

· 论 著 · doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.21.002

AT1R 基因多态性与高血压脑出血后脑组织中 AT1R 表达的相关性研究*

周昌龙¹, 孙晓川^{2△}, 贺学农¹, 夏小辉¹, 张光伟¹

(1. 重庆医科大学附属永川医院神经外科 402160; 2. 重庆医科大学附属第一医院神经外科 400016)

摘要:目的 探索血管紧张素 II 1 型受体(AT1R)基因多态性与高血压脑出血后 AT1R 表达水平及其与脑水肿的相关性。方法 收集重庆医科大学附属永川医院神经外科 2011 年 12 月至 2012 年 8 月住院的高血压脑出血手术患者 45 例为观察组, 对照组选取难治性癫痫手术患者 45 例, 每组患者均采集静脉血后检测 AT1R 的基因多态性, 术中取被出血毁损挫伤的脑组织, 分别采用 RT-PCR 和 Western blot 法测定脑组织中 AT1R mRNA 及蛋白水平, 于术后第 1、3、5 天行头颅 CT 检查, 通过 CT 值反映脑水肿程度。结果 观察组 AC/CC 基因型与 AA 基因型 AT1R mRNA 水平表达差异无统计学意义($P > 0.05$), AC 基因型术区 CT 值比 AA 基因型更低, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 对照组各基因型 AT1R mRNA、蛋白水平和脑水肿程度差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 AT1R 基因多态性与脑组织中 AT1R mRNA 的表达无明显相关性, AT1R 蛋白水平和脑水肿程度有相关性。

关键词:颅内出血, 高血压性; 受体, 血管紧张素, 1 型; 脑水肿; 基因多态性

中图分类号: R74

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)21-2691-04

Correlations between AT1R gene polymorphism with AT1R mRNA and protein expression difference in brain tissue after hypertensive cerebral hemorrhage*

Zhou Changlong¹, Sun Xiaochuan^{2△}, He Xuenong¹, Xia Xiaohui¹, Zhang Guangwei¹

(1. Department of Neurosurgery, Affiliated Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China; 2. Department of Neurosurgery, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To investigate the correlation of angiotensin II type 1 receptor (AT1R) gene polymorphism with AT1R expression levels and brain edema after hypertensive intracerebral hemorrhage. **Methods** 45 operative patients with hypertensive intracerebral hemorrhage in the Affiliated Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University from December 2011 to August 2012 were collected as the experimental group and 45 operative patients with refractory epilepsy were selected as the control group. The venous blood in the two groups were collected for detecting the AT1R gene polymorphism; The brain tissue was taken from lesions in operation, then AT1R mRNA concentration was determined by RT-PCR and the AT1R protein level was determined by Western blot; Head CT was performed on postoperative 1, 3, 5 d; the degree of cerebral edema was reflected by CT value.

Results The levels of two kinds of genotype AT1R mRNA in the experimental group had no statistically significant difference ($P > 0.05$); the operative area CT value of AC genotype was significantly lower than that of AA genotype with statistical difference ($P < 0.05$); the AT1R mRNA of various genotypes, protein level and cerebral edema in the control group had no statistical differences.

Conclusion The AT1R gene polymorphism has no obvious correlation with the concentration expression of AT1R mRNA in the brain tissue; there is correlation between AT1R protein level and AT1R protein level and the cerebral edema degree in the brain tissue.

Key words: intracranial hemorrhage, hypertensive; receptor, angiotensin, type 1; brain edema; gene polymorphism

高血压脑出血是原发性高血压的最为严重的并发症之一, 其发病的原因主要是由于颅内动脉长期处于高压状态下, 动脉内膜增厚, 伴微小动脉瘤形成, 血压波动时, 变性的血管壁或动脉瘤壁破裂出血。动脉血管的变性与肾素-血管紧张素系统(RAS)有密切的关系, 特别是与该系统中心血管紧张素 II (Ang II) 及其受体关系最为紧密, 目前已发现的血管紧张素受体有 4 个亚型, 分别命名为 Ang II 1 型受体(AT1R)、Ang II 2 型受体(AT2R)、Ang II 3 型受体(AT3R)、Ang II 4 型受体(AT4R)。AT1R 的生理作用主要是血管收缩, 水滞留和血管平滑肌细胞增殖^[1]。在高血压患者的血管病理变化中, AT1R 的作用最为明显。

人类体内的 AT1R 是由 AT1R 基因编码合成的, AT1R 基因具有 5 种基因多态性, 但研究最多的是 A1166C 变种, 位于 3' 非翻译区中发生 A/C 颠倒, 共产生 3 种基因型 AA、AC、CC。目前已经发现 AT1R 基因 A1166C 多态性同原发性高血

压、动脉粥样硬化、脑卒中、过敏性紫癜等血管性疾病具有相关性^[2-6]。脑组织已证实的存在局部 RAS, 作为 RAS 中重要的组成部分, AT1R 在脑出血后脑组织的 mRNA 和蛋白水平均出现明显上调^[7]。AT1R 与 Ang II 结合, 通过发挥调节血管内皮的炎症因子^[8], 调节血管通透性等作用^[9], 使神经细胞凋亡、水肿。

但是, AT1R 基因多态性与脑出血后 AT1R 的表达水平是否有相关性呢? 作者在临床工作中发现, 不同基因型的脑出血患者即使出血的部位、出血量大小、年龄、手术时间等指标基本相同, 手术预后及出现脑水肿的程度差异也很大。因此, 作者推测, 既然 AT1R 基因多态性与血管性疾病具有明显的相关性, 那么 AT1R 基因多态性与高血压脑出血后 AT1R 的表达水平应该同样具有相关性。本研究旨在探讨 AT1R 基因多态性与高血压脑出血后 AT1R 的表达水平及其与脑水肿的相关性, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 12 月至 2012 年 8 月重庆医科大学附属永川医院神经外科住院的高血压脑出血患者 45 例(观察组),其中男 29 例,女 16 例,年龄 50~80 岁,平均 60.5 岁,发病至就医时间为 1~10 h,平均 3.5 h。纳入标准:(1)收缩压大于或等于 140 mm Hg 或舒张压大于或等于 90 mm Hg;(2)出血部为基底节区,有手术指征并行手术的患者;(3)无冠心病、糖尿病、心脏病,排除继发性高血压。健康人群的脑组织由于伦理学限制无法采集,因此对照组选用难治性癫痫行颞叶切除手术患者,切除颞叶是作为难治性癫痫的治疗方法,没有肿瘤、炎症、血管性疾病等因素影响的颞叶组织中 AT1R 表达同正常脑组织无明显差异^[10],可以视为正常脑组织。收集 2010~2012 年重庆医科大学附属永川医院神经外科难治性癫痫行颞叶切除手术患者,排除肿瘤、炎症、血管性疾病等继发性因素后共有 45 例患者(对照组),其中男 21 例,女 24 例,年龄 23~56 岁,平均 37.6 岁。所有患者术前均由家属或本人签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 AT1R(A1166C)的基因多态性检测 所有患者在术前先测量血压,再采集静脉外周血 5 mL,用饱和盐析法提取外周血白细胞 DNA;运用限制性片段长度多态性(RFLP)方法检测 AT1R(A1166C)的基因多态性;酶切后可产生 3 种基因型:未突变纯合子 AA 型,仅有 360 bp 片段 1 条带;突变杂合子 AC 型,有 360、220、140 bp 片段 3 条带;突变纯合子 CC 型,有 220、140 bp 片段 2 条带。

1.2.2 用 RT-PCR 测定脑组织中 AT1R mRNA 水平 观察组术中取被出血毁损挫伤的脑组织,对照组术中取切除的颞叶脑组织,标本取出后立即用生理盐水反复冲洗脑组织内残留血凝块及血液,分两份放入灭酶冻存管置于 -80 °C 低温冻存备用;异硫氰酸胍-酚-氯仿一步法提取总 RNA,紫外分光光度计测定 A 值,总 RNA 的 A_{260}/A_{280} 比值均大于 1.8。引物设计参照文献^[11]设计:反义链 5'-CAA GAC GCA GGC TTT TTG GCC-3',正义链 5'-ATA CCG CTA TGG AGT ACC GCT GGT-3'。β-actin 引物设计:正义链 5'-CCC ATC TAT GAG GGT TAC GC-3',反义链 5'-TTT AAT GTC ACG CAC GAT TTC-3'。其扩增产物分别为 255、150 bp。PCR 反应结束后进行稳压电泳,在凝胶成像分析系统进行观察并拍摄电泳图像,用 Quantity 图像分析软件分析,以 β-actin 为内参照,计算各目的条带及其比值,作为各基因的相对表达量。

1.2.3 Western blot 法测定脑组织中 AT1R 蛋白水平 取 -80 °C 保存的脑组织 50~100 mg 提取总蛋白。根据 AT1R 蛋白相对分子质量为 41×10^3 选择并灌制 10% 分离胶,测定蛋白水平后,上量约 40 μg。经电泳后转膜,封闭后加入一抗、二抗、ECL 液,在凝胶成像分析系统进行观察并拍摄图像,用 Quantity 图像分析软件分析,以 GAPDH 作为内参照,计算各目的条带与其比值,作为各蛋白的相对表达量。

1.2.4 检测术后脑水肿程度 每例手术患者术后第 1、3、5 天分别复查 CT,选取手术部位附近层面周围半径 2 cm 区域,分别在 3、6、9、12 点方向各取一点测 CT 值,取各点 CT 值的平均值作为脑水肿程度的判定标准,CT 值越低,脑水肿程度越重。

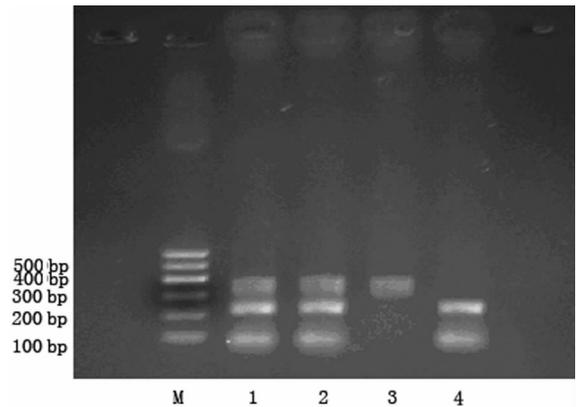
1.3 统计学处理 数据分析采用 SPSS18.0 统计软件进行统计分析,数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者一般情况比较 45 例高血压脑出血患者和 45

例癫痫患者均接受手术治疗,成功获取血浆标本和损伤脑组织标本,观察组有 3 例患者于术后 24 h 内放弃治疗出院,未获得术后脑水肿系数和 CT 结果;有 3 例患者于术后 48 h 内再次出血重新手术退出实验,有 3 例患者于术后 48 h 内放弃治疗出院,未获得术后 3、5 d CT 结果,对照组 45 例患者均获得 CT 结果。

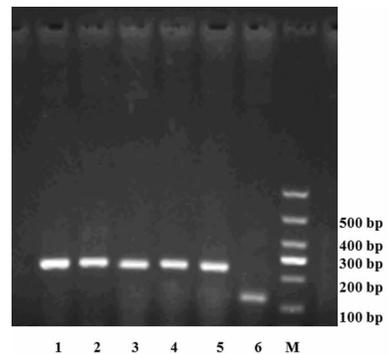
2.2 两组患者基因型及等位基因频率 观察组 AA 基因型 36 例,AC 基因型 9 例,无 CC 纯合子基因型,A 等位基因频率 90.0%,C 等位基因频率 10.0%。对照组 AA 基因型 33 例,AC 基因型 10 例,CC 基因型 2 例,A 等位基因频率 84.4%,C 等位基因频率 15.6%。Hardy-Weinberg 遗传平衡定律检验, $P = 0.301$,符合遗传平衡定律,由于 CC 基因型样本量少,且与 AC 基因型具有相似的生理作用,为便于统计,将 CC 基因并入 AC 基因型中共同统计。见图 1。



M:PCR 标记物;1,2:AC 基因型;3:AA 基因型;4:CC 基因型。

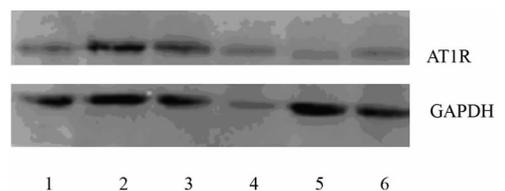
图 1 AT1R 基因扩增产物酶切后 A1166C 多态性电泳图谱

2.3 两组患者脑组织中 AT1R mRNA 水平比较 观察组和对照组的 AC/CC 基因型 AT1R mRNA 水平同 AA 基因型比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1、图 2。



M:PCR 标记物;1:观察组 AC 基因型;2:观察组 AA 基因型;3:对照组 AC 基因型;4:对照组 AA 基因型;5:对照组 CC 基因型;6:β-actin。

图 2 AT1R mRNA 扩增产物电泳图谱



1:对照组 CC 基因型;2,3:试验组 AC 基因型;4:试验组 AA 基因型;5:对照组 AA 基因型;6:对照组 AC 基因型。

图 3 AT1R 蛋白定量检测

2.4 两组患者脑组织中 AT1R 蛋白水平比较 观察组 AC 基因型 AT1R 蛋白水平均值同 AA 基因型比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), AC 基因型 AT1R 蛋白水平在脑组织中的表达明显高于 AA 基因型。对照组 AC/CC 基因型 AT1R 蛋白水平同 AA 基因型比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1、图 3。

2.5 患者术后脑水肿系数及 CT 值结果 观察组的 AC 基因型在术后第 1、3、5 天 CT 值均低于 AA 基因型患者 ($P < 0.05$)。对照组各基因型患者的脑水肿系数和 CT 值在各时段

无明显差异 ($P > 0.05$)。见表 2。

表 1 两组患者脑组织中 AT1R mRNA 和蛋白水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	AT1R mRNA		AT1R 蛋白	
	AA	AC/CC	AA	AC/CC
观察组	1.130 ± 0.110	1.150 ± 0.100	0.825 ± 0.027	0.851 ± 0.255 ^a
对照组	1.070 ± 0.080	1.040 ± 0.080	0.807 ± 0.007	0.811 ± 0.007

^a: $P < 0.05$, 与同组 AA 比较。

表 2 两组患者术后术区 CT 值比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	术后第 1 天		术后第 3 天		术后第 5 天	
	AA	AC/CC	AA	AC/CC	AA	AC/CC
观察组	22.94 ± 1.37	21.73 ± 0.82 ^a	19.64 ± 1.24	18.37 ± 0.96 ^a	18.11 ± 1.15	17.00 ± 0.87 ^a
对照组	24.01 ± 1.07	24.00 ± 1.16	19.30 ± 0.85	19.50 ± 0.95	18.03 ± 1.07	18.54 ± 1.23

^a: $P < 0.05$, 与同组 AA 比较。

3 讨 论

AT1R 基因多态性对疾病的影响包括原发性高血压、心肌梗死、左心室肥厚、先兆子痫等血管相关性疾病, 同时也影响代谢特征, C 等位基因携带者患糖尿病风险明显增高。有文献报道 AT1R 的不同基因型的三酰甘油和胆固醇的水平有明显差异性。AT1R 对血管相关性疾病的影响主要有两个方面: (1) AT1R 激动后, 也可激活酪氨酸激酶, 此酶与血管生长分化相关蛋白有关; 它还激活丝裂霉素激酶的蛋白激酶, 与血管生长分化有关, 这种机制已被证明是增加内膜中层厚度和动脉僵硬度的主要原因^[3], 而这种效应在 C 等位基因携带者中表现更为活跃^[6]。(2) AT1R 还参与了脑血流的调节, 已有报道在 AT1R 基因中, C 等位基因携带者 Ang II 水平较高, 这很可能是由于 Ang II 受体激活并导致内皮细胞介导的血管舒张功能下降^[11-12]。国外已有研究证实脑组织中 AT1R 来源于神经胶质细胞和神经元细胞^[13], 而不是靠外周循环中摄取获得。因此, AT1R 基因多态性对脑组织中 AT1R 生理作用具有同外周循环中同样的影响, 而不是取决于血脑屏障对该蛋白分子的通透性。国外最近的研究发现, 大鼠的脑组织中, 在颅脑损伤后 4 h 就可以发现 AT1R 的明显上调, 而通过对实验组使用小剂量的坎地沙坦后, 脑水肿程度、炎症反应和预后均明显好于对照组^[14]。分析其原因, 可能是因为通过抑制 AT1R 后诱使脑组织内 AT1R 介导的细胞凋亡反应向 AT2R 介导的神经再生和分化反应转化。而本课题组在同期已做相类似的研究^[15], 在自发性脑出血模型大鼠中使用 AT1R 拮抗剂抑制 AT1R 的表达后, 对神经功能障碍有明显的改善作用, 同时减轻了脑水肿程度。高血压脑出血对脑组织的损伤机制同颅脑创伤类似。而由于高血压对脑动脉壁和脑血流量的影响更重, AT1R 基因多态性产生差异的可能性更大。

在本研究结果中, 发病至就医时间为 1~10 h, 平均 3.5 h, 对人脑组织出血后脑组织中 AT1R 上调的时间目前尚无准确数值参考, 根据动物模型证实的时间为 4 h^[14]。因此, 在本研究中的标本采集时间与动物模型较接近, 换言之, 标本采集时脑组织中 AT1R 应该已出现上调。由于伦理学限制无法采集健康人群的脑组织, 脑组织中 AT1R 表达上调与肿瘤、炎症、血管性疾病相关, 与癫痫局灶发作没有相关性。因此, 在本研究将癫痫患者切除的颞叶组织作为正常脑组织对照组, 对照组患者行 H-W 检验, $P > 0.05$, 符合遗传学平衡定律。从检测结果分析, 观察组患者中 AT1R mRNA 在 AA 基因型中表达略低 AC/CC 基因型, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 而在蛋

白层面的表达, C 基因携带者的 AT1R 水平明显增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 这是由于 A1166C 位于 AT1R 的 3' 侧翼区 5' 端, 属非编码区, 并不影响 mRNA 的剪接和加工, 因此该位点不对 mRNA 的水平发生影响, 但它可能调控 mRNA 转录或翻译过程, 因而影响了 AT1R 的蛋白水平表达和生理作用^[16]。在颅脑 CT 结果中, 观察组两种基因型在术后第 1、3、5 天 3 个时间段, AC 基因型患者脑水肿系数比 AA 基因型更高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。由此可以推断, 由于 AT1R 基因的多态性, 导致高血压脑出血后 AT1R 蛋白水平表达的差异, 造成血管炎症反应的程度不同, 进一步影响脑出血后脑水肿的程度不同, C 等位基因携带者由于 AT1R 蛋白水平更高, 脑水肿更重。而在对照组中, 两种基因型患者的 AT1R mRNA 和蛋白表达, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 虽然术后同样出现脑水肿, 但脑水肿程度也差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 说明 AT1R 基因多态性对 AT1R 表达的影响发生在脑出血后, 而在正常脑组织中各基因型的 AT1R 表达无差异。当然, 脑水肿的影响因素很多, 并非是由 AT1R 这单一因素决定的, 但从本研究结果显示, AT1R 是影响脑水肿的一个重要因素。

综上所述, AT1R 基因多态性对高血压脑出血患者存在明显不同的影响, 由于不影响 mRNA 的剪接和加工, 所以不对 mRNA 的水平发生影响, 但它可能调控 mRNA 转录或翻译过程, 使 C 等位基因携带者脑组织中 AT1R 蛋白水平明显增高, 而后期脑水肿的程度更重。目前, 对于高血压性脑出血的预后评估, 基因遗传因素没有引起足够的重视, 通过本课题的研究, 对于高血压性脑出血的预后, 特别是脑水肿和继发性神经功能损伤的预判和基因治疗提供了一个新的思路。

参考文献:

- [1] Ingelfinger JR. Angiotensin-converting enzyme 2: implications for blood pressure and kidney disease[J]. Curr Opin Nephrol Hypertens, 2009, 18(1): 79-84.
- [2] Bonnardeaux A, Davies E, Jeunmaire X, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene polymorphisms in human essential hypertension[J]. Hypertension, 1994, 24(1): 63-69.
- [3] Zhu S, Meng QH. Association of angiotensin II type receptor gene polymorphism with carotid atherosclerosis [J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44(3): 282-284.
- [4] Saavedra JM, Nishimura Y. Angiotensin and cerebral blood

flow[J]. *Cell Mol Neurobiol*, 1999, 19(5):553-573.

- [5] Ozkaya O, Söylemezoğlu O, Gönen S, et al. Renin-angiotensin system gene polymorphisms; association with susceptibility to Henoch-Schonlein purpura and renal involvement[J]. *Clin Rheumatol*, 2006, 25(6):861-865.
- [6] Abdollahi MR, Gaunt TR, Syddall HE, et al. Angiotensin II type I receptor gene polymorphism: anthropometric and metabolic syndrome traits[J]. *Med Genet*, 2005, 42(5):396-401.
- [7] Yamani MH, Cook DJ, Tuzcu EM, et al. Systemic up-regulation of angiotensin II type I receptor in cardiac donors with spontaneous intracerebral hemorrhage [J]. *Am J Transplant*, 2004, 4(7):1097-1102.
- [8] Sinn DI, Lee ST, Chu K, et al. Combined neuroprotective effects of celecoxib and memantine in experimental intracerebral hemorrhage[J]. *Neurosci Lett*, 2007, 41(3):238-242.
- [9] 纪艳, 强卫国. 缬沙坦对巨噬细胞增殖、炎症因子表达及活性氧生成的抑制作用[J]. *上海交通大学学报:医学版*, 2010, 30(3):292-295.
- [10] Tsai CY, Chan JY, Hsu KS, et al. Brain-derived neurotrophic factor ameliorates brain stem cardiovascular dysregulation during experimental temporal lobe status epilepticus[J]. *PLoS One*, 2012, 7(3):e33527.
- [11] Wang JL, Xue L, Hao PP, et al. Angiotensin II type 1 receptor gene A1166C polymorphism and essential hyper-

tension in Chinese; a meta-analysis[J]. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2010, 6(11):127-135.

- [12] Mollsten A, Stegmayr B, Wiklund PG. Genetic polymorphisms in the renin-angiotensin system confer increased risk of stroke independently of blood pressure; a nested case-control study [J]. *Hypertens*, 2008, 26(7):1367-1372.
- [13] Healey JS, Morillo CA, Connolly SJ. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system in atrial fibrillation and cardiac remodeling[J]. *Curr Opin Cardiol*, 2005, 20(1):31-37.
- [14] Timaru-Kast R, Wyschkon S, Luh C, et al. Delayed inhibition of angiotensin II receptor type 1 reduces secondary brain damage and improves functional recovery after experimental brain trauma[J]. *Crit Care Med*, 2012, 40(3):935-944.
- [15] 周昌龙, 孙晓川, 贺学农. 血管紧张素 II-1 型受体拮抗剂影响自发性脑出血大鼠脑组织中 VEGF 浓度表达的相关研究[J]. *中国临床神经外科杂志*, 2012, 17(10):627-629.
- [16] Devi N, Lakshmi V, Padhy K. Association of ACE, AGT and AT1R gene polymorphisms with severity of coronary artery disease[J]. *J Dent Med Sci*, 2012, 2(4):11-18.

(收稿日期:2014-02-28 修回日期:2014-04-27)

(上接第 2690 页)

参考文献:

- [1] 赵高阳. 儿童系统性红斑狼疮外周血淋巴细胞亚群变化的临床意义[J]. *中国中西医结合儿科学*, 2011, 3(2):179-180.
- [2] Schaerli P, Willmann K, Lang AB, et al. CXC chemokine receptor 5 expression defines follicular homing T cells with B cell helper function[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(11):1553-1562.
- [3] Breitfeld D, Ohl L, Kremmer E, et al. Follicular B helper T cells express CXC chemokine receptor 5, Localize to B cell follicles, and support immunoglobulin production[J]. *J Exp Med*, 2000, 192(11):1545-1551.
- [4] 金伯泉. T-B 细胞协作研究的重大突破——滤泡辅助性 T 细胞的发现, 一个新的 CD4⁺ 效应 T 细胞亚群[J]. *细胞与分子免疫学杂志*, 2009, 25(1):1-5.
- [5] Hochberg MC. Updating the American College of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. *Arthritis Rheum*, 1997, 40(9):1725.
- [6] Fazilleau N, Mark L, McHeyzer-Williams LJ, et al. Follicular helper T cells: lineage and location [J]. *Immunity*, 2009, 30(3):324-335.
- [7] Luzina IG, Atamas SP, Storrer CE, et al. Spontaneous formation of germinal centers in autoimmune mice[J]. *J Leukoc Biol*, 2001, 70(4):578-584.
- [8] Grammer AC, Slota R, Fisher R, et al. Abnormal germinal center reactions in systemic lupus erythematosus demonstrated by blockade of CD154-CD40 interactions[J]. *J Clin*

Invest, 2003, 112(10):1506-1520.

- [9] Kim CH, Rott LS, Clark LI, et al. Subspecialization of CXCR5⁺ T cells; B helper activity is focused in a germinal center localized subset of CXCR5⁺ T cells[J]. *J Exp Med*, 2001, 193(12):1373-1381.
- [10] 冯俊燕. 滤泡辅助性 T 细胞 (Tfh) 的研究进展[J]. *中国免疫学杂志*, 2010, 26(8):754-757.
- [11] Bryant VL, Ma CS, Avery DT, et al. Cytokine mediated regulation of human B cell differentiation into Ig-secreting cells; predominant role of IL-21 produced by CXCR5⁺ T follicular helper cells [J]. *J Immunol*, 2007, 179(12):8180-8190.
- [12] Terrier B, Costedoat-Chalumeau N, Garrido M, et al. IL-21 Interleukin 21 correlates with T cell and B cell subset alterations in systemic lupus erythematosus[J]. *J Rheumatol*, 2012, 39(9):1819-1828.
- [13] Pene J, Gauchat JF, Lecart S, et al. Cutting edge; IL-21 is a switch factor for the production of IgG1 and IgG3 by human B cells[J]. *J Immunol*, 2004, 172(9):5154-5157.
- [14] Hodge LS, Ziesmer SC, Yang ZZ, et al. IL-21 in the bone marrow microenvironment contributes to IgM secretion and proliferation of malignant cells in Waldenstrom macroglobulinemia[J]. *Blood*, 2012, 120(18):3774-3782.
- [15] Terrier B, Costedoat-Chalumeau N, Garrido M, et al. Interleukin 21 correlates with T cell and B cell subset alterations in systemic lupus erythematosus[J]. *J Rheumatol*, 2012, 39(9):1819-1828.

(收稿日期:2014-01-28 修回日期:2014-03-21)