性率)	阴性	χ^2 值	P值
年龄/岁				5.138	0.077	肿瘤分期				3.298	0.192
<50	23	17(73.9)	6(26.1)			I期	40	24(60)	16(40)		
51~70	26	18(69.2)	8(30.8)			II期	14	12(85.7)	2(14.3)		
>70	7	2(28.6)	5(71.4)			III期	2	1(50)	1(50)		
性别				0.080	0.778	是否合并MG				7.674	0.006
男	28	18(64.3)	10(35.7)			否	32	26(81.3)	6(18.7)		
女	28	19(67.9)	9(32.1)			是	24	11(45.8)	13(54.2)		
病理类型				4.439	0.350						
A	14	8(57.1)	6(42.9)								
AB	9	4(44.4)	5(55.6)								
B1	13	10(76.9)	3(23.1)								
B2	15	12(80)	3(20)								
B3	5	3(60)	2(40)								



A: 3种颜色(红、白、蓝)表示基因在样本中的表达量,红色越深表达量越高,蓝色越深表达量越低; B: NFAT5在T组与MT组的表达有显著差异。

图2 GEO数据库中NFAT5在T组和MT组的表达量比较

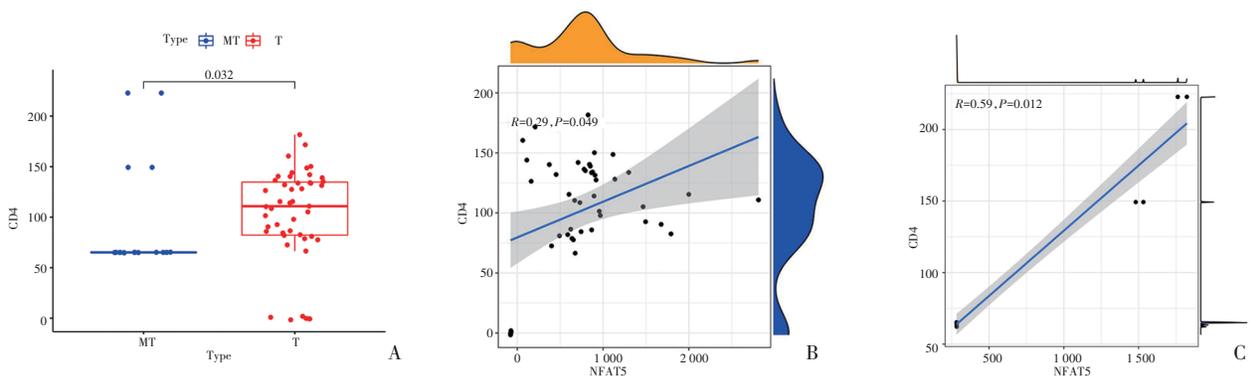


A: NFAT5蛋白质与蛋白质的相互作用网络,蓝色的点代表相互作用的基因; B: 有连线的基因说明有共表达关系,红色表示正相关,蓝色表示负相关,红色越深说明两个基因之间正相关性越显著,蓝色越深说明两个基因之间负相关性越显著。

图3 NFAT5的PPI网络与相互作用基因网络

2.2.3 GEO数据库中CD4的表达 GEO数据库中T组CD4的表达高于MT组,且差异具有统计学意义(图4A)。此外,GEO数据库中T组和MT组CD4与NFAT5的表达均

呈正相关性(图4B、4C),与之前图3B相符,因此说明CD4可能是NFAT5的下游基因。



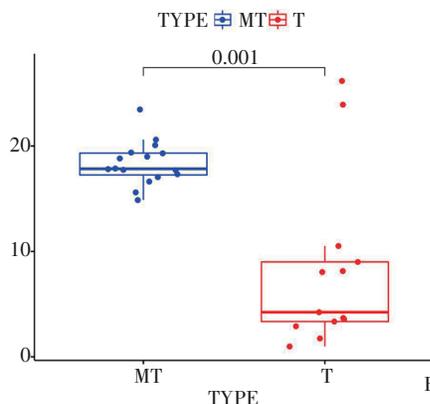
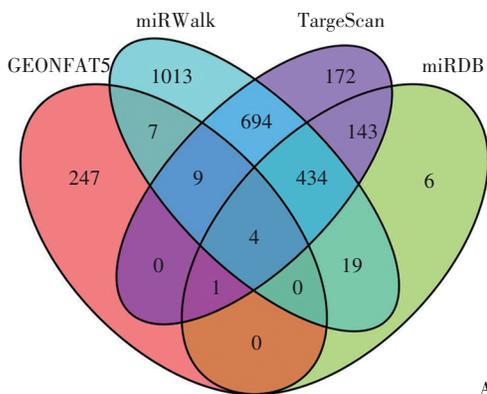
A: CD4在T组和MT组中的表达具有差异, $P=0.032$; B: 在T组NFAT5与CD4呈正相关性, $r=0.29, P=0.049$; C: 在MT组NFAT5与CD4呈正相关性, $r=0.59, P=0.012$

图4 GEO数据库中CD4在T组和MT组中的表达量

2.2.4 预测NFAT5的miRNA与GEO中miRNA的交集
 将3个生物学网站(TargetScan、miRDB、miRWalk)预测NFAT5的miRNA与GEO中miRNA取交集,有4个重叠的miRNA(图5A、表2),根据表2发现miR-17-5p的数值差异性最大,GEO数据库中miR-17-5p在T组的表达量明显低于MT组($P=0.001$)(图5B)。

表2 网站预测与GEO数据库重叠的NFAT5靶向miRNA

microRNA名	logFC	P值
hsa-miR-17-5p	-20.2294	<0.0001
hsa-miR-18a	-12.1918	<0.0001
hsa-miR-20a	-8.6227	<0.0001
hsa-miR-21	-10.1538	<0.0001



A:红色代表GEO中NFAT5的268个miRNA,蓝色代表miRWalk中NFAT5的2180个miRNA,紫色代表TargetScan中NFAT5的1457个miRNA,绿色代表miRDB中NFAT5的606个miRNA,miRNA交集有4个; B:miR-17-5p在T组表达量明显低于MT组。

图5 生物信息网站预测NFAT5靶向miRNA

2.3 IHC验证CD4在胸腺瘤中与临床病理特征的关系

CD4染色为棕黄色,其主要表达在成熟淋巴细胞的胞膜上(图6A)。CD4在T组中阳性率为96.87%,高于MT组的79.16%($P=0.034$,图6C)。CD4在胸腺瘤中的阳性表达随年龄增长逐步下降,差异有统计学意义($P<0.01$,表3),而性别、肿瘤病理类型、肿瘤分期等差异无统计学意义($P>0.05$,表3)。

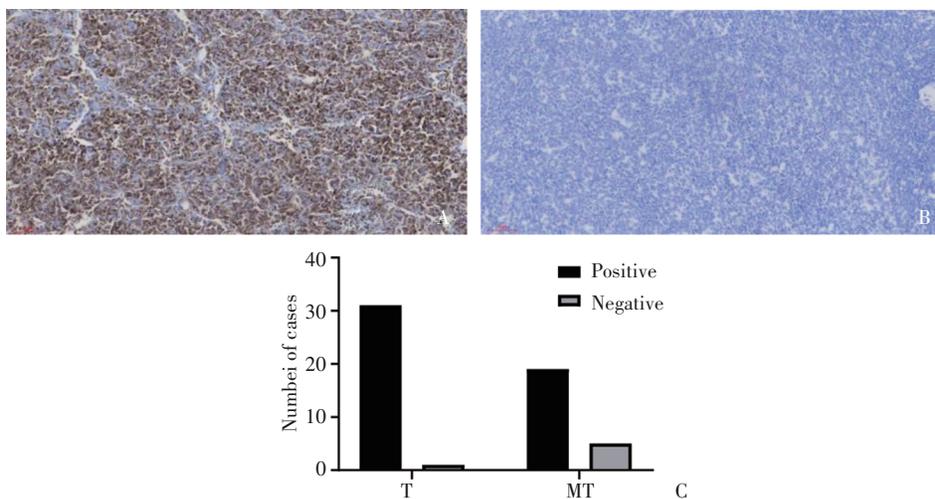
0.017,表4),在28例MT中CD4与NFAT5呈正相关性($r=0.472$, $P=0.020$,表5)。

免疫组化结果与GEO数据库一致。

2.4 miRNA-17-5p在临床样本中的检测

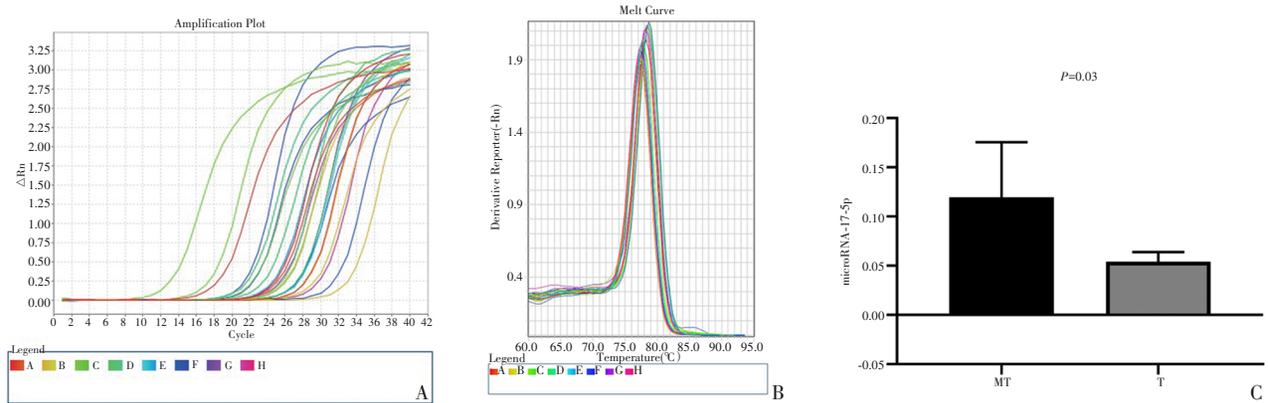
采用RT-qPCR验证miRNA-17-5p在T和MT中的表达情况,我们发现miRNA-17-5p在T组表达量低于MT组,差异有统计学意义($t=2.565$, $P=0.033$)。见图7。

在32例T中CD4与NFAT5呈正相关性($r=0.417$, $P=$



A:CD4阳性,IHC×200; B:CD4阴性,IHC×200; C:CD4在T组中的阳性表达率高于MT组

图6 在胸腺瘤中CD4的表达与临床特征的关系



A:PCR 扩增曲线无异常;B:PCR 融解曲线呈单峰,说明引物特异性好;C:miRNA-17-5p 在 T 组表达量低于 MT 组

图7 miRNA-17-5p在临床样本中的检测

表3 胸腺瘤中 CD4 表达与临床病理特征的关系 [n(%)]

指标	例数	阳性(阳性率)	阴性	χ^2 值	P 值
年龄/岁				28.304	<0.01
<50	23	22(95.7)	1(4.3)		
51~70	26	23(92)	2(8)		
>70	7	1(14.3)	6(85.7)		
性别				0.747	0.388
男	28	24(85.7)	4(14.3)		
女	28	26(92.9)	2(7.1)		
病理类型				4.129	0.389
A	14	12(85.7)	2(14.3)		
AB	15	15(100)	0		
B1	13	11(84.6)	2(15.4)		
B2	9	7(77.8)	2(22.2)		
B3	5	5(100)	0		
肿瘤分期				0.560	0.756
I 期	40	35(87.5)	5(12.5)		
II 期	14	13(92.9)	1(7.1)		
III 期	2	2(100)	0		
是否合并 MG				4.496	0.034
否	32	31(96.9)	1(3.1)		
是	24	19(79.2)	5(20.8)		

表4 单一胸腺瘤 CD4 与 NFAT5 蛋白表达相关性

指标	阳性	阴性	r 值	P 值
NFAT5	27	5	0.417	0.017
CD4	31	1		

表5 合并 MG 胸腺瘤 CD4 与 NFAT5 蛋白表达相关性

指标	阳性	阴性	r 值	P 值
NFAT5	11	13	0.472	0.020
CD4	19	5		

3 讨论

NFAT5 基因位于 16q22.1, 蛋白质以稳定的同源二聚体存在^[9]。成人仅在胸腺上皮细胞和丝裂原激活的初级

T 淋巴细胞检测到 NFAT5 蛋白^[10]。但有研究显示在大多数转化细胞系中都能检测到 NFAT5 蛋白。因此, NFAT5 蛋白表达与细胞生长有关^[11]。NFAT5 可以诱导多种细胞因子和酶的产生^[12]。最新研究显示缺乏 NFAT5 的小鼠胸腺较小, CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞成熟度较低, 说明 NFAT5 可能在 T 细胞的增殖、成熟、活化及分化中起重要作用^[13]。先前有研究表明, 胸腺瘤引起 MG 是由于 T 细胞增殖、成熟和输出出现问题, 无 NFAT5 表达的小鼠患有严重的免疫缺陷疾病, 因此, NFAT5 对 T 细胞的周期进程和增殖至关重要^[12]。本研究在 56 例胸腺瘤石蜡样本中, 通过 IHC 我们发现 NFAT5 在 T 组蛋白表达水平高于 MT 组, 与 GEO 数据库中 NFAT5 在 T 组表达高于 MT 组结果一致。此外, 我们发现 NFAT5 与患者年龄、性别、肿瘤分期等临床特征之间无相关性。由此, 我们推测 NFAT5 在胸腺瘤中抑制 MG 的发生。

CD4 分子是 T 细胞发育和激活的关键成分。CD4 与人类主要组织相容性复合体 II 类 (human major histocompatibility complex II, MHC-II/HLA-II) 分子的膜近端结构域结合, 通过 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 促进信号转导^[9]。MG 的发病机制多被认为是在补体参与下突触后膜乙酰胆碱受体 (AChR) 产生免疫应答, 乙酰胆碱受体破坏不能产生足够的终板电位, 使突触后膜传递障碍而产生肌无力症状^[14]。正常情况下, 只有骨骼肌细胞和胸腺肌样细胞表达功能性 AChR^[15]。MHC-II 是 T 细胞阳性选择的重要信号传递分子, 有研究显示当 NFAT5 缺失, 胸腺上皮性肿瘤细胞表面 MHC-II 不表达或表达减少, 无法将抗原衍生肽呈递给 CD4⁺T 淋巴细胞, 因此 NFAT5 缺陷使 MHC-II 表达降低削弱了激活 CD4⁺T 淋巴细胞中 TCR 介导的反应^[9]。当调节性 T 细胞数量减少, CD4⁺CD8⁺T 细胞从胸腺瘤细胞中向外周迁移分化为自身反应 T 细胞, 自身反应性 T 细胞激发的早期抗体攻击附近表达折叠的 AChR 的肌样细胞, 并激活补体, 随后释放

AchR 免疫复合物, 导致 MG 发生^[16]。合并 MG 的胸腺瘤产生并输出大量 CD4⁺T 细胞到外周血液中, 而在胸腺瘤组织中成熟 CD4⁺T 细胞减少^[17]。从 GEO 数据库中获取, CD4 在 T 组表达高于 MT 组, 在 T 组和 MT 组中, CD4 与 NFAT5 均呈正相关性; 本研究在胸腺瘤石蜡组织中应用 IHC 检测 CD4 蛋白表达情况, 发现 T 组 CD4 阳性表达高于 MT 组, 并且在 T 组和 MT 组, CD4 与 NFAT5 均呈正相关性。因此, 我们认为 CD4 作为 NFAT5 的下游靶基因在胸腺瘤合并 MG 的发病机制中发挥作用。

微环境中任何波动都可能影响免疫细胞的整体信号传导, 从而通过 miRNA 调控的途径影响应激反应。本研究中, 我们发现 MT 组 miRNA-17-5p 过表达, NFAT5 受抑制, CD4⁺T 细胞表面的 CD4 也受抑制, 我们推测合并 MG 胸腺瘤患者的 CD4⁺T 细胞可能受到损害, 可能部分归因于 NFAT5 的抑制作用。因此, miRNA-17-5p 能够在胸腺瘤微环境中抑制 NFAT5, 从而抑制 CD4⁺T 细胞表面的 CD4, 减弱 CD4⁺T 细胞反应, 促进重症肌无力的发生。

综上所述, NFAT5 参与多种信号途径的传导, 许多其他信号传导途径也积极参与 T 细胞分化和克隆扩增的调控, 例如 T 细胞受体信号传导通路和 VEGF 信号通路。因此我们接下来还需要从具体的信号通路和免疫调控机制等方面进行进一步的研究。

参 考 文 献

- [1] 张玉萍, 张云香, 孙怡. 胸腺瘤临床病理学特点和分子病理学研究现状[J]. 诊断病理学杂志, 2017, 24(12): 949-952.
- [2] YOKOI K, KONDO K, FUJIMOTO K, et al. JLCS medical practice guidelines for thymic tumors: summary of recommendations [J]. *Jpn J Clin Oncol*, 2017, 47(12): 1119-1122.
- [3] EVOLI A, MINISCI C, DI SCHINO C, et al. Thymoma in patients with MG: characteristics and long-term outcome[J]. *Neurology*, 2002, 59(12): 1844-1850.
- [4] YE BJ, LEE HH, YOO EJ, et al. TonEBP in dendritic cells mediates pro-inflammatory maturation and Th1/Th17 responses[J]. *Cell Death Dis*, 2020, 11(6): 421.
- [5] YOO EJ, LEE HH, YE BJ, et al. TonEBP suppresses the HO-1 gene by blocking recruitment of Nrf2 to its promoter[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 850.
- [6] CHEN JQ, PAPP G, SZODORAY P, et al. The role of microRNAs in the pathogenesis of autoimmune diseases[J]. *Autoimmun Rev*, 2016, 15(12): 1171-1180.
- [7] CRON MA, GUILLOCHON É, KUSNER L, et al. Role of miRNAs in normal and myasthenia gravis thymus[J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 1074.
- [8] REMO A, SIMEONE I, PANCIONE M, et al. Systems biology analysis reveals NFAT5 as a novel biomarker and master regulator of inflammatory breast cancer[J]. *J Transl Med*, 2015, 13: 138.
- [9] BUXADÉ M, HUERGA ENCABO H, RIERA-BORRULL M, et al. Macrophage-specific MHCII expression is regulated by a remote Ciita enhancer controlled by NFAT5[J]. *J Exp Med*, 2018, 215(11): 2901-2918.
- [10] TRAMA J, LU Q, HAWLEY RG, et al. The NFAT-related protein NFATL1 (TonEBP/NFAT5) is induced upon T cell activation in a calcineurin-dependent manner[J]. *J Immunol*, 2000, 165(9): 4884-4894.
- [11] TRAMA J, GO WY, HO SN. The osmoprotective function of the NFAT5 transcription factor in T cell development and activation [J]. *J Immunol*, 2002, 169(10): 5477-5488.
- [12] ARAMBURU J, LÓPEZ-RODRÍGUEZ C. Regulation of inflammatory functions of macrophages and T lymphocytes by NFAT5 [J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 535.
- [13] BERGA-BOLAÑOS R, ALBERDI M, BUXADÉ M, et al. NFAT5 induction by the pre-T-cell receptor serves as a selective survival signal in T-lymphocyte development[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2013, 110(40): 16091-16096.
- [14] 梁芙茹, 高枫. 重症肌无力的自身抗体及机制[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2006, 33(4): 346-349.
- [15] WAKKACH A, POEA S, CHASTRE E, et al. Establishment of a human thymic myoid cell line. Phenotypic and functional characteristics[J]. *Am J Pathol*, 1999, 155(4): 1229-1240.
- [16] JEONG GR, IM SK, BAE YH, et al. Inflammatory signals induce the expression of tonicity-responsive enhancer binding protein (TonEBP) in microglia[J]. *J Neuroimmunol*, 2016, 295-296: 21-29.
- [17] MELZER N, RUCK T, FUHR P, et al. Clinical features, pathogenesis, and treatment of myasthenia gravis: a supplement to the guidelines of the German Neurological Society[J]. *J Neurol*, 2016, 263(8): 1473-1494.

责任编辑: 龚学民