

• 论 著 •

类风湿关节炎患者滑膜组织自身抗原及瓜氨酸化修饰的质谱鉴定*

管晓龙^{1,2}, 周莹³, 殷茵¹, 刘菲¹, 李晓军², 虞伟², 许晓红^{1△}

(1. 安徽医科大学附属妇幼保健院/安徽省妇幼保健院检验科, 安徽合肥 230001; 2. 东部战区总医院中心实验室, 江苏南京 210002; 3. 安徽医科大学第二附属医院检验科, 安徽合肥 230601)

摘要:目的 探究类风湿关节炎(RA)滑膜组织自身抗原的差异表达及瓜氨酸化修饰水平,寻找 RA 相关潜在的生物标志物。方法 选择 2013 年 1 月至 2016 年 1 月收治的 RA 患者 55 例纳入 RA 组,其中抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体(+)RA 组 41 例,抗 CCP 抗体(-)RA 组 14 例,选择同期系统性红斑狼疮(SLE)患者、健康体检人群各 41 例分别纳入 SLE 组及健康对照组,留取所有研究对象血清标本。留取抗 CCP 抗体(+)RA 患者、抗 CCP 抗体(-)RA 患者、骨性关节炎及创伤性关节炎滑膜组织标本各 1 份。通过分离混合血清的 IgG- γ 球蛋白、免疫共沉淀、质谱技术处理后对 RA 患者滑膜组织中自身抗原谱进行分析。RA 蛋白 FOT 值大于健康对照组 FOT 值的 3 倍即判定为上调蛋白,FOT 值小于健康对照组 FOT 值的 0.5 倍即判定为下调蛋白。结果 抗 CCP 抗体(+)RA 组有 125 种上调蛋白,抗 CCP 抗体(-)RA 组有 87 种上调蛋白,仅在抗 CCP 抗体(+)RA 组中特异表达的蛋白有 60 种,仅在抗 CCP 抗体(-)RA 组中特异表达的蛋白有 69 种。抗 CCP 抗体(+)RA 组有 18 种下调蛋白,抗 CCP 抗体(-)RA 组有 40 种下调蛋白。RA 组共鉴定出 17 种瓜氨酸修饰蛋白,其中抗 CCP 抗体(+)RA 组有 10 种,抗 CCP 抗体(-)RA 组有 14 种;取瓜氨酸及左右相邻 7 个氨基酸组成一条瓜氨酸短肽,抗 CCP 抗体(+)RA 组有 12 条瓜氨酸短肽过表达,抗 CCP 抗体(-)RA 组有 10 条瓜氨酸短肽过表达,其中角蛋白 2 的 3 条瓜氨酸短肽在 RA 组中均表达上调。结论 抗 CCP 抗体(-)RA 患者同样存在瓜氨酸化抗原,差异蛋白的鉴定为寻找 RA 新的生物标志物提供了理论依据。

关键词:类风湿关节炎; 瓜氨酸化; 质谱技术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.22.001

中图分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2020)22-2689-04

文献标识码:A

Identification of synovial tissue autoantigens and the citrulline modification of rheumatoid arthritis patients by mass spectrometry*

GUAN Xiaolong^{1,2}, ZHOU Ying³, YIN Yin¹, LIU Fei¹, LI Xiaojun², YU Wei², XU Xiaohong^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, Maternal and Child Health Hospital Affiliated to Anhui Medical University/Maternal and Child Health Hospital of Anhui Province, Hefei, Anhui 230001, China; 2. Central Laboratory, Eastern Theater General Hospital, Nanjing, Jiangsu 210002, China; 3. Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230601, China)

Abstract: Objective To find potential biomarkers for rheumatoid arthritis (RA) patients by investigate the differential expression of synovial tissue antigens and citrulline modification. **Methods** A total of 55 RA patients admitted from January 2013 to January 2016 were included in RA group, including 41 patients in anti-CCP (+) RA group and 14 patients in anti-CCP (-) RA group. Patients with systemic lupus erythematosus (SLE) and 41 healthy physical examination patients in the same period were recruited in SLE group and healthy control group respectively. Serum specimens of all subjects were collected, anti-CCP (+) RA, anti-CCP (-) RA, osteoarthritis and traumatic arthritis synovial tissue in each 1 case were also collected. Separation of IgG- γ globulin from mixed serum, co-immunoprecipitation and mass spectrometry were performed to analyze the autoantigen spectrum of RA patients. If the RA protein FOT value was greater than 3 times of the FOT value of healthy control group, the protein was determine to be up-regulated, and less than 0.5 times of

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81470071);安徽省十三五医疗卫生重点培育专科建设项目[皖卫科教(2017)30号];安徽省重点研究与开发计划项目(201904a07020032)。

作者简介:管晓龙,男,技师,主要从事自身免疫疾病实验室诊断研究。△ 通信作者, E-mail: xuxiao1234@163.com。

本文引用格式:管晓龙,周莹,殷茵,等.类风湿关节炎患者滑膜组织自身抗原及瓜氨酸化修饰的质谱鉴定[J].国际检验医学杂志,2020,41(22):2689-2692.

the FOT value in control group was a down-regulated protein. **Results** Among the synovium of RA patients, 125 kinds of up-regulated protein were in anti-CCP (+) group and 87 kinds of up-regulated protein were in anti-CCP (-) group. In addition, 60 kinds of protein specifically expressed in anti-CCP (+) RA group, and 69 kinds of protein only expressed in anti-CCP (-) RA group. A total of 18 kinds of protein were down-regulated in anti-CCP (+) RA group, and 40 kinds of protein were in anti-CCP (-) RA group. A total of 17 citrullinated proteins were identified in RA group, in which 10 kinds of protein were in anti-CCP (+) RA group, and 14 kinds of protein were in anti-CCP (-) RA group. Compared to those in control group, 12 short citrullinated peptides were up-regulated in anti-CCP (+) RA group, and 10 short citrulline peptides were up-regulated in anti-CCP (-) RA group, in which 3 citrullinated short peptides of keratin 2 were up-regulated in RA group. **Conclusion** The citrullinated antigen also exists in anti-CCP (-) RA patients. Identification of differential expression of proteins provides a theoretical basis for finding new biomarkers related to RA.

Key words: rheumatoid arthritis; citrulline; mass spectrometry

类风湿关节炎(RA)是一种以滑膜慢性炎症反应、软骨畸形、骨质损伤、多种自身抗体产生及多器官功能障碍为特征的全身免疫性疾病^[1]。瓜氨酸化作为一种经典的翻译后修饰,其诱导产生的抗瓜氨酸化蛋白抗体可出现在约 70% 的 RA 患者体内,并且与疾病的进展密切相关^[2-5]。目前,已有少数抗瓜氨酸化蛋白抗体应用于 RA 的实验室诊断,如抗环瓜氨酸肽(CCP)抗体,但由于灵敏度较低,导致部分患者漏诊^[2,5]。近年来,RA 瓜氨酸蛋白质组学研究成为热点,CHANG 等^[6]将 10 例 RA 患者滑膜组织蛋白提取物进行合并,利用二维凝胶印迹、免疫共沉淀、质谱技术,鉴定出 7 种瓜氨酸化抗原,包括 α -1-抗胰蛋白酶、纤维蛋白原、角蛋白 84 和波形蛋白等。VAN BEERS 等^[7]先用凝胶电泳将 RA 患者滑膜液进行分馏、转染,再使用多种抗体对其中的瓜氨酸蛋白进行标记,将其中 2 份富含多种瓜氨酸多肽的滑膜液进行质谱分析,共鉴定出 53 条瓜氨酸多肽,血清学验证后发现了 3 种新的自身抗原,分别是载脂蛋白 E、髓核分化抗原、 β -肌动蛋白,并提出只有少数瓜氨酸蛋白具有免疫原性。WANG 等^[8]采用类似的技术路线,利用基质辅助串联时间飞行质谱在 RA 患者滑膜液中发现 182 种瓜氨酸肽段碎片,但未进行大样本血清学验证。目前的技术手段仅鉴定到部分瓜氨酸抗原,特别是抗 CCP 抗体(-)RA 患者的瓜氨酸蛋白谱尚不十分清楚。因此,本研究主要借助免疫蛋白质组学技术,以揭示 RA 特别是抗 CCP 抗体(-)患者滑膜的蛋白谱,为后续筛选相关生物标志物提供理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2013 年 1 月至 2016 年 1 月收治的 RA 患者 55 例纳入 RA 组,其中抗 CCP 抗体(+)RA 组 41 例,抗 CCP 抗体(-)RA 组 14 例,选择同期系统性红斑狼疮(SLE)患者、健康体检人群各 41 例分别纳入 SLE 组及健康对照组。

1.2 仪器与试剂 电泳仪购自 BIO-RAD 公司,超声细胞粉碎机购自美国 Sonics 公司,高效液相色谱质谱联用仪购自美国 Thermo-Fisher 公司。磷酸盐缓冲液、硼酸缓冲液、聚乙二醇 6000 购自美国 Sigma 公

司,琼脂糖珠 protein A 购自美国 GE Healthcare 公司,胰蛋白酶购自美国 Promega 公司,蛋白酶抑制剂、组织蛋白裂解液购自美国 Thermo-Fisher 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 留取抗 CCP 抗体(+)、抗 CCP 抗体(-)RA 患者滑膜组织,骨性关节炎及创伤性关节炎患者手术切除的滑膜组织标本各 1 份。采集所有研究对象血液标本,分离血清。

1.3.2 分离血清中 IgG- γ 球蛋白 (1)先将各组研究对象的血清标本分别等量混合,各取 0.1 mL 混合血清加入 0.2 mL 硼酸缓冲液混匀,之后每管加入 0.3 mL 聚乙二醇 6000,析出沉淀后放入冰箱 4 °C 过夜;(2)另取 4 个 EP 管,离心后各取 0.6 mL 血清上清液,每管缓慢加入 0.6 mL 饱和硫酸铵溶液,静置 30 min 后离心;(3)沉淀物用 46% 饱和硫酸铵洗涤后离心,然后溶解于 50 μ L 磷酸盐缓冲液备用。

1.3.3 提取滑膜组织蛋白组分 分别称取 20 mg 滑膜组织放于 EP 管中,每管加入 500 μ L 组织蛋白裂解液和 50 μ L 蛋白酶抑制剂,剪碎后再用超声细胞粉碎机粉碎,离心后取上清液备用(均在冰上操作)。

1.3.4 免疫共沉淀 (1)先取 3 μ L 血清 IgG- γ 球蛋白和 40 μ L 琼脂糖珠 protein A 相结合,NP-40 裂解液洗涤后弃去上清液;(2)再分别加入 200 μ g 滑膜蛋白提取液混匀后静置 2 h,离心后弃上清液。

1.3.5 蛋白质胶内酶解 (1)利用十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳将滑膜组织抗原成分进行分离,目标条带脱色至清晰后备用;(2)将每个目标条带切成 6 个大小适宜小胶条,加入脱色液后脱色至无色;(3)加入乙腈润洗后用真空离心浓缩仪进行脱水干燥,再加入 500 μ L 纯水振荡洗涤后弃上清液;(4)加入 NH_4HCO_3 溶液振荡洗涤后弃上清液;(5)加入 10 μ L 胰蛋白酶,胶条捣碎后 37 °C 孵育过夜;(6)每管加入 200 μ L 纯乙腈,静置离心后吸取溶液收集备用;(7)每管加入 100 μ L 萃取液,孵育 30 min 后加入 200 μ L 纯乙腈,静置离心后吸取上清液,将前后两次收集的上清液进行合并,其中轻链与重链两管合并,其余 4 管合并,真空冻干后备用。

1.3.6 质谱鉴定 将标本冻干粉溶解于含 5% 甲醇及 0.2% 甲酸的溶液中,取 20% 含重链与轻链成分的溶液上样,取 50% 含其他组分的溶液上样,每份样品进行 2 个循环检测。样品进入 C18 色谱柱后进行分离,依次进入高效液相色谱质谱联用仪进行检测。再利用 Mascot 软件在美国国家生物技术信息中心 (NCBI) 参考序列数据库中进行检索匹配。

1.4 统计学处理 蛋白筛选必须满足未卡离子分数值 ≥ 20 , 且特有肽段碎片个数 ≥ 1 个。RA 组蛋白 FOT 值 $>$ SLE 组和健康对照组 FOT 值的 3 倍即判定为上调蛋白, FOT 值 $<$ SLE 组和健康对照组 FOT 值 0.5 倍即判定为下调蛋白, 再利用 Venny 2.1.0 软件对蛋白 FOT 值进行比较分析。

2 结果

2.1 RA 滑膜总蛋白谱鉴定结果 利用质谱技术共鉴定出 594 种蛋白, 其中抗 CCP 抗体 (+) RA 组鉴定出 278 种蛋白, 抗 CCP 抗体 (-) RA 组鉴定出 255 种蛋白, SLE 组鉴定出 395 种蛋白, 健康对照组鉴定出 191 种蛋白。抗 CCP 抗体 (+) RA 组有 125 种上调蛋白, 抗 CCP 抗体 (-) RA 组有 87 种上调蛋白; 抗 CCP 抗体 (+) RA 组有 18 种下调蛋白, 抗 CCP 抗体 (-) RA 组有 40 种下调蛋白。

仅在抗 CCP 抗体 (+) RA 组中特异表达的蛋白有 60 种, FOT 值最高的前 10 种蛋白为角蛋白 15、肌动蛋白、AATF 蛋白、DNA 结合蛋白 5、Meckelin 蛋白、中心体相关蛋白 350、II 型肌醇 3、G 蛋白偶联受体、纤毛内转运蛋白 81、纤维调节蛋白; 而在抗 CCP 抗体 (-) RA 滑膜中特异表达蛋白有 69 种, FOT 值最高的前 10 种蛋白为角蛋白 31、角蛋白 36、角蛋白 19、角蛋白 73、组蛋白 H2B 1-K 型、组蛋白 H2A 3 型、胰蛋白酶 6、角蛋白 83、过氧化物酶 4 型、黏蛋白样蛋白 1。

表 1 抗 CCP 抗体 (+) RA 组表达上调的瓜氨酸短肽序列

蛋白序列号	蛋白名称	瓜氨酸修饰短肽
55956899	角蛋白 9	TMQELNSRLASYLDK
119395750	角蛋白 1	AGIINYQRRTSSST SISISVARGGGRGSG
115527062	VI 型胶原 α -2 链	NLKEQGLRDIASPH
14165466	多嘧啶结合蛋白 1	TSVTPVLRGQPIYIQ
6912286	半胱天冬酶 14	XXXMSNPRSLEEEKY
240255535	VI 型胶原 α -3 链	LDGSEGVRSGFPLLK NEVTTEIRFADSKRK IDSSEGVRPDGF AHI
47132620	角蛋白 2	ISCKSRGRGGGGGGF AFGGSGGRGSSSGGG GGRQSGSRGGSGGGG

注: R 表示瓜氨酸修饰的位点。

2.2 瓜氨酸修饰蛋白谱鉴定结果 RA 组共鉴定出 17 种瓜氨酸修饰蛋白, 其中抗 CCP 抗体 (+) RA 组

有 10 种瓜氨酸化蛋白, 包括半胱氨酸蛋白酶 14、聚吡啶结合蛋白 1、组蛋白 H2A 2C 型、角蛋白 1、角蛋白 2、VI 胶原 α -2 链、角蛋白 9、角蛋白 5、角蛋白 10、VI 胶原 α -3 链。抗 CCP 抗体 (-) RA 组有 14 种瓜氨酸化蛋白, 包括载脂蛋白 D、髓过氧化物酶、角蛋白 16、角蛋白 14、组蛋白 H2A 3 型、组蛋白 H2A 2-C 型、角蛋白 2、角蛋白 9、角蛋白 1、角蛋白 5、角蛋白 10、VI 胶原 α -3 链、肌动蛋白、颗粒酶 H。

2.3 瓜氨酸修饰短肽序列鉴定结果 取精氨酸及左右相邻 7 个氨基酸组成一条瓜氨酸短肽 (共 15 个氨基酸序列), 抗 CCP 抗体 (+) RA 组有 12 条瓜氨酸短肽过表达, 抗 CCP 抗体 (-) RA 组有 10 条瓜氨酸短肽过表达, 其中角蛋白 2 的 3 条瓜氨酸短肽在 RA 组中均表达上调, 见表 1、2。

表 2 抗 CCP 抗体 (-) RA 组表达上调的瓜氨酸短肽序列

蛋白序列号	蛋白名称	瓜氨酸修饰短肽
15617199	组蛋白 H2A	ELAGNAARDNKKTRI
119395750	角蛋白 1	MSRQFSSRSGYRSGG
4502163	载脂蛋白 D	PTTFENGRCIQANYS
4557759	髓过氧化物酶	GSEEP LARNLRNMSN
399124765	颗粒酶 H	IMLLQLERKAKWTTA
240255535	VI 型胶原 α -3 链	QDVVNAVRQLTLLGG
316659409	肌动蛋白	ALPHAILRLDLAGRD
47132620	角蛋白 2	ISCKSRGRGGGGGGF AFGGSGGRGSSSGGG GGRQSGSRGGSGGGG

注: R 表示瓜氨酸修饰的位点。

3 讨论

本研究主要借助免疫蛋白质组学技术, 利用混合血清分离的 IgG- γ 球蛋白从滑膜组织中结合抗原分子, 揭示了 RA 患者滑膜组织的自身抗原表达谱。抗 CCP 抗体 (+) RA 组上调蛋白中, 纤维调节蛋白是一种位于细胞外基质中富含亮氨酸的小分子蛋白多糖, 该蛋白参与胶原纤维成熟、微血管形成、肿瘤发生发展、动脉粥样硬化等多种生理、病理过程^[9]。纤维调节蛋白是关节软骨细胞外基质的重要组成部分, 在幼儿、青少年的关节软骨中纤维调节蛋白含有较多硫酸角质素链, 硫酸角质素链的数量会随着年龄的增长而减少, 而在 RA 患者中硫酸角质素链的数量也减少, 提示纤维调节蛋白可作为临床上 RA 潜在的治疗靶点^[9]。

抗 CCP 抗体 (-) RA 组上调蛋白中, 过氧化物酶 4 属于具有抗氧化功能的新蛋白家族成员, 能通过调节过氧化氢信号传导、氧化蛋白折叠、干预氧化还原平衡等影响细胞的增殖, 还可以通过清除细胞内及细胞外活性物质来发挥其对抗氧化应激损伤的保护作用^[10-11]。CHANG 等^[12] 同样发现过氧化物酶 4 在 RA 患者滑膜组织、少数 RA 早期患者血浆中均发生过表达。过氧化物酶 4 在 RA 患者体内过表达的原因可能是由于随着病程的进展, 加速的氧化应激反应刺激了内源性抗氧化剂蛋白保护滑膜组织免受氧化

应激的损伤^[13]。RA 下调蛋白中,抗 CCP 抗体(+)RA 组有 18 种蛋白表达下调,抗 CCP 抗体(-)RA 组有 40 种蛋白表达下调,目前 RA 下调蛋白缺乏足够的临床研究,有待进一步探讨。

抗 CCP 抗体(-)RA 患者体内同样存在瓜氨酸修饰的抗原,但只有少数瓜氨酸化蛋白具有抗体免疫原性,即与抗 CCP 抗体亲和性较低,所以现有市场上使用的第二代和第三代 CCP 试剂盒仍然具有一定的局限性。WANG 等^[8]在 RA 患者滑膜液中发现多种瓜氨酸修饰的角蛋白,角蛋白是一种与 RA 发病存在高相关性的抗原分子^[3],本研究中 RA 患者体内表达上调的蛋白中也同样发现多种角蛋白亚型(如角蛋白 1、2、9 等)。抗角蛋白抗体(AKA,靶抗原:食道上皮前丝聚蛋白及其酸性异构体)、抗核周因子(APF,靶抗原:前丝聚蛋白去磷酸化产物)、抗丝聚蛋白抗体(AFA)等丝聚蛋白相关的自身抗体作为 RA 相关生物标志物虽具有较高特异度,但灵敏度较低^[3]。角蛋白的亚型较多,本研究发现角蛋白 2 的 3 条瓜氨酸化短肽在抗 CCP 抗体(+)RA 组及抗 CCP 抗体(-)RA 组中均表达,能否成为改进 RA 辅助诊断的潜在生物标志物仍需进一步验证。

目前的研究依然存在一定的局限性,首先,可能会对滑膜组织中低丰度蛋白、与 IgG 亲和性较低的部分抗原漏检^[14]。其次,与琼脂糖珠、免疫复合物结合的非特异性蛋白可能会被识别导致假阳性的产生。为了减少非特异性结合,本研究优化了实验操作期间的洗涤条件,并且采用了具有高度亲水性表面活性的琼脂糖珠,其对蛋白质的非特异性结合具有一定抵抗性。最后,目前 RA 组中仅鉴定出 19 条上调的瓜氨酸修饰短肽序列,其中 VI 型胶原短肽抗体用于 RA 的实验室诊断,灵敏度为 65.52%,特异度为 78.95%,其在抗 CCP 抗体(-)RA 患者人群中受试者工作特征(ROC)曲线下面积可达到 0.956^[14],其余瓜氨酸短肽作为潜在的诊断标志物,尚未完成血清学验证。后续工作将进一步比较本研究中 RA 血清抗体结合反应滑膜组织的抗原谱,以及前期工作中分析的 RA 患者滑膜组织亲和纯化免疫复合物中抗原表达谱^[15],两者之间的差异可有助于明确滑膜组织抗原谱的组成及其来源属性(游离沉积/原位沉积)。

4 结 论

抗 CCP 抗体(-)RA 患者血清中同样存在瓜氨酸化抗原,且抗 CCP 抗体(+)RA 患者有 12 条瓜氨酸短肽表达上调,抗 CCP 抗体(-)RA 患者有 10 条瓜氨酸短肽表达上调,差异蛋白的鉴定为寻找 RA 新的生物标志物提供了理论依据。

参考文献

[1] MCINNES I B, SCHETT G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis[J]. N Engl J Med, 2011, 365(23): 2205-2219.

- [2] PRUIJN G J, WIJK A, VAN VENROOIJ W J. The use of citrullinated peptides and proteins for the diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. Arthritis Res Ther, 2010, 12(1): 203-211.
- [3] FANG Q, OU J, NANDAKUMAR K S. Autoantibodies as diagnostic markers and mediator of joint inflammation in arthritis[J]. Mediators Inflamm, 2019, 2019: 6363086.
- [4] TROUW L A, MAHLER M. Closing the serological gap: promising novel biomarkers for the early diagnosis of rheumatoid arthritis[J]. Autoimmun Rev, 2012, 12(2): 318-322.
- [5] 刘兰芳. 抗 CCP 抗体、抗角蛋白抗体、类风湿因子联合检测在类风湿性关节炎诊断中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(18): 2635-2637.
- [6] CHANG X, ZHAO Y, WANG Y, et al. Screening citrullinated proteins in synovial tissues of rheumatoid arthritis using 2-dimensional western blotting[J]. J Rheumatol, 2013, 40(3): 219-227.
- [7] VAN BEERS J J, SCHWARTE C M, STAMMEN-VOGELZANGS J, et al. The rheumatoid arthritis synovial fluid citrullinome reveals novel citrullinated epitopes in apolipoprotein E, myeloid nuclear differentiation antigen, and β -actin[J]. Arthritis Rheum, 2013, 65(1): 69-80.
- [8] WANG F, CHEN F F, GAO W B, et al. Identification of citrullinated peptides in the synovial fluid of patients with rheumatoid arthritis using LC-MALDI-TOF/TOF [J]. Clin Rheumatol, 2016, 35(9): 2185-2194.
- [9] AL-QATTAN M M, AL-QATTAN A M. Fibromodulin: structure, physiological functions, and an emphasis on its potential clinical applications in various diseases[J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2018, 28(10): 783-790.
- [10] JIA W, CHEN P, CHENG Y. PRDX4 and its roles in various cancers[J]. Technol Cancer Res Treat, 2019, 18: 1-10.
- [11] ZHANG J, GUO X, HAMADA T, et al. Protective effects of peroxiredoxin 4 (PRDX4) on cholestatic liver injury[J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(9): 2509-2515.
- [12] CHANG X, CUI Y, ZONG M, et al. Identification of proteins with increased expression in rheumatoid arthritis synovial tissues[J]. J Rheumatol, 2009, 36(5): 872-880.
- [13] MONACH P A, HUEBER W, KESSLER B, et al. A broad screen for targets of immune complexes decorating arthritic joints highlights deposition of nucleosomes in rheumatoid arthritis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2009, 106(37): 15867-15872.
- [14] 周莹, 管晓龙, 李晓军, 等. ELISA 检测 KRT_10 和 COL6A3_C 短肽抗体的方法建立及作为 RA 诊断的应用价值[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(1): 1-4.
- [15] 王海永, 管晓龙, 赵琴飞, 等. 质谱技术对类风湿关节炎患者滑膜免疫复合物差异蛋白质的分析[J]. 临床检验杂志, 2017, 35(1): 15-20.