

文章编号: 1004-0374(2011)05-0440-05

Api6/AIM/Spα调节免疫和脂质代谢的生物学功能研究

方 严, 刘 丹, 练雪梅*

(重庆医科大学感染性疾病分子生物学教育部重点实验室脂质研究中心,
重庆医科大学公共卫生学院营养与食品卫生学教研室, 重庆 400016)

摘要: 凋亡抑制因子 6 (apoptosis inhibitor 6, Api6), 又称作 AIM/Spα, 是清道夫受体富含半胱氨酸残基超家族新成员。Api6/AIM/Spα 由巨噬细胞特异性表达, 具有抑制 CD4⁺/CD8⁺ 双阳性胸腺细胞、T 淋巴细胞、NKT 淋巴细胞和巨噬细胞凋亡的作用。作为模式识别受体, Api6/AIM/Spα 直接与病原体相关分子模式 LPS/LTA 结合, 在机体固有免疫和适应性免疫中发挥重要的作用。近年研究发现, Api6/AIM/Spα 可以通过抑制动脉粥样硬化斑块部位巨噬细胞凋亡加重动脉粥样硬化早期斑块的进展, 也可以通过抑制脂肪酸合成酶 (FAS) 的生物学活性提高脂肪细胞的脂解作用, 在肥胖的进展中发挥重要作用。重点综述了 Api6/AIM/Spα 调节免疫和脂质代谢等生物学功能的研究进展。

关键词: 凋亡抑制因子 6; 清道夫受体; 细胞凋亡; 肝 X 受体; 脂代谢

中图分类号: R962; R543; Q255 **文献标志码:** A

Progress in biological function of Api6/AIM/Spα in immune regulation and lipid metabolism

FANG Yan, LIU Dan, LIAN Xue-Mei*

(Centre for Lipid Research, Key Laboratory of Molecular Biology on Infectious Disease, Ministry of Education;
Department of Nutrition and Food Hygiene, School of Public Health, Chongqing Medical University,
Chongqing 400016, China)

Abstract: Apoptosis inhibitor 6 (Api6), also known as AIM and Spα, belongs to the scavenger receptor cysteine rich-superfamily (SRCR-SF). Api6/AIM/Spα, which is secreted exclusively by macrophages, inhibits apoptosis of CD4/CD8 double-positive (CD4⁺/CD8⁺) thymocytes, T cells, natural killer T (NKT) cells and macrophages. As a pattern recognition receptor, Api6/AIM/Spα is involved in the recognition of pathogen-associated molecular patterns (e.g. LPS and LTA), which suggests that it plays an important role in the regulation of the innate and adaptive immune systems. It has been confirmed recently that Api6/AIM/Spα increases early atherosclerotic lesion development by decreasing macrophage apoptosis. Api6/AIM/Spα also associates with cytosolic fatty acid synthase (FAS), decreases FAS activity, thereby inducing the lipolytic response within adipocytes and is physiologically relevant to obesity progression. This paper introduced emphatically the progress in biological function of Api6/AIM/Spα in immune regulation and lipid metabolism.

Key words: Api6/AIM/Spα; scavenger receptor; apoptosis; LXR; lipid metabolism

凋亡抑制因子 6 (apoptosis inhibitor 6, Api6), 又被称作 AIM (apoptosis inhibitor expressed on macrophage), Spα (secreted protein α) 或 CD5L (CD5 antigen like), 是清道夫受体富含半胱氨酸残基超家族 (scavenger receptor cysteine rich-superfamily, SRCR-SF) B 组成员^[1]。早期研究发现 Api6/AIM/Spα 主要由淋巴组织的巨

噬细胞产生, 具有抑制 CD4⁺/CD8⁺ 双阳性胸腺细胞凋亡的作用。因此, 在胸腺选择中发挥了重要的作

收稿日期: 2010-12-28; 修回日期: 2011-02-11

基金项目: 国家自然科学基金项目(30600660); 国家自然科学基金中英合作项目(30911130188)

*通信作者: E-mail: xuemeil@hotmail.com

用;之后开展的更多相关研究则相继揭示了 Api6 在细菌感染、炎症反应和肿瘤发生中所起到的作用。由于 Api6 是肝 X 核受体 (liver X receptor, LXR) 的靶基因,近年来 Api6 在脂质代谢中的作用开始受到人们的关注,本文重点综述了 Api6/AIM/Spa 调节免疫和脂质代谢等生物学功能的研究进展。

1 Api6/AIM/Spa基因及蛋白质结构

人 *Spa* 基因最早是在 1997 年由 Gebe 等^[1]通过筛选人脾脏组织构建的 cDNA 表达文库克隆而得,其定位于人染色体 1q21-q23。人 *Spa* 基因编码蛋白由 347 个氨基酸残基构成,其 N 末端含有 19 个疏水氨基酸构成的信号肽,之后跟随 3 个富含半胱氨酸残基的结构域,每个结构域约含 100 个氨基酸残基(其中包括 8 个易形成二硫键的半胱氨酸残基),由单个外显子编码。因此,人 *Spa* 属于 SRCR-SF B 组成员,与淋巴细胞表面受体 CD5 和 CD6 具有高度同源性^[1-2]。

人 *Spa* 是一种分泌蛋白,主要由骨髓、脾脏、淋巴结、胸腺及胎肝等淋巴组织中的巨噬细胞特异性分泌产生,在外周血白细胞等非淋巴组织中未见表达^[1]。人 *Spa* 也是一种含量较为丰富的血清蛋白,由于唾液酸含量的不同,其在血清中有相对分子质量为 38 000 和 40 000 两种亚型,浓度约为 60 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 。人 *Spa* 在血清中大多数以与 IgM 结合的复合物形式存在,提示其对维持 IgM 的稳定性具有重要的作用^[3]。

小鼠 *AIM* 基因则是 1999 年由 Miyazaki 等^[4]从小鼠巨噬细胞 cDNA 文库中筛选而得。*AIM* 在腹腔巨噬细胞、脾脏边缘区巨噬细胞和肝脏部分枯否氏细胞以及卡介苗 (*bacillus Calmette-Guérin*, BCG) 诱导的肝脏肉芽肿边缘部位都存在高表达。2000 年,Gebe 等^[5]从 C57 小鼠胸腺 cDNA 文库中筛选获得小鼠 *Spa* 基因。小鼠 *Spa* 基因编码蛋白含有 352 个氨基酸残基(其中包括 21 个氨基酸残基构成的 N 末端信号肽)。与人 *Spa* 蛋白相比较,两者所含氨基酸残基具有 73% 的一致性。此外,人 *Spa* 没有 N-糖基化位点^[1],而小鼠 *Spa* 则含有 4 个 N-糖基化位点,是高度糖基化的分泌蛋白,相对分子质量为 52 000。经与 Miyazaki 等^[4]的研究结果相对比后,Gebe 等^[5]得出结论:小鼠 *AIM* 与小鼠 *Spa* 是同一基因,并且与人 *Spa* 属同源基因。

2 Api6/AIM/Spa在免疫调节中的作用

人 *Spa*-mIg 融合蛋白的细胞结合试验研究发现: *Spa* 能结合外周血单核细胞,但不与 T 细胞及

B 细胞结合; *Spa*-mIg 与单核细胞前体细胞系 K-562 有较强的结合能力,与 THP-1 细胞系有较弱结合,但不能结合 U937 细胞系;同时 *Spa*-mIg 还能结合 B 淋巴细胞系 Raji 细胞,与 T 细胞系 HUT-78 细胞也有较弱结合^[1]。小鼠 *Spa*-R γ 融合蛋白的细胞结合能力略有差异^[3]:小鼠 *Spa* 可以与脾脏来源的 CD19⁺B 淋巴细胞结合,但不能与外周血来源的 CD19⁺B 淋巴细胞结合;小鼠 *Spa* 也可以与脾脏来源的 CD3⁺T 淋巴细胞结合,但不能与外周血单核细胞和腹腔来源的 CD3⁺T 淋巴细胞结合;小鼠 *Spa*-R γ 融合蛋白可以和小鼠单核细胞系 WEHI3 和 T 细胞系 EL-4 结合。

以上细胞结合实验结果提示:由淋巴组织巨噬细胞分泌的 Api6/AIM/Spa 可能通过特异性地结合到不同免疫细胞,从而在免疫调节方面发挥重要的作用。

2.1 Api6/AIM/Spa对淋巴细胞的调节作用

Api6/AIM/Spa 对胸腺细胞的凋亡抑制作用是最早被人们认识到的其所具有的生物学功能。利用在 *AIM* 基因外显子 3 区域插入一个新霉素抗性基因的基因改造方法, Miyazaki 等^[4]构建了 *AIM* 基因敲除小鼠 (*AIM*^{-/-}小鼠)。研究发现:与对照组 *AIM*^{+/+}小鼠相比, *AIM*^{-/-}小鼠胸腺细胞总数明显降低,其中 CD4⁺/CD8⁺ 双阳性细胞的数目不到对照组的一半,而 CD4⁻/CD8⁻ 双阴性细胞 (CD4⁻CD8⁻) 和单阳性细胞 (CD4⁺/CD8⁻ 或 CD4⁻/CD8⁺) 的数目两组间没有明显差异;在地塞米松或 γ 射线等诱导凋亡的条件刺激下, *AIM*^{-/-}小鼠胸腺皮质中 CD4⁺/CD8⁺ 双阳性细胞凋亡明显增加。体外原代培养 *AIM*^{-/-}小鼠 CD4⁺/CD8⁺ 双阳性细胞,重组 *AIM* 处理,可以明显抑制两种刺激诱导的细胞凋亡作用,而且这种凋亡抑制作用存在剂量效应关系。尽管 *AIM* 抑制凋亡的具体机制尚不明了,但由于 *AIM*^{-/-}小鼠和 *AIM*^{+/+}小鼠胸腺细胞其他凋亡相关蛋白(如 CD95/Fas、TCR、Sek-1、Bcl-x 等)的表达没有明显差异,因而研究结果提示:胸腺巨噬细胞产生的 *AIM* 可以直接抑制胸腺 CD4⁺/CD8⁺ 双阳性细胞的凋亡,从而支持其在胸腺选择之前的存活。

Kuwata 等^[6]的研究发现短小棒状杆菌 (*Corynebacterium parvum*) 注射诱导肝脏肉芽肿炎症时,肝脏 *AIM* 的表达明显增加;原位杂交实验发现, *AIM* 主要在肉芽肿区域枯否氏细胞和渗出型巨噬细胞表达。与对照组 *AIM*^{+/+}小鼠相比, *AIM*^{-/-}小鼠注射短小棒状杆菌后,肝脏形成的肉芽肿更大更多,

并且吸收延迟；肝脏 IL-12 的表达增加，血清 IL-12 的含量也明显升高；同时，*AIM*^{-/-} 小鼠注射短小棒状杆菌 7 d 后，肝脏 T 细胞和自然杀伤 T 细胞 (NKT cells) 的凋亡也明显增加。体外原代培养短小棒状杆菌刺激后的肝脏单核细胞 (MNCs)，重组 AIM 蛋白处理可以显著抑制 T 细胞和 NKT 细胞的凋亡。上述研究结果表明：AIM 具有抑制 T 细胞和 NKT 细胞凋亡的功能，从而在宿主体内发挥支持宿主防御肉芽肿性炎症的作用。

Yusa 等^[7] 则重点观察了 AIM 在调控淋巴细胞增殖中的作用。研究发现：在转化生长因子 β (TGF- β) 的协同作用下，AIM 对脂多糖诱导的 B 淋巴细胞增殖具有抑制作用。有趣的是，在没有 TGF- β 存在的情况下，AIM 并不表现出对 B 淋巴细胞增殖的抑制作用，这可能与 TGF- β 通过信号通路调控，增强了 B 淋巴细胞对 AIM 作用的敏感性，以及 TGF- β 增加了 AIM 与 B 淋巴细胞的结合能力有关^[7]。类似研究方法没有发现 AIM 对 T 淋巴细胞增殖的抑制作用。

2.2 Api6/AIM/Spa 对巨噬细胞的调节作用

Haruta 等^[8] 采用痤疮丙酸杆菌 (*Propionibacterium acnes*) 和 LPS 静脉注射的方法建立了暴发性肝炎的实验模型。研究发现：炎症刺激下，AIM 在肝脏枯否氏细胞和浸润巨噬细胞中的表达都明显升高。与对照野生型 C57BL/6 小鼠相比，过表达 AIM 的转基因小鼠在暴发性肝炎实验模型中肝脏蓄积更多的巨噬细胞。体内外实验结果都表明，AIM 具有抑制巨噬细胞凋亡的作用。研究同时发现，AIM 还具有增加巨噬细胞吞噬能力的作用。因此，炎症刺激下，肝脏巨噬细胞 AIM 的表达上调，AIM 以自分泌的方式支持浸润巨噬细胞的存活，同时增强其吞噬能力，从而有利于炎症损伤部位坏死细胞和毒性成分的清除。

肝 X 核受体 (LXR) 是核受体家族成员之一，在调节胆固醇吸收、合成和转运代谢中发挥了重要的作用；近年来，有关 LXR 在机体固有免疫中的作用也得到了深入的研究^[9]。Joseph 等^[10] 利用 LXR 基因敲除小鼠研究发现：LXR 基因敲除，尤其是 LXR 的 α 亚型被敲除后，小鼠更容易受到胞内感染菌——单核增生性李斯特菌 (*Listeria monocytogenes*) 的感染。进一步基因芯片分析发现：AIM 是唯一既能被单核增生性李斯特菌感染诱导产生，又能在 LXR/RXR 激动剂处理后表达增加，同时特异性地受 LXR α 调控，而不受 LXR β 调控的基

因。*AIM* 基因启动子区域 -5 404 位点存在 LXR 的反应元件，是 LXR α 的靶基因之一。胞内菌感染时，LXR α 可以通过诱导 AIM 的表达，抑制炎症部位巨噬细胞的凋亡，同时提高巨噬细胞清除病原菌的能力。因此，LXR α 对 AIM 的调控可能是 LXR α 参与机体抵抗细菌感染的固有免疫的重要机制之一。

Valledo 等^[11] 也证实了 AIM 在 LXR/RXR 激动剂抑制细菌诱导的巨噬细胞凋亡中发挥重要的作用。LXR/RXR 激动剂可以通过增加凋亡抑制因子 (其中包括 AIM) 的表达，同时降低促凋亡因子 (如半胱氨酸蛋白酶 CaSPase1、4/11、7 和 12) 的表达，从而抑制多种细菌 (包括炭疽杆菌 *Bacillus anthracis*、大肠杆菌 *Escherichia coli* 和鼠伤寒沙门氏杆菌 *Salmonella typhimurium*) 诱导的巨噬细胞凋亡作用。采用 siRNA 干扰的方法降低 AIM 的表达，可以部分抑制 LXR/RXR 激动剂的抗凋亡作用。

Sarrias 等^[12] 利用人重组 Sp α 蛋白的细菌结合实验发现：Sp α 作为一种模式识别受体，可以直接与病原体相关分子模式，即革兰氏阴性菌表面脂多糖 (LPS) 和革兰氏阳性菌表面脂壁酸 (LTA) 结合，同时抑制 LPS 或 LTA 刺激后人外周血单核细胞肿瘤坏死因子 α (TNF α) 的表达。因此，Sp α 不仅可以直接与细菌表面保守分子结合，并且可以调控单核细胞免疫反应。上述研究结果进一步证实了 Api6/AIM/Sp α 是机体固有免疫系统的活性组成部分。

3 Api6/AIM/Spa 在脂质代谢相关性疾病中的作用

溶酶体酸性脂肪酶 (lysosomal acid lipase, LAL) 是细胞溶酶体内水解胆固醇脂的关键酶。2005 年，Lian 等^[13] 利用 LAL 基因敲除小鼠 (*LAL*^{-/-} 小鼠) 研究发现：LAL 基因缺失后，小鼠除了肝脏、脾脏存在异常的脂质蓄积外，肺组织也出现了异常的脂质蓄积和慢性炎症反应。基因芯片检测结果显示：与野生型 *LAL*^{+/+} 小鼠相比，*LAL*^{-/-} 小鼠肺组织 Api6 的表达上调了近 70 倍，是差异表达最高的基因之一；该研究结果提示 Api6 可能在细胞的脂质代谢中发挥一定的作用。

作为核受体 LXR 的靶基因，Api6/AIM/Sp α 在脂质代谢中的作用得到了进一步的研究。Arai 等^[14] 的研究发现，AIM 在小鼠动脉粥样硬化 (atherosclerosis, AS) 早期斑块中高度表达，AIM 主要由斑块中巨噬细胞产生，血管内皮细胞和平滑肌细胞中未见表达。AS 发生时，巨噬细胞摄取氧化脂质 (如 oxLDL) 形

成泡沫化巨噬细胞的过程中, 形成大量的氧化甾醇(oxyterols), 氧化甾醇作为 LXR 的天然配体, 可以上调巨噬细胞中 AIM 的表达。细胞凋亡在 AS 发生中的作用目前学术界还存在争议, 但已达成共识的是: 在 AS 病变发展的不同阶段, 细胞凋亡发挥不同的作用。AIM 通过抑制 AS 早期病变中泡沫化巨噬细胞的凋亡, 促进了 AS 病程的进展。*AIM*^{-/-}/*LDLR*^{-/-} 双基因敲除小鼠早期斑块病变程度比 *AIM*^{+/-}/*LDLR*^{-/-} 小鼠的病变程度明显要轻。但 AIM 对巨噬细胞的凋亡抑制在晚期斑块稳定性中的作用, 还值得进一步的研究。

最近, AIM 在脂肪酸代谢和肥胖进展中的作用也得到了人们的认识。Kurokawa 等^[15]的研究发现: 脂肪组织中巨噬细胞产生的 AIM, 可以在清道夫受体 CD36 的介导下内吞进入脂肪细胞, 发挥一定的脂解作用, 从而减小脂肪细胞脂滴大小, 促进游离脂肪酸和甘油的排出。这种脂解作用主要是由于 AIM 抑制了脂肪酸合成酶 (fatty acid synthase, FAS) 的活性所致。AIM 可能通过与 FAS 蛋白的一些关键性功能部位 (如碳链延长、棕榈酸释放、维持二聚体稳定性的部位) 结合, 从而通过位阻作用, 抑制 FAS 的活性。与对照组 *AIM*^{+/-} 小鼠相比, 同样高脂饮食饲养的 *AIM*^{-/-} 小鼠脂肪细胞增大和体重增长更为明显。由于两组小鼠的代谢率没有差异, 因此, AIM 是特异性地作用于脂肪细胞, 在肥胖进展中发挥了重要的作用。

4 Api6/AIM/Spα的其他功能

Haruta 等^[16]以 T 细胞受体基因敲除小鼠 (*TCRα*^{-/-} 小鼠) 作为溃疡性结肠炎 (ulcerative colitis) 的实验模型, 研究发现: 与对照组 *TCRα*^{-/-}/*AIM*^{+/-} 小鼠相比, *TCRα*^{-/-}/*AIM*^{-/-} 小鼠溃疡性结肠炎的发病率、肠上皮异生和腺癌的发生率都更高。因此, AIM 可能在调节炎症和 *TCRα*^{-/-} 小鼠腺癌发生中发挥了重要的作用。

Qu 等^[17]则发现骨髓细胞 (包括巨噬细胞、中性粒细胞、树突状细胞) 特异性过表达 Api6 不仅可以导致骨髓细胞异常增殖和凋亡抑制, 而且可以活化致癌信号调节通路 (如 Stat3、Erk1/2 和 p38 等), 导致肺组织前癌细胞因子 / 趋化因子表达水平上调、基质金属蛋白酶相关基因 (如 MMP2、7、8、9、12) 的表达水平上调以及促凋亡因子 (如 Apaf-1, Bax, Bcl-2, Bid, Casp3、7、9, CideA 和 FasL) 表达水平下调等, 从而造成肺部炎症加剧、大量肺组织

重塑和肺泡 II 型上皮细胞腺癌的发生率上升。

更多研究发现, Api6/AIM/Spα 表达水平上调可作为过敏性哮喘、特应性皮炎、丙肝导致的肝纤维化、非酒精性脂肪肝肝硬化和肝细胞癌以及川崎病 (Kawasaki disease, KD) 诊断潜在的生物标记物^[18-22]。

5 结语和展望

作为凋亡抑制因子, Api6/AIM/Spα 对多种免疫细胞的凋亡抑制作用已经得到了人们的初步认识, 但其抑制凋亡的具体机制还需要更深入的研究。

目前学界已经证实慢性代谢性疾病, 如肥胖、糖尿病、血脂异常和动脉粥样硬化等也是一种慢性炎症性疾病。作为清道夫受体家族新成员——Api6/AIM/Spα 既然在免疫调节和脂质代谢中都发挥重要的作用, 相信其在代谢性疾病发生中的具体作用机制会有另一片广阔前景值得我们探索。

[参 考 文 献]

- [1] Gebe JA, Kiener PA, Ring HZ, et al. Molecular cloning, mapping to human chromosome 1 q21-q23, and cell binding characteristics of SPα, a new member of the scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) family of proteins. *J Biol Chem*, 1997, 272(10): 6151-8
- [2] Sarrias MR, Gronlund J, Padilla O, et al. The scavenger receptor cysteine-rich (SRCR) domain: an ancient and highly conserved protein module of the innate immune system. *Crit Rev Immunol*, 2004, 24: 1-37
- [3] Sarrias MR, Padilla O, Monreal Y, et al. Biochemical characterization of recombinant and circulating human Spα. *Tissue Antigens*, 2004, 63: 335-44
- [4] Miyazaki T, Hirokami Y, Matsushashi N, et al. Increased susceptibility of thymocytes to apoptosis in mice lacking AIM, a novel murine macrophage-derived soluble factor belonging to the scavenger receptor cysteine-rich domain superfamily. *J Exp Med*, 1999, 189(2): 413-22
- [5] Gebe JA, Llewellyn MBC, Hoggatt H, et al. Molecular cloning, genomic organization and cell-binding characteristics of mouse Spα. *Immunology*, 2000, 99: 78-86
- [6] Kuwata K, Watanabe H, Jiang SY, et al. AIM inhibits apoptosis of T cells and NKT cells in corynebacterium-induced granuloma formation in mice. *Am J Pathol*, 2003, 162: 837-47
- [7] Yusa S, Ohnishi S, Onodera T, et al. AIM, a murine apoptosis inhibitory factor, induces strong and sustained growth inhibition of B lymphocytes in combination with TGF-β1. *Eur J Immunol*, 1999, 29: 1086-93
- [8] Haruta I, Kato Y, Hashimoto E, et al. Association of AIM, a novel apoptosis inhibitory factor, with hepatitis via supporting macrophage survival and enhancing phagocytotic function of macrophages. *J Biol Chem*, 2001, 276: 22910-4
- [9] Bensinger S, Tontonoz P. Integration of metabolism and inflammation by lipid-activated nuclear receptors. *Nature*,

- 2008, 454(7203): 470-7
- [10] Joseph SB, Bradley MN, Castrillo A, et al. LXR-dependent gene expression is important for macrophage survival and the innate immune response. *Cell*, 2004, 119(2): 299-309
- [11] Valledo AF, Hsu LC, Ogawa S, et al. Activation of liver X receptors and retinoid X receptors prevents bacterial-induced macrophage apoptosis. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(51): 17813-8
- [12] Sarrias MR, Rosello S, Sanchez-Barbero F, et al. A role for human SP α as a pattern recognition receptor. *J Biol Chem*, 2005, 280(42): 35391-8
- [13] Lian X, Yan C, Qin Y, et al. Neutral lipids and peroxisome proliferator-activated receptor- γ control pulmonary gene expression and inflammation-triggered pathogenesis in lysosomal acid lipase knockout mice. *Am J Pathol*, 2005, 167(3): 813-21
- [14] Arai S, Shelton JM, Chen M, et al. A role of the apoptosis inhibitory factor AIM/SP α /Api6 in atherosclerosis development. *Cell Metab*, 2005, 1(3): 201-13
- [15] Kurokawa J, Arai S, Nakashima K, et al. Macrophage-derived AIM is endocytosed into adipocytes and decreases lipid droplets via inhibition of fatty acid synthase activity. *Cell Metab*, 2010, 11: 479-92
- [16] Haruta I, Shibata N, Kato Y, et al. Apoptosis inhibitor expressed by macrophages tempers autoimmune colitis and the risk of colitis-based carcinogenesis in *TCR α ^{-/-}* mice. *J Clin Immunol*, 2007, 27: 549-56
- [17] Qu P, Du H, Li Y, et al. Myeloid-specific expression of Api6/AIM/Sp α induces systemic inflammation and adenocarcinoma in the lung. *J Immunol*, 2009, 182: 1648-59
- [18] Wu J, Kobayashi M, Sousa EA, et al. Differential proteomic analysis of bronchoalveolar lavage fluid in asthmatics following segmental antigen challenge. *Mol Cell Proteomics*, 2005, 4(9): 1251-64
- [19] Kim WK, Hwang HR, Kim do H, et al. Glycoproteomic analysis of plasma from patients with atopic dermatitis: CD5L and ApoE as potential biomarkers. *Exp Mol Med*, 2008, 40(6): 677-85
- [20] Gangadharan B, Antrobus R, Dwek RA, et al. Novel serum biomarker candidates for liver fibrosis in hepatitis C patients. *Clin Chem*, 2007, 53(10): 1792-9
- [21] Gray J, Chattopadhyay D, Beale GS, et al. A proteomic strategy to identify novel serum biomarkers for liver cirrhosis and hepatocellular cancer in individuals with fatty liver disease. *BMC Cancer*, 2009, 5(9): 271
- [22] Yu HR, Kuo HC, Sheen JM, et al. A unique plasma proteomic profiling with imbalanced fibrinogen cascade in patients with Kawasaki disease. *Pediatr Allergy Immunol*, 2009, 20(7): 699-707