

血小板微粒及其表面标记物 CD62P、CD154 与 类风湿关节炎的相关性研究*

薛丽佳¹, 崔贝贝¹, 李茜², 黄巧容³, 刘毅¹, 林辉^{1△}

1. 四川大学华西医院 风湿免疫科(成都 610041); 2. 西南医科大学附属医院 风湿科(泸州 646000);
3. 四川大学华西医院 干细胞生物学研究室(成都 610041)

【摘要】 目的 观察血小板微粒(platelets microparticles, PMPs)在类风湿关节炎(RA)患者关节液和外周血中的表达及其与健康人外周血对照之间的差异,探讨 PMPs 水平与 RA 活动指标之间的关系。方法 采用流式细胞术检测 26 例活动期[疾病活动指数(DAS)28 \geq 3.2]RA 患者外周血和 15 例健康对照组外周血 PMPs 含量、PMPs 的 CD62P、CD154 阳性比率,检测 RA 患者和 15 例健康对照组外周血 C 反应蛋白(CRP)、血沉(ESR)、类风湿因子(RF)、抗环瓜氨酸肽抗体(ACPA)指标,分析 PMPs 含量与各指标相关性。其中 16 例有膝关节积液 RA 患者同时检测配对外周血和关节液 PMPs 含量及 CD62P⁺ PMPs 和 CD154⁺ PMPs 比率。结果 ①RA 患者外周血 PMPs 含量高于健康对照组($P<0.01$),RA 患者外周血 PMPs 含量高于配对关节液($P<0.01$);②RA 患者外周血 CD62P⁺ PMPs 比率高于健康对照组($P<0.05$)和配对关节液($P<0.05$);③RA 患者外周血 CD154⁺ PMPs 比率高于健康对照组($P<0.01$)和配对关节液($P<0.05$);④RA 患者外周血 PMPs 含量与疾病活动性评分 DAS28 ($r=0.462, P=0.018$)呈正相关,与 ESR、CRP、RF、ACPA 不存在相关性;而关节液 PMPs 含量与 CRP、ESR、RF、ACPA、DAS28 均无相关性。结论 RA 患者外周血 PMPs 表达异常,且与疾病活动性有关,提示 PMPs 在 RA 疾病活动和关节损害中发挥重要作用。

【关键词】 类风湿关节炎 血小板微粒 流式细胞技术 关节液

Association of Elevated Platelet Microparticles with Disease Activity in Rheumatoid Arthritis XUE Li-jia¹, CUI Bei-bei¹, LI Xi², HUANG Qiao-rong³, LIU Yi¹, LIN Hui^{1△}. 1. Department of Rheumatology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China; 2. Department of Rheumatology, Southwest Medical University, Luzhou 646000, China; 3. Laboratory of Stem Cell Biology, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu 610041, China

△ Corresponding author, E-mail: lhacd@163.com

【Abstract】 Objective To explore the expression of platelets microparticles (PMPs) in peripheral blood (PB) and synovial fluid (SF) of rheumatoid arthritis (RA) patients and its correlation with clinical inflammatory parameters. **Methods** The levels of PMPs in PB were detected by flow cytometry in 26 active RA patients and 15 healthy control (HC). SF was collected from 16 patients. The percentages of CD62P⁺ PMPs, CD154⁺ PMPs and clinical parameters (including CRP, ESR, RF and ACPA) were also measured, then the correlations of PMPs with these parameters were analyzed. **Results** PMPs levels in PB of RA patients were higher than those in PB from HC and those in SF of RA patients ($P<0.01$). CD62P⁺ PMPs levels in PB of RA patients were higher than those in PB of HC and those in SF of RA patients ($P<0.05$). CD154⁺ PMPs levels in PB of RA patients were higher than those in PB of HC ($P<0.01$) and those in SF of RA patients ($P<0.05$). The levels of PB PMPs were positively correlated with disease activity score DAS28 ($r=0.462, P=0.018$), but not with ESR, CRP, RF or ACPA. The levels of SF PMPs were not correlated with any of them ($P>0.05$). **Conclusion** PMPs may be involved in immune regulation and systemic inflammation of RA. The elevated levels of PMPs could be a potential biomarker for RA.

【Key words】 Rheumatoid arthritis Platelets microparticles Flow cytometry Synovial fluid

类风湿关节炎(RA)是一种以慢性、进行性、侵袭性关节炎为主要表现的全身性自身免疫性疾病。

活化白细胞、淋巴细胞、血小板、红细胞、内皮细胞等多种细胞在 RA 发病中发挥了重要作用。现代免疫学研究^[1]发现:它们不仅表达和分泌多种细胞因子,而且能释放一种直径小于 1 μm 的超微囊泡颗粒,即细胞微粒(cell-derived microparticles, MPs),参

* 国家自然科学基金(No. 81102274)和成都市科技攻关项目(No. 10GGYB644SF-023)资助

△ 通信作者, E-mail: lhacd@163.com

与体内炎症反应、凝血、新生血管生成以及传递生长因子等。血小板微粒(platelet microparticle, PMPs)占细胞微粒总数的 70%~90%^[2],是活化或凋亡的血小板出芽脱落形成的一种超微囊泡结构,在电镜下直径介于 100~1 000 nm 之间^[3]。PMPs 既含有血小板膜蛋白和膜脂质,也特异性表达血小板表面标记,例如 GPIa、GPIb α (CD42b)、GPIIb(CD41)等^[4]。有研究表明,PMPs 在 RA 患者外周血和关节液中均检测到含量增加,通过与血管内皮细胞、滑膜成纤维细胞相互作用,参与 RA 发病^[5]。本研究从探讨关节疾病炎症机制出发,观察 RA 患者外周血和关节液 PMPs 含量及表面活化标志的差异,初步探索 PMPs 在 RA 中的作用。

1 对象和方法

1.1 研究对象

2014 年 12 月至 2015 年 7 月四川大学华西医院风湿免疫科病房或门诊中重度活动期 RA 患者 26 例。所有患者均符合 1987 年美国风湿病学会(ACR)修订的 RA 诊断标准或 2010 年欧洲抗风湿病联盟(EULAR)RA 分类标准。疾病活动度判断采用疾病活动指数(DAS)28, DAS28 \geq 3.2 为疾病中重度活动。其中 16 例抽取膝关节液,标本采集前 1 个月患者未服用改善病情抗风湿药(disease modifying anti-rheumatic drugs, DMARDs),未服用激素或口服低剂量激素(强的松 \leq 10 mg/d)。另纳入 15 例无免疫性疾病及近期感染史的健康体检者作为对照组,性别与年龄均匹配。排除标准:所有 RA 患者及正常人排除急慢性感染、肿瘤及心血管疾病。本研究获得四川大学华西医院医学伦理委员会批准,且取得受试者的知情同意。

1.2 试剂与仪器

APC-抗人钙磷脂结合蛋白 V(Annexin V)、BV510-抗人 CD41a 及相应同型对照抗体、PE-Cy7-抗人 CD154(CD40L)抗体、PE-抗人 CD62P 抗体及相应同型对照抗体购自美国 eBioscience 公司;Annexin V Binding Buffer(10 \times)购自美国 Beckon-Dickinson 公司;枸橼酸钠抗凝的采血管购自美国 Beckon-Dickinson 公司;绝对计数荧光微球试剂盒购自美国 Beckman Coulter 公司;黄色纳米荧光标准试剂盒,流式细胞级别购自美国 Spherotech 公司。

FACS Aria 流式细胞仪为美国 BD 公司产品, TCL-16 高速离心机为中国湘仪公司产品,不锈钢

换膜过滤器购自美国 Millipore 公司。

1.3 研究方法

1.3.1 临床资料记录 详细记录每例 RA 患者的年龄、性别、病程、肿胀关节数(swollen joint count, SJC)、压痛关节数(tender joint count, TJC)、魏氏法检测血沉(ESR),速率散色比浊法检测 C 反应蛋白(CRP)、类风湿因子(RF),ELISA 法检测抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体(ACPA),计算疾病活动性指标 DAS28 评分。

1.3.2 全血标本处理 取 RA 患者清晨空腹静脉血 3.7 mL 以枸橼酸钠抗凝,轻轻颠倒混匀后于 180 \times g 离心 10 min,取上清血浆,2 500 \times g 离心 10 min,上清液中即为乏血小板血浆(platelet poor plasma, PRP),冻存于-80 $^{\circ}$ C 冰箱。

1.3.3 关节液收集 无菌操作抽取 RA 患者的膝关节液 5 mL 至枸橼酸钠抗凝管中,轻轻混匀后迅速于两次 2 500 \times g 离心 10 min,上清液即为乏血小板关节液,冻存于-80 $^{\circ}$ C 冰箱。

1.3.4 流式细胞术检测 PMPs 分别取 RA 患者和健康对照者 PRP、RA 患者乏血小板外周血及关节液 10 μ L,加入 1 μ L APC 标记的抗人 Annexin V 抗体和 1 μ L Annexin V Binding Buffer(10 \times),避光孵育 10 min 后,加入 1 μ L BV510 标记的抗人 CD41a、1 μ L PE 标记的抗人 CD62P 抗体及 1 μ L PE-Cy7 标记的抗人 CD154 抗体,室温下避光孵育 30 min,同时设同型对照反应管,以 150 μ L Annexin V Binding Buffer(1 \times)重悬细胞,并加入绝对计数荧光微球漩涡震荡混匀,上流式细胞仪检测。以过滤双蒸水(0.1 μ m 滤过膜)作为空白对照设立一个侧向起始端,排除背景噪音干扰,以确定 MPs“门”的检测下限,用 1.34 μ m 黄色纳米荧光标准微球在前向角设定“门”的上限,选择 0.1~1.0 μ m 为微粒范围。加入已知浓度的绝对计数荧光微球作为内部质控,检测 PMPs 绝对数,结果用 Flow jo 软件分析。由于 PMPs 表面还可以表达除 CD62P、CD154 以外的抗原标记物,如 GPIa、GPIb α (CD42b)等,因此本实验检测表达 CD62P $^{+}$ PMPs、CD154 $^{+}$ PMPs 数量占总 PMPs 数量的百分比。

1.4 统计学方法

组间比较采用 Mann-Whitney U 秩和检验和 Wilcoxon 配对符号秩和检验,PMPs 含量与病情活动指标相关性采用 Spearman 相关分析, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。K-S 拟合优度检验判断数据是否为正态分布。

2 结果

2.1 临床资料比较

RA 患者中女性 23 例, 男性 3 例, 平均年龄 (44.6 ± 13.6) 岁, 平均 DAS28 为 4.8 ± 1.1 , RF 阳性 21 例 (80.8%), ACPA 阳性 24 例 (92.3%); 抽取了膝关节液 16 例患者中女性 14 例, 男性 2 例, 平均年龄 (43.9 ± 9.6) 岁, DAS28 评分为 4.7 ± 1.0 , RF 阳性 13 例 (81.3%), ACPA 阳性 15 例 (93.8%)。健康对照组均无关节积液, 性别比和年龄与 RA 患者差异无统计学意义。

2.2 RA 患者与健康对照组血浆和关节液中 PMPs 比较

RA 患者血浆 PMPs 表达水平高于健康对照组 ($P < 0.01$), 抽取了关节液的 RA 患者外周血 PMPs 表达水平高于其关节液 ($P < 0.01$), RA 患者外周血 CD62P⁺ PMPs 比率 CD154⁺ PMPs 比率高于健康对

照组 ($P < 0.01$), 抽取了关节液的 RA 患者外周血 CD62P⁺ PMPs 比率、CD154⁺ PMPs 比率高于其关节液 ($P < 0.05$), 见表 2。

表 1 临床资料比较

Clinical characteristic	RA patients (n=26)	RA patients with SF (n=16)	Healthy control (n=15)
Age/yr.	44.6 ± 13.6	49.3 ± 11.7	43.9 ± 9.6
Female/male/case	23/3	14/2	12/3
Duaration/month	27.6 ± 17.6	31.5 ± 15.4	NA
TJC	7.7 ± 6.7	6.6 ± 5.8	NA
SJC	6.9 ± 5.9	7.3 ± 9.3	NA
ESR/(mm/h)	52.5 ± 31.9	56.0 ± 35.1	NA
CRP/(mg/L)	40.7 ± 41.9	52.6 ± 59.6	NA
RF positive/case (%)	21 (80.7)	13 (81.3)	NA
Anti-CCP positive/case (%)	24 (92.3)	15 (93.8)	NA
DAS28	4.8 ± 1.1	4.7 ± 1.0	NA

RA: Rheumatoid arthritis; SF: Synovial fluid; SJC: Swollen joint count; TJC: Tender joint count; ESR: Erythrocyte sedimentation rate; CRP: C-reactive protein; RF: Rheumatoid factor; Anti-CCP: Anti-cyclic citrullinated peptide antibody; DAS 28; Disease activity score 28

表 2 各组 PMPs、CD62P⁺ PMPs、CD154⁺ PMPs 检测值

Table 2 The detection of PMPs, CD62P⁺ PMPs and CD154⁺ PMPs in peripheral blood (PB) and synovial fluid (SF)

Group	Sample	n	PMPs/ μL^{-1}	CD62P ⁺ PMPs/%	CD154 ⁺ PMPs/%
RA	PB	26	13 462.77 ± 15 798.67*	34.41 ± 18.84**	9.87 ± 11.28*
Healthy control	PB	15	1 485.61 ± 1 027.30	21.22 ± 9.05	1.02 ± 1.25
RA patients with SF	PB	16	10 998.05 ± 12 582.43#	43.42 ± 20.42##	9.00 ± 8.42##
RA patients with SF	SF	16	246.16 ± 318.88	20.52 ± 16.76	3.21 ± 4.18

* $P < 0.01$, ** $P < 0.05$, vs. Healthy control group; # $P < 0.01$, ## $P < 0.05$, vs. SF in the same group

2.3 RA 患者外周血和关节液 PMPs 与临床指标的相关性

RA 患者外周血 PMPs 与 DAS28 呈正相关 ($r = 0.462$, $P = 0.018$), 与 ESR、CRP、RF、ACPA 无相关性; 而关节液 PMPs 与 ESR、CRP、DAS28、RF、ACPA 均无相关性。

3 讨论

由于炎症反应导致免疫细胞浸润滑膜, 进而发生软骨和骨质破坏, 是 RA 免疫损伤的主要特点。在炎症启动环节, 除众多免疫细胞 (如树突状细胞、T 淋巴细胞和单核/巨噬细胞等) 参与, 血液中有形成成分的最小结构血小板也在其中发挥了重要作用。近年来发现血小板活化或凋亡产生的 PMPs 携带多种胞质成分及表面抗原, 可能也参与了 RA 异常免疫应答。有研究^[5]观察到: PMPs 能够刺激滑膜成纤维细胞分泌中性粒细胞趋化因子 IL-8 和炎症因子 IL-6, 其中 IL-8 能进一步吸引大量中性粒细胞聚集在关节腔内产生活性氧簇 (reactive oxygen species, ROS) 介导 RA 的炎症反应过程。在 RA

的 K/BxN 小鼠模型中, 消耗血小板及 PMPs 数量能够使小鼠关节炎在临床评分和组织病理上达到明显缓解, 均证实血小板及 PMPs 参与了 RA 免疫反应。由于 PMPs 体积微小, 常规流式技术检测困难, 其表面带有磷脂酰丝氨酸 (phosphatidylserine, PS) 可以与 Annexin V 结合, 临床上我们主要采用流式细胞技术识别与 Annexin-V 结合的 PMPs^[6]。

本研究发现, 活动期 RA 患者外周血 PMPs 含量明显高于正常对照组, 与 KNIJFF-DUTMER 等^[7]研究结果一致, 且 PMPs 数量与疾病活动度评分 (DAS28) 正相关, 提示 PMPs 可能参与了 RA 的发病。早期研究观察到 PMPs 不仅活化中性粒细胞, 而且能与免疫球蛋白、补体形成免疫复合物 (MP-containing immune complexes, mpICs), 在体外实验中发现 mpICs 具有致炎性, 能诱导中性粒细胞产生白三烯, 从而促进炎症, 参与 RA 的发病^[8]。除此之外, 刺激血小板膜表面胶原受体糖蛋白 VI (glycoprotein VI, GPVI) 能活化血小板产生 PMPs, 同时导致血小板和 B 淋巴细胞上的脾酪氨酸激酶 (spleen tyrosine kinase, STK) 活化, 进一步活化

Bruton's 酪氨酸激酶,产生下游炎症反应。

然而我们观察到在 RA 患者关节液内 PMPs 含量却明显低于其外周血,既往有研究也发现类似结果,但是目前这一现象还存在争议。BERCKMANS 等^[9]检测了 10 例 RA 患者的外周血和关节液,观察到 RA 患者外周血中 MPs 含量在细胞微粒来源和数量上均与正常对照组相比无差异,均以 CD61 阳性 PMPs 为主,外周血 PMPs 含量明显高于关节液,而关节液中 MPs 以巨噬细胞来源微粒为主,占 MPs 总数的 40%,PMPs 含量则小于总数的 10%。而 BOILARD 等^[5]发现,PMPs 在 RA 患者外周血和关节液中的含量为 $600 \mu\text{L}^{-1}$ 和 $2 \times 10^5 \mu\text{L}^{-1}$,关节液 PMPs 含量明显高于外周血 PMPs。分析存在差异的原因可能与以下因素有关:第一,关节液中 PMPs 比外周血更难结合 Annexin V,关节液 PMPs 表面含有较少的 PS,且关节液中含有高浓度的分泌型磷脂酶 A2(secretory phospholipase A2, sPLA2),sPLA2 可以与 PS 竞争性地结合 Annexin V,使得关节液中结合 Annexin V 的 PMPs 总量减少^[10]。第二,GASPARYAN 等^[11]研究则认为在 RA 不同阶段,PMPs 会发生作用部位的迁徙。活化起始阶段,PMPs 从循环系统向炎性滑膜组织迁移和滚动,关节液中 PMPs 含量增高,而疾病进展期时,PMPs 又从滑膜组织向循环系统迁移。第三,PMPs 还能与关节滑膜细胞发生黏附,使得 PMPs 含量减少^[12]。探讨其原因,我们推测这种差异与 RA 患者外周血 PMPs 与关节液 PMPs 作用机制不同有关,既往有研究证实 RA 患者关节液中含有高浓度 sPLA2,与 PS 竞争性结合 Annexin V,使得 PMPs 检测总量减少,且这部分患者属于高疾病活动度,关节液中的 PMPs 一部分向外周血迁徙,另一部分与关节滑膜细胞黏附,使得关节液中的 PMPs 减少^[12]。

为了进一步验证 PMPs 的功能,我们还检测了 RA 患者外周血和关节液中 CD62P⁺ PMPs、CD154⁺ PMPs 比率。CD62P 是一种重要的黏附受体,在体外能介导血小板、内皮细胞与单核细胞、粒细胞发生黏附,激活 IL-8 和组织因子的表达,且与 RA 疾病活动度有关^[7, 11]。CD154 则表达于淋巴细胞及血小板表面,静息状态下,血小板表面没有 CD154 存在,血小板受到活化后,短暂表达 sCD154^[13],上调血小板表面 CD63、CD62P 的表达,循环血中 90% 以上的 CD154 来源于活化血小板,血小板与 T 细胞、B 细胞、单核细胞表面的 CD40 结合

刺激炎症因子释放,如单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1),调节 T 细胞表达和分泌活性因子(regulated upon activation, normal T cell expressed and secreted, RANTES),促进炎症反应,同时促进 B 细胞产生 IgG 型 RF。TAMURA 等^[14]发现 RA 外周血中 CD154 表达显著增高,并与 IgG、IgM 型 RF 表达呈正相关^[11]。CD62P⁺ PMPs 可以通过表达 CD62P 抑制 Treg 分化及产生 IL-17 和 IFN- γ ^[15]。CD154⁺ PMPs 也可以通过 CD40-CD40L 途径,诱导血管内皮生长因子(VEGF)和组织因子(TF)释放,促进血管生成和凝血^[12]。CD154⁺ PMPs 还可以与 CD4⁺ T 细胞相互作用,促进生发中心成熟和抗体产生,诱导 B 淋巴细胞分化,从而导致免疫细胞活化^[16]。然而,对于 CD62P⁺ PMPs、CD154⁺ PMPs 在 RA 中的表达水平,目前国内外还缺乏相关的文献报道。本研究观察到 RA 患者外周血中 CD62P⁺ PMPs、CD154⁺ PMPs 比例较正常人增高,提示 PMPs 可以通过表达血小板活化标志参与体内免疫反应。

综上所述,本研究结果显示,PMPs 不仅仅是血小板脱落形成的细胞碎片,也能表达血小板表面的活化标记,推测可能在 RA 发病机制中具有重要作用,RA 患者外周血中 PMPs 水平与炎症指标密切相关,在一定程度上反映了体内炎症水平。PMPs 还可以通过表达 CD62P、CD154,与体内淋巴细胞相互作用,介导炎症因子参与免疫和炎症过程。但尚需探索 PMPs、CD62P⁺ PMPs、CD154⁺ PMPs 水平与 RA 局部关节破坏的关系,PMPs 的检测对 RA 早期诊断和病情监测有重要的临床价值。

参 考 文 献

- [1] TSAI CY, SHIAU AL, CHEN SY, *et al.* Amelioration of collagen-induced arthritis in rats by nanogold. *Arthritis Rheum*, 2007, 56(2): 544-554.
- [2] SADALLAH S, EKEN C, MARTIN PJ, *et al.* Microparticles (ectosomes) shed by stored human platelets downregulate macrophages and modify the development of dendritic cells. *J Immunol*, 2011, 186(11): 6543-6552.
- [3] HSU J, GU Y, TAN SL, *et al.* Bruton's tyrosine kinase mediates platelet receptor-induced generation of microparticles: a potential mechanism for amplification of inflammatory responses in rheumatoid arthritis synovial joints. *Immunol Lett*, 2013, 150(1-2): 97-104.
- [4] DISTLER JH, DISTLER O. Inflammation: Microparticles and their roles in inflammatory arthritides. *Nat Rev Rheumatol*, 2010, 6(7): 385-386.
- [5] BOILARD E, NIGROVIC PA, Larabee K, *et al.* Platelets amplify inflammation in arthritis via collagen-dependent

- microparticle production. *Science*,2010,327(5965):580-583.
- [6] ROBERT S, PONCELET P, LACROIX R, *et al.* Standardization of platelet-derived microparticle counting using calibrated beads and a Cytomics FC500 routine flow cytometer;a first step towards multicenter studies. *J Thromb Haemost*,2009,7(1):190-197.
- [7] KNIJFF-DUTMER EA, KOERTS J, NIEUWLAND R, *et al.* Elevated levels of platelet microparticles are associated with disease activity in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum*,2002,46(6):1498-1503.
- [8] CLOUTIER N, TAN S, BOUDREAU LH, *et al.* The exposure of autoantigens by microparticles underlies the formation of potent inflammatory components; the microparticle-associated immune complexes. *EMBO Mol Med*,2013,5(2):235-249.
- [9] BERCKMANS RJ, NIEUWLAND R, TAK PP, *et al.* Cell-derived microparticles in synovial fluid from inflamed arthritic joints support coagulation exclusively via a factor VII-dependent mechanism. *Arthritis Rheum*,2002,46(11):2857-2866.
- [10] BERCKMANS RJ, NIEUWLAND R, KRAAN MC, *et al.* Synovial microparticles from arthritic patients modulate chemokine and cytokine release by synoviocytes. *Arthritis Res Ther*,2005,7(3):R536-544.
- [11] GASPARYAN AY, STAVROPOULOS-KALINOGLU A, MIKHAILIDIS DP, *et al.* Platelet function in rheumatoid arthritis;arthritic and cardiovascular implications. *Rheumatol Int*,2011,31(2):153-164.
- [12] DYE JR, ULLAL AJ, PISETSKY DS. The role of microparticles in the pathogenesis of rheumatoid arthritis and systemic lupus erythematosus. *Scand J Immunol*,2013,78(2):140-148.
- [13] DANESE S, FIOCCHI C. Platelet activation and the CD40/CD40 ligand pathway; mechanisms and implications for human disease. *Crit Rev Immunol*,2005,25(2):103-121.
- [14] TAMURA N, KOBAYASHI S, KATO K, *et al.* Soluble CD154 in rheumatoid arthritis;elevated plasma levels in cases with vasculitis. *J Rheumatol*,2001,28(12):2583-2590.
- [15] DINKLA S, VAN CRANENBROEK B, VAN DER HEIJDEN WA, *et al.* Platelet-derived microparticles inhibit IL-17 production by regulatory T cells through P-selectin. *Blood*,2016,127(16):1976-1986.
- [16] SPRAGUE DL, ELZEY BD, CRIST SA, *et al.* Platelet-mediated modulation of adaptive immunity;unique delivery of CD154 signal by platelet-derived membrane vesicles. *Blood*,2008,111(10):5028-5036.

(2016-10-12 收稿,2017-01-24 修回)

编辑 汤洁

(上接第 398 页)

- [9] PARK JS, SVETKAUSKAITE D, HE Q, *et al.* Involvement of toll-like receptors 2 and 4 in cellular activation by high mobility group box 1 protein. *J Biol Chem*,2004,279(9):7370-7377.
- [10] LEI C, LIN S, ZHANG C, *et al.* Effects of high-mobility group box1 on cerebral angiogenesis and neurogenesis after intracerebral hemorrhage. *Neuroscience*,2013,229:12-19 [2016-11-15]. [https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306-4522\(12\)01078-0](https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0306-4522(12)01078-0). doi: 10.1016/j.neuroscience.2012.10.054.
- [11] LOUIS SA, MAK CK, REYNOLDS BA. Methods to culture, differentiate, and characterize neural stem cells from the adult and embryonic mouse central nervous system. *Methods Mol Biol*,2013,946:479-506. doi: 10.1007/978-1-62703-128-8_30.
- [12] FANG P, PAN HC, LIN SL, *et al.* HMGB1 contributes to regeneration after spinal cord injury in adult zebrafish. *Mol Neurobiol*,2014,49(1):472-483.
- [13] MENEGHINI V, BORTOLOTTI V, FRANCESE MT, *et al.* High-mobility group box-1 protein and β -amyloid oligomers promote neuronal differentiation of adult hippocampal neural progenitors via receptor for advanced glycation end products/nuclear factor- κ B axis: relevance for Alzheimer's disease. *J Neurosci*,2013,33(14):6047-6059.
- [14] 曲艺, 孙正巍, 杨东波, 等. 神经干细胞移植治疗大鼠局灶性脑缺血损伤. *中国组织工程研究*,2013,17(10):1876-1883.
- [15] HU Y, LIU N, ZHANG P, *et al.* Preclinical studies of stem cell transplantation in intracerebral hemorrhage: a systemic review and meta-analysis. *Mol Neurobiol*,2016,53(8):5269-5277.
- [16] LIMANA F, GERMANI A, ZACHEO A, *et al.* Exogenous high-mobility group box 1 protein induces myocardial regeneration after infarction via enhanced cardiac C-kit⁺ cell proliferation and differentiation. *Circ Res*,2005,97(8):e73-e83 [2016-10-13]. <http://circres.ahajournals.org/content/97/8/e73.long>.
- [17] LI Q, YU B, YANG P. Hypoxia-induced HMGB1 in wound tissues promotes the osteoblast cell proliferation via activating ERK/JNK signaling. *Int J Clin Exp Med*,2015,8(9):15087-15097.
- [18] 李满, 罗勇, 李圆, 等. 高迁移率族蛋白 B1 对体外培养原代神经干细胞增殖能力的影响. *生理学报*,2014,66(4):469-475.
- [19] PALUMBO R, SAMPAOLESI M, DE MARCHIS F, *et al.* Extracellular HMGB1, a signal of tissue damage, induces mesoangioblast migration and proliferation. *J Cell Biol*,2004,164(3):441-449.
- [20] WANG L, YU L, ZHANG T, *et al.* HMGB1 enhances embryonic neural stem cell proliferation by activating the MAPK signaling pathway. *Biotechnol Lett*,2014,36(8):1631-1639.
- [21] MENG E, GUO Z, WANG H, *et al.* High mobility group box 1 protein inhibits the proliferation of human mesenchymal stem cells and promotes their migration and differentiation along osteoblastic pathway. *Stem Cells Dev*,2008,17(4):805-813.

(2017-01-14 收稿,2017-03-27 修回)

编辑 余琳