

类风湿关节炎寒湿痹阻证患者血清蛋白组学分析

孙志岭¹ 王 玲² 王富强² 许志洋² 钱 鑫¹

摘要 目的 从蛋白质表达水平初步探讨类风湿关节炎中医寒湿痹阻证的本质内涵。**方法** 选择 24 例 2009 年 7 月—2010 年 9 月南京中医药大学附属医院风湿免疫科类风湿关节炎(RA)患者,按中医辨证分型分为寒湿痹阻证组和湿热痹阻证组,每组 12 例,另选择本院体检中心健康志愿者 12 名作为正常对照组。采用双向凝胶电泳技术分析各组蛋白图谱,分别比较寒湿痹阻证组和其他两组图谱,找出共同的寒湿痹阻证差异蛋白质点,应用基质辅助激光解吸飞行时间质谱进行鉴定。采用 Mascot 软件在 SwissProt 数据库中搜索肽质量指纹谱数据并确定蛋白质。**结果** 寒湿痹阻证组与正常对照组差异蛋白质点共有 81 个;寒湿痹阻证组与湿热痹阻证组差异蛋白质点共有 45 个;有 13 个蛋白点是寒湿痹阻证组较其他两组蛋白表达量均高或均低的蛋白点;通过质谱鉴定和数据库检索获得 9 个差异蛋白质。这些差异蛋白大多与细胞增殖、细胞分化等细胞事件的抑制相关。**结论** 4.1 蛋白、DLC-1 蛋白等与细胞增殖和细胞分化相关蛋白具有潜在的作为类风湿关节炎寒湿痹阻证诊断、预后标志物或治疗靶点的意义,也为进一步研究寒湿痹阻证实质提供了依据。

关键词 寒湿痹阻证;类风湿关节炎;双向凝胶电泳;质谱分析

Differential Serum Proteomic Analysis of Rheumatoid Arthritis Patients of Cold-dampness Arthralgia Spasm Syndrome SUN Zhi-ling¹, WANG Ling², WANG Fu-qiang², XU Zhi-yang², and QIAN Xin¹ 1 School of Nursing, Nanjing University of Chinese Medicine, Nanjing (210023), China; 2 Center of Large-scale Instruments, Nanjing Medical University, Nanjing (210029), China

ABSTRACT Objective To preliminarily study the essence of rheumatoid arthritis (RA) patients of cold-dampness arthralgia spasm syndrome (CDASS) at the protein expression level. **Methods** Totally 24 RA patients were recruited from Department of Rheumatology, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine from July 2009 to September 2010. They were assigned to the CDASS group and the dampness-heat arthralgia spasm syndrome (DHASS) group according to Chinese medicine syndrome typing, 12 in each group. The normal control group consisted of 12 healthy volunteers from the Health Examination Center, Affiliated Hospital of Nanjing University of Chinese Medicine. The serum proteins were compared between the CDASS group and the normal control group/the DHASS group respectively using two-dimensional gel electrophoresis. The common differential protein spots of CDASS were analyzed by mass spectrometry. The SwissProt database was inquired using Mascot Software to identify differential proteins. **Results** There were 81 differential protein spots between the CDASS group and the normal control group. There were 45 differential protein spots between the CDASS group and the DHASS group. Thirteen protein spots were found to be higher or lower in protein expression quantity of the CDASS group when compared with those of the other two groups. Nine differential protein spots were identified by mass spectrometry and database retrieval. It's suggested that these proteins were most likely to be related with inhibition of cellular events, such as cell proliferation, cell differentiation, and so on. **Conclusion** 4.1 protein and DLC-1 protein were of potential significance in the diagnosis, prognostic markers, or treatment targets of RA patients of CDASS, which also provided evidence for further studies on the essence of CDASS.

KEYWORDS cold-dampness arthralgia spasm syndrome; rheumatoid arthritis; two-dimensional gel electrophoresis; mass spectrometry

基金项目:国家自然科学基金资助项目(No. 81173158);江苏省自然科学基金资助项目(No. BK2009428);江苏省高校“青蓝工程”资助[苏教师(2010)27号];南京中医药大学基础研究与重点培育专项基金资助项目(No. 10XPY04)

作者单位:1. 南京中医药大学护理学院(南京 210023);2. 南京医科大学大型仪器中心(南京 210029)

通讯作者:孙志岭, Tel:13813892093, E-mail:szl@njutcm.edu.cn

DOI: 10. 7661/CJIM. 2013. 07. 0901

类风湿关节炎(rheumatoid arthritis, RA)是一种全身多关节的慢性滑膜炎,导致关节破坏、畸形的系统性自身免疫病^[1],本病是造成我国人群丧失劳动力与致残的主要原因之一。因其发病率、致残率均高,病情缠绵,病因病机尚不清楚,西医西药尚缺乏特别有效的治疗方法,且不良反应大。RA 属于中医学“痹证”范畴。中医药治疗 RA 具有疗效稳定、不良反应小的特点。由于辨证论治是中医学治疗疾病的特色和优势所在,为更好地指导 RA 中医临床治疗,有必要对其证型,尤其是公认的主要证型如寒湿痹阻证^[2]等进行深入的研究。

近年来,系统生物学和生物信息分析技术的快速发展为中医“证”的研究开辟了新的途径。目前已有与 RA 寒证相关的“组学”、系统生物学的研究报道,如在 RA 寒热证候基因表达谱研究中^[3,4],初步发现寒证与 Toll 样受体信号通路有关;RA 寒热证候代谢组学研究提示 RA 寒证患者机体蛋白质合成过程大于蛋白质分解^[5,6];而基于生物信息学方法的 RA 寒热证候的系统生物学分析显示小 G 蛋白信号通路、脂肪酸代谢的氧化分解及 T 细胞的增殖是 RA 寒热证候差异可能的靶点^[7,8]。这些结果均为阐明证候的本质,为整体评价证候实质提供可能。但目前尚无 RA 中医证型的蛋白质组学研究报道。本项目以 RA 寒湿痹阻证血清为研究对象,应用双向凝胶电泳(two-dimensional gel electrophoresis, 2-DE)及质谱技术进行比较蛋白组学研究,以期对证本质进行物质基础的探索,为实现中医证候诊断的客观化打下基础。

资料与方法

1 诊断标准及中医辨证分型标准 西医诊断标准符合 2010 年美国风湿病学会(ACR)和欧洲抗风湿病联盟(EULAR)的 RA 分类标准^[9]。中医 RA 辨证分型标准参考《中药新药临床研究指导原则》^[10]中寒湿痹阻证、湿热痹阻证标准。

2 纳入及排除标准 纳入标准:符合 RA 诊断标准;中医寒湿痹阻证、湿热痹阻证之一;女性;年龄 19~69 岁;签署知情同意书。排除标准:妊娠及哺乳期;合并有心血管、脑血管、肺、肝、肾和造血系统等严重原发性疾病、精神病患者;关节功能分级为Ⅳ级^[10];合并有其他风湿性疾病如系统性红斑狼疮、干燥综合征、严重的膝骨关节炎。

3 一般资料 24 例均为 2009 年 7 月—2010 年 9 月南京中医药大学附属医院风湿免疫科 RA 患者。其中,RA 寒湿痹阻证组患者 12 例,平均年龄

(52.3±2.8)岁;RA 湿热痹阻证组患者 12 例,平均年龄(50.5±4.1)岁;另选择本院体检中心健康志愿者 12 名作为健康对照组,平均年龄(51.2±3.5)岁。三组均为汉族,三组一般资料比较,差异无统计学意义。

4 试剂及仪器 固相 PH 梯度干胶条 IPG strip (pH3~10 NL, 24 cm)、固相 pH 梯度胶条缓冲液(IPGB, pH3~10NL)、丙烯酰胺、N,N-甲叉双丙烯酰胺、尿素、三羟甲基胺基甲烷、过硫酸铵和四甲基乙二胺、溴酚蓝均购自 Amersham 公司。硫脲、苯甲基磺酰氟、Pepstain、Lepstain、碘乙酰胺、乙腈、三氟乙酸、3-[(3-胆酰胺醛)-二乙胺]-丙磺酸、碳酸氢铵购于 Sigma 公司;二硫苏糖醇、十二烷基磺酸钠、甘氨酸、牛血清白蛋白、硫代硫酸钠、低熔点琼脂糖均为 Amresco 进口分装;序列修饰后胰蛋白酶购自 Promega 公司。多肽校正标准和基质购于德国布鲁克公司。多重蛋白亲和性去除试剂盒(Multiple Affinity Removal System, MARS)购自美国 Agilent 公司;双向电泳第一向采用 IPG phor 等电聚焦仪,第二向采用 Ettan Dalt II 垂直电泳系统,ImageScanner 光学扫描仪,ImageMaster 2D 5.0 图像分析软件均为美国 Amersham 公司产品;基质辅助激光解析/电离飞行时间串联质谱分析仪(MALDI-TOF/TOF-MS: Ultraflex II 型)为德国 Bruker 公司产品。

5 血清预处理 参照本实验室方法^[11,12]进行。抽取各组研究对象清晨空腹肘静脉血各 2 mL,室温放置 30 min,2 000 r/min 离心 20 min,收集血清分装,置于-80℃冰箱保存备用。实验前解冻,同组血清标本等量混合,用多重蛋白亲和性去除试剂盒去除血清中的高丰度蛋白质(如白蛋白、免疫球蛋白 G、免疫球蛋白 A、触珠蛋白、抗胰蛋白酶、转铁蛋白等),具体步骤参照其说明书操作。得到浓缩的低丰度蛋白溶液用 Bradford 法检测蛋白浓度。

6 蛋白质双向电泳 参照本实验室方法^[11]双向电泳。24 cm 胶条上样量 80 μg。等电聚焦后,在 12.5% SDS-PAGE 均匀胶上行第二向电泳,银染染色,每份蛋白样品重复电泳 3 次。

7 凝胶蛋白图谱分析 扫描仪采集图像,利用 ImageMaster 2D Platinum 软件进行包括蛋白质点的检测、量化、背景扣除和点的匹配等图像分析。

8 质谱鉴定与数据库查询 需鉴定的差异蛋白点经切割、脱色、还原、烷基化、胰蛋白酶酶解、萃取及脱盐后,利用质谱仪测得各自肽质量指纹图谱,并以基质峰、酶自动降解片段峰进行校正。所得肽质量指纹

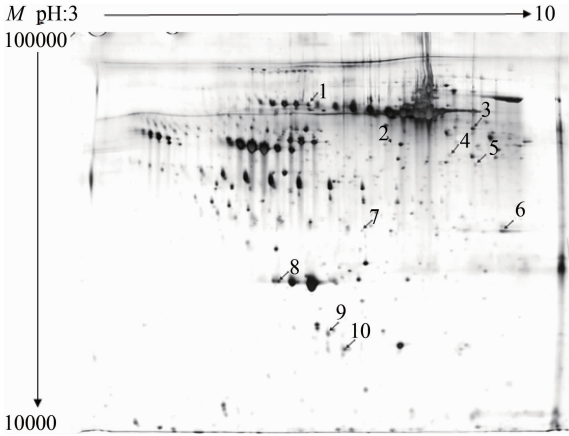
图谱用 Mascot 搜索引擎进行数据库的检索,蛋白质数据库选择 SwissProt 数据库。参数设置为每个肽允许有 1 个不完全裂解位点,且肽片段分子量最大容许误差为 ± 100 ppm,蛋白质匹配分数 >54 分。

9 统计学方法 所得数据在 Excel 软件上进行统计分析。两组标本图谱中蛋白质的表达量相差 2 倍以上,或者是其中一组标本中有蛋白缺如的蛋白点为差异表达蛋白点。

结 果

1 双向电泳分析结果(图 1、2) 通过软件分析发现电泳后每张血清凝胶图谱可辨识 (1056.3 ± 31.6) 个蛋白点,并显示出良好的重复性与稳定性。组内各样品图谱蛋白点平均匹配率在 90% ~ 93%。寒湿痹阻证组与健康对照组差异蛋白质点共有 81 个;寒湿痹阻证组与湿热痹阻证组差异蛋白质点共有 45 个。有 13 个蛋白点是寒湿痹阻证组较其他两组蛋白表达量均高或均低的蛋白点。最终得到成功鉴定的 10 个差异表达蛋白点的分布见图 1;被鉴定的蛋白点局部放大对比见图 2。

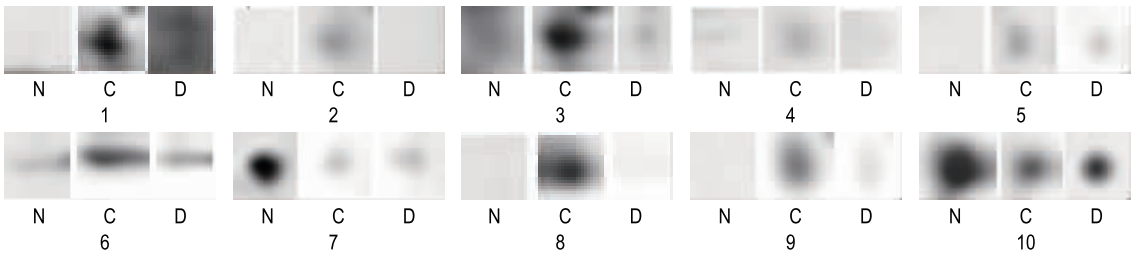
2 差异表达蛋白质质谱鉴定(表 1) 10 个成功鉴定的差异蛋白点匹配到相应蛋白质,其中激肽原 1 (kininogen 1) 的鉴定分别来自 2 个不同的差异蛋白



注:成功鉴定的 10 个差异表达蛋白点用带有数字序号的箭头标记,蛋白点序号与图 2、表 1 序号一致

图 1 寒湿痹阻证组血清双向电泳图谱

点,因此共得到 9 个差异表达蛋白。与健康对照组和湿热痹阻证组比较,寒湿痹阻证组中 8 个蛋白点表达上调或独有,2 个蛋白点表达下调。差异表达蛋白大致可分为 6 类:(1)细胞骨架蛋白:4.1 蛋白 1 亚型;(2)代谢相关蛋白:DLC-1 蛋白 3 亚型,3-羟基氨基苯甲酸-3,4-二加氧酶;(3)分泌蛋白: α -1B-糖蛋白前体,胎球蛋白 B;(4)凝血因子:激肽原 1;(5)急性期反应蛋白:富亮氨酸 α -2 糖蛋白前体;(6)其他,如未分类及未知功能蛋白:不育 α 模体域含 7 蛋白,类似于 RNA 结合基序蛋白。



注:N 为健康对照组;C 为寒湿痹阻证组;D 为湿热痹阻证组

图 2 三组差异表达蛋白点

表 1 10 个成功鉴定的差异表达蛋白点

蛋白点号	数据库代码 IPI	质谱得分	序列覆盖率 (%)	理论分子量 (kDa)/等电点	蛋白质名称	英文名称	寒湿痹阻/健康对照	寒湿痹阻/湿热痹阻
1	IPI00003921	198	35	5.42/97527	4.1 蛋白 1 亚型	Isoform 1 of Protein 4.1	C	3.26
2	IPI00375770	286	44	6.32/49481	不育 α 模体域含 7 蛋白	Sterile alpha motif domain-containing protein 7	C	C
3	IPI00015556	177	40	5.07/55145	DLC-1 蛋白 3 亚型	deleted in liver cancer 1 isoform 3	6.33	4.22
4	IPI00009375	131	58	5.62/32693	3-羟基氨基苯甲酸-3,4-二加氧酶	3-hydroxyanthranilate 3,4-dioxygenase	4.40	2.04
5	IPI00022895	196	43	5.58/54809	α -1B-糖蛋白前体	Alpha-1B-glycoprotein precursor	4.75	3.12
6	IPI00797833	136	30	6.29/48954	激肽原 1	kininogen 1	19.27	3.94
7	IPI00797833	167	49	6.29/48954	激肽原 1	kininogen 1	0.10	0.49
8	IPI00737790	318	90	9.71/15207	类似于 RNA 结合基序蛋白	similar to RNA binding motif protein	C	C
9	IPI00552199	69	29	6.81/38712	胎球蛋白 B	GUGU beta form	C	10.22
10	IPI00022417	135	40	6.45/38382	富亮氨酸 α -2 糖蛋白前体	Leucine-rich alpha-2-glycoprotein precursor	0.27	0.27

注: C 代表仅寒湿痹阻证组存在蛋白表达

讨 论

机体任一时间阶段病理生理改变均可在血清中反映出来,临床上,血清/血浆内各生理指标或参数检测一直是最常用辅助诊断手段之一。把参与众多生理病理过程的血清蛋白质作为研究对象,更为实际便利。目前,血清蛋白组学在疾病研究中的应用非常广泛,几乎涉及所有疾病,并已有 RA 研究报道^[13]。但是,血清证候蛋白质组学的研究较少,而血清蛋白质组学结合临床辨证分型,寻找与证候相关蛋白,体现证候变化,揭示中医证候科学内涵。最近虽有相关报道^[14],但仍处于起步阶段,且缺乏中医痹证的相关研究报道。因此,无论在研究广度和深度方面都有待进一步开展。

本研究通过蛋白质组学 2-DE 和质谱技术,围绕 RA 中医临床常见证型之一寒湿痹阻证进行研究。共成功鉴定 9 个差异表达蛋白,涉及细胞骨架蛋白、代谢相关蛋白、分泌蛋白、凝血因子、急性期反应蛋白及其他未分类及未知功能蛋白等。对这些已知功能蛋白进一步分析,初步探讨其作用机制如下。

蛋白家族是一组膜骨架蛋白,它不但在细胞形态的维持、连接细胞表面糖蛋白和细胞骨架方面发挥作用^[15],而且在其他许多细胞功能方面起着非常重要作用,包括:参与细胞的生长调控,调节细胞的黏附作用和相关信号传导,调节细胞周期,阻止细胞增殖等^[16]。而在细胞生长和增殖失控的多种肿瘤组织中常常发现 4.1 蛋白表达水平的下调或缺失^[17]。本研究发现 4.1 蛋白亚基在寒湿痹阻证血清中表达升高,提示细胞形态结构的稳定以及对细胞生长的调控和细胞增殖的阻止。

DLC-1 蛋白是一种 GTP 酶激活蛋白(GAPs 蛋白),对 RhoGTP 酶起负性调节作用,因而影响细胞的生命活动如细胞增殖、细胞骨架形成和基因表达^[18]。对正常细胞的增生起负性调节作用,抑制细胞的恶性转化,在细胞生长和增殖失控的多种肿瘤组织中也常常发现 DLC-1 蛋白缺失^[19]。

3-羟基氨基苯甲酸-3,4-二加氧酶具有加氧酶催化活性,催化 3-羟基氨基苯甲酸氧化环的开放,是色氨酸到喹啉酸盐生物合成的最后一个酶催化反应步骤^[20],广泛参与体内物质代谢。研究表明寒证患者存在体内物质代谢的紊乱^[6],现多认为合成代谢增加和分解代谢降低,该酶的确切机制和主要作用尚有待进一步研究。

α -1B-糖蛋白属免疫球蛋白超家族成员,是一种分泌血浆蛋白,但是它的生物学功能尚不清楚^[21]。由于免疫球蛋白超家族的成员几乎全部都在细胞识别和

细胞调节中起作用,因此 α -1B-糖蛋白有可能参与此项行为,但尚需研究证实。

激肽原 1 是激肽释放酶-激肽系统中的成员之一,可以编码两种不同的蛋白质高分子量激肽原(HMWK)和低分子量激肽原(LMWK),两者作用有所不同^[22]。本研究发现两个蛋白点均鉴定为激肽原 1,胶上不同的蛋白点被鉴定为同一种蛋白的现象,与蛋白质的各种翻译后修饰(如分裂或化学修饰)等有关^[11],如糖基化、磷酸化等。蛋白质的各种翻译后修饰可能有不同的生物学功能^[11]。本研究发现 2 个鉴定为激肽原 1 的蛋白点分别上调和下调,与翻译后修饰有关,也可能发挥不同的生物学功能。一般认为激肽原-1 的主要作用包括凝血和抗凝血两种相互拮抗的功能、抗黏附特性、参与炎症反应、抗血管生成、抑制细胞迁移和增生的作用等^[23]。

胎球蛋白 B 是半胱氨酸蛋白酶抑制剂,其生物学功能尚未完全明确,但与细胞增殖、分化有关。近年有研究发现皮肤鳞状癌细胞过表达的胎球蛋白 B 可以抑制肿瘤的生长^[24]。说明过表达胎球蛋白 B 同样具有抑制细胞增生的作用。

富亮氨酸 α -2 糖蛋白一般被认为是急性期反应蛋白,但其生物学功能仍不清楚^[25]。有研究表明富亮氨酸 α -2 糖蛋白参与细胞分化的调节,在不同种类的细胞发挥不同的调节作用^[26]。

目前,对风湿性疾病寒湿痹阻证的研究多局限于宏观辨证的证候调查或临床疗效观察,有关证候实质及微观辨证的研究较少。有研究通过对中医寒证和热证的比较发现,与寒证相比,热证以炎症、增殖、修复等细胞活动增强为主^[3]。本研究发现的参与细胞增殖事件相关的寒湿痹阻证差异蛋白质,在细胞增殖中起抑制作用,他们在寒湿痹阻证患者血清表达的升高,提示相对于健康对照以及湿热痹阻证,寒湿痹阻证存在对细胞生长的调控事件,主要表现为细胞增殖等细胞事件的减弱与抑制。

本研究运用 2-DE 和质谱技术分离并鉴定 RA 寒湿痹阻证血清差异表达蛋白,成功筛选并鉴定了 9 个有显著性差异表达的蛋白,发现与 RA 寒湿痹阻证相关的蛋白分子和细胞事件,为进一步的研究奠定了基础^[27]。本研究以湿热痹阻证组以及健康对照组为对照,筛选类风湿关节炎寒湿痹阻证的证相关蛋白,虽然取得初步的研究结果,但是所发现的差异蛋白与 RA 寒湿痹阻证的相关性尚需要得到更多分组(同病异证、异病同证)、更大数量样本的证实。此外,本研究采用 2-DE 蛋白质组学技术因灵敏度等原因,仍有一些蛋白无法检测,随着

蛋白质组学研究技术上的新进展及其在中医证候研究中的应用,相信其在中医证本质研究及中医诊断客观化方面会发挥更大的作用。

参 考 文 献

- [1] 王吉耀主编.内科学[M]. 第2版. 北京: 人民卫生出版社, 2010: 1105-1114.
- [2] 赵新秀,寇永锋. 类风湿性关节炎中医证型分布规律的文献研究[J]. 中华中医药学刊, 2008, 26(9): 1943-1944.
- [3] Lu C, Xiao C, Chen G, et al. Cold and heat pattern of rheumatoid arthritis in traditional Chinese medicine: distinct molecular signatures indentified by microarray expression profiles in CD4-positive T cell[J]. Rheumatol Int, 2012, 32(1): 61-68.
- [4] Jiang M, Xiao C, Chen G, et al. Correlation between cold and hot pattern in traditional Chinese medicine and gene expression profiles in rheumatoid arthritis[J]. Front Med, 2011, 5(2): 219-228.
- [5] van Wietmarschen H, Yuan K, Lu C, et al. Systems biology guided by Chinese medicine reveals new markers for sub-typing rheumatoid arthritis patients[J]. J Clin Rheumatol, 2009, 15(7): 330-337.
- [6] Gu Y, Lu C, Zha Q, et al. Plasma metabonomics study of rheumatoid arthritis and its Chinese medicine subtypes by using liquid chromatography and gas chromatography coupled with mass spectrometry[J]. Mol Biosyst, 2012, 8(5): 1535-1543.
- [7] Chen G, Lu C, Zha Q, et al. A network-based analysis of traditional Chinese medicine cold and hot patterns in rheumatoid arthritis[J]. Complement Ther Med, 2012, 20(1-2): 23-30.
- [8] Lu C, Niu X, Xiao C, et al. Network-based gene expression biomarkers for cold and heat patterns of rheumatoid arthritis in traditional chinese medicine[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2012: 203043.
- [9] Villeneuve E, Nam J, Emery P. 2010 ACR-EULAR classification criteria for rheumatoid arthritis[J]. Rev Bras Reumatol, 2010, 50(5): 481-483.
- [10] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2002: 110-123.
- [11] Sun ZL, Zhu Y, Wang FQ, et al. Serum proteomic-based analysis of pancreatic carcinoma for the identification of potential cancer biomarkers[J]. Biochim Biophys Acta, 2007, 1774(6): 764-771.
- [12] 孙志岭,高觉民,许志洋,等. 癫痫患者脑脊液差异蛋白质组学分析[J]. 中风与神经疾病杂志, 2010, 27(10): 931-934.
- [13] Li TW, Zheng BR, Huang ZX, et al. Screening disease-associated proteins from sera of patients with rheumatoid arthritis: a comparative proteomic study[J]. Chin Med J, 2010, 123(5): 537-543.
- [14] 周烨威,徐品初,成扬,等. 肝硬化正虚血瘀证候与血清蛋白质组学所见[J]. 中国中西医结合杂志, 2011, 31(5): 595-602.
- [15] Hoover KB, Bryant PJ. The genetics of the protein 4.1 family: organizers of the membrane and cytoskeleton[J]. Curr Opin Cell Biol, 2000, 12(2): 229-234.
- [16] Gutmann DH, Hirbe AC, Huang ZY, et al. The protein 4.1 tumor suppressor, DAL-1, impairs cell motility, but regulates proliferation in a cell-type-specific fashion[J]. Neurobiol Dis, 2001, 8(2): 266-278.
- [17] Sun CX, Robb VA, Gutmann DH. Protein 4.1 tumor suppressors: getting a FERM grip on growth regulation[J]. J Cell Sci, 2002, 115(Pt 21): 3991-4000.
- [18] Durkin ME, Avner MR, Huh CG, et al. DLC-1, a Rho GTPase-activating protein with tumor suppressor function, is essential for embryonic development[J]. FEBS Lett, 2005, 579(5): 1191-1196.
- [19] Durkin ME, Yuan BZ, Zhou X, et al. DLC-1: a Rho GTPase-activating protein and tumour suppressor[J]. J Cell Mol Med, 2007, 11(5): 1185-1207.
- [20] Zhang Y, Colabroy KL, Begley TP, et al. Structural studies on 3-hydroxyanthranilate-3,4-dioxygenase: the catalytic mechanism of a complex oxidation involved in NAD biosynthesis[J]. Biochemistry, 2005, 44(21): 7632-7643.
- [21] Udby L, Johnsen AH, Borregaard N. Human CRISP-3 binds serum alpha(1) B-glycoprotein across species[J]. Biochim Biophys Acta, 2010, 1800(4): 481-485.
- [22] Shesely EG, Hu CB, Alhenc-Gelas F, et al. A second expressed kininogen gene in mice[J]. Physiol Genomics, 2006, 26(2): 152-157.
- [23] Abdullah-Soheimi SS, Lim BK, Hashim OH, et al. Patients with ovarian carcinoma excrete different altered levels of urine CD59, kininogen-1 and fragments of inter-alpha-trypsin inhibitor heavy chain H4 and albumin[J]. Proteome Sci, 2010, 8: 58.
- [24] Hsu SJ, Nagase H, Balmain A. Identification of Feitin-B as a member of a cystatin-like gene family on mouse chromosome 16 with tumor suppressor activity[J]. Genome, 2004, 47(5): 931-946.
- [25] Wiederin JL, Donahoe RM, Anderson JR, et al. Plasma proteomic analysis of simian immunodeficiency virus infection of rhesus macaques[J]. J Proteome Res, 2010, 9(9): 4721-4731.
- [26] O'Donnell LC, Druhan LJ, Avalos BR. Molecular characterization and expression analysis of leucine-rich alpha-glycoprotein, a novel marker of granulocytic differentiation[J]. J Leukoc Biol, 2002, 72(3): 478-485.
- [27] 周红光,陈海彬,周学平,等. 蛋白质组学是中医病机研究的重要技术平台[J]. 中国中西医结合杂志, 2012, 32(7): 990-993.

(收稿:2012-07-09 修回:2012-10-08)