

骨桥蛋白在 Graves 病中的表达及其免疫致病机制的研究

蔡一澄 李晓丽 王燕燕 章晓芳 黄凤娇 林东平 宁光 王曙

【摘要】 目的 探讨骨桥蛋白在 Graves 病(GD)中的表达情况及骨桥蛋白对 CD40 配体的调节作用。**方法** 选取初发 Graves 病患者 30 例, Graves 病缓解患者 21 例, 正常志愿者 20 名, 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测患者与志愿者血浆中骨桥蛋白和可溶性 CD40 配体水平, 运用实时荧光定量 PCR 检测外周血单个核细胞骨桥蛋白受体 mRNA 的表达和 CD4⁺T 细胞中 CD40 配体 mRNA 的表达。**结果** Graves 病初发患者血浆骨桥蛋白水平显著高于对照组[(153±55 对 52±21) ng/ml, $P<0.01$], 而 Graves 病缓解患者血浆骨桥蛋白水平与对照组相比无统计学差异[(64±19) ng/ml, $P>0.05$]; 与对照组比较, Graves 病初发患者血浆可溶性 CD40 配体水平显著升高[(3 031±1 074 对 1 073±351) pg/ml, $P<0.01$], Graves 病缓解患者可溶性 CD40 配体水平与对照组比较, 差异无统计学意义[(974±273) pg/ml, $P>0.05$]; 血浆骨桥蛋白与可溶性 CD40 配体水平呈显著正相关($r=0.849$, $P<0.01$); 人重组骨桥蛋白可促进可溶性 CD40 配体和 CD4⁺T 细胞中 CD40 配体基因 mRNA 的表达。**结论** 骨桥蛋白在 Graves 病初发患者血浆中表达明显增加, 可通过促进 CD40 配体的表达参与 Graves 病发生、发展的免疫调节过程。

【关键词】 骨桥蛋白; Graves 病; CD40 配体

Expression and immunopathogenic mechanism of osteopontin in Graves' disease QI Yi-cheng*, LI Xiao-li, WANG Yan-yan, ZHANG Xiao-fang, HUANG Feng-jiao, LIN Dong-ping, NING Guang, WANG Shu. * Shanghai Clinical Center of Endocrine and Metabolic Disease, Shanghai Institute of Endocrine and Metabolic disease, Ruijin Hospital, Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 200025, China
Corresponding author: WANG Shu, Email: shuwang999@hotmail.com
Email: qionecheng@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the expression of osteopontin(OPN) in Graves' disease(GD), and to study the role played by OPN in modulating CD40 ligand expression. **Methods** Thirty initial GD patients, twenty-one GD patients during remission, and twenty healthy controls were recruited. Concentrations of OPN and soluble CD40 ligand were determined by ELISA. The expressions of OPN receptor genes in peripheral blood mononuclear cells and CD40 ligand gene in CD4⁺T cell were determined by real-time quantitative PCR. **Results** Plasma OPN level in GD patients was significantly higher than that in normal controls[(153±55 vs 52±21) ng/ml, $P<0.01$], while the level in GD patients during remission[(64±19 vs 52±21) ng/ml, $P>0.05$] showed no significant changes. Compared to healthy controls, soluble CD40 ligand was enhanced in GD patients[(3 031±1 074 vs 1 073±351) pg/ml, $P<0.01$] and in patients during remission, no significant differences found[(974±273 vs 1 073±351) pg/ml, $P>0.05$]. Plasma OPN was correlated with soluble CD40 ligand concentration($r=0.849$, $P<0.01$), while OPN could increase soluble CD40 ligand level and CD40 ligand mRNA expression in CD4⁺T cells. **Conclusions** CD40 ligand is induced by increased OPN and serves as the downstream effector of OPN in GD development.

【Key words】 Osteopontin; Graves' disease; CD40 ligand

(Chin J Endocrinol Metab, 2013, 29; 683-687)

Graves 病甲亢又称毒性弥漫性甲状腺肿, 是一种

常见的抗体介导的器官特异性自身免疫性内分泌疾病, 典型临床表现包括甲状腺功能亢进, 弥漫性甲状腺肿和 Graves 病相关眼病等^[1]。Graves 病甲状腺组织中存在大量免疫细胞浸润, 局部可产生大量的自身抗体, 研究证实促甲状腺素受体(TSHR)的自身抗体(TRAb)与 Graves 病发病最为相关, 但 Graves 病中 TRAb 升高的具体机制尚不明确^[2]。B 细胞产生自身抗体在 Graves 病发病中起着重要作用, 而抗体主要是

DOI:10.3760/cma.j.issn.1000-6699.2013.08.011

基金项目:国家自然科学基金项目(81270872);上海市科委项目(11495803400)

作者单位:200025 上海交通大学医学院附属瑞金医院内分泌代谢病科, 上海市内分泌代谢病临床医学中心, 上海市内分泌代谢病研究所(蔡一澄、李晓丽、王燕燕、章晓芳、黄凤娇、宁光、王曙);上海交通大学附属第九人民医院内分泌科(林东平)

通信作者:王曙, Email: shuwang999@hotmail.com

Email: qionecheng@163.com

通过 CD4⁺T 细胞表面 CD40 配体分子与 B 细胞表面 CD40 分子的相互作用而产生^[3,4]。

骨桥蛋白是一种具有趋化、促炎因子分泌和整合素性能的胞外基质蛋白,与多种自身免疫性疾病发病相关^[5]。在类风湿性关节炎中,关节滑液 CD4⁺T 细胞中骨桥蛋白表达增加,从而放大并维持滑膜的炎症反应^[6]。在移植物抗宿主病中,抑制骨桥蛋白表达可减轻 CD8⁺T 细胞介导的移植物抗宿主反应。此外,有研究证实骨桥蛋白也可促进 B 细胞的增殖及其抗体产生^[7]。本研究拟通过检测血浆中骨桥蛋白和可溶型 CD40 配体的水平以明确两者之间的相关性,并通过体外实验证明骨桥蛋白对 CD40 配体表达的调节作用,从而证实骨桥蛋白在 Graves 病发病中的重要性。

对象和方法

一、对象

收集 2012 年 3 月至 2012 年 9 月在上海交通大学医学院附属瑞金医院内分泌科门诊初发 Graves 病 30 例,治疗后 Graves 病缓解者 21 例,其中所有初发 Graves 病患者均未经治疗,且符合中国甲状腺疾病诊治指南;Graves 病缓解患者均经甲巯咪唑治疗至少半年且甲状腺功能恢复正常。20 名性别、年龄相匹配的健康志愿者作为对照组(表 1)。所有研究对象均为自愿并签署本研究知情同意书。本研究经上海交通大学医学院附属瑞金医院伦理委员会批准备案。

二、试剂和仪器

ELIAS 试剂盒(R&D 公司,美国);EDTA 抗凝管(BD 公司,美国);人 CD4⁺T 细胞阳性分选试剂盒(Miltenyi 公司,德国);RNA 逆转录试剂盒(Promega 公司,美国);荧光定量 PCR 试剂盒(TaKaRa 公司,日本);人淋巴细胞分离液(Sigma 公司,美国);RPMI 1640 培养液(GIBCO 公司,美国);胎牛血清(GIBCO 公司,美国);人重组骨桥蛋白(R&D 公司,美国)。

三、方法

1. 标本采集及处理:采集静脉血于 EDTA 抗凝管中,立即离心(2 000 × g, 10 min)分离血浆,储存于 -80℃ 冰箱。同时,使用淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞(PBMC)用于 RNA 抽提或细胞培养。

2. PBMC 细胞培养及 CD4⁺T 细胞分选:用含有 10% 胎牛血清的 RPMI1640 培养液重悬 PBMC,以 3 × 10⁶/孔铺于六孔板,1 μg/ml 人重组骨桥蛋白处理或不处理。置于 37℃,5% CO₂ 培养箱中培养。分为干预 12 h 和 24 h 组,12 h 组用于收集细胞以提取 RNA,24 h 组则收集培养上清。处理 12 h 后收集细胞,根据 Miltenyi Biotec 说明书对 CD4⁺T 细胞进行阳性分选,纯度 >95%,在收集的 CD4⁺T 细胞中加入 Trizol 裂解液,重悬细胞。

3. 血浆骨桥蛋白和可溶型 CD40 配体测定:骨桥蛋白及可溶型 CD40 配体水平均用酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒测定,具体操作严格按说明书进行。最低检测浓度分别为 0.006 ng/ml 和 2.1 pg/ml。

4. 骨桥蛋白受体和 CD40 配体基因 mRNA 表达量的检测:采用实时荧光定量 PCR 检测 PBMC 中骨桥蛋白受体和 CD4⁺T 细胞中 CD40 配体基因的相对表达量。TRIZOL 法提取总 RNA,在紫外分光光度计上定量。RNA 纯度: A₂₆₀/A₂₈₀ 在 1.8 ~ 2.0。用 Promega 公司逆转录试剂盒逆转录 200 ng 总 RNA,70℃ 10 min,变性;逆转录反应条件为 42℃ 1 h,95℃ 5 min。实时荧光定量 PCR 目的基因及内参基因引物均跨内含子设计,由上海生工生物公司合成。引物序列如表 2。反应条件为:预变性 95℃ 30 s,95℃ 变性 5 s,60℃ 退火延伸 30 s,共进行 45 个循环,采用 2^{-ΔΔCt} 值来对基因的相对表达量进行比较。

四、统计学处理

统计学分析应用 SPSS 13.0 统计软件,结果用 $\bar{x} \pm s$ 来表示。计数资料间比较用 *t* 检验,相关性分析用 Pearson 检验。所有结果均以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

表 1 3 组研究对象基线资料情况对比($\bar{x} \pm s$)

Tab 1 Clinical characteristics of healthy controls, initial GD patients, and GD patients in remission($\bar{x} \pm s$)

组别 Group	例数(男/女) n(Male/Female)	年龄 (岁) Age (year)	FT ₃ (pmol/L)	FT ₄ (pmol/L)	sTSH (mU/L)	TRAb (U/L)	TPOAb (U/ml)	TGAb (U/ml)
对照组 Control	20(6/14)	35.7 ± 8.3	4.44 ± 0.43	14.41 ± 1.67	1.600 ± 0.810	0.40 ± 0.17	1.92 ± 4.86	3.06 ± 4.14
GD 初发组 Initial GD	30(9/21)	35.5 ± 12.0	27.66 ± 14.60 ^a	41.71 ± 14.22 ^a	0.004 ± 0.004 ^a	16.01 ± 10.56 ^a	510.57 ± 409.71 ^a	228.68 ± 354.94 ^a
GD 缓解组 GD in remission	21(7/14)	36.1 ± 14.0	4.24 ± 0.63 ^b	12.52 ± 3.70 ^b	1.820 ± 1.250 ^b	5.70 ± 6.04 ^b	64.39 ± 108.75 ^b	24.09 ± 19.38 ^b

注:GD:Graves 病 Graves' disease;TRAb:促甲状腺素受体抗体 Thyrotropin receptor antibody;TPOAb:甲状腺过氧化物酶抗体 Thyroid peroxidase antibody;TGAb:甲状腺球蛋白抗体 Thyroglobulin antibody;与对照组相比 vs Control, ^a*P* < 0.01;与 GD 初发组相比 vs Initial GD, ^b*P* < 0.01

表 2 引物序列
Tab 2 Sequence of primers

基因 Gene	引物序列 Primer sequence
GAPDH	F: 5'-TGATGACATCAAGAAGGTGGTGAAG-3' R: 5'-TCCTTGGAGGCCATGTGGCCAT-3'
αv	F: 5'-ACTTCTTGGTGGTCTGCTAG-3' R: 5'-GCAGTCCGAGTTGCTAATTG-3'
$\beta 1$	F: 5'-CAGGAAGGAATGCCTACTTCTG-3' R: 5'-CAACTGCTGTGGTTGGATCTG-3'
$\beta 3$	F: 5'-ACGTGCTGACGCTAACTGAC-3' R: 5'-ATGAGTCTTGGCATCAGTGG-3'
CD44	F: 5'-AATGCTCGCTACAGCATCTC-3' R: 5'-TGCTGCACAGATGGAGTTG-3'
$\alpha 4$	F: 5'-CTGCTGGTTGCTATGGAGTG-3' R: 5'-AAGAGAGCCAGTCCAGTAAGATG-3'
CD40L	F: 5'-GAGCAACAACCTGGTAACCCT-3' R: 5'-GGCTGCTATAAATGGAGCTTG-3'

注:F:上游 Forward;R:下游 Reverse;L:配体 Ligand

结 果

一、血浆骨桥蛋白水平

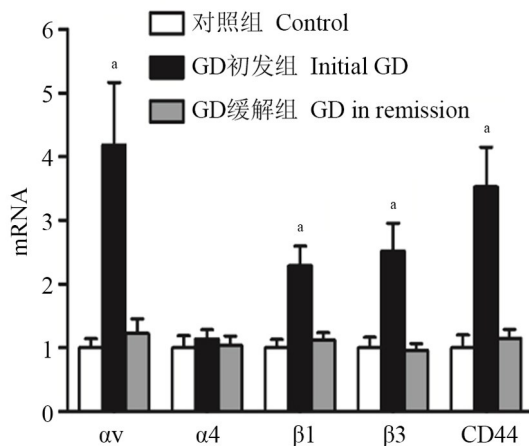
经 ELISA 检测发现,Graves 病初发患者血浆骨桥蛋白水平显著高于对照组 [(153 ± 55 对 52 ± 21) ng/ml, $P < 0.01$];且 Graves 病缓解患者血浆骨桥蛋白水平显著下降 [(64 ± 19) ng/ml]。Pearson 相关性分析显示,血浆中骨桥蛋白的表达与 FT₃、FT₄、促甲状腺素受体抗体 (TRAb)、甲状腺过氧化物酶抗体 (TPOAb)、甲状腺球蛋白抗体 (TGAb) 水平呈正相关 (r 分别为 0.766、0.750、0.541、0.567 和 0.339, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),与 TSH 水平呈负相关 ($r = -0.590, P < 0.01$)。

二、PBMC 中骨桥蛋白受体的基因表达情况

骨桥蛋白是通过与免疫细胞表面的相应受体结合来发挥作用。实时荧光定量 PCR 结果显示,与对照组和 Graves 病缓解组比较,Graves 病初发患者 PBMC 中骨桥蛋白受体 αv 、 $\beta 1$ 、 $\beta 3$ 和 CD44 基因 mRNA 表达显著升高(图 1)。但骨桥蛋白受体 $\alpha 4$ 在 3 组研究对象中无明显差异。血浆中骨桥蛋白水平和 PBMC 中骨桥蛋白受体表达的增加均提示在 Graves 病发病过程中存在骨桥蛋白功能的增强。

三、血浆可溶型 CD40 配体水平

与对照组比较 Graves 病初发患者血浆可溶型 CD40 配体水平显著升高 [(1 073 ± 351 对 3 031 ± 1 074) pg/ml, $P < 0.01$],Graves 病缓解后可溶型 CD40 配体恢复正常 [(974 ± 273) pg/ml]。Pearson 相关性分析显示,血浆中可溶型 CD40 配体与 FT₃、FT₄、TRAb、TPOAb、TGAb 水平呈正相关 (r 分别为 0.794、0.789、0.492、0.585 和 0.342, $P < 0.01$ 或 $P < 0.05$),与 TSH 水平呈负相关 ($r = -0.542, P < 0.01$)。上述结果提示



注:与其他组比较 vs Other groups, ^a $P < 0.01$

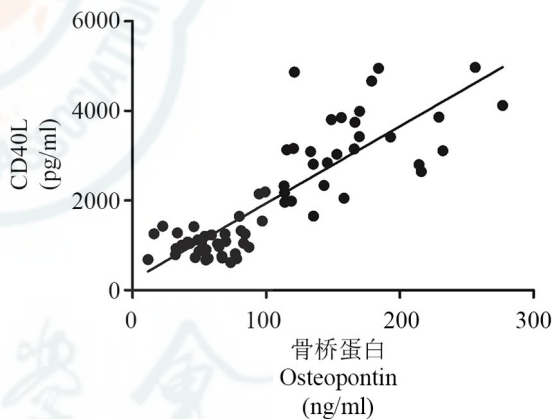
图 1 3 组骨桥蛋白受体基因 mRNA 的表达

Fig 1 mRNA expression osteopontin receptor in 3 groups

CD40 配体可能参与了 Graves 病的发病过程。

四、血浆骨桥蛋白水平与血浆可溶型 CD40 配体水平的相关性

Pearson 相关性分析显示血浆骨桥蛋白水平与可溶型 CD40 配体呈显著正相关 ($r = 0.849, P < 0.01$, 图 2),因此我们认为骨桥蛋白与可溶型 CD40 配体两者间存在相互联系。



注:CD40L:CD40 配体 CD40 ligand

图 2 血浆骨桥蛋白与可溶型 CD40 配体的相关分析

Fig 2 Correlation of plasma osteopontin levels with soluble CD40L

五、人重组骨桥蛋白干预对 CD40 配体表达的影响

培养正常 PBMC,分为骨桥蛋白处理与不处理两组,结果显示骨桥蛋白可显著增加 CD4⁺T 细胞 CD40 配体基因 mRNA 表达量及细胞培养上清中可溶型 CD40 配体的表达。因此,推测 Graves 病患者血浆中可溶型 CD40 配体的表达上调是受骨桥蛋白调控的。

讨 论

Graves 病是一种常见的自身免疫性疾病,Th1 细胞介导的细胞免疫和 Th2 细胞介导的体液免疫均参与

了 Graves 病的发病过程,但其发病机制,尤其是 TRAb 产生的免疫学机制尚不清楚^[8]。在疾病的各个时期, Graves 病患者的血清及其甲状腺组织中细胞因子表达情况均提示混合的 Th1/Th2 状态^[9]。在 Graves 病中, Th1 细胞调节的免疫应答主要是与 IFN γ 诱导的 CXCL 趋化因子 (CXCL9、CXCL10、CXCL11) 升高有关^[10]。然而,多数研究认为 Graves 病发病可能以 Th2 优势应答为主, Th2 细胞可通过分泌白细胞介素 (IL)-4、IL-10、IL-13 和表达 CD40 配体,辅助 B 细胞增殖、分化及产生抗体^[11]。

骨桥蛋白是一种多效性细胞因子,可表达于包括纤维母细胞,骨母细胞,活化 T 细胞, DC 细胞和巨噬细胞等在内的多种组织和细胞^[12]。骨桥蛋白通过与免疫细胞表面相应受体如 $\alpha v\beta 3$ 、 $\alpha v\beta 5$ 、 $\alpha v\beta 1$ 、 $\alpha 4\beta 1$ 、 $\alpha 8\beta 1$ 和 CD44 结合,从而促进淋巴细胞迁移和细胞因子产生^[13]。临床上,骨桥蛋白与包括多发性性硬化、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、自身免疫性肝炎、动脉粥样硬化和移植物抗宿主病在内的许多自身免疫性疾病密切相关^[6,7,14]。本研究证实初发 Graves 病患者骨桥蛋白及其相应受体水平均上升,且血浆骨桥蛋白水平与甲状腺功能指标存在良好的相关性。此外,骨桥蛋白具有免疫放大作用,能刺激 T 淋巴细胞分泌大量的 IL-17 和干扰素 (IFN)- γ ,能刺激巨噬细胞分泌 IL-12 和 IFN- γ ,能刺激系统性红斑狼疮小鼠模型 DC 细胞分泌 IFN- α ^[12,15]。已有研究提示骨桥蛋白可促进 B 细胞的增殖、类型转化及 IgG、IgM 和 IgA 产生,但骨桥蛋白调控 B 细胞活化的具体机制尚不清楚^[16]。

活化 CD4⁺T 细胞表面 CD40 配体与 B 细胞表面 CD40 配体的相互作用是 B 细胞抗体产生的一条重要信号通路^[4]。CD40 配体是一种 II 型表面蛋白,属于肿瘤坏死因子基因超家族成员,可表达于 CD4⁺T 细胞、嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和肥大细胞,包括膜结合型和可溶型两种形式^[17]。在一些自身免疫性和炎症性疾病中,可溶型 CD40 配体的增加是由于细胞表面增加的膜结合型 CD40 配体脱落所致^[18]。CD40 配体可增强包括系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、多发性硬化和自身免疫性糖尿病等在内的多种自身免疫性疾病的自身免疫炎症反应^[19,20]。本研究发现,初发 Graves 病患者血浆可溶型 CD40 配体显著升高,与 FT₃、FT₄、TSH、TRAb、TPOAb、TGA 水平均呈正相关,且随着病情的缓解可溶型 CD40 配体水平也随之恢复正常。

最新文献报道,血清 TNF- α 与可溶型 CD40 配体两者比值可作为 Graves 病疾病状态的生物标志物,但未发现可溶型 CD40 配体与 Graves 病临床指标间的相

关性^[21]。此外,有研究证实血小板表面也可表达 CD40 配体,且在血小板激活和血栓形成过程中可释放大量 CD40 配体入体液形成可溶型 CD40 配体^[22]。采集血样本后,采血管内有血小板的激活及血栓形成,从而增加了大量非 CD4⁺T 细胞来源的可溶型 CD40 配体。为避免上述干扰,我们根据研究推荐,检测可溶型 CD40 配体时采用去血小板血浆代替血清,从而解释了本研究结果与文献报道的差异^[23]。

本研究发现 Graves 病患者血浆骨桥蛋白水平及其受体基因 mRNA 表达均显著升高,疾病缓解后恢复正常,且与血浆可溶型 CD40 配体水平显著正相关。为了深入研究骨桥蛋白和 CD40 配体在 Graves 病发病中作用及骨桥蛋白调控 B 细胞产生抗体的机制,我们通过体外实验证实骨桥蛋白可显著增加可溶型 CD40 配体和 CD4⁺T 细胞中 CD40 配体基因 mRNA 的表达。因此我们认为,Graves 病患者血清中升高的骨桥蛋白促进了 CD4⁺T 细胞 CD40 配体的表达,进而增强了 CD40 配体与 B 细胞表面 CD40 的相互作用,导致自身抗体 TRAb 产生增加,从而参与了 Graves 病的发生、发展。

参 考 文 献

- [1] Rapoport B, McLachlan SM. Thyroid autoimmunity. *J Clin Invest*, 2001, 108: 1253-1259.
- [2] Saitoh O, Nagayama Y. Regulation of Graves' hyperthyroidism with naturally occurring CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in a mouse model. *Endocrinology*, 2006, 147: 2417-2422.
- [3] Douglas RS, Naik V, Hwang CJ, et al. B cells from patients with Graves' disease aberrantly express the IGF-1 receptor; implications for disease pathogenesis. *J Immunol*, 2008, 181: 5768-5774.
- [4] Neron S, Nadeau PJ, Darveau A, et al. Tuning of CD40-CD154 interactions in human B-lymphocyte activation; a broad array of in vitro models for a complex in vivo situation. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz)*, 2011, 59: 25-40.
- [5] Kathryn X Wang, David T Denhardt. Osteopontin: Role in immune regulation and stress responses. *Cytokine & Growth Factor Reviews*, 2008, 19: 333-345.
- [6] Xu G, Nie H, Li N, et al. Role of osteopontin in amplification and perpetuation of rheumatoid synovitis. *J Clin Invest*, 2005, 115: 1060-1067.
- [7] Zhao F, Zhang Y, Wang H, et al. Blockade of osteopontin reduces alloreactive CD8 T cell-mediated graft-versus-host disease. *Blood*, 2011, 117: 1723-1733.
- [8] Fountoulakis S, Tsatsoulis A. On the pathogenesis of autoimmune thyroid disease: a unifying hypothesis. *Clin Endocrinol (Oxf)*, 2004, 60: 397-409.
- [9] Ajjan RA, Weetman AP. Cytokines in thyroid autoimmunity. *Autoimmunity*, 2003, 36: 351-359.
- [10] Antonelli A, Rotondi M, Fallahi P, et al. Increase of interferon gamma inducible alpha chemokine CXCL10 but not beta chemokine CCL2 serum levels in chronic autoimmune thyroiditis. *Eur J Endocrinol*, 2005, 152: 171-177.

- [11] Aniszewski JP, Vallyasevi RW, Bahn RS. Relationship between disease duration and predominant orbital T cell subset in Graves' ophthalmopathy. *J Clin Endocrinol Metab*, 2000,85:776-780.
- [12] Ashkar S, Weber GF, Panoutsakopoulou V, et al. Eta-1 (osteopontin): an early component of type-1 (cell-mediated) immunity. *Science*, 2000,287:860-864.
- [13] Gravallesse EM. Osteopontin: a bridge between bone and the immune system. *J Clin Invest*, 2003,112:147-149.
- [14] Morimoto J, Kon S, Matsui Y, et al. Osteopontin; as a target molecule for the treatment of inflammatory diseases. *Curr Drug Targets*, 2010,11:494-505.
- [15] Kariuki SN, Moore JG, Kirou KA, et al. Age- and gender-specific modulation of serum osteopontin and interferon- α by osteopontin genotype in systemic lupus erythematosus. *Genes Immun*, 2009,10:487-494.
- [16] Lampe MA, Patarca R, Iregui MV, et al. Polyclonal B cell activation by the Eta-1 cytokine and the development of systemic autoimmune disease. *J Immunol*, 1991,147:2902-2906.
- [17] Locksley RM, Killeen N, Lenardo MJ. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell*, 2001,104:487-501.
- [18] Grewal IS, Flavell RA. The role of CD40 ligand in costimulation and T-cell activation. *Immunol Rev*, 1996,153:85-106.
- [19] Alaaeddine N, Hassan GS, Yacoub D, et al. CD154: an immunoinflammatory mediator in systemic lupus erythematosus and rheumatoid arthritis. *Clin Dev Immunol*, 2012,2012:490148.
- [20] Chiarelli F, Giannini C, Verrotti A, et al. Increased concentrations of soluble CD40 ligand may help to identify type 1 diabetic adolescents and young adults at risk for developing persistent microalbuminuria. *Diabetes Metab Res Rev*, 2008,24:570-576.
- [21] Yamamoto K, Itoh M, Okamura T, et al. Relative levels of the inflammatory cytokine TNF alpha and the soluble CD40 ligand profile in serum correlate with the thyrotoxic activity of Graves' disease. *Thyroid*, 2012,22:516-521.
- [22] Henn V, Slupsky JR, Grafe M, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells. *Nature*, 1998,391:591-594.
- [23] Varo N, Nuzzo R, Natal C, et al. Influence of pre-analytical and analytical factors on soluble CD40L measurements. *Clin Sci (Lond)*, 2006,111:341-347.

(收稿日期:2013-01-05)

(本文编辑:朱鉉达)

CHINESE MEDICAL ASSOCIATION
1915
中華醫學會