

本文引用:周航,王慧敏,闫义涛,等.嗅觉障碍小鼠嗅上皮组织中 Nogo 受体及其配体 Nogo-A 的表达及意义[J].新乡医学院学报,2019,36(9):824-827,832. DOI:10.7683/xyxyxb.2019.09.005.

【基础研究】

嗅觉障碍小鼠嗅上皮组织中 Nogo 受体及其配体 Nogo-A 的表达及意义

周 航¹, 王慧敏¹, 闫义涛², 卢振民¹, 李 靖¹

(1. 新乡医学院第一附属医院耳鼻咽喉科, 河南 卫辉 453100; 2. 新乡医学院第一附属医院眼科, 河南 卫辉 453100)

摘要: **目的** 探讨 Nogo 受体(NgR)及其配体 Nogo-A 在嗅觉障碍小鼠嗅上皮组织中的表达及意义。**方法** 将 100 只 BALB/C 小鼠随机分为对照组($n = 20$)和模型组($n = 80$)。模型组小鼠给予体积分数 0.7% Triton X-100 100 μ L 双侧鼻腔注射建立嗅觉障碍模型,对照组小鼠给予等体积生理盐水。于造模后 3、7、21、49 d 采用埋藏食物颗粒实验检测 2 组小鼠觅食时间。取对照组及模型组小鼠造模后 3、7、21、49 d 嗅上皮组织,免疫组织化学法检测小鼠嗅上皮组织中 NgR 蛋白表达,反转录-聚合酶链反应检测小鼠嗅上皮组织中 Nogo-A、NgR mRNA 的表达,Western blot 法及酶联免疫吸附试验分别检测嗅上皮组织中 NgR 蛋白、Nogo-A 蛋白相对表达量。**结果** 模型组小鼠造模后 3、7、21 d 觅食时间长于对照组及造模后 49 d($P < 0.05$)。模型组小鼠造模后 49 d 觅食时间与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。模型组小鼠造模后 3、7、21、49 d 嗅上皮组织中 NgR 阳性表达率显著高于对照组($P < 0.05$)。模型组小鼠造模后 3、7、21、49 d 嗅上皮组织中 NgR、Nogo-A mRNA 及 NgR、Nogo-A 蛋白相对表达量均高于对照组($P < 0.05$)。**结论** 嗅觉障碍小鼠嗅上皮组织中 NgR、Nogo-A 表达上调,NgR 与其配体 Nogo-A 相互作用可能参与了小鼠嗅觉障碍的形成。

关键词: Nogo 受体;Nogo-A;嗅觉功能障碍

中图分类号: R651.1⁺5 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-7239(2019)09-0824-05

Significance of the expression of Nogo receptor and its ligand Nogo-A in olfactory epithelium of mice with olfactory dysfunction

ZHOU Hang¹, WANG Hui-min¹, YAN Yi-tao², LU Zhen-min¹, LI Jing¹

(1. Department of Otorhinolaryngology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China; 2. Department of Ophthalmology, the First Affiliated Hospital of Xinxiang Medical University, Weihui 453100, Henan Province, China)

Abstract: **Objective** To investigate the significance of the expression of Nogo receptor(NgR) and its ligand Nogo-A in olfactory epithelium of mice with olfactory dysfunction. **Methods** One hundred BALB/C mice were randomly divided into control group ($n = 20$) and model group ($n = 80$). The mice in the model group were given 100 μ L 0.7% Triton X-100 bilateral nasal injection to establish the olfactory dysfunction model, while the mice in the control group were given equal volume of normal saline. The foraging time of mice in the two group was detected by buried food particles at 3, 7, 21 and 49 days after modeling. The olfactory epithelium tissue of mice in the control group and model group at 3, 7, 21, 49 days after modeling was obtained, the expression of NgR protein in olfactory epithelium tissues of mice was detected by immunohistochemistry, the expression of Nogo-A and NgR mRNA in olfactory epithelium tissues was detected by reverse transcriptase-polymerase chain reaction, and the relative expression of NgR and Nogo-A protein in olfactory epithelium tissues was detected by Western blot and enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** The foraging time of mice in the model group at 3, 7 and 21 days after modeling was longer than that in the control group and at 49 days after modeling in the model group ($P < 0.05$). There was no significant difference in the foraging time between the model group and the control group at 49 days after modeling ($P > 0.05$). The NgR positive expression rate in olfactory epithelium tissues of the model group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$). The relative expression levels of NgR and Nogo-A mRNA, NgR and Nogo-A protein in olfactory epithelium tissues of mice in the model group were all higher than those in the control group ($P < 0.05$).

DOI:10.7683/xyxyxb.2019.09.005

收稿日期:2018-11-22

基金项目:新乡医学院第一附属医院青年基金项目(编号:QN-2017-A001)。

作者简介:周 航(1986-),男,河南新乡人,硕士,主治医师,研究方向:鼻腔鼻窦疾病、嗅觉障碍、鼻腔恶性肿瘤。

通信作者:王慧敏(1981-),女,河南濮阳人,硕士,副主任医师,研究方向:鼻腔鼻窦疾病、嗅觉障碍、鼻眼相关疾病;E-mail:orangeminmin@126.com。

Conclusions The expression of NgR and Nogo-A is up-regulated in olfactory epithelium of mice with olfactory dysfunction. The interaction between NgR and its ligand Nogo-A is involved in the formation of olfactory dysfunction in mice.

Key words: Nogo receptor;Nogo-A;olfactory dysfunction

嗅觉功能障碍是神经退行性病变的主要表现^[1]。嗅觉是人体的重要生理功能之一,正常人群中嗅觉功能障碍的发病率约为 1.2%。嗅觉神经细胞是具有再生能力的神经元^[2],Nogo 受体(Nogo receptor,NgR)是位于神经元表面的糖基磷脂酰肌醇锚定蛋白,广泛存在于中枢神经系统中,NgR 与其配体 Nogo-A 结合后发挥多种作用,对细胞的增殖、转移及神经的诱导、再生起重要作用^[3]。而在嗅觉功能障碍发生及恢复过程中,NgR 及其配体所起的作用尚不清楚,本研究采用 TritonX-100 建立嗅觉功能障碍小鼠模型,探讨 NgR 及其配体在嗅觉功能障碍发生及恢复过程中的作用。

1 材料与方法

1.1 实验动物 8~10 周无特定病原体 BALB/C 小鼠 100 只,雌雄不拘,体质量 25~30 g,由上海西普尔-必凯实验动物有限公司提供。

1.2 主要试剂与仪器 TRIzol 试剂盒、聚合酶链反应(polymerase chain reaction,PCR)试剂盒购自日本 TaKaRa 公司,兔抗鼠 Nogo-A 单克隆抗体、兔抗鼠 NgR 单克隆抗体购自英国 Abcam 公司,辣根过氧化物酶(horse radish peroxidase,HRP)标记的山羊抗兔二抗购自上海碧云天生物有限公司,Nogo-A-1 酶联免疫吸附试验测定(enzyme-linked immunosorbent assay,ELISA)试剂盒购自美国 Sigma 公司;BD 光学显微镜购自深圳博士达光学仪器有限公司,HH-ZKS4 电热恒温水浴箱购自上海科升仪器有限公司,反转录-PCR(reverse transcription-PCR,RT-PCR)仪购自美国 ABI 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 嗅觉功能障碍模型制备及组织标本采集 将小鼠随机分为对照组($n=20$)和模型组($n=80$)。将 Triton X-100 用生理盐水稀释为体积分数 0.7% 的实验试剂,用钝头微量注射器将 100 μ L 体积分数 0.7% Triton X-100 溶液注入模型组小鼠双侧鼻腔,注射速度为 100 μ L \cdot min⁻¹。对照组小鼠同样的方法注射 100 μ L 生理盐水^[4]。参照文献[5]的方法,2 组小鼠分别于造模后 3、7、21、49 d 给予埋藏食物颗粒实验,记录觅食时间;小鼠在 300 s(5 次测试的均值)内未找到食物颗粒即判定嗅觉功能障碍模型建立成功。对照组及模型组小鼠于造模后 3、7、21、49 d 断头处死,收集小鼠嗅上皮组织,一部分于液氮冻存,用于检测 Nogo-A、NgR mRNA 和 NgR、Nogo-A 蛋白的表达,一部分经体积分数 10% 甲醛溶液固

定、常规石蜡包埋,用于免疫组织化学检测。

1.3.2 免疫组织化学法检测小鼠嗅上皮组织中 NgR 蛋白表达 取组织切片,室温复温 20 min,体积分数 0.3% H₂O₂ 常温孵育 30 min;磷酸盐缓冲液(phosphate buffered saline,PBS)洗 3 次,每次 5 min;滴加用 PBS 稀释的兔抗鼠 NgR 一抗(1:100),阴性对照以 PBS 代替一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育箱中过夜;PBS 洗 3 次,每次 5 min;滴加 HRP 标记的山羊抗兔二抗(1:1 000),室温孵育 30 min;PBS 洗 3 次,每次 5 min;滴加过氧化物酶标记的链霉亲和素复合物(1:100),室温孵育 20 min;PBS 洗 3 次,每次 5 min;用新鲜配制的 3,3'-二氨基联苯胺溶液显色,蒸馏水终止显色;滴加苏木精复染 1 min;漂洗干净,返蓝 5 min;梯度乙醇脱水,二甲苯透明;中性树胶封片。选取 5 个视野,每个视野 200 个细胞,观察小鼠嗅上皮组织中 NgR 表达情况,细胞膜褐色部分即为 NgR 表达,阳性细胞所占比例即为 NgR 阳性表达率。

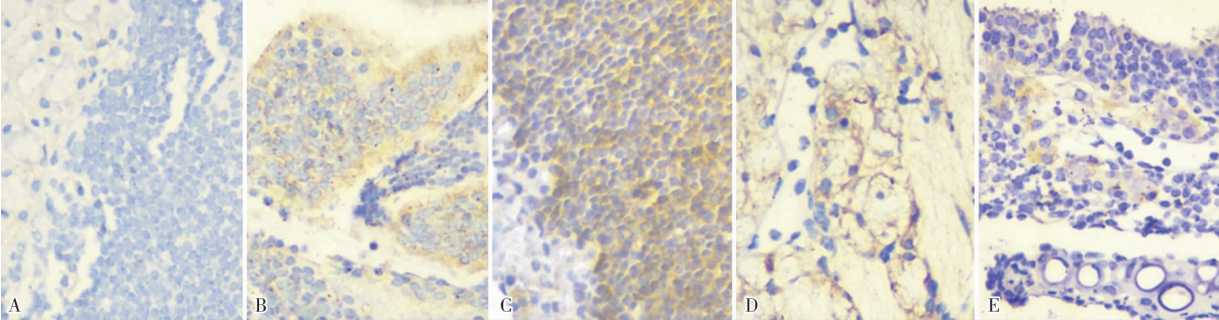
1.3.3 RT-PCR 检测嗅上皮组织中 Nogo-A 及 NgR mRNA 表达 取液氮冻存组织,复温后采用 RT-PCR 法检测 Nogo-A、NgR mRNA 的表达,操作严格按照试剂盒说明书进行。采用 TRIzol 提取总 RNA,反转录 cDNA 后备用。根据试剂盒检测说明用 PCR 检测嗅上皮组织中 Nogo-A 与 NgR 的表达水平。Nogo-A 上游引物序列为 5'-CGCTGGT-GCTTCTGTAGTGC-3',下游引物序列为 5'-CTTTGT-GCTGGGCTACTG-3';NgR 上游引物序列为 5'-TTCTGACATTAAGGGCCGTG-3',下游引物序列为 5'-CCAGCCCACACTTCTCTCTC-3'; β -actin 上游引物序列为 5'-CTTCCTGGGCATGGAGTCCTG-3',下游引物序列为 5'-GGAGCAATGATCTTGATCTTC-3'。PCR 反应体系:上、下游引物各 0.4 μ L, Taq 聚合酶 10 μ L,模板 2 μ L,双蒸水 7.6 μ L。PCR 反应条件:42 $^{\circ}$ C 60 min,95 $^{\circ}$ C 5 min,30 个循环。扩增目的基因的同时扩增 β -actin 基因。采用 2^{- $\Delta\Delta$ C_t}法计算目的基因的相对表达量。

1.3.4 Western blot 法检测嗅上皮组织中 NgR 蛋白表达 取液氮冻存组织,复温后进行研磨,根据试剂盒说明书提取蛋白,按照 50 μ g 蛋白的溶液体积为上样量,向其中加入 5 \times 十二烷基磺酸钠(sodium dodecyl sulfonate,SDS)上样缓冲液,调为 1 \times SDS,沸水中变性 10 min;将预先制备好的聚丙烯酰胺凝胶(polyacrylamide gel,AGE)安装于电泳槽中,加电泳液,用微量进样器紧贴离心壁加入样品。样品经质量分数 10% SDS-AGE 胶 120 V 电泳至分离后换

80 V 电泳 60 min,300 mA 恒流转膜 45 min;将膜用洗膜缓冲液(tris-buffered saline Tween,TBST)从下至上浸湿后,质量分数 5%脱脂牛奶封闭 2 h;TBST 洗膜10 min。加入兔抗鼠的抗 NgR 一抗(1:100 稀释),4 ℃孵育箱中孵育过夜;洗膜 3 次,加入相应的山羊抗兔的 HRP 标记的二抗,室温孵育 2 h,暗室压片,曝光,显影,定影。以兔抗鼠单克隆抗体 β -actin (1:1 000)为内参照,应用 Image J 1.49 软件分析 Western blot 内参条带与目的条带的灰度比值。

1.3.5 ELISA 测定嗅上皮组织中 Nogo-A 蛋白表达 将嗅上皮组织研碎,按照 10 mg 组织对应 100 μ L PBS 的比例进行匀浆,1 500 r \cdot min⁻¹ 离心 5 min,吸取上清液,-80 ℃冰箱保存待测。采用 ELISA 法测定上清液中 Nogo-A 蛋白表达水平,操作严格按照试剂盒说明书进行。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 21.0 软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用单因素方差分析;计数资料以百分率表示,采用 χ^2 检验; $P<0.05$ 为差异有统计学意义。



A:对照组;B:模型组造模后 3 d;C:模型组造模后 7 d;D:模型组造模后 21 d;E:模型组造模后 49 d。

图 1 2 组小鼠嗅上皮组织中 NgR 蛋白表达(免疫组织化学染色,×400)

Fig.1 Expression of the NgR protein in olfactory epithelium and bulbous olfactory tissue of mice in the two groups (immunohistochemical staining, ×400)

2.3 2 组小鼠嗅上皮组织中 NgR、Nogo-A mRNA 相对表达量比较 结果见表 1。模型组小鼠造模后 3、7、21、49 d 嗅上皮组织中 NgR、Nogo-A mRNA 相对表达量均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 2 组小鼠嗅上皮组织中 NgR、Nogo-A mRNA 相对表达量比较

Tab.1 Comparison of the relative expression of NgR and Nogo-A mRNA in olfactory epithelium tissue of mice between the two groups

组别	n	NgR mRNA	Nogo-A mRNA
对照组	20	0.946 \pm 0.098	0.873 \pm 0.032
模型组			
造模后 3 d	20	5.343 \pm 0.531 ^a	3.821 \pm 0.311 ^a
造模后 7 d	20	5.452 \pm 0.337 ^a	3.573 \pm 0.304 ^a
造模后 21 d	20	3.902 \pm 0.114 ^a	1.962 \pm 0.090 ^a
造模后 49 d	20	1.956 \pm 0.106 ^a	1.356 \pm 0.102 ^a

注:与对照组比较^a $P<0.05$ 。

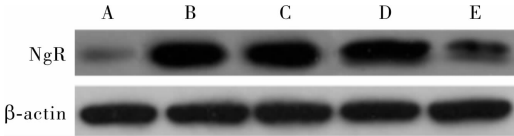
2 结果

2.1 2 组小鼠嗅觉功能比较 对照组小鼠觅食时间为(70.1 \pm 15.2)s;模型组小鼠造模后 3、7、21、49 d 觅食时间分别为(469.2 \pm 20.4)、(495.1 \pm 31.1)、(290.3 \pm 23.3)、(130.6 \pm 28.2)s。模型组小鼠造模后 3、7、21 d 觅食时间长于对照组及造模后 49 d,差异有统计学意义($P<0.05$)。模型组小鼠造模后 49 d 觅食时间与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

2.2 2 组小鼠嗅上皮组织中 NgR 阳性表达率比较

结果见图 1。模型组小鼠嗅上皮组织中 NgR 阳性表达较对照组显著增强。对照组小鼠嗅上皮组织中 NgR 阳性表达率为 18.19% (30/160),模型组小鼠造模后 3、7、21、49 d 嗅上皮组织中 NgR 阳性表达率分别为 61.21% (101/165)、84.85% (140/165)、69.10% (114/165)、48.48% (80/165),模型组小鼠造模后 3、7、21、49 d 嗅上皮组织中 NgR 阳性表达率显著高于对照组,差异有统计学意义($\chi^2=36.235、35.483、41.876、40.908,P<0.05$)。

2.4 2 组小鼠嗅上皮组织中 NgR 蛋白相对表达量比较 结果见图 2。对照组嗅上皮组织中小鼠 NgR 蛋白相对表达量为 0.22 \pm 0.04;模型组造模后 3、7、21、49 d 小鼠嗅上皮组织中 NgR 蛋白相对表达量分别为 0.85 \pm 0.03、0.87 \pm 0.02、0.86 \pm 0.02、0.39 \pm 0.01。模型组小鼠造模后第 3、7、21、49 d 嗅上皮组织中 NgR 蛋白相对表达量均高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。



A:对照组;B:模型组造模后 3 d;C:模型组造模后 7 d;D:模型组造模后 21 d;E:模型组造模后 49 d。

图 2 2 组小鼠嗅上皮组织中 NgR 蛋白表达(Western blot)

Fig.2 Expression of NgR and Nogo-A protein in olfactory epithelium tissue of mice in the two groups (Western blot)

2.5 2 组小鼠嗅上皮组织中 Nogo-A 蛋白表达比较

对照组小鼠嗅上皮组织中 Nogo-A 蛋白表达量为 $(30.1 \pm 4.5) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$;模型组小鼠造模后第 3、7、21、49 d 嗅上皮组织中 Nogo-A 蛋白表达量分别为 (485.2 ± 6.3) 、 (490.3 ± 5.1) 、 (243.2 ± 10.1) 、 $(123.6 \pm 4.5) \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 。模型组小鼠造模后第 3、7、21、49 d 嗅上皮与嗅球组织中 Nogo-A 蛋白表达量高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。

3 讨论

嗅觉功能障碍与多种疾病密切相关,且嗅觉功能障碍也是退行性疾病的早期信号,严重影响患者的生活质量^[6]。嗅觉受体神经细胞是具有再生能力的神经元,虽然嗅觉功能障碍的治疗取得了一定效果,但是仍有部分患者的嗅觉功能难以得到改善。嗅觉功能障碍的机制仍不十分清楚。Nogo 蛋白是髓磷脂相关生长抑制蛋白的一种,在中枢神经系统轴突再生中发挥重要作用^[7]。Nogo-A 是含有 1 163 个氨基酸的大蛋白分子^[8],是 Nogo 的重要组成部分^[9]。Nogo-A 通过与 NgR 在神经纤维上结合而抑制其再生。本研究采用体积分数 0.7% 的 Triton X-100 建立小鼠嗅觉障碍模型,该模型未毁坏嗅上皮的基底膜,所以嗅觉可恢复,可以动态观察嗅觉功能障碍小鼠的嗅觉变化过程。本研究结果显示,造模后 3 d,模型组小鼠的觅食时间明显延长,且大于 300 s,说明造模成功。造模后 21 d,模型组小鼠的觅食时间开始较之前缩短,小鼠的功能障碍开始恢复;造模后 49 d,模型组小鼠觅食时间与对照组比较差异无统计学意义,与王渊等^[10]报道结果一致。

NgR 是一种磷脂酰肌醇锚定蛋白,位于神经元的表面,是神经系统可塑性的重要抑制因子^[11],与其受体结合后可以抑制轴突的生长、延长。本研究通过免疫组织化学法对 NgR 进行定性定量分析发现,模型组小鼠嗅上皮组织中 NgR 蛋白表达增加,在嗅觉恢复过程中 NgR 蛋白表达有所减少。通过 RT-PCR 分析发现,模型组小鼠造模后 3、7 d 嗅上皮组织中 Nogo-A mRNA 的表达明显升高,造模后 21、49 d 虽有所下降,但仍明显高于对照组。ELISA 检测 Nogo-A 的表达得出相似的结果,提示 NgR 参与神经损伤及修复过程,从而参与嗅觉障碍过程。在既往的研究中,炎症及脑损伤后 NgR 及其配体可影响星形胶质细胞的形态,从而影响脑损伤的恢复过程^[12],调节 NgR 信号通路可使脑损伤后躯体协调能力、认知功能等得到恢复,提示 NgR 参与了脑损伤的恢复过程。这与本研究结果相一致。而 Nogo-A 在炎症反应中可促进经背根神经节传导的热痛觉

过敏^[13],也可以与 NgR 作用后通过调节 PC12 细胞中的 WNK1 信号通路来抑制神经元轴突的延长,从而影响神经损伤的恢复过程^[14]。另一方面,Nogo-A 在缺血性中枢系统疾病中抑制了血管的再生,抗 Nogo-A 抗体可以保护神经元免遭缺血损伤,加快血管修复,提高血流灌注,从而为神经系统的修复提供营养^[15]。本研究发现,Nogo-A 表达水平在小鼠嗅觉障碍模型中升高,随着嗅觉障碍功能的恢复 Nogo-A 表达水平下降。另有研究表明,在大鼠模型中,电针刺激大脑缺血灶可通过下调 Nogo-A/NgR 信号通路的作用为轴突再生提供低水平的抑制环境^[16],促进神经修复;阻断 Nogo-A 与 NgR 的作用后可以促进神经元功能恢复^[17]从而促进神经生长及延长;说明 NgR 及其配体 Nogo-A 参与了神经修复的过程,下调 NgR 及其配体 Nogo-A 的表达及阻断其相互作用可能促进小鼠嗅神经元恢复及嗅觉障碍改善。

综上所述,在小鼠嗅觉障碍模型中,小鼠嗅上皮组织中 NgR 与 Nogo-A 表达增加,Nogo-A 与 NgR 结合后可能参与嗅觉障碍的发生、发展。下调 NgR 及其配体 Nogo-A 的表达并阻断其相互作用,有望为嗅觉障碍的治疗提供一个新思路。

参考文献:

[1] ROSS G W, PETROVITCH H, ABBOTT R D, *et al.* Association of olfactory dysfunction with risk for future Parkinson's disease[J]. *Ann Neurol*, 2008, 63(2):167-173.

[2] 张伟, 张罗. 嗅觉功能障碍的诊断与治疗[J]. 首都医科大学学报, 2013, 34(6):814-819.

[3] YU S, SHU H, YANG T, *et al.* Upregulated expression of Nogo-A and NgR in an experimental model of focal microgyria regulates the migration, proliferation and self-renewal of subventricular zone neural progenitors[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2016, 473(2):482-489.

[4] 秦照萍, 叶树明, 杜继曾, 等. Triton 损伤成年大鼠嗅上皮对嗅球钙结合蛋白-D 和小白蛋白表达的影响[J]. 中国药理学与毒理学杂志, 2005, 19(3):226-228.

[5] NATHAN B P, YOST J, LITHERLAND M T, *et al.* Olfactory function in apoE knockout mice[J]. *Behav Brain Res*, 2004, 150(1/2):1-7.

[6] 程志娟, 赵敬望, 赵继巍, 等. 嗅觉障碍与神经系统变性疾病[J]. 神经疾病与精神卫生, 2016, 16(6):706-708.

[7] CHONG S Y C, ROSENBERG S S, FANCY S P J, *et al.* Neurite outgrowth inhibitor Nogo-A establishes spatial segregation and extent of oligodendrocyte myelination[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(4):1299-1304.

[8] WANG J, YANG J, MA Y, *et al.* Nogo-A expression dynamically varies after spinal cord injury[J]. *Neural Regen Res*, 2015, 10(2):225.

16. HLA-Cw4 能与 NK 细胞表面的 KIR2DL1 分子识别;因此,CD34⁺CD38⁻KG1a 细胞能通过 Cw4-KIR2DL1 途径向 NK 细胞传递抑制性信号。HLA-A30 不能识别 KIR3DL2 和 HLA-B51、78 不能识别 KIR3DL1、3DL2 配体,存在错配,传递活化信号;但是其活化性配体 NKG2D 几乎不表达,导致活化性信号较弱。2 种信号作用 NK 细胞后抑制性信号占优势,导致 CD34⁺CD38⁻KG1a 细胞抵抗 NK 细胞的杀伤作用。

研究表明,NKG2D 配体在白血病细胞中相对广泛的表达使其在诱导 NK 细胞毒性反应中起着重要作用,NKG2D 配体下调或丢失可导致 LSC 抵抗免疫细胞杀伤作用^[11]。LSC 逃逸免疫细胞杀伤作用的能力,一部分是其固有的,一部分是在与免疫细胞相互作用中获得的^[12]。因此,研究如何恢复或增强白血病细胞表面 NKG2D 配体的表达,或者干扰 LSC 的 HLA 基因或分子使之与 KIR 发生错配,将会为提高白血病免疫治疗效果提供一种新的思路。

参考文献:

[1] HO T C, LAMERE M, STEVENS B M, *et al.* Evolution of acute myelogenous leukemia stem cell properties after treatment and progression[J]. *Blood*, 2016, 128(13):1671-1678.

[2] 王丽,刘文君. 白血病干细胞蛋白质组学研究进展[J]. 实用儿科临床杂志, 2011, 26(3):208-211.

[3] ZHANG Z, ZHAO L, WEI X, *et al.* Integrated bioinformatic analysis of microarray data reveals shared gene signature between MDS and AML[J]. *Oncol Lett*, 2018, 16(4):5147-5159.

[4] 王国征,李慧,吴远彬,等. 免疫磁珠分选白血病 KG1a 细胞中 CD34⁺CD38⁻干细胞及其特性研究[J]. 新乡医学院学报, 2013, 30(3):181-184.

[5] IWASAKI H. Leukemia stem cell[J]. *Gan To Kagaku Ryoho*, 2014, 41(3):280-284.

[6] GROSSENBACHER S K, AGUILAR E G, MURPHY W J. Leveraging natural killer cells for cancer immunotherapy[J]. *Immunotherapy*, 2017, 9(6):487-497.

[7] RAULET D H, GASSER S, GOWEN B G, *et al.* Regulation of ligands for the NKG2D activating receptor [J]. *Annu Rev Immunol*, 2013, (31):413-441.

[8] SLEIMAN M, BRONS N H, KAOMA T, *et al.* NK cell killer Ig-like receptor repertoire acquisition and maturation are strongly modulated by HLA class I molecules[J]. *J Immunol*, 2014, 192(6):2602-2610.

[9] SAUNDERS P M, VIVIAN J P, O'CONNOR G M, *et al.* A bird's eye view of NK cell receptor interactions with their MHC class I ligands[J]. *Immunol Rev*, 2015, 267(1):148-166.

[10] CARLOMAGNO S, FALCO M, BONO M, *et al.* KIR3DS1-mediated recognition of HLA-^{*}B51: modulation of KIR3DS1 responsiveness by self HLA-B slotypes and effect on NK cell licensing[J]. *Front Immunol*, 2017, 8:581.

[11] HILPERT J, GROSSE-HOVEST L, GRÜNEBACH F, *et al.* Comprehensive analysis of NKG2D ligand expression and release in leukemia: implications for NKG2D-mediated NK cell responses [J]. *J Immunol*, 2012, 189(3):1360-1371.

[12] KWON H J, KIM N, KIM H S. Molecular checkpoints controlling natural killer cell activation and their modulation for cancerimmunotherapy[J]. *Exp Mol Med*, 2017, 49(3):e311.

(本文编辑:孟 月 英文编辑:孟 月)

(上接第 827 页)

[9] VILAR M, SUNG T C, CHEN Z, *et al.* Heterodimerization of p45-p75 modulates p75 signaling: structural basis and mechanism of action[J]. *PLoS Biol*, 2014, 12(8):e1001918.

[10] 王渊,杨晓航,牛文民,等. 电针迎香穴对嗅觉功能障碍大鼠胰岛素样生长因子-1 的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2017, 37(3):298-301.

[11] LANG D M, ROMERO-ALEMÁN M M, DOBSON B, *et al.* Nogo-A does not inhibit retinal axon regeneration in the lizard *Gallotia galloti* [J]. *J Comp Neurol*, 2017, 525(4):936-954.

[12] TAYLOR S E, MORGANTI-KOSSMANN C, LIFSHITZ J, *et al.* Rod microglia: a morphological definition[J]. *PLoS One*, 2014, 9(5):e97096.

[13] HU F, LIU H C, SU D Q, *et al.* Nogo-A promotes inflammatory heat hyperalgesia by maintaining TRPV-1 function in the rat dorsal root ganglion neuron [J]. *FASEB J*, 2018, 33(1):668-682.

[14] YANG T, ZHAO K, SHU H, *et al.* The Nogo receptor inhibits proliferation, migration and axonal extension by transcriptionally regulating WNK1 in PC12 cells[J]. *Neuroreport*, 2017, 28(9):533-539.

[15] JOLY S, DEJDA A, RODRIGUEZ L, *et al.* Nogo-A inhibits vascular regeneration in ischemic retinopathy [J]. *Glia*, 2018, 66(10):2079-2093.

[16] HUANG S, HUANG D, ZHAO J, *et al.* Electroacupuncture promotes axonal regeneration in rats with focal cerebral ischemia through the downregulation of Nogo-A/NgR/RhoA/ROCK signaling[J]. *Exp Ther Med*, 2017, 14(2):905-912.

[17] ZHANG Z W, JIANG J J, LUAN M C, *et al.* Nogo-A antibody treatment enhances neuron recovery after sciatic nerve transection in rats [J]. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*, 2017, 21(8):1780-1786.

(本文编辑:杨 博 英文编辑:杨 博)