

doi: 10.3969/j.issn.0490-6756.2018.05.030

高通量抗体芯片研究 AILD 血清炎性因子表达特征

张茂¹, 房俊², 张剑波², 汪智英², 曹玫^{1,2}

(1. 电子科技大学医学院, 成都 610031;

2. 四川省医学科学院·四川省人民医院医学实验中心, 成都 610072)

摘要: 利用微阵列抗体芯片技术检测 53 例自身免疫性肝病(AILD)患者血清中 20 种辅助性 T 细胞相关炎性因子的表达水平, 结合肝功能临床生化数据, 分析炎性因子的表达特征和差异性. 高通量抗体芯片检测结果显示: AIH-PBC OS 患者血清中 IL-4 和 TGF β 1 表达量水平显著高于 PBC 组 ($P < 0.05$), AIH-PBC OS 患者血清中 IL-4 表达量水平显著高于健康对照组 ($P < 0.05$), PBC 患者血清中 IL-4 和 TGF β 1 表达量水平显著低于健康对照组 ($P < 0.05$). PBC 患者血清中 TGF β 1 表达量与 ALT ($r = -0.6301, P = 0.0135$)、AST ($r = -0.7443, P = 0.0030$) 呈显著负相关. 结果表明: IL-4 和 TGF β 1 在 AIH-PBC OS 患者和 PBC 患者血清中表达量差异 ($P < 0.05$) 和 TGF β 1 表达量与 AILD 患者肝功能指标间的相关性为筛选具有临床检验、诊断、治疗和预后监测意义的 AILD 相关细胞因子奠定了基础.

关键词: 细胞因子抗体芯片; 自身免疫性肝炎; 炎性因子; 肝功能

中图分类号: Q78 **文献标识码:** A **文章编号:** 0490-6756(2018)05-1103-06

Detection of serum cytokines of autoimmune liver disease patients by high throughput cytokine antibody microarray

ZHANG Mao¹, FANG Jun², WANG Zhi-Ying², ZHANG Jian-Bo², DONG Wei², CAO Mei^{1,2}

(1. School of Medicine, University of Electronic Science and Technology, Chengdu 610031, China;

2. Core Laboratory, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu 610072, China)

Abstract: The antibody microarray technique was used to detect the expression of 20 kinds of helper T cell-associated inflammatory cytokines in serum of 53 patients suffered with autoimmune liver disease (AILD). Combining with the clinical biochemical data of liver function to analyze the expression characteristics and differences in inflammatory factors in serum of patients with autoimmune liver disease (AILD). The results showed that the levels of IL-4 and TGF β 1 in serum of patients with AIH-PBC OS were significantly higher than those of PBC ($P < 0.05$), while the levels of IL-4 in serum of patients with AIH-PBC OS were significantly higher than that of healthy controls ($P < 0.05$). The levels of IL-4 and TGF β 1 in serum of PBC patients were significantly lower than those of healthy controls ($P < 0.05$). The level of TGF β 1 in serum of PBC patients was negatively correlated with ALT ($r = -0.6301, P = 0.0135$) and AST ($r = -0.7443, P = 0.0030$). Conclusion: the expression levels of IL-4 and TGF β 1 in the blood serum of AIH-PBC OS, PBC patients and the expression level of TGF β 1 was of favorable correlation with the liver function indexes of AILD patients, which indicates it is potential application in AILD screening, diagnosis, and prognosis.

Keywords: Cytokine antibody microarray; Autoimmune hepatitis; Inflammatory factor

收稿日期: 2017-11-17

基金项目: 四川省卫生和计划委员会基金(120092)

作者简介: 张茂(1992-), 男, 四川成都人, 硕士研究生在读, 研究方向生物医学工程.

通讯作者: 曹玫. E-mail: cm1023@163.com

1 引言

自身免疫性肝病(autoimmune liver diseases, AILD)是一组自身免疫反应过度激活而出现慢性肝胆系统炎症性及肝功能异常的疾病,起病多隐匿,发病早期症状无特异性,易进展为终末期肝病.主要包括以肝细胞损伤为主的自身免疫性肝炎(autoimmune hepatitis, AIH)、胆汁淤积为主的原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)及原发性硬化性胆管炎(primary sclerosing cholangitis, PSC)、重叠综合症(OS)^[1-3]等.自身反应性 T 细胞在 AILD 疾病进展中起主要作用.已有研究表明 Th17 以及 Th17 与 Treg 之间的平衡被打破似乎在各种自身免疫性疾病的发生发展中期起更重要的作用.然而抗原特异性 T 细胞在 AILD 患者体内激活与过度活化原因和确切机制目前仍不清楚.近年来 AILD 发病呈上升的趋势,尚无特效治疗,肝组织损伤过程中必然产生炎症反应^[4],因而抑制异常免疫反应乃是治疗的关键.进一步深入研究淋巴细胞相关炎症因子和临床指标之间关系有望成为 AILD 患者重建免疫系统的新靶点,并为 AILD 的临床治疗提供新的策略.

蛋白组学研究是继基因组学研究后的生命科学发展的一个大方向之一.蛋白组学研究中一个主要的内容就是要研究在不同生理状态或病理状态下蛋白水平的量变.微型化,集成化,高通量化的抗体芯片就是一个非常好的研究工具,它也是蛋白芯片中发展最快的芯片,而且在技术上已经日益成熟.由于机体中自身免疫性疾病发生发展是一个复杂的调控体系,而自身抗体以往由于研究技术的限制,往往只能同时研究一种或几种标志物,无法反映疾病整体的变化,而抗体芯片能对同一样本的几十种细胞因子表达水平进行高特异性和系统重现性的检测,因此进一步全面系统研究 AILD 相关细胞因子表达改变,找到用于 AILD 诊断与治疗相关的标志物是目前 AILD 的研究重点及临床亟待解决的问题.

本实验拟通过抗体芯片高通量筛选,对 AILD 患者血清中 Th 细胞相关因子表达的变化进行研究,以期筛选出更具代表性或典型性的分子标志物,以辅助 AILD 的诊断和预后的监测.

2 材料与方法

2.1 材料

2.1.1 临床资料 选择 2010 年 1 月至 2014 年 12 月在四川省人民医院收治并临床确诊的 53 例

自身免疫性肝病(AILD)患者,其中 AIH-PBC 重叠综合症患者(AIH-PBC OS)39 例,PBC 患者 14 例,同期健康志愿者 10 例作为对照组.

2.1.2 试剂与仪器 人 Th1/Th2/Th17 细胞定量抗体芯片试剂盒(QAH-TH17-1, RayBiotech Inc. 美国),Axon Genepix 荧光扫描仪,离心机等.

2.2 方法

2.2.1 诊断标准 AIH-PBC 重叠综合症(AIH-PBC OS)的诊断标准采用 2007 年的巴黎标准^[5]进行;如果 AIH 和 PBC 三项诊断标准中的各二项同时或者相继出现,即可做出诊断. AIH 的诊断标准采用 2010 年美国肝病学会(AASLD)推荐的评分标准^[6],AIH 的诊断基于相关的临床症状和体征、实验室检查异常(血清 AST 或 ALT,血清 IgG 或 γ 球蛋白升高)、血清自身抗体阳性(ANA、SMA、LKM-1 或 LC1)及组织学(界面性肝炎)等,同时须排除其他可导致慢性肝炎的疾病,包括病毒性、遗传性、代谢性、胆汁淤积性和药物性肝病等.对于临床、实验室、血清学或组织学表现不典型的病例建议应用 AIH 诊断评分系统进行评估. PBC 的诊断主要参照 2009 年欧洲肝病学会制定的指南进行^[7]:(1)有提示胆汁淤积的碱性磷酸酶(ALP) >2 倍正常值上线或 γ -谷氨酰转氨酶(GGT) >5 倍正常值上线;(2)血清抗线粒体抗体(AMA)AMA-M2 阳性;(3)肝活检组织病理学检查有特征性胆管损害.以上三项中符合两项者可确诊.

2.2.2 血清样品制备 抽取患者静脉血 3mL,3500 r/min 离心 10 min,分离血清,保存于 -80°C 检测备用

2.2.3 细胞因子抗体芯片检测 用封闭液 2 倍稀释血清后,抗体芯片每孔加入 100 μL 的血清稀释液,室温摇床孵育 30 min 后抽去每个孔中的缓冲液,添加 100 μL 的标准液和样品到各孔中,室温摇床培养 1~2 h 后抽去每个孔中的样本.用洗液 I 反复清洗 5 次,每次 5 min 室温摇床震荡,再抽去每个孔中的洗液 I,加入洗液 II 清洗 2 次,每次 5 min 室温摇床震荡,离心检测抗体混合物小管,加入 1.4mL 的样品稀释液,混匀后再次快速离心,添加 80 μL 的检测抗体至每个孔中,室温摇床孵育 1~2 h.抽去每个孔中的检测抗体,用洗液 I 反复清洗 5 次,期间每次 5 min 室温摇床震荡.离心 Cy3-链霉亲和素小管,加入 1.4 mL 的样品稀释液,混匀后快速离心,添加 80 μL 的 Cy3-链霉亲和素到每个孔中,用铝箔纸包住玻片避光孵育,室温摇床

上孵育 1h. 将玻片拆掉用洗液反复清洗后不盖盖子, 放置在玻片清洗管 1000 r/min 离心 3 min, 然后用 Axon GenePix 激光扫描仪扫描, 并采用 Ray-Biotech 配套的数据分析软件进行数据分析.

2.2.4 生物化学指标及特种蛋白的检测 肝功能指标: 总胆红素(TBIL)、直接胆红素(DBIL)、谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(ALP)、Y-谷氨酰转移酶(GGT); 球蛋白(GLB) 检测结果以病例报告查询结果为准.

2.2.5 统计学分析 采用 SAS 9.2 统计软件对数据进行分析和处理, 所有计量资料以均数±标准差表示, 计数资料比较采用一元非参数检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义. 正态分布数据的组间比较采用 t 检验; 非正态分布数据的组间比较采用 Wilcox-

on 秩和检验; 两组以上计量资料比较采用 Kruskal-Wallis 检验; 相关性分析采用 Spearman 相关分析. $P < 0.05$ 为差异有统计学意义.

3 结果分析

3.1 AILD 患者临床资料分析

53 例 AILD 患者中, 39 例为 AIH-PBC 重叠综合症患者, 男性 5 例, 女性 34 例, 年龄范围 20~79 岁, 平均年龄(53.03±16.04)岁, 14 例为 PBC 患者, 男性 6 例, 女性 8 例, 年龄范围 24~86 岁, 平均年龄(52.43±18.34)岁. 两组患者生化指标情况见表 1. 患者的年龄构成、性别构成等方面比较差异无统计学意义($P > 0.05$). 10 例健康人群, 男性 5 例, 女性 5 例, 平均年龄(39.00±8.19)岁.

表 1 AILD 患者临床生化指标比较

Tab. 1 Comparison of clinical biochemical indicators in AILD

Liver functions	AIH-PBC OS(n=39)	PBC(n=14)	Control group(n=10)	Chi-Square	P Value
TBIL(μ mol/L)	27.85 ± 29.59	30.04 ± 28.02	14.99 ± 4.48	$\chi^2=2.7806$	0.2490
DBIL(μ mol/L)	18.09 ± 28.40	12.28 ± 11.42	4.15 ± 1.33	$\chi^2=5.4932$	0.0641
ALT(U/L)	56.92 ± 59.97	85.79 ± 73.24	25.2 ± 23.40	$\chi^2=10303$	0.0047
AST(U/L)	68.50 ± 50.16	74.64 ± 30.06	24.3 ± 8.847	$\chi^2=16.1209$	0.0003
GGT(U/L)	303.27 ± 450.95	330.62 ± 328.58	17.5 ± 7.35	$\chi^2=17.7482$	0.0001
GLB(g/L)	35.04 ± 8.64	31.43 ± 6.67	27.83 ± 3.88	$\chi^2=11.8018$	0.0027

3.2 Th 细胞因子表达差异的比较

本研究中抗体芯片的细胞因子表达量统计结果见表 2.

表 2 Th1/Th2/Th17 细胞因子在 AILD 患者血清中的表达

Tab. 2 Expression of Th1/Th2/Th17 cytokines in serum of AILD patient

cytokines	AIH-PBC OS(n=39)	PBC(n=14)	Control group(n=10)	Chi-Square	P Value
GM-CSF	21.13 ± 49.08	4.94 ± 5.81	18.16 ± 18.48	$\chi^2=5.8902$	0.0526
IFN- γ	36.38 ± 93.60	15.48 ± 28.75	45.33 ± 61.12	$\chi^2=6.9319$	0.0312
IL-1 β	60.77 ± 231.60	20.77 ± 49.08	34.63 ± 59.84	$\chi^2=2.5358$	0.2814
IL-2	196.54 ± 373.46	69.2 ± 84.96	164.48 ± 126.64	$\chi^2=9.3364$	0.0094
IL-4	44.15 ± 126.42	7.59 ± 23.87	24.12 ± 40.58	$\chi^2=13.7736$	0.0010
IL-5	51.27 ± 105.38	5.78 ± 11.26	50.06 ± 84.24	$\chi^2=13.5498$	0.0011
IL-6	213.92 ± 267.28	66.98 ± 107.67	177.49 ± 192.66	$\chi^2=9.8928$	0.0071
IL-10	10.77 ± 14.90	2.68 ± 2.59	4.29 ± 2.49	$\chi^2=10.4024$	0.0055
IL-12p70	49.37 ± 106.21	8.65 ± 15.61	30.25 ± 56.92	$\chi^2=6.1859$	0.0454
IL-13	90.28 ± 119.79	25.18 ± 42.39	77.66 ± 88.65	$\chi^2=10.0461$	0.0066
IL-17	3.27 ± 6.30	1.22 ± 0.98	3.19 ± 1.93	$\chi^2=6.1934$	0.0452
IL-17F	348.91±1953.96	21.91 ± 23.70	446.57±1184.26	$\chi^2=6.7520$	0.0342
IL-21	1523.32±2961.79	842.75±478.13	1609±923.25	$\chi^2=5.5753$	0.0616
IL-22	2627.35±6785.27	917.42±1673.45	2114.12±3351.05	$\chi^2=3.1702$	0.2049
IL-23	644.76 ± 1908.60	249.62 ± 383.01	456.83 ± 544.31	$\chi^2=2.5580$	0.2783
IL-28A	7.85 ± 11.71	0.46 ± 0.98	35.67 ± 74.23	$\chi^2=16.3315$	0.0003
MIP-3a	7.22 ± 13.12	3.91 ± 5.09	2.15 ± 5.30	$\chi^2=10.1727$	0.0062
TGF β 1	1707.75±2732.90	284.51 ± 341.67	868.45 ± 686.17	$\chi^2=9.7334$	0.0077
TNF α	15.09 ± 26.28	8.07 ± 6.07	31.58 ± 26.60	$\chi^2=13.8051$	0.0010
TNF β	37.46 ± 51.95	8.45 ± 12.39	53.73 ± 64.46	$\chi^2=15.8076$	0.0004

其中 AIH-PBC 重叠综合症患者和 PBC 患者、健康对照组的 IL-4 表达量分别为 44.15 ± 126.42 、 7.58 ± 23.87 、 24.12 ± 40.58 , 组间差异具有统计学意义 ($\chi^2 = 13.7736, P = 0.0010$). AIH-PBC 重叠综合症患者和 PBC 患者两组 TGF β 2 的表达量的分

别为 4.26 ± 6.52 、 1.17 ± 1.92 , 组间差异具有统计学意义 ($Z = -2.3559, P = 0.0180$), PBC 患者和健康人群对照组两组 TGF β 1 表达量分别为 284.51 ± 341.67 、 868.45 ± 686.17 , 组间差异具有统计学意义 ($Z = 2.6171, P = 0.0154$), 见图 1.

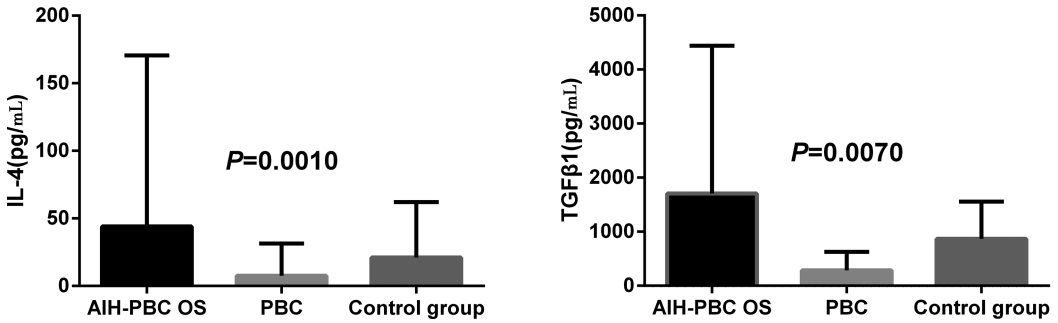


图 1 AIH-PBC 重叠综合症患者、PBC 患者和健康对照组 IL4 和 TGF β 1 浓度值的比较

Fig. 1 Comparison of concentration values of IL4 and TGF β 1 in patients with AIH-PBC OS, PBC and healthy control group

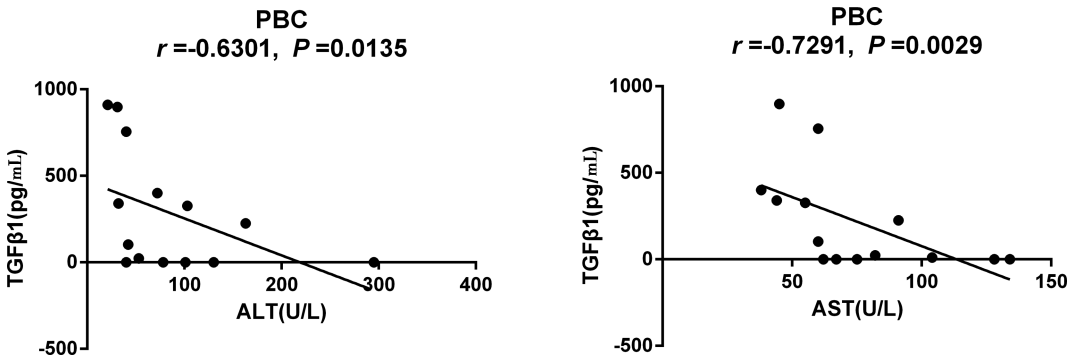


图 2 AIH-PBC 重叠综合症患者与 PBC 患者血清 TGF β 1 表达量与各肝功能指标的相关性分析

Fig. 2 The relationship between the expression level of TGF β 1 and liver function indicators in patients with AIH-PBC OS and PBC

The expression level of TGF β 1 were negatively correlated with ALT and AST level(PBC)

3.3 AIH-PBC 重叠综合症与 PBC 患者差异性表达炎症因子与患者肝功能的相关性分析

进一步分析 IL-4 和 TGF β 1 表达量与 AIH-PBC 重叠综合症患者与 PBC 患者肝功能生化指标的相关性, 结果见图 2. PBC 患者血清中 TGF β 1 表达量与 ALT ($r = -0.6301, P = 0.0135$)、AST ($r = -0.7443, P = 0.0030$) 呈显著负相关。

4 讨论

本研究结果显示 AIH-PBC 重叠综合症患者血清中 IL-4 和 TGF β 1 表达量水平较 PBC 组明显偏高, 说明 AIH 以正性免疫为主, AIH 患者处于高免疫反应状态, 细胞免疫增强明显. 在 AIH 中, Th1/Th2 介导的免疫调节失衡是导致炎症损伤发

生的主要原因^[8], IL-4 作为诱导 Th2 细胞分化的关键因子, 在 AIH-PBC 患者中呈现高表达状态, 同时只有 IL-4 能诱导 T 淋巴细胞 STAT6 的活化^[9], 通过 IL-4 与肝细胞表面的 II 型 IL-4 受体结合后, 使 JAK1 和 JAK3 磷酸化 IL-4Ra 和 IL-13Ra1 的部分酪氨酸残基, 进而募集并磷酸化 STAT6. 经活化的 STAT6 二聚体转移入细胞核上调 Eotaxins 表达^[10] (如图 3 所示). 因此, 有文献提示是否可以通过减少血液中 IL-4 含量, 从而降低 STAT6 的激活, 减少中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的募集达到缓解炎症的效果^[11]. 与此同时, 有文献报道^[12] 在鉴定新的 AIH 特异性抗原的过程中, 通过对 AIH 患者血清的蛋白质微阵列培养和扫描, 发现 6 种可以特异识别 AIH 血清的蛋白质, 其

中,IL-4 受体纤连蛋白Ⅲ型结构域受体(CD124)在淋巴细胞和肝细胞表面表达,AIH 患者血清表现出高度的敏感性(82%)和特异性(92%).同时发现,AIH 血清可以在体外抑制 IL-4 与 CD124 结合后引起的 STAT6 磷酸化.这些结果提示 IL-4 可能在 AIH 病程进展中发挥中和作用.但该报道并未阐明更为深入的胞内机制.本研究也表明 IL-4 在 AIH 患者血清中存在着较高的表达量,但在与病人肝功能指标进行相关性研究的时候发现 IL4 和肝功能之间并没有显著的相关性,这一差异的产生可能是由于研究方法差异、种属差异、体内外差异以及模型与真实疾病之间的差异等原因导致,解决这一争议尚须进一步对 IL4/SATA6 信号通路中相关机制进行研究.

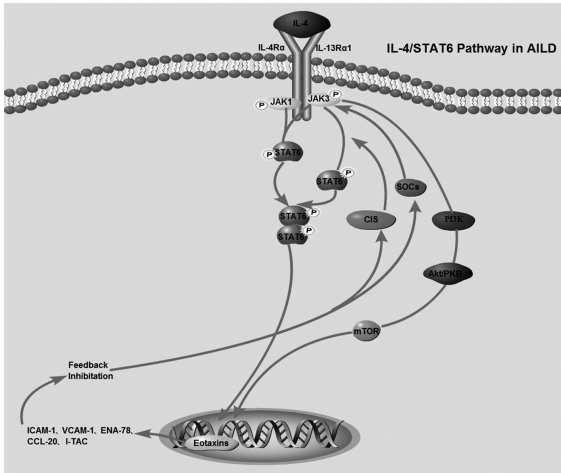


图 3 AIH 患者中 IL-4/SATA6 信号通路
Fig. 3 IL-4/SATA6 Pathway in AIH

TGFβ1 则是肝纤维化过程中的重要因子^[13],张会爱的研究表明自身免疫性肝病是与 Th17 细胞相关的自身免疫性疾病^[14],其在汇管区过量表达的 TGFβ1 可能通过促进 Th17 细胞的分化,分泌 IL-17 而进一步加重肝脏炎症.在肝脏组织中,TGFβ1 含量最高,生物活性也是最强,如图 4 所示,它的受体有 I、II、III 三种形式,伴随着肝功能异常,II 型受体胞外部分最先与 TGFβ1 结合使其胞内部分活化,再与 I 型受体结合使其磷酸化,并向细胞内传导生物信号.III 型受体本身缺少催化活性,但可以促进 I 型、II 型受体与配体的结合,进而促使 AILD 病程中的肝纤维化^[15].本研究显示在 AIH-PBC 重叠综合症患者血清中 TGFβ1 表达量水平较 PBC 组明显偏高,说明 Th17 / Treg 平衡紊乱可能是导致 AIH 发病的重要因素^[16],2015 年我国自身免疫性肝炎诊治专家共识展望^[17]中提及,抗原特异性的免疫调控细胞如 Treg 细胞和髓系免疫抑制细胞回输可能是具有前景的 AIH 治疗手段之一,而 PBC 患者血清中 TGFβ1 表达量与 ALT、AST 呈显著负相关,说明在病症活跃期时血清中 TGFβ1 量减少.不足的是,本研究只检测其在血清中的表达,是否与肝组织中其含量存在相关性还有待于进一步探讨.

综上所述,本研究表明,IL-4/SATA6 信号通路以及 Th17 / Treg 平衡紊乱可能是导致 AIH 患者肝脏自身免疫功能紊乱,诱导疾病发生的原因,在一定程度上差异性细胞因子的进一步研究有助于对 AIH 发病机理的进一步探讨,也能够指导临床上对 AIH 患者的及时诊断.然而目前此类研究尚少,未来仍需扩大样本量进一步验证,并进行细胞实验来直接加以验证.

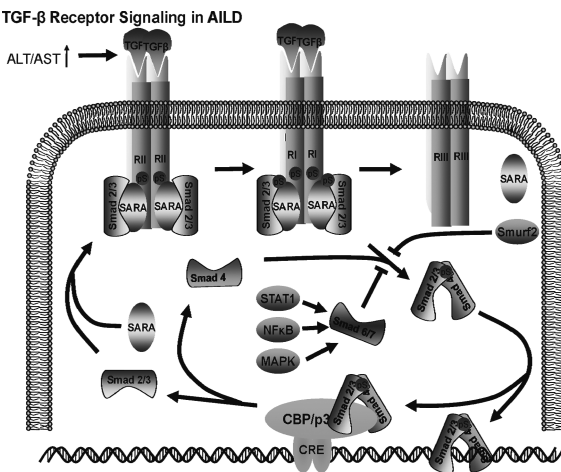


图 4 AILD 患者中 TGFβ1 信号通路
Fig. 4 TGFβ1 Receptor Signaling in AILD

参考文献:

[1] Ge J B, Xu Y J. Internal Medicine [M]. 8th edition. Beijing: Beijing People's Medical Publishing House, 2013; 412.
 [2] Jia J D. The basic concept of autoimmune liver disease and diagnosis thinking[J]. Chinese Journal of Hepatology, 2005, 13: 54.
 [3] Zhang M X, Chen J J, Lv J, et al. 29 cases of autoimmune liver disease clinical characteristics analysis [J]. Shandong Medical Journal, 2014, 54: 83.
 [4] 宿丹梅, 韩源平. 炎症因子在组织纤维化中介导组织型转谷氨酰胺酶的表达[J]. 四川大学学报: 自然

- 科学版, 2017, 54: 167.
- [5] Corpechot C, Chazouilleres O, Poupon R, *et al.* Biochemical response to ursodeoxycholic acid and long-term prognosis in primary cirrhosis[J]. *Hepatology*, 2008, 48: 871.
- [6] Manns M P, Czaja A J, Gorham J D, *et al.* Diagnosis and management of autoimmune hepatitis[J]. *Hepatology*, 2010, 51: 2193.
- [7] European Association for the study of the liver. EASL clinical practice guidelines: management of cholestatic liver diseases [J]. *J Hepatol*, 2009, 51: 237.
- [8] Lu L G, Zeng M D. *Cholestatic Liver Disease* [M]. Beijing: People's Medical Publishing House, 2007.
- [9] Ricardo-Gonzalez R R, Red E A, Odegaard J I, *et al.* IL-4/STAT6 immune axis regulates peripheral nutrient metabolism and insulin sensitivity [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 22617.
- [9] 王波, 李志, 邵思佳, 等. 自身免疫性肝病患者外周血 Th17 与 Treg 细胞及其相关因子表达的研究 [J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18: 1443.
- [10] Luzina G I, Keegan D A, Heller M N, *et al.* Regulation of inflammation by interleukin-4: a review of "alternatives" [J]. *J Leukoc Biol*, 2012, 92: 753.
- [11] Jaruga B, Hong F, Sun R, *et al.* Crucial role of IL-4/STAT6 in T cell-mediated hepatitis: up-regulating eotaxins and IL-5 and recruiting leukocytes [J]. *J Immunol*, 2003, 171: 3233.
- [12] Zingaretti C, Arigò M, Cardaci A, *et al.* Identification of new autoantigens by protein array indicates a role for IL-4 neutralization in autoimmune hepatitis [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11: 1885.
- [13] 李麟, 章明放, 王邦茂, 等. 不同类型自身免疫性肝病的组织学特征及 ER α 、TGF- β 1 表达的意义 [J]. *世界华人消化杂志*, 2011: 519.
- [14] 张会爱. 自身免疫性肝病 TGF- β 1 和 IL-17 的表达及意义 [D]. 天津: 天津医科大学, 2009.
- [15] 付珍珠, 郑婷, 张永生. TGF- β /Smad 信号转导通路与肝纤维化研究进展 [J]. *中国临床药理学与治疗学*, 2014, 19: 1189.
- [16] 王波, 李志, 邵思佳, 等. 自身免疫性肝病患者外周血 Th17 与 Treg 细胞及其相关因子表达的研究 [J]. *中国实验诊断学*, 2014, 18: 1443.
- [17] 马雄, 邱德凯. 自身免疫性肝炎诊断和治疗共识 [J]. *肝脏*, 2015, 21: 969.

引用本文格式:

中文: 张茂, 房俊, 张剑波, 等. 高通量抗体芯片研究 AILD 血清炎症因子表达特征 [J]. *四川大学学报: 自然科学版*, 2018, 55: 1103.

英文: Zhang M, Fang J, Wang Z Y, *et al.* Detection of serum cytokines of autoimmune liver disease patients by high throughput cytokine antibody microarray [J]. *J Sichuan Univ: Nat Sci Ed*, 2018, 55: 1103.