

· 论 著 ·

# 过表达 C3aR 人足细胞的构建及鉴定

郑敬民, 尹 广, 赵文紧, 刘志红

**[摘要]** **目的** 构建过表达 C3a 受体(C3aR)的肾小球足细胞株,为探讨 C3aR 在肾小球足细胞中的确切生理和病理意义提供细胞模型。**方法** 设计合成人 C3aR 表达单元,将其克隆到慢病毒表达载体 pLenti6. 3-MCS-IRES2-EGFP 的多克隆位点,构建成 C3aR 表达载体 pLenti6. 3-C3aR-IRES2-EGFP;将 pLenti6. 3-C3aR-IRES2-EGFP 和包装质粒共转染 293 T 细胞,包装成 C3aR 表达重组慢病毒 LV-C3aR;以 LV-C3aR 感染人肾小球足细胞系 HPC,根据 LV-C3aR 上带有杀稻瘟菌素抗性基因的特点,以杀稻瘟菌素筛选稳定转染细胞克隆;利用荧光定量 PCR 和细胞免疫化学分析方法对稳定转染细胞克隆的 C3aR 表达水平进行分析,从中鉴定出稳定过表达 C3aR 的人肾小球足细胞株。**结果** 成功构建了 C3aR 表达载体 pLenti6. 3-C3aR-IRES2-EGFP;得到了高滴度的 C3aR 表达重组慢病毒 LV-C3aR;成功构建了过表达 C3aR 的人肾小球足细胞株 HPC-C3aR。**结论** 成功构建 C3aR 表达载体和过表达 C3aR 的人肾小球足细胞株,为进一步研究 C3aR 过表达在人肾小球足细胞中的病理意义提供了很好的细胞模型,也为进一步开展 C3aR 在其他细胞中的生理、病理意义创造了条件。

**[关键词]** C3a 受体;慢病毒;肾小球足细胞;过表达

**[中图分类号]** R363.1 **[文献标志码]** A **doi:**10.3969/j.issn.1672-271X.2014.06.001

## Construction and identification of a human podocytes strain over-expressing C3aR

ZHENG Jing-min, YIN Guang, ZHAO Wen-Jin, LIU Zhi-hong. National Clinical Research Center of Kidney Diseases, Nanjing General Hospital of Nanjing Military Command, Nanjing, Jiangsu 210002, China

**[Abstract]** **Objective** To investigate the function and pathological significance of C3aR in the cells, in the present study, a podocytes strain over-expressing C3aR was constructed. **Methods** C3aR expression unit was designed, synthesized and then cloned into the multi-clonal site of pLenti6. 3-MCS-IRES2-EGFP, a lentivirus expression vector. After identification by sequencing, recombinant lentivirus was packaged by using pLenti6. 3-C3aR-IRES2-EGFP and packaging plasmid in 293T cells. Then, the recombinant lentivirus was used to infect HPC, a cell line of human glomerular podocytes. After screening in medium with blasticidin, blasticidin resistant cell clones were obtained and then identified by real-time PCR and immunochemical staining for the expression of C3aR. **Results** The C3aR expressing vector pLenti6. 3-C3aR-IRES2-EGFP was successfully constructed; The recombinant lentivirus LV-C3aR was successfully packaged; A Cell strain of glomerular podocytes over-expression C3aR was established. **Conclusion** The present study successfully constructed a C3aR expression vector pLenti6. 3-C3aR-IRES2-EGFP and a C3aR over-expression podocytes strain HPC-C3aR, which is very useful in further study of the function of C3aR not only in renal tubular epithelial cells, but also in other type of cells.

**[Key words]** C3aR; lentivirus; podocytes; over-expression

C3aR 是补体 C3 裂解产物 C3a 的受体。在各种途径的补体活化过程中, C3 被 C3 转化酶切割成 C3b(大片段)和 C3a(小片段)。C3b 进一步参与补体活化的级联反应, C3a 则被释放出来。长期以来, C3a 主要作为一种重要的促炎因子而为人们所认识<sup>[1-4]</sup>。通过激活其受体 C3aR, C3a 可趋化和激活白细胞,促进白细胞脱颗粒和分泌各种炎症因子。除此之外,近年来的研究表明, C3aR 也表达于包括脑、肝、肺、肾脏在内的多种器官中的组织细胞,且在不同的组织细胞和不同生理病理情景中, C3a/C3aR

轴表现出多种多样的重要功能<sup>[5-12]</sup>。比如:调节新生大鼠小脑皮层发育<sup>[6]</sup>;促进骨髓祖细胞分化为破骨细胞<sup>[10]</sup>;在肝中毒或部分切除后再生中抑制肝细胞凋亡,促进肝细胞增殖<sup>[7]</sup>;促进狼疮小鼠脑细胞凋亡<sup>[8]</sup>;在高糖高脂饮食下促进大鼠肥胖、脂肪组织炎症、胰岛素抵抗和心血管功能障碍的发生发展<sup>[11]</sup>等。在肾脏虽然仍存在一些争论<sup>[13]</sup>,有关 C3aR 在肾组织上皮细胞中的表达已有一些报道<sup>[14-19]</sup>,但有关肾组织 C3aR 的确切生理意义仍不清楚。在以往的工作中,我们发现 C3aR 在糖尿病肾病肾组织肾小球足细胞中表达上调,但其在糖尿病肾病中的病理意义未知。为此,本文设计构建了过表达 C3aR 的肾小球足细胞株 HPC-C3aR,以便为探讨 C3aR 在肾小球足细胞中的生理功能和病理

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81370828)

**作者单位:** 210002 江苏南京,南京军区南京总医院国家肾脏疾病临床医学研究中心,全军肾脏病研究所

意义提供细胞模型。

1 材料与方法

1.1 肾小球足细胞细胞系和相关实验试剂来源

肾小球足细胞系 HPC 由美国 ATCC 引进,现保存于我们实验室;1640 培养基、胎牛血清、胰岛素-转铁蛋白-硒 (insulin-transferrin-selenium, ITS) 均为美国 Gibco 公司产品;TRIZOL 试剂、凝聚胺 (polybrene) 和杀稻瘟菌素购自美国 invitrogen 公司;慢病毒表达载体 pLenti6.3-MCS-IRES2-EGFP/包装质粒 (packaging mix) 和 293 T 细胞由 Invitrogen 公司提供;逆转录试剂盒 (PrimeScript RT Master Mix) 和荧光定量 PCR 试剂盒 (SYBR Premix Ex Taq II) 购自 Tarkara 公司;C3aR 引物和 18S RNA 引物由金唯智生物科技有限公司合成。抗人 C3aR 抗体 (Anti-C3a Receptor antibody) 购自美国 abcom 公司;抗人 C3aR 抗体 (C3aR Antibody) 购自美国 SANTA CRUZ 公司;棘根过氧化物酶标记的二抗及显色试剂盒购自珠海市泉晖企业有限公司。

1.2 细胞实验方法

1.2.1 人肾小球足细胞系 HPC 的特性和培养

HPC 细胞是一种温度敏感型人肾小球足细胞系,采用含 10% 胎牛血清和 1% ITS 的 1640 培养基培养。当其处于 33 ℃ 时,可保持非分化状态而不断增殖;而当将温度升高到 37 ℃ 时,HPC 细胞就不再增殖而开始分化。故将 HPC 细胞置于 33 ℃ 含 5% CO<sub>2</sub> 的孵箱中进行增殖培养;而要使其分化时,将其转移至 37 ℃ 含 5% CO<sub>2</sub> 的孵箱中进行培养。

1.2.2 HPC 足细胞的基因转染和药物筛选 基因转染采用 33 ℃ 正在增殖生长的 HPC 细胞进行。基本过程为:转染前 1 d,将 HPC 细胞以 1 × 10<sup>5</sup>/孔的密度接种于 24 孔板。经 33 ℃,5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养 24 h 后,将含 C3aR 表达重组慢病毒的溶液冰上融解,按感染复数 (multiplicity of infection, MOI) 值为 10 的比例用培养液稀释病毒,并加入终浓度为 8 μg/mL 的凝聚胺,轻轻混匀后加入到细胞中。培养箱中孵育 6 h 后,换上新鲜的培养基继续置孵箱培养。24 h 后将细胞置荧光显微镜下观察,根据转染细胞能发出绿色荧光的特点判断转染是否成功。转染 48 h 后,消化细胞,以 1:5 的比例重新接种于细胞培养瓶,并加 10 μg/mL 的杀稻瘟菌素筛选稳定转染细胞,每 3 d 换液一次,持续筛选 14 d。

1.2.3 稳定转染单克隆细胞株的构建 采用连续稀释法进行。即在 1.2.2 方法基础上对稳定转染细胞悬液先进行计数定量,然后以培养液作连续的梯

度稀释,直至每毫升培养液中仅含约 5 个细胞,然后将其以 50 μL/孔、100 μL/孔或 200 μL/孔的接种量转接到 96 孔板。经 33 ℃,5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养 2 周后,显微镜下观察,找出单个克隆细胞,对其作扩大培养,得到稳定转染 C3aR 的单克隆细胞株。

1.2.4 细胞爬片制作 将对数生长期的细胞接种于盖玻片上,置于 33 ℃ 含 5% CO<sub>2</sub> 孵箱培养,待长至约 70% 融合时直接固定,或移至 37 ℃ 孵箱完成分化后 (约 12 d) 再进行固定。细胞固定采用 4% 多聚甲醛,基本过程为:吸去培养液,以 PBS 洗 3 遍后,加 4% 多聚甲醛固定 15 min, PBS 洗 3 遍后,以去离子水洗 3 遍,自然风干,置 -20 ℃ 冰箱保存备用。

1.3 细胞总 RNA 的提取和荧光定量 PCR 分析 细胞总 RNA 的提取采用 TRIZOL 试剂;cDNA 合成具体操作按试剂盒说明进行。荧光定量 PCR 分析按试剂盒说明进行,以 18S RNA 为内参于 ABI 公司的 7900 型荧光定量 PCR 仪上进行。PCR 扩增条件是 95 ℃ 1 min, 然后进行如下 40 循环:95 ℃ 15 s, 60 ℃ 30 s。所用引物序列见表 1。

表 1 荧光定量 PCR 分析所用引物序列

引物	序列 (5′-3′)
人 C3aR sense	tga agc ctt cag cta ctg tct cag
人 C3aR antisense	gga caa tga tgg agg gga tga g
人 18S RNA sense	ttt ctc gat tcc gtg ggt gg
人 18S RNA antisense	agc atg cca gag tct cgt tc

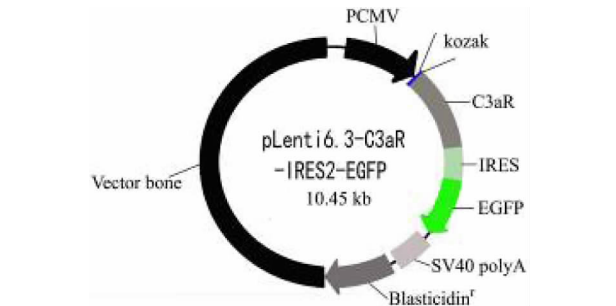
1.4 细胞免疫化学染色 免疫染色前,从冰箱中取出细胞爬片,使升至室温并风干,PBS 洗一遍后,以 0.5% Triton X-100 对细胞作透膜处理 5 min, 然后以 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> PBS 溶液浸泡细胞爬片 15 min 以灭活内源性过氧化物酶,然后以 3% BSA 封阻 30 min,以抗人 C3aR 抗体孵育 2 h, PBS 洗 3 遍 (每遍 5 min) 后,加棘根过氧化物酶标记的二抗孵育 20 min, PBS 洗 3 遍 (每遍 5 min) 后,加底物显色,最后以苏木素复染 45 s,脱水、透明、封片观察。

1.5 统计学处理 采用 SPSS 10.0 软件进行统计分析。定量数据以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,组间两两比较采用 *t* 检验;定性指标以百分率 (%) 表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验;以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 研究结果

2.1 C3aR 慢病毒表达载体的结构、鉴定和重组慢病毒包装结果 图 1 所示的是本文设计的 C3aR 慢

病毒表达载体的结构示意图。整个表达载体除载体骨架序列 (vector bone) 外,有一个 CMV 启动子, C3aR 基因就位于其下游,同时,为方便 C3aR mRNA 的翻译,本文在 C3aR 编码序列与 CMV 启动子之间插入了一 Kozak 序列 (GCCACC);而为了便于了解转基因 C3aR 的表达情况,在 C3aR 的下游有一报告基因——绿色荧光蛋白基因 EGFP,EGFP 基因与 C3aR 基因通过内核糖体进入序列 (internal ribosome entry site,IRES) 相连。此外,在载体上还有一杀稻瘟菌素抗性基因 Blasticidin 的表达单元,以便于稳定转染细胞系的筛选。



PCMV: CMV 启动子; kozak: kozak 序列 (GCCACC); C3aR: C3aR 基因; IRES2: 内核糖体进入序列; EGFP: 绿色荧光蛋白基因; Blasticidin<sup>r</sup>: 杀稻瘟菌素抗性基因; vector bone: 载体骨架序列

图 1 C3aR 慢病毒表达载体

pLenti6.3-C3aR-IRES2-EGFP 结构示意图

对于构建成的 C3aR 慢病毒表达载体 pLenti6.3-C3aR-IRES2-EGFP,亦对其进行了全序列测序验证,测序结果显示所构建的表达载体的序列与本文预先设计的完全一致,说明 C3aR 慢病毒表达载体构建成功,图 2 所示的是部分测序结果。

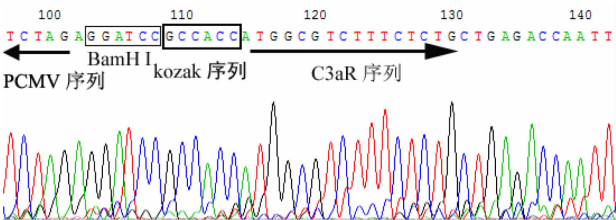
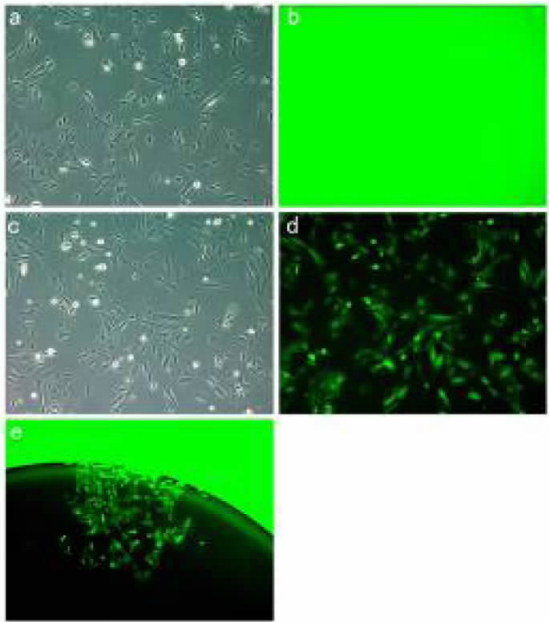


图 2 C3aR 慢病毒表达载体 pLenti6.3-C3aR-IRES2-EGFP 的部分测序结果 (示 C3aR 基因 5' 端插入点周围的测序结果)

以构建的 C3aR 慢病毒表达载体和包装质粒 (pLP1,pLP2 和 pLP/VSVG) 转染 293 T 细胞,48 h 后收集细胞培养上清,经分级离心和滴度测定,最后本文得到了滴度约为  $5 \times 10^8$ /mL 的慢病毒液。

2.2 HPC 细胞慢病毒转染及稳定转染细胞株的筛选结果 将 C3aR 重组慢病毒转染人肾小球足细胞 HPC,24 h 后,荧光显微镜下即可观察到绿色荧光蛋白的表达。至转染后 48 h,转染细胞内的绿色荧光蛋白表达更强。为了获得稳定转染的细胞株,将细胞消化重新铺板,同时根据 C3aR 慢病毒表达载体中带有杀稻瘟菌素抗性基因的特点,于细胞培养基中加入杀稻瘟菌素以杀死除稳定转染以外的其他细胞。经过 2 个星期的连续加药筛选,得到了稳定转染 C3aR 重组慢病毒的细胞,荧光显微镜下可见每个细胞均发出较强的绿色荧光 (图 3 中 d,c 为与 d 同一视野下的可见光照片);与此相比,非转染细胞则看不到细胞发出绿色荧光 (图 3 中 b,a 为与 b 同一视野下的可见光照片)。在此基础上,利用连续稀释方法,进一步筛选出了稳定转染 C3aR 重组慢病毒的细胞克隆 (图 3 中 e,其中的每个细胞均发出较强的绿色荧光),进而构建成了稳定转染细胞株 HPC-C3aR。

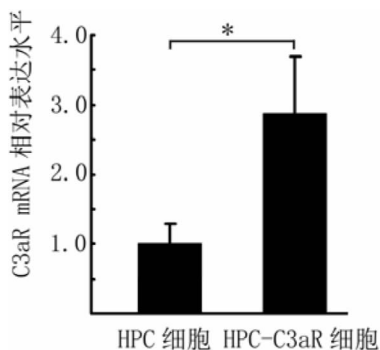


a 和 b 示非转染对照细胞 (×100);c 和 d 示稳定转染细胞 (×100);e 示稳定转染了重组病毒的 HPC 细胞克隆 (×40)

图 3 稳定转染 C3aR 重组慢病毒的 HPC 细胞株的构建 (荧光蛋白的表达)

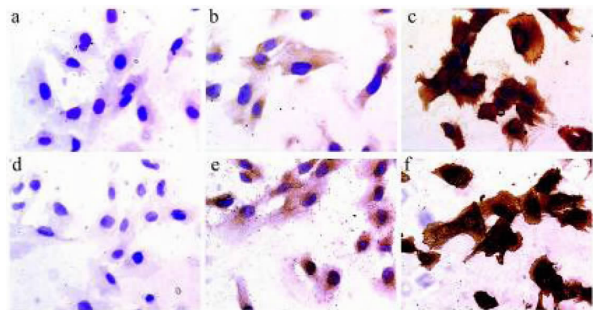
2.3 HPC-C3aR 细胞株中 C3aR 的表达分析结果 图 4 所示的是利用荧光定量 PCR 方法对 HPC-C3aR 细胞株中 C3aR mRNA 表达水平的分析结果。与作为对照的正常 (非转染) HPC 细胞相比,HPC-C3aR 细胞株中 C3aR mRNA 表达水平显著升高 ( $P <$

0.05)。利用细胞免疫化学方法,本文进一步对 HPC-C3aR 细胞中 C3aR 的蛋白表达水平进行了分析。为了确保结果的可靠性,同时采用了分别针对 C3aR 不同位点的两种商品化了的抗人 C3aR 抗体,即针对 C3aR 的 N 端抗原决定簇的抗人 C3aR 抗体(abcom 公司),针对 C3aR 的 C 端抗原决定簇的抗人 C3aR 抗体(SANTA CRUZ 公司)进行分析。基于两种不同来源的 C3aR 抗体的免疫化学染色结果均显示(图 5),与作为对照的未转染 HPC 细胞相比,HPC-C3aR 细胞株针对 C3aR 的免疫染色明显要强得多,说明 HPC-C3aR 细胞株中 C3aR 蛋白水平明显高于未转染的 HPC 细胞。



与 HPC 细胞相比, \*  $P < 0.05$

图 4 荧光定量 PCR 分析结果显示



a 和 d 为阴性对照;b 和 e 为 HPC 对照细胞(未转染);c 和 f 为 HPC-C3aR 细胞株。a-c 为同一种 C3aR 抗体(来自 abcom 公司的针对 C3aR N 端的多克隆抗体)染色结果;d-f 为另一种 C3aR 抗体(来自 SANTA CRUZ 公司的针对 C3aR C 端的多克隆抗体)的染色结果

图 5 C3aR 免疫化学染色结果

### 3 讨论

作为先天性免疫的一个重要组成部分,补体系统在机体的免疫防御中具有重要作用<sup>[20-22]</sup>,但补体系统的不当激活也会造成组织损伤。已有研究表明,补体系统参与了包括肾脏病在内的多种人类疾

病的病理过程<sup>[23-25]</sup>。补体系统主要通过三条途径即经典途径、旁路途径和甘露聚糖结合凝集素途径(mannan-binding lectin, MBL)被激活。而 C3 转化酶的形成是三条补体活化通路的汇聚点。C3 转化酶可催化补体 C3 的裂解(C3 被切割成 C3a 和 C3b),从而启动补体活化的链式激活过程,最终导致膜攻击复合物的形成、病原体的消灭或病变细胞的裂解。长期以来,人们对补体系统功能的关注更多的是集中于膜攻击复合物的效应。但在补体的链式激活过程中,同时产生了包括 C3a、C4a 和 C5a 在内的小片段分子,对于这些补体小分子的功能,已有的研究远没有搞清楚。作为一种重要的促炎因子,C3a 可通过与其受体 C3aR 的作用趋化和激活白细胞,促进白细胞脱颗粒和分泌各种炎症因子。但近年来的研究表明<sup>[26]</sup>,C3aR 还表达于多种非免疫细胞,且在不同生理病理状态的组织细胞中表现出了多种多样的功能。作为一个重要的 G 蛋白偶联受体家族成员,C3aR 在非免疫细胞中的功能非常值得关注。

在前面的研究<sup>[27]</sup>中,我们发现 C3aR 在糖尿病肾病肾小球足细胞中高表达并与糖尿病肾病的病理进程具有相关性。作为肾小球滤过屏障的最重要组成部分,足细胞的正常结构和功能的维持直接关系到肾小球的滤过功能。足细胞损伤是包括糖尿病肾病在内的多种肾脏疾病的重要病理基础。C3aR 在肾小球足细胞中的生理功能,其高表达对于足细胞结构和功能的改变和糖尿病肾病的发生和发展的病理意义等均未明确。为了探讨这些问题,本文成功构建了 C3aR 慢病毒表达载体 pLenti6.3-C3aR-IRES2-EGFP,并成功将其包装成了 C3aR 重组慢病毒。通过病毒感染试验,证实了所构建的 C3aR 重组慢病毒的可靠性,同时得到了过表达 C3aR 的肾小球足细胞株 HPC-C3aR。这项工作不仅为进一步研究 C3aR 过表达在人肾小球足细胞中的生理功能和病理意义提供了很好的细胞模型,也为进一步开展 C3aR 在其他细胞中的生理、病理意义创造了条件,从已查阅的国内外文献来看,尚未见过表达 C3aR 肾小球足细胞株的报道。此外,需要特别指出的是,虽然已有一些文献证明 C3aR 也表达于包括脑、肝、肺、肾脏在内的多种器官中的组织细胞,但对于 C3aR 是否真的能在非骨髓源性细胞中的表达仍存在一些争论<sup>[13]</sup>。而从本文查阅的文献来看,仅 Braun 等<sup>[12]</sup>曾报道,免疫组化分析显示肾小球足细胞表达 C3aR,但随后即遭到了一些研究者的质疑,认为可能是抗体的非特异性结合所致<sup>[13]</sup>。为此,



本文同时采用了荧光定量 PCR 和细胞免疫化学方法从 mRNA 水平和蛋白质水平对肾小球足细胞系 HPC 中 C3aR 的表达情况进行了分析,而为了避免抗体方面的问题,特意采用了分别来自不同厂家针对 C3aR 不同区段(不同抗原决定簇)的两种抗体。分析结果显示:HPC 细胞系和 HPC-C3aR 细胞株中的 C3aR mRNA 表达水平与其蛋白质表达水平相一致;分别针对 C3aR 不同区段的两种抗体的免疫化学染色结果相一致。这不仅证明本文成功构建了过表达 C3aR 的足细胞株,也证明体外培养的人肾小球足细胞确实表达 C3aR。

# 【参考文献】

- [1] Mueller-Ortiz SL, Morales JE, Wetsel RA. The receptor for the complement C3a anaphylatoxin (C3aR) provides host protection against listeria monocytogenes-induced apoptosis[J]. J Immunol, 2014, 193(3): 1278-1289.
- [2] Niebuhr M, Bäumer W, Kietzmann M, et al. Participation of complement 3a receptor (C3aR) in the sensitization phase of Th2 mediated allergic contact dermatitis[J]. Exp Dermatol, 2012, 21(1): 52-56.
- [3] Bao L, Wang Y, Haas M, et al. Distinct roles for C3a and C5a in complement-induced tubulointerstitial injury [J]. Kidney Int, 2011, 80(5): 524-534.
- [4] Zhou W. The new face of anaphylatoxins in immune regulation[J]. Immunobiology, 2012, 217(2): 225-234.
- [5] Carmona-Fontaine C, Theveneau E, Tzekou A, et al. Complement fragment C3a controls mutual cell attraction during collective cell migration[J]. Dev Cell, 2011, 21(6): 1026-1037.
- [6] Bénard M, Raoult E, Vaudry D, et al. Role of complement anaphylatoxin receptors (C3aR, C5aR) in the development of the rat cerebellum[J]. Mol Immunol, 2008, 45(14): 3767-3774.
- [7] Xu XH, Peng HS, Sun MQ, et al. C-terminal peptide of anaphylatoxin C3a enhances hepatic function after steatotic liver transplantation: a study in a rat model[J]. Transplant Proc, 2010, 42(3): 737-740.
- [8] Jacob A, Bao L, Brorson J, et al. C3aR inhibition reduces neurodegeneration in experimental lupus[J]. Lupus, 2010, 19(1): 73-82.
- [9] Yu M, Zou W, Peachey NS, et al. A novel role of complement in retinal degeneration [J]. Invest Ophthalmol Vis Sci, 2012, 53(12): 7684-7692.
- [10] Tu Z, Bu H, Dennis JE, et al. Efficient osteoclast differentiation requires local complement activation[J]. Blood, 2010, 116(22): 4456-4463.
- [11] Lim J, Iyer A, Suen JY, et al. C5aR and C3aR antagonists each inhibit diet-induced obesity, metabolic dysfunction, and adipocyte and macrophage signaling[J]. FASEB J, 2013, 27(2): 822-831.

- [12] Braun MC, Reins RY, Li TB, et al. Renal expression of the C3a receptor and functional responses of primary human proximal tubular epithelial cells[J]. J Immunol, 2004, 173(6): 4190-4196.
- [13] Tschernig T1, Kiafard Z, Dibbert C, et al. Use of monoclonal antibodies to assess expression of anaphylatoxin receptors in rat and murine models of lung inflammation [J]. Exp Toxicol Pathol, 2007, 58(6): 419-425.
- [14] Braun MC, Reins RY, Li TB, et al. Renal expression of the C3a receptor and functional responses of primary human proximal tubular epithelial cells[J]. J Immunol, 2004, 173(6): 4190-4196.
- [15] Bao L, Osawe I, Haas M, et al. Signaling through up-regulated C3a receptor is key to the development of experimental lupus nephritis[J]. J Immunol, 2005, 175(3): 1947-1955.
- [16] Mizuno M, Blanchin S, Gasque P, et al. High levels of complement C3a receptor in the glomeruli in lupus nephritis[J]. Am J Kidney Dis, 2007, 49(5): 598-606.
- [17] Tang Z, Lu B, Hatch E, et al. C3a mediates epithelial-to-mesenchymal transition in proteinuric nephropathy[J]. J Am Soc Nephrol, 2009, 20(3): 593-603.
- [18] Bao L, Wang Y, Haas M, et al. Distinct roles for C3a and C5a in complement-induced tubulointerstitial injury [J]. Kidney Int, 2011, 80(5): 524-534.
- [19] Peng Q, Li K, Smyth LA, et al. C3a and C5a promote renal ischemia-reperfusion injury [J]. J Am Soc Nephrol, 2012, 23(9): 1474-1485.
- [20] 胡金川, 田亚平, 江朝光, 等. 红细胞补体受体 1 分子水平及其基因单核苷酸多态性与系统性红斑狼疮的关联研究[J]. 医学研究生学报, 2013, 26(7): 729-733.
- [21] 郑敬民, 尹广, 姚根宏, 等. 肾病患者肾组织补体活化与肥大细胞滑润的关系研究[J]. 医学研究生学报, 2012, 25(10): 1040-1044.
- [22] 甘燕玲, 杨至宜, 孙朝晖, 等. 快速 CRP 检测对儿童上呼吸道感染鉴别诊断价值[J]. 华南国防医学杂志, 2011, 25(3): 264-265.
- [23] 陈金弟, 王智华, 李华良, 等. 抗脑抗体对精神分裂症自身免疫反应的探讨[J]. 东南国防医药, 2004, 6(3): 171-172.
- [24] 任红旗, 吴梅月, 蔡青, 等. 肾淀粉样变性 10 例临床病理分析[J]. 东南国防医药, 2011, 13(4): 348-349.
- [25] Takano T1, Elimam H, Cybulsky AV. Complement-mediated cellular injury[J]. Semin Nephrol, 2013, 33(6): 586-601.
- [26] Klos A1, Wende E, Wareham KJ, et al. International Union of Basic and Clinical Pharmacology. [corrected]. LXXXVII. Complement peptide C5a, C4a, and C3a receptors [J]. Pharmacol Rev, 2013, 65(1): 500-543.
- [27] 郑敬民, 朱小东, 张明超, 等. 过敏毒素受体(C3aR)在 db/db 糖尿病肾病小鼠肾脏中的表达及病理意义分析[J]. 生物化学与生物物理进展, 2010, 37(8): 847-845.

(收稿日期:2014-08-15;修回日期:2014-09-12)

(本文编辑:张仲书; 英文编辑:王建东)