

基因芯片技术分析系统性红斑狼疮患者外周血白细胞基因表达谱的初步研究

吴元胜, 范瑞强, 陈达灿, 禩国维(广州中医药大学第二附属医院皮肤科, 广东 广州 510120)

摘要:目的 比较系统性红斑狼疮(SLE)患者与正常对照外周血白细胞的基因表达谱的改变, 筛选 SLE 差异表达基因。方法 采集静脉血 5 ml 提取总 RNA 后, 反转录合成、标记 cDNA 探针, 与基因芯片杂交后检测。结果 9 例患者与正常人对照均有相似差异表达的基因共 89 个, 涉及细胞因子及受体相关基因、免疫相关基因、细胞信号和传递蛋白、蛋白翻译合成、离子通道和运输蛋白、凋亡相关基因、DNA 和 RNA 结合、转录蛋白、细胞的外基质成分等。聚类分析结果显示在不同病人间尽管存在个体差异性, 但是在其基因表达变化模式上仍然具有极大的相似性。结论 基因芯片技术筛选出的差异表达基因可能为进一步研究 SLE 的发生和发展以及寻找分子诊断标志和药物治疗靶标提供线索。

关键词: 系统性红斑狼疮; 基因芯片; 白细胞; 干扰素; 蛋白质合成

中图分类号: Q78; R593.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-2588(2005)08-0929-06

Gene expression profiling of peripheral leukocytes from patients with systemic lupus erythematosus using oligonucleotide DNA microarray

WU Yuan-sheng, FAN Rui-qiang, CHEN Da-can, XUAN Guo-wei

Department of Dermatology, Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Traditional Chinese Medicine, Guangzhou 510120, China

Abstract: Objective To identify the differentially expressed genes in systemic lupus erythematosus (SLE) by comparing the gene expression profiles of peripheral leukocytes between SLE patients and healthy controls. **Methods** The total RNA was extracted from 5 ml peripheral blood of normal subjects and SLE patients, and reversely transcribed in cDNA templates to synthesize cDNA probes labeled for hybridization with the microarray. **Results** Totally 89 over- or under-expressed genes were identified in 9 SLE patients as compared with the controls. These genes included genes associated with cytokines and their receptors, immunity, cell signal transduction, protein transcription and synthesis, ion channel and transporters, cell apoptosis, DNA and RNA processing, and extracellular matrix etc. Clustering analysis showed that in spite of the individual diversity of the SLE patients, their gene expression profiles were strikingly similar. **Conclusion** The differentially expressed genes screened with oligonucleotide DNA microarray technique may provide clues for exploring the pathogenesis and progression of SLE, and for identification of potential molecular markers for diagnosis and development of therapeutic drugs.

Key words: systemic lupus erythematosus; microarray; gene expression; interferon; protein composition

系统性红斑狼疮(SLE)作为一种典型的自身免疫性疾病,其病因、发病机制非常复杂,多基因复杂性状的差异表达在 SLE 的发生、发展过程中起着重要的作用。在基因组水平上研究 SLE 产生的机制,有可能提供认识 SLE 发病机制的新视角与思路。为此,我们利用高通量、平行检测的基因芯片技术(complementary DNA microarray analysis)对 9 例 SLE 患者与正常人外周血白细胞基因表达谱差异进行了初步的分析。

1 对象和方法

1.1 研究对象

9 例 SLE 患者来源于本院皮肤科病房及门诊,男 1 例,女 8 例,平均年龄(36.45±2.52)岁,均符合 1997 年美国风湿病学会修订的诊断标准。健康对照组 6 例,男 2 例,女 4 例,平均年龄(30.17±3.08)岁。患者与健康者无血缘关系。每例采集静脉血 5 ml,肝素抗凝备用。

1.2 实验方法

1.2.1 基因芯片与探针的制备 血标本用红细胞裂解液去除红细胞,分别提取总 RNA,作基因芯片检测。其中正常人组 6 例提取总 RNA 等量混均作对照。白细胞总 RNA 的提取和测定按照 TRIzol Reagent(Life 技术公司)的步骤,并通过 1%琼脂糖电泳检验质量。以带有 T₇ 启动子序列的 cDNA 为模板(通过反转录

收稿日期:2005-04-23

基金项目:国家自然科学基金(30472218)

Supported by National Natural Science Foundation of China (30472218)

作者简介:吴元胜(1970-),男,主治医师,临床医学博士,主要从事中西医结合皮肤性病学研究

反应在 cDNA 上加上 T7 启动子序列)合成 RNA、用 Cy3-dUTP 逆转录标记对照组 cDNA, Cy5-dUTP 分别逆转录标记 SLE 患者的 cDNA。乙醇沉淀后 Cy3-dUTP 和 Cy5-dUTP 标记的探针混合溶解在 20 μ l 5 \times SSC+0.2%SDS 杂交液中。采用深圳微芯公司 CSC-GE-80 人基因表达谱芯片,点阵共 8064 点(共设 384 点空白对照、阴性对照、管家基因对照),包括 7488 个克隆片段,其中 7458 个为表达基因片段,长度在 500 个碱基对以上(平均长度为 1.4 kb);其他 30 个为空白载体片段。

1.2.2 基因芯片杂交及检测 基因表达谱芯片杂交和洗涤过程由芯片自动杂交仪 (Amersham Pharmacia Biotech 公司制造的 ASP)完成。将芯片和杂交探针分别在 90 $^{\circ}$ C 水溶液中变性 5 min,将探针加在基因芯片上,用盖玻片封片,置于 60 $^{\circ}$ C 杂交 17 h。揭开盖玻片,分别用 2 \times SSC+0.2%SDS, 0.1 \times SSC+0.2%SDS, 0.1 \times SSC 洗涤 10 min,室温凉干。玻片完全干燥后,放入扫描片夹中,利用激光共聚焦扫描仪 (Generation III array scanner, Amersham Pharmacia)进行扫描;扫描后将图像转化为基于荧光强度的数字信号(Imagequant 5.0; Array Vision 6.0),随后进行数据分析和处理。根据管家基因的比值(ratio 值)(cy5/cy3),算出所有管家基因的平均比率值 R;以 ratio 值在 33%R~300%R 之间的管家基因作为均一化依据,算出这些管家基因 cy3 值和 cy5 的总和 Σ cy3、 Σ cy5。计算 $AR = \Sigma$ cy3/ Σ cy5。将所有数据项的 cy3 标记强度乘上 AR,得出调整后的 cy3*, 算出所有基因的 ratio 值 (cy5/cy3*)。筛选出比率大于 2 或小于 0.5 的数据项,弃去 cy5、cy3* 值皆小于 800 的数据项, Cy3 和 Cy5 信号比值之自然对数的绝对值 >0.69 (基因的变化在 2 倍以上),进行表达差异和聚类分析。

2 结果

2.1 基因芯片的质量监测

杂交后芯片的扫描结果(图 1)符合标准,信号强度高,背景均一。图中黄色表示未表达的基因,红色表示表达下调,绿色表示表达上调。目前一般采用对芯片上每个基因点的 Cy3/Cy5 杂交信号的相关性判定芯片的质量,相关系数应保持在 0.9 左右,我们的实验结果符合这一标准。芯片上设定了一系列内参和外参标准基因以及阳性和阴性对照,每一个对照基因在芯片上都有 12 次的重复点样,可用于对芯片结果的可重复性的检验。阴性和阳性对照用于对芯片杂交条件(非特异性杂交信号的强度)进行评估。内参标准(看家基因)用于对实验结果的可靠性进行监控(包括结果的稳定性和可重复性)。外参标准(酵母基因)则

与探针标记过程中外加的相应基因配合用于监控探针标记以及随后的芯片杂交过程,其中又可分为剂量梯度标准(用于综合判断芯片的可靠性信号强度范围和实验体系的敏感度)和比值变化标准(用于评价芯片结果的稳定性和可靠性以及数据的校正)。所有 9 张芯片,内参照标准和外参照标准保持了极好的相关性或重复性,可以进行进一步的数据分析。

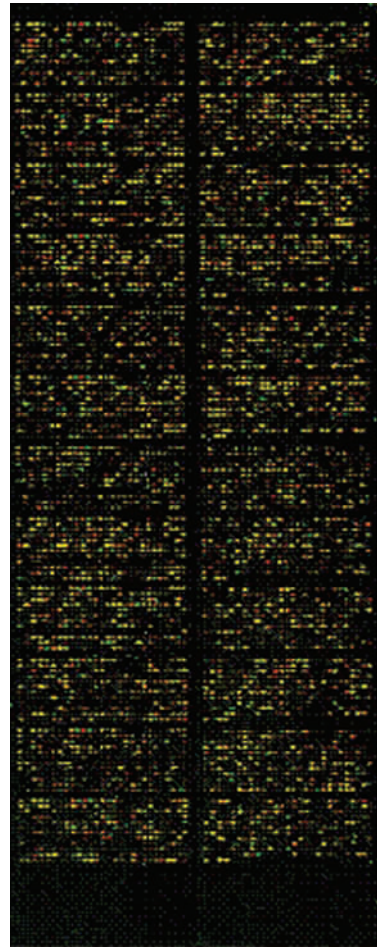


图 1 基因芯片反应伪彩图

Fig.1 Pseudo-color image of DNA microarray reaction

2.2 SLE 患者与正常人外周血基因表达差异初步结果

本试验发现 3 张以上的芯片结果中有相似性差异表达的基因至少达 198 个,任意 6 张中均有相似性差异表达的基因至少有 123 个,涉及细胞因子及受体相关基因、免疫相关基因、细胞信号和传递蛋白、蛋白翻译合成、离子通道和运输蛋白、凋亡相关基因、DNA 和 RNA 结合、转录蛋白、细胞的外基质成份等种类。考虑到个体间的差异性,我们筛选了 9 个病理样品中均有基因表达发生了显著性变化的基因数据,结果 89 个基因存在相似的变化模式,其中上调表达的 45 个,下调表达的 44 个,见表 1、表 2。同时也观察

到一些基因的表达变化在不同芯片间存在明显的差异性,其原因可能来源于个体间的差异性 or 疾病表型的差异性。由于与疾病密切相关的共同性基因表达仍然会在不同芯片中表现出来,所以可以通过综合比较排除个体间差异性的影响从而得到那些具有共性的信息。考虑到 SLE 属于多因素影响的自身免疫性疾病,其多样性不仅体现在致病原因的多样化,也体现在病理表现的多样化,我们对所有 9 张芯片结果中的

有效数据进行了双向聚类分析,各个基因列于聚类图的右侧,表达模式的相似性聚类见图的上方,同样的颜色带表示各芯片间近似的表达变化,不同的颜色则提示各芯片间差异性的基因表达变化(图 2)。共挑选了约 2400 个信号强度大于 5×10^8 的基因数据进行了最小方差法(Ward's)分析,如果将芯片数据与病例的临床数据结合起来分析就有可能找到一些与疾病进程相关的基因变化(相关研究结果将另文报道)。

表 1 9 例 SLE 患者外周血中表达上调的基因(Ratio>2)

Tab.1 Over-expressed genes in the peripheral leukocytes of 9 SLE patients (ratio>2)

| Genes | Average expression ratio | Notes |
|----------|--------------------------|---|
| DEFA1 | 27.12 | Defensin, alpha 1, myeloid-related sequence |
| HBBP1 | 19.41 | Hemoglobin, beta pseudogene 1 |
| CYB5-M | 15.96 | Cytochrome b5 outer mitochondrial membrane precursor |
| HBA2 | 12.05 | Hemoglobin, alpha 2 |
| GS3686 | 9.11 | Hypothetical protein, expressed in osteoblast |
| LOC51312 | 8.95 | Mitochondrial solute carrier |
| LY6E | 8.55 | Lymphocyte antigen 6 complex, locus E |
| PRKACG | 8.47 | γ protein kinase, cAMP-dependent, catalytic, gamma |
| ISG15 | 7.85 | Interferon-stimulated protein, 15 kDa |
| EGR1 | 7.69 | Early growth response 1 |
| HBZ | 7.67 | Hemoglobin, zeta |
| IFIT1 | 7.58 | Interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 1 |
| MX1 | 7.46 | Myxovirus (influenza) resistance 1, homolog of murine (interferon-inducible protein p78) |
| G1P3 | 6.36 | Interferon, alpha-inducible protein (clone IFI-6-16) |
| SMARCD2 | 5.84 | SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily d, member 2 |
| HBB | 5.61 | β hemoglobin, beta |
| LCN2 | 4.56 | Lipocalin 2 (oncogene 24p3) |
| IGKC | 4.54 | Immunoglobulin kappa constant |
| S100A9 | 3.74 | S100 calcium-binding protein A9 (calgranulin B) |
| HBE1 | 3.56 | Hemoglobin, epsilon 1 |
| OAS2 | 3.52 | 2'-5'oligoadenylate synthetase 2 |
| IFITM3 | 3.43 | 3(1-8U)interferon induced transmembrane protein 3 (1-8U) |
| ECGF1 | 3.28 | Endothelial cell growth factor 1 (platelet-derived) |
| IFITM2 | 3.24 | Interferon induced transmembrane protein 2 (1-8D) |
| AHR | 3.15 | Aryl hydrocarbon receptor |
| MAD | 2.85 | MAX dimerization protein |
| APPBP1 | 2.74 | Amyloid beta precursor protein-binding protein 1, 59 kD |
| S100A8 | 2.65 | S100 calcium-binding protein A8 (calgranulin A) |
| RODH | 2.60 | Oxidative 3 alpha hydroxysteroid dehydrogenase; retinol dehydrogenase; 3-hydroxysteroid epimerase |
| NRGN | 2.49 | Neurogranin (protein kinase C substrate, RC3) |
| FOXO3A | 2.48 | Forkhead box O3A |
| ATP6D | 2.43 | ATPase, H+ transporting, lysosomal (vacuolar proton pump), member D |
| CD37 | 2.43 | CD37 antigen |
| ZNF143 | 2.41 | Zinc finger protein 143 (clone pHZ-1) |
| GPX1 | 2.24 | Glutathione peroxidase 1 |
| ARHG | 2.22 | Ras homolog gene family, member G (rho G) |
| IL1RN | 2.22 | Interleukin 1 receptor antagonist |
| DXS1357E | 2.21 | BAP31/BAP29 accessory proteins BAP31/BAP29 |
| S100A11 | 2.20 | S100 calcium-binding protein A11 (calgizzarin) |
| MMP9 | 2.20 | Matrix metalloproteinase 9 (gelatinase B, 92 kD gelatinase, 92 kD type IV collagenase) |
| LTF | 2.19 | Lactotransferrin |
| RNAHP | 2.18 | RNA helicase-related protein |
| RIG-I | 2.15 | RNA helicase |
| PFC | 2.13 | Properdin P factor, complement |
| CEACAM1 | 2.12 | Cancer embryo antigen molecular 1 |

表 2 9 例 SLE 患者外周血中表达下调的基因 (Ratio<0.5)

Tab.2 Under-expressed genes in the peripheral leukocytes of 9 SLE patients (ratio<0.5)

| Genes | Average expression ratio | Notes |
|----------|--------------------------|---|
| TRD@ | -4.07 | δ locus T cell receptor delta locus |
| RPL9 | -4.04 | Ribosomal protein L9 |
| EDG1 | -3.82 | Endothelial differentiation, sphingolipid G-protein-coupled receptor, 1 |
| RPS8 | -3.56 | Ribosomal protein S8 |
| RPL5 | -3.53 | Ribosomal protein L5 |
| RPS27A | -3.46 | Ribosomal protein S27a |
| RPL11 | -3.45 | Ribosomal protein L11 |
| NACA | -3.42 | Nascent-polypeptide-associated complex alpha polypeptide |
| TRIP7 | -3.39 | Thyroid hormone receptor interactor 7 |
| ITGA6 | -3.34 | Integrin, alpha 6 |
| KIAA0699 | -3.33 | KIAA0699 protein |
| RPL23 | -3.31 | Ribosomal protein L23 |
| TRIP3 | -3.29 | Thyroid hormone receptor interactor 3 |
| RPL7A | -3.29 | Ribosomal protein L7a |
| GZMK | -3.26 | Granzyme K (serine protease, granzyme 3; tryptase II) |
| LOC54543 | -3.25 | 6.2 kD protein |
| CDKN1B | -3.23 | Cyclin-dependent kinase inhibitor 1B (p27, Kip1) |
| RPS23 | -3.11 | Ribosomal protein S23 |
| UQCRB | -3.05 | Ubiquinol-cytochrome C reductase binding protein |
| CDC5L | -2.98 | (cell division cycle 5, <i>S. pombe</i> , homolog)-like |
| TPT1 | -2.97 | Tumor protein, translationally-controlled 1 |
| RPS20 | -2.97 | Ribosomal protein S20 |
| TADA3L | -2.96 | Transcriptional adaptor 3 (ADA3, yeast homolog)-like (PCAF histone acetylase complex) |
| ATP5F1 | -2.96 | ATP synthase, H ⁺ transporting, mitochondrial F0 complex, subunit b, isoform 1 |
| RNF6 | -2.91 | Ring finger protein (C3H2C3 type) 6 |
| NDUFB5 | -2.85 | NADH dehydrogenase (ubiquinone) 1 beta subcomplex, 5 (16 kD, SGD) |
| UBQLN2 | -2.79 | Ubiquilin 2 |
| LOC51765 | -2.70 | Serine/threonine protein kinase MASK |
| RPL36A | -2.67 | Ribosomal protein L23 |
| RPS7 | -2.63 | Ribosomal protein S7 |
| FUBP3 | -2.58 | Far upstream element (FUSE) binding protein 3 |
| SERPINB6 | -2.57 | Serine (or cysteine) proteinase inhibitor, clade B (ovalbumin), member 6 |
| RPS21 | -2.55 | S21 Ribosomal protein S21 |
| LOC51119 | -2.55 | CGI-97 protein |
| SMARCE1 | -2.53 | SWI/SNF related, matrix associated, actin dependent regulator of chromatin, subfamily e, member 1 |
| RPL6 | -2.53 | Ribosomal protein L6 |
| PRKCH | -2.53 | Protein kinase C, <i>eta</i> |
| AMY | -2.52 | Neuroblastoma (nerve tissue) protein |
| TOP2B | -2.43 | Topoisomerase (DNA) II beta (180 kD) |
| POLR2B | -2.35 | Polymerase (RNA) II (DNA directed) polypeptide B (140 kD) |
| TRG@ | -2.33 | T cell receptor gamma locus |
| NIFU | -2.27 | Nitrogen fixation cluster-like |
| TASR2 | -2.25 | TLS-associated serine-arginine protein 2 |
| NCL | -2.19 | Nucleolin |

3 讨论

基因的功能并不是独立的,基因间的复杂联系和相互作用组成了一种纵横交错立体的网络。SLE 作为一种典型的多基因相关性疾病,若只是孤立的分析某个基因的功能已经难以适应研究的需要,基因芯片技术是分子生物学的前沿技术,其高通量、高效率、低消耗的特点,使通过少量标本的分析,即可得到大量的相关基因表达信息,能较全面地反映出疾病的基因表

达变化。

较之于叶霜等采用 3360 点阵的研究报道^[1],我们采用共 8064 点阵的人全基因组表达谱芯片,实验获得的信息量非常大,根据对数据的初步筛选,发现了 9 张芯片实验结果中均有相似性差异表达的 89 个基因,通过链接美国国家生物技术中心(NCBI)数据库,初步分析基因功能,比较有意义的基因表达变化包括干扰素相关基因(IFIT1, MX1, G1P3, ISG15

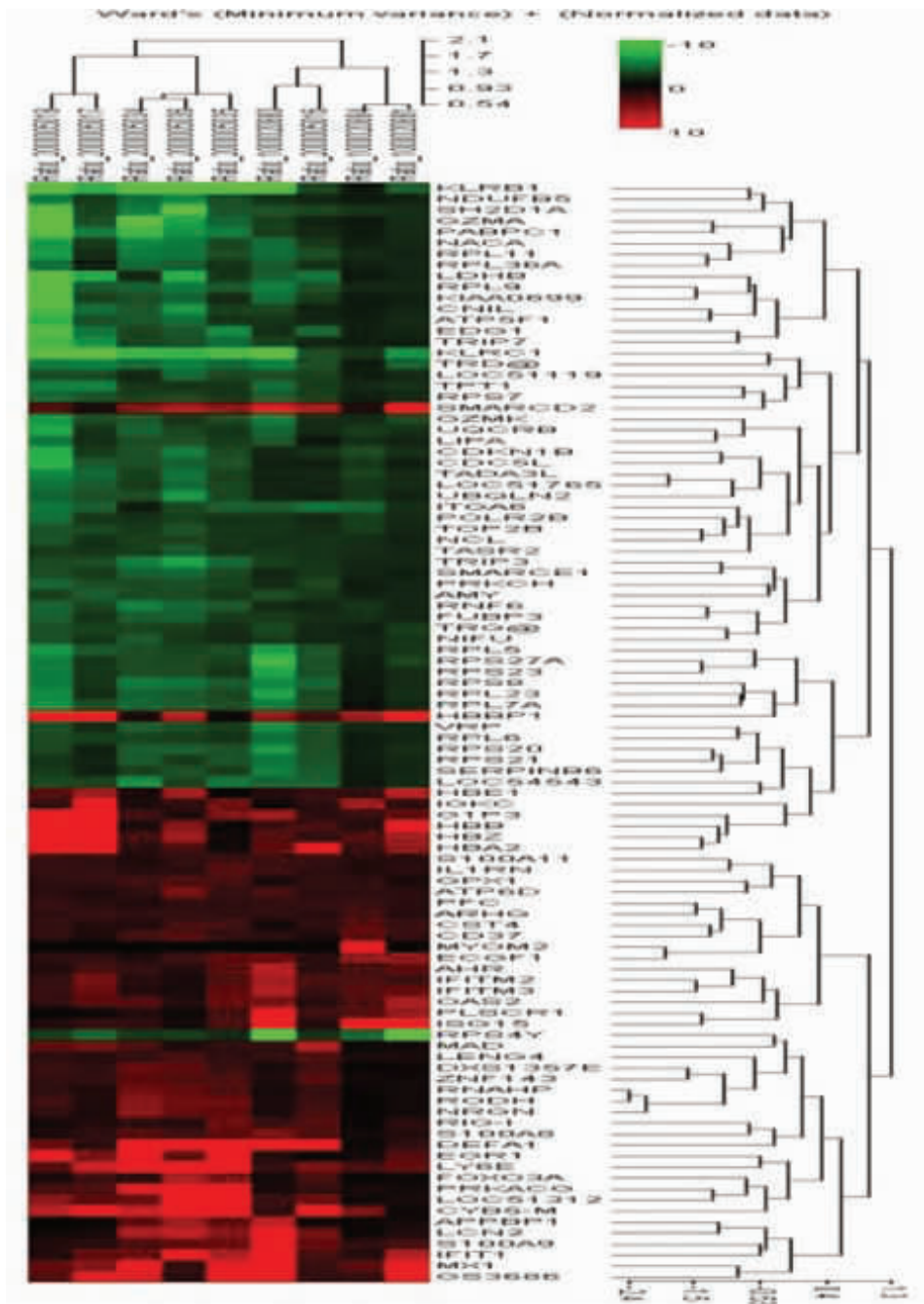


图 2 9 张芯片的聚类图

Fig.2 Chart of cluster analysis of 9 DNA microarrays

等),免疫细胞表面抗原(TRD,TRG,LY6E 等),免疫细胞应激活性相关基因(DEFA1,GZMA,GZMB 等),蛋白质合成系统基因(RPL,RPS 等)等。与国外文献报道^[2-4]SLE 干扰素相关基因(IFITM1,IFITM2,IFITM3,G1P3)表达上调相比,我们发现了更多的(IFITM1,IFITM2,IFITM3,IFITM30, MX1, IFI35, G1P3, ISG15, ISG20, IFI16, IRF7 等十多个)与干扰素作用相关的上调基因,其中多与 γ 干扰素的介导有关。有报道提及^[5]血清 γ 干扰素诱导的 T 细胞 α (I-TAC)趋化因子水平与 SLE 疾病活动呈正相关。 γ 干扰素可由巨噬细胞和 T 细胞产生,同时又能诱发巨噬细胞 HLA- II 类抗原的表达,引起自身抗原提呈

异常,并通过与其它细胞因子的相互作用参与自身免疫过程。本实验中发现的人类 1 号染色体上的干扰素诱导基因 16(IFI16)是抗核抗体(ANA)的特异性抗原基因,Seelig 等^[6]用 Northern blotting 法测定了 SLE 患者外周血细胞中其 mRNA 的表达,证明了 γ 干扰素的活性在 SLE 形成中的作用。干扰素是一个与免疫应答调控有关的复杂蛋白家族,我们推测 SLE 的发病机制中干扰素相关的调控通路可能发挥一定作用,我们发现的这十多个干扰素作用相关基因上调的表达模式,可能是因干扰素的活动而打开,反过来,若能阻断 SLE 患者的 IFN 通路将可能对 SLE 的治疗产生积极的影响。文献报道^[7-9]各种细胞表面抗原

(LY6E, LY117 等) 以及细胞因子及其受体相关基因表达上调(IL-1 及其受体, IL-10, IL-18 及其受体等); 原癌基因 C-myc 与 SLE 的发病及临床表现有关, C-myc 表达程度越高, 患者的临床表现如关节炎、肾损害等也越多, 凋亡基因 Bcl-2 表达量也增加^[10]等, 这些目前已知的基因表达模式在我们的实验结果中都有体现。与以往报道不同的是我们在芯片实验结果中发现了明显的蛋白质合成的变化, 有报道^[11-12]提及在 SLE 患者 T 细胞中蛋白质合成的调控紊乱, 而我们的结果中则系统地揭示了整个蛋白质合成系统的抑制, 多个涉及核糖体蛋白, 转运 RNA, 信号识别蛋白以及起始因子基因 (RPS23、RPS27A、RPS8、RPS14、RPS7 等) 表达下调, 目前还不清楚蛋白质合成障碍在系统性红斑狼疮中的具体病理意义, 但是我们的数据仍然提示了其显著地位。

芯片数据及双相聚类分析结果显示在不同病人间尽管存在个体差异性, 但是在其基因表达变化模式上仍然具有极大的相似性(如免疫细胞对于干扰素应答的增高, 免疫细胞蛋白质合成的抑制, 细胞凋亡的诱导增加等等), 这些共性变化的基因可能反映了这一疾病的最基础的病理机制, 同时个体间的差异性表达变化也反映了同一疾病在不同个体中表型与基因型的内在联系。(有关芯片结果与 SLE 病例临床数据的结合分析, 我们将另文报道。)

基因芯片技术仍存在诸多问题有待解决, 如目前常从 RNA 水平上来分析基因表达谱, 基因作为遗传信息的载体, 总要表达为相应的蛋白质才能影响生物的功能, 但很多基因的 mRNA 水平与蛋白水平并不一致, 显然结合双向凝胶电泳和质谱分析等蛋白质组学技术进行蛋白分离和鉴定研究更有意义; 由于设备昂贵和成本高, 许多研究的临床标本数较少, 标本选取的随机性不够, 加上所选择的芯片类型和质量的差异, 从而造成不同研究者得出的结论不尽相同; 用芯片技术得到的基因表达谱数据也有待用其他方法进行进一步验证等。但我们通过利用基因芯片技术对 SLE 外周血基因表达的研究, 获得了基因表达水平上全局性改变情况的大量信息, 本研究筛选出的差异表达基因从基因表达调控的整体水平来看, 可能只是部分与 SLE 相关的阳性结果, 参与 SLE 发病机制的一些上游启动基因很可能漏选, 而筛选出的差异表达基因也未必全部与 SLE 发病相关, 但仍可能为进一步研究 SLE 的发生和发展以及寻找分子诊断标志和药物治疗靶标提供线索, 研究结果有助于进一步加深对 SLE 作为多基因疾病的理解。由于基因芯片的信息量

很大, 相关数据的挖掘和分析仍在进行中, 并有待下一步继续研究和验证。

参考文献:

- [1] 叶霜, 沈南, 顾越英, 等. 系统性红斑狼疮的基因表达谱及其免疫调控通路的研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2002, 6(6): 411-6.
Ye S, Shen N, Gu YY, *et al.* Gene expression profile and its immune regulatory pathway of systemic lupus erythematosus [J]. Chin J Rheumatol, 2002, 6(6): 411-6.
- [2] Bennett L, Palucka AK, Arce E, *et al.* Interferon and granulopoiesis signatures in systemic lupus erythematosus blood [J]. J Exp Med, 2003, 197(6): 711-4.
- [3] Baechler EC, Batliwalla FM, Karypis G, *et al.* Interferon-inducible gene expression signature in peripheral blood cells of patients with severe lupus[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(5): 2610-5.
- [4] Rozzo SJ, Allard JD, Choubey D, *et al.* Evidence for an interferon-inducible gene, Ifi202, in the susceptibility to systemic lupus [J]. Immunity, 2001, 15(3): 435-43.
- [5] 刘伦飞, 郑敏, 王建有, 等. 系统性红斑狼疮患者血清 γ 干扰素诱导的 T 细胞 α 趋化因子检测[J]. 中华皮肤科杂志, 2003, 36(10): 4-7.
Liu LF, Zheng Min, Wang JY, *et al.* Serum level of interferon-inducible T cell alpha chemoattractant (I-TAC) in patients with systemic lupus erythematosus [J]. Chin J Dermatol, 2003, 36(10): 4-7.
- [6] Seelig HP, Ehrfeld H, Renz M. Interferon-gamma-inducible protein p16. A new target of antinuclear antibodies in patients with systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 1994, 37(11): 1672-6.
- [7] Han GM, Chen SL, Shen N, *et al.* Analysis of gene expression profiles in human systemic lupus erythematosus using oligonucleotide microarray [J]. Genes Immun, 2003, 4(3): 177-81.
- [8] Amerio P, Frezzolini A, Abeni D, *et al.* Increased IL-18 in patients with systemic lupus erythematosus: relations with Th-1, Th-2, pro-inflammatory cytokines and disease activity. IL-18 is a marker of disease activity but does not correlate with pro-inflammatory cytokines [J]. Clin Exp Rheumatol, 2002, 20(4): 535-42.
- [9] Rus V, Atamas SP, Shustova V, *et al.* Expression of cytokine- and chemokine-related genes in peripheral blood mononuclear cells from lupus patients by cDNA array [J]. Clin Immunol, 2002, 102(3): 283-9.
- [10] Graninger WB. Transcriptional overexpression of the proto-oncogene Bcl-2 in patients with systemic lupus erythematosus [J]. Wien Klin Wochenschr, 1992, 104: 205.
- [11] Grolleau A, Kaplan MJ, Hanash SM, *et al.* Impaired translational response and increased protein kinase PKR expression in T cells from lupus patients [J]. J Clin Invest, 2000, 106(12): 1561-9.
- [12] Khan IU, Laxminarayana D, Kammer GM. Protein kinase A RI beta subunit deficiency in lupus T lymphocytes: bypassing a block in RI beta translation reconstitutes protein kinase A activity and augments IL-2 production [J]. J Immunol, 2001, 166(12): 7600-5.