

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2311151

论著·临床研究

运用尿蛋白组学技术探索凝血酶与炎症因子 相互作用参与IgA血管炎发病的机制

刘萌萌^{1,2} 侯改灵^{1,2} 杨晓青² 张秋爽² 梅晓峰² 丁樱^{1,2} 宋兰³ 黄岩杰^{1,4}

(1.河南中医药大学儿科医学院,河南郑州 450046; 2.河南中医药大学第一附属医院儿科医院,河南郑州 450046; 3.北京蛋白质组学研究中心,北京 102206; 4.上海市儿童医院/上海交通大学医学院附属儿童医院中医科,上海 200062)

[摘要] **目的** 运用蛋白质组学方法探索高凝状态参与IgA血管炎(IgA vasculitis, IgAV)发病的证据、尿生物标志物及部分机制。**方法** 采用高效液相色谱-串联质谱技术筛选10例正常儿童和10例IgAV患儿尿液中差异表达的蛋白,进行Reactome通路分析。运用STRING和Cytoscape软件进行蛋白质-蛋白质相互作用(protein-protein interaction, PPI)网络分析。在验证队列中,纳入15例正常儿童和25例IgAV患儿,采用酶联免疫吸附测定方法验证尿液差异蛋白的表达水平。**结果** IgAV患儿与正常组之间共筛选出772个差异蛋白(上调蛋白768个,下调蛋白4个)。Reactome通路富集结果显示中性粒细胞脱颗粒、血小板活化及止血通路参与IgAV的发生。差异蛋白中巨噬细胞迁移抑制因子(macrophage migration inhibitory factor, MIF)在中性粒细胞脱颗粒和止血过程中起着重要作用,凝血酶是参与血小板活化和止血通路的关键蛋白。PPI分析结果显示,凝血酶与多种参与炎症反应的差异蛋白具有直接作用,并通过它们与MIF相互作用。验证结果显示,与正常儿童相比,IgAV患儿尿凝血酶/肌酐、尿MIF/肌酐水平均显著升高($P<0.05$)。**结论** 凝血酶通过与炎症因子相互作用参与IgAV的发病;尿凝血酶和MIF可作为反映IgAV患儿高凝与炎症状态的生物标志物。

[中国当代儿科杂志, 2024, 26(7): 683-689]

[关键词] IgA血管炎; 蛋白质组学; 凝血酶; 高凝; 炎症; 儿童

Exploring the mechanism of IgA vasculitis pathogenesis through the interaction of thrombin and inflammatory factors using urinary proteomics

LIU Meng-Meng, HOU Gai-Ling, YANG Xiao-Qing, ZHANG Qiu-Shuang, MEI Xiao-Feng, DING Ying, SONG Lan, HUANG Yan-Jie. College of Pediatrics, Henan University of Chinese Medicine, Zhengzhou 450046, China (Huang Y-J, Email: huangyanjie69@163.com)

Abstract: Objective To explore the evidence, urinary biomarkers, and partial mechanisms of hypercoagulability in the pathogenesis of IgA vasculitis (IgAV). **Methods** Differential expression of proteins in the urine of 10 healthy children and 10 children with IgAV was screened using high-performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry, followed by Reactome pathway analysis. Protein-protein interaction (PPI) network analysis was conducted using STRING and Cytoscape software. In the validation cohort, 15 healthy children and 25 children with IgAV were included, and the expression levels of differential urinary proteins were verified using enzyme-linked immunosorbent assay. **Results** A total of 772 differential proteins were identified between the IgAV group and the control group, with 768 upregulated and 4 downregulated. Reactome pathway enrichment results showed that neutrophil degranulation, platelet activation, and hemostasis pathways were involved in the pathogenesis of IgAV. Among the differential proteins,

[收稿日期] 2023-11-30; [接受日期] 2024-05-30

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82174187); 中原科技创新领军人才项目(234200510028); 河南省中医药学科领军人才项目([2021] No. 8); 河南省卫生健康委国家中医临床研究基地科研专项(2022JDZX014); 河南省特色骨干学科中医学学科建设项目(STG-ZYXKY-2020008)。

[作者简介] 刘萌萌,女,硕士研究生。

[通信作者] 黄岩杰,女,主任医师,教授。Email: huangyanjie69@163.com。

macrophage migration inhibitory factor (MIF) played a significant role in neutrophil degranulation and hemostasis, while thrombin was a key protein in platelet activation and hemostasis pathways. PPI analysis indicated that thrombin directly interacted with several proteins involved in inflammatory responses, and these interactions involved MIF. Validation results showed that compared to healthy children, children with IgAV had significantly higher urine thrombin/creatinine and urine MIF/creatinine levels ($P < 0.05$). **Conclusions** Thrombin contributes to the pathogenesis of IgAV through interactions with inflammatory factors. Urinary thrombin and MIF can serve as biomarkers reflecting the hypercoagulable and inflammatory states in children with IgAV.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2024, 26(7): 683-689]

Key words: IgA vasculitis; Proteomics; Thrombin; Hypercoagulability; Inflammation; Child

IgA 血管炎 (IgA vasculitis, IgAV) 又称为过敏性紫癜, 是由于血管壁内 IgA 免疫复合物沉积引起的全身小血管炎综合征。IgAV 在世界范围内发病率为 0.1%~0.3%, 其中 <10 岁儿童为主要发病人群^[1]。研究表明, 在 IgAV 急性期, 血清 IgA 免疫复合物水平升高, 且这些 IgA 免疫复合物与循环中的多形核中性粒细胞的结合增加。双下肢有出血点患者的皮肤组织活检提示内皮细胞附近伴有中性粒细胞外陷和 IgA 包裹的多形核中性粒细胞^[2]。IgA 免疫复合物沉积于毛细血管内, 可激活多种炎性细胞释放细胞因子^[3-5]。细胞因子可使组织因子暴露在循环血液中^[6-7], 激活外源性凝血途径, 使凝血酶原转化为活性凝血酶^[8]。有研究表明, IgAV 患儿尿凝血酶水平高于健康对照组^[9]。上述研究提示 IgAV 患者存在高凝状态, 但是目前尚缺乏依据蛋白质组学技术探讨高凝与炎症共同参与 IgAV 发病机制的相关研究。因此, 本研究运用蛋白质组学技术, 筛选 IgAV 患儿与正常儿童之间的尿液差异蛋白, 并通过生物信息学方法, 探索高凝和炎症参与 IgAV 发病的相关通路, 进一步运用酶联免疫吸附测定 (enzyme-linked

immunosorbent assay, ELISA) 方法验证凝血和炎症通路的关键蛋白在 IgAV 患儿尿液中的表达水平。

1 资料与方法

1.1 研究对象

本研究首先纳入 2017 年 9—11 月在河南中医药大学第一附属医院儿科肾病区住院的 10 例 IgAV 患儿和 10 例在该院体检的健康儿童作为发现队列, 留取晨尿标本, 送至北京蛋白质组学研究中心筛选差异蛋白。为进一步验证筛选的关键差异蛋白, 本研究纳入 2020 年 10 月—2022 年 10 月在河南中医药大学第一附属医院住院的 25 例 IgAV 患儿和 15 例健康体检儿童作为验证队列, 留取晨尿标本, 2 000 r/min 离心 10 min。研究对象的基本信息见表 1。发现队列健康儿童 (正常组) 与 IgAV 患儿 (IgAV 组) 年龄、性别、体重的比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 验证队列健康儿童 (正常组) 与 IgAV 患儿 (IgAV 组) 这些基本信息的比较差异也无统计学意义 ($P > 0.05$)。该研究已获得河南中医药大学第一附属医院伦理委员会的批准 (2016HL-049、2019HL-009-01)。

表 1 入组儿童基本信息

队列	例数	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	性别 (男/女, 例)	体重 ($\bar{x} \pm s$, kg)	单纯紫癜 (例)	紫癜伴腹痛 (例)	紫癜伴 关节痛 (例)	紫癜伴腹痛及 关节痛 (例)
发现队列								
正常组	10	7.6 ± 3.5	6/4	27 ± 8	0	0	0	0
IgAV 组	10	8.3 ± 3.4	7/3	28 ± 10	2	0	6	2
t/χ^2 值		0.458		0.206				
P 值		0.592	1.000 [#]	0.762				
验证队列								
正常组	15	7.7 ± 2.6	7/8	27 ± 8	0	0	0	0
IgAV 组	25	8.7 ± 2.6	13/12	29 ± 7	14	3	4	4
t/χ^2 值		1.101	0.107	0.687				
P 值		0.278	0.744	0.496				

注: [IgAV] IgA 血管炎。[#]采用 Fisher 确切概率法。

1.2 纳入标准与排除标准

IgAV的诊断参照《儿童过敏性紫癜循证诊治建议》^[10]：(1) 可触性皮炎；(2) 弥漫性腹痛；(3) 组织学检查发现以IgA免疫复合物沉积为主的白细胞碎裂性血管炎；(4) 关节炎/关节痛。如存在第1条，并满足2~4中的任意一条，即可做出诊断。

IgAV组纳入标准：(1) 符合上述IgAV诊断标准，且年龄4~18岁；(2) IgAV病程≤1个月，留取尿标本前未予糖皮质激素和免疫抑制剂治疗；(3) IgAV不伴有肾脏病变。

IgAV组排除标准：严重心肺疾病、肝肾功能异常；合并遗传性肾脏疾病、凝血障碍引起的出血性疾病。

健康人群（正常组）是指体检中血、尿常规和肝肾功能检查均未见异常的儿童。

1.3 尿蛋白质组学方法

1.3.1 蛋白制备和高效液相色谱-串联质谱技术分析

制备尿液样本的方法及高效液相色谱-串联质谱技术 (liquid chromatography-tandem mass spectrometry, LC-MS/MS) 分析参考文献 [11-12]。简言之，对发现队列尿液样品进行超速离心 (4℃, 40 000 r/min, 离心 60 min)，然后加热悬浮液以将蛋白质裂解成多肽。采用 Q Exactive HF-X 质谱仪 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 分析提取的肽。使用 UltiMate 3000 RSLCnano 系统 (Thermo Fisher Scientific, 美国) 在分析柱 (150 μm × 10 cm) 上进行梯度分离，设置 5%~35% 的流动相 B (含 0.08% 甲酸和 80% 乙腈的水溶液) 液相梯度，时间 40 min，流速维持在 800 nL/min。然后在 Q Exactive HF-X 质谱仪上以数据相关采集模式进行串联质谱分析。

1.3.2 蛋白质鉴定与无标记定量

MS 数据在 Firmiana 平台上进行处理。使用 MASCOT 搜索引擎 (Matrix Science, 版本 2.3.01)，从 NCBI 人类 RefSeq 蛋白质数据库 (2013 年 7 月 4 日发布，32 015 条条目，<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/refseq/>) 中鉴定蛋白质。前体离子的质量容限设定为 20 ppm，产物离子的质量容限设定为 0.05。胰蛋白酶消化过程中，最多允许有一个缺失的切割位点。N 端乙酰化和蛋氨酸氧化被认为是动态修饰。通过搜索数据库估计肽和蛋白质水平，允许 1% 的假阳性率。只保留了 ≥2 严格的多肽 (离子得分 > 20) 用于后续分析。使用基于 intensity 强度值 (intensity-based absolute-protein-quantification, iBAQ) 算法进行蛋白质定量。为了校正上样量引起的差异，我们使用了

基于总和的归一化方法，即将每个蛋白质的 iBAQ 值除以样本的 iBAQ 总值，转换为 FOT (fraction of total)，然后将 FOT 值乘以 10⁵ 获得 iFOT 数值，以便可视化低丰度蛋白。所有缺失的值都用零代替。

1.4 差异表达蛋白 Reactome 通路分析和网络互作分析

运用 Reactome 网站 (<http://www.reactome.org/>) 对差异蛋白进行通路富集分析。差异表达蛋白之间的相互作用 (protein-protein interaction, PPI) 由 STRING (<https://string-db.org/>) 数据库预测，为了寻找更多潜在的相互作用，选择分数 > 0.4 的中等置信度。然后使用 Cytoscape v3.9.1 对数据进行可视化。

1.5 ELISA 方法检测尿凝血酶和 MIF

采用市售人凝血酶 ELISA Kit (CUSABIO, CSB-E14235h, 中国) 和人 MIF ELISA Kit (联科生物, 70-EK1158-48, 中国) 检测尿液中的凝血酶和 MIF，实验方法按照试剂盒说明书操作。使用 BA400 全自动特定蛋白分析仪 (西班牙, Biosystems S.A 公司) 检测尿肌酐 (creatinine, Cr)。尿 Cr 试剂盒购自西班牙 Biosystemms S.A 公司。测得的尿凝血酶和 MIF 需与尿 Cr 相比进行校准。

1.6 统计学分析

IgAV 患儿尿液的差异表达蛋白通过倍数分析结合 Mann-Whitney *U* 检验进行鉴定，差异倍数 (fold change) > 2 或 < 0.5，且 *P* < 0.05 的所测蛋白质定义为差异蛋白。使用带有 python 的 scipy (1.4.1 版) 软件包进行统计学分析。运用 Graphpad prism 9.0 软件对验证队列的数据进行统计分析。使用卡方检验或 Fisher 确切概率法分析组间性别之间的差异。采用 Kolmogorov-Smirnov 检验分析数据分布的正态性。正态分布的计量资料以均值 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，组间比较采用两样本 *t* 检验。*P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常组和 IgAV 组之间的差异蛋白

采用 LC-MS/MS 方法鉴定出 2 214 个高可信度蛋白。在正常组 10 例尿液样本中检测到 1 521 种蛋白，IgAV 组 10 例尿液样本中检测到 2 075 种蛋白。正常组和 IgAV 组之间共筛选出 772 个差异蛋白 (差异倍数 > 2, *P* < 0.05)，包含上调蛋白 768 个，下调蛋白 4 个。其中尿凝血酶 (差异倍数 = 32.020) 和 MIF (差异倍数 = 3.664) 是上调差异蛋白 (图 1)。

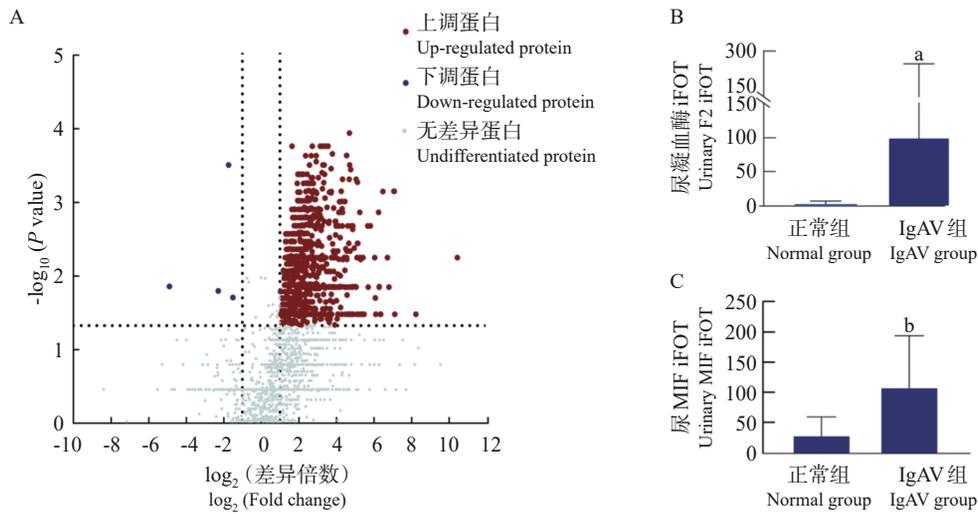


图 1 差异蛋白的筛选与分析 图 A 为正常组与 IgAV 组差异表达蛋白的火山图。图中上调蛋白被标注为红色，下调蛋白被标注为蓝色，除此以外的蛋白认为在两组中的表达无差异，标注为灰色。图 B、C 分别为尿凝血酶、MIF 表达水平。a 示与正常组比较， $P < 0.001$ ；b 示与正常组比较， $P < 0.05$ 。[MIF] 巨噬细胞迁移抑制因子；[IgAV] IgA 血管炎。

2.2 差异蛋白 Reactome 通路富集分析

对差异表达蛋白进行 Reactome 通路富集分析，结果显示差异蛋白共富集到 1 488 条 Reactome 信号通路。在排名前 10 的通路中，有 3 条通路参与炎症和凝血反应过程中：中性粒细胞脱颗粒

(neutrophil degranulation)；血小板活化、信号转导和聚集 (platelet activation, signaling and aggregation)；止血 (hemostasis)。其余通路参与膜转运、RHO GTP 酶的活化及信号转导。见图 2。

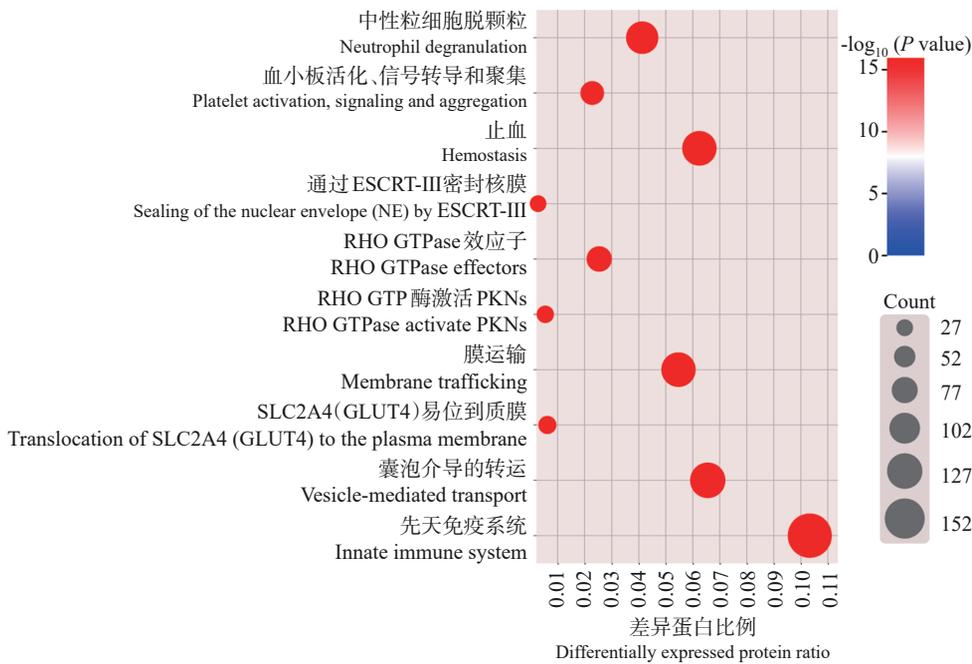


图 2 正常组与 IgAV 组差异蛋白富集的前 10 条 Reactome 信号通路 正常组与 IgAV 组差异蛋白在这 10 条通路中显著富集 ($P = 1.11 \times 10^{-16}$)，其中前 3 条为参与炎症和凝血反应的通路。气泡大小表示富集蛋白的数量，气泡越大表示富集蛋白的数量越多。图例中 Count 指富集蛋白的个数。

2.3 凝血酶与多种参与炎症反应蛋白的相互作用

对差异蛋白进行PPI分析，凝血酶可通过纤连蛋白（fibronectin-1, FN1）、白蛋白（albumin, ALB）、分泌型磷蛋白1（secreted phosphoprotein 1, SPP1）、趋化因子CXC配体12（C-X-C motif chemokine ligand 12, CXCL12）与MIF相互作用（图3）。

2.4 IgAV组尿凝血酶、尿MIF的ELISA验证结果

进一步采用ELISA方法对参与凝血（凝血酶）和炎症（MIF）通路的关键差异蛋白进行验证。结果发现与正常组相比，IgAV组尿凝血酶/肌酐、尿MIF/肌酐表达均明显上调（ $P<0.05$ ）（图4）。

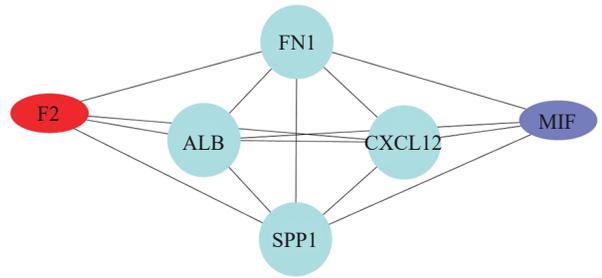


图3 尿差异蛋白的PPI网络关系图 F2通过FN1、ALB、SPP1、CXCL12与MIF相互作用。[F2]凝血酶；[FN1]纤连蛋白；[ALB]白蛋白；[SPP1]分泌型磷蛋白1；[CXCL12]趋化因子CXC配体12；[MIF]巨噬细胞迁移抑制因子。

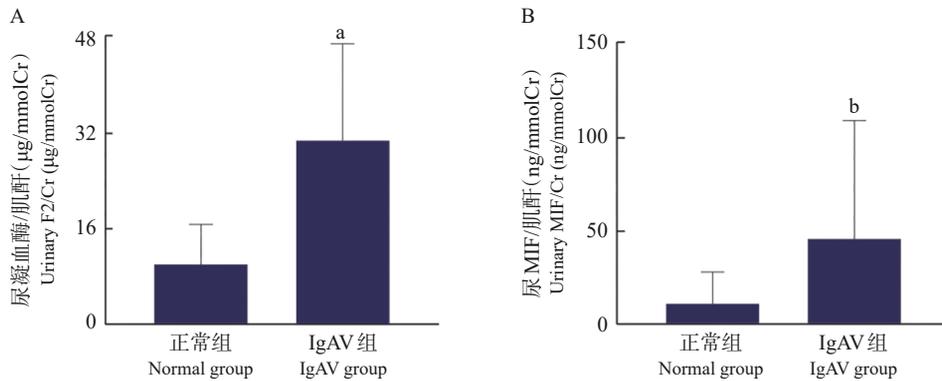


图4 正常组与IgAV组尿凝血酶/肌酐（图A）和尿MIF/肌酐（图B）水平的比较 a示与正常组比较， $P<0.001$ ；b示与正常组比较， $P<0.05$ 。[MIF]巨噬细胞迁移抑制因子。

3 讨论

本研究尿蛋白质组学Rectome分析结果提示炎症（中性粒细胞脱颗粒）和高凝（血小板活化及止血）过程是参与IgAV发病的重要通路。2021年，Jia等^[13]运用尿蛋白质组学方法发现中性粒细胞脱颗粒、巨噬细胞积累、白细胞迁移等途径是腹型过敏性紫癜发生的主要通路，但是该研究仅聚焦了炎症与IgAV发生的机制。另一项关于IgA血管炎肾炎（IgA vasculitis nephritis, IgAVN）的尿蛋白质组学研究发现，相比于健康对照组，IgAVN组的尿差异蛋白不仅参与炎症相关通路，同时也参与了凝血级联和血小板活化通路^[14]。然而该研究仅提出了高凝和炎症反应相关通路是IgAVN发生发展过程中的关键通路，并没有对IgAVN患者尿中参与高凝状态与炎症的差异蛋白如何相互作用诱导或促进IgAVN的发生发展做进一步的研究。中性粒细胞是机体炎症性疾病的第一道防线，释放促炎介质和损伤相关分子模式蛋白^[15]，并可促

进单核细胞募集^[16]，进而加重炎症反应。中性粒细胞浸润诱导的炎症反应是IgAV的主要病理特征，同时，中性粒细胞表达的黏附分子发生改变，进而加重内皮细胞损伤^[17]。血小板是凝血过程的重要组成部分，对血管内的血栓形成至关重要。活化的血小板可通过形成中性粒细胞-血小板复合物来发挥促炎作用，凝血酶被称为是体内最强的血小板激活剂之一^[18]。

本研究尿蛋白质组学结果显示，IgAV患儿尿凝血酶的水平比正常儿童升高约32倍。同时与IgAV免疫炎症相关的炎症因子MIF也是显著上调的尿差异蛋白。本研究又通过IgAV患儿尿差异蛋白的PPI网络分析发现，凝血酶通过4种差异蛋白（FN1、ALB、SPP1、CXCL12）与MIF相互作用。Reactome通路富集出FN1主要参与血小板活化、止血、ECM-受体相互作用等凝血和炎症相关通路。另外，凝血酶可使得单位时间内ALB的分泌增多，ALB与MIF可以相互络合，形成MIF-ALB复合物^[19]，这种复合物对于促进炎症反应具有重要意

义；SPP1 作为一种基质细胞蛋白，具有强烈促炎和促纤维化特性^[20]。凝血酶可裂解 SPP1，暴露出整合素受体的表位^[21]，促进白细胞黏附，进而发挥促炎作用。MIF 能够促进 SPP1 的表达^[22-24]。凝血酶能够诱导 CXCL12 分泌，CXCL12 是一种参与发育、血管生成和造血的稳态趋化因子，也是趋化因子受体 4 最重要的配体^[25]。MIF 与 CXCL12 可共同结合趋化因子受体 4，以促进炎症反应^[26]。因此，本研究 IgAV 患儿尿差异蛋白分析结果提示凝血酶与 MIF 通过上述 4 种蛋白发生复杂的相互作用，共同参与 IgAV 的发病。

本研究又对 IgAV 患儿尿液中凝血酶和 MIF 的水平进行了验证，结果发现与健康儿童相比，尿液中凝血酶水平升高约 3 倍，MIF 水平升高约 4 倍。其中，尿凝血酶水平在验证试验和尿蛋白质组学试验的结果中均较正常组明显升高，但升高倍数差距较大，分析原因可能与两种试验的尿标本处理方式有关。在尿蛋白质组学试验中通过对尿液进行高速离心，捕获的主要是外泌体，而在验证试验中采用的是临床常用的尿液普通离心方法，检测的是上清液中的尿凝血酶水平。同时，本研究结果也提示尿液外泌体中凝血酶的水平较高。

当前关于凝血酶参与 IgAV 发病的蛋白质组学研究仅局限于血清样本^[27]。而本研究采用 IgAV 患儿无创性的尿液样本进行检测，并对检测结果进行进一步的验证，发现了凝血酶对于 IgAV 疾病进展的重要作用。MIF 参与许多炎症性疾病的进展，在炎症反应过程中主要由中性粒细胞分泌^[28]。MIF 可以作为 IgAVN 的非侵入性尿生物标志物^[14, 29]。本研究不仅运用生物信息学方法富集出 MIF 在 IgAV 疾病过程中可能参与的通路，还对 IgAV 患儿尿液 MIF 水平做了进一步的验证。

综上所述，本研究运用尿蛋白质组学方法，分析了参与 IgAV 发病的信号通路和差异蛋白。本研究创新性的发现包括两个方面：(1) 富集到炎症反应（中性粒细胞脱颗粒）和高凝状态（血小板活化及止血过程）是参与 IgAV 发病的重要通路；(2) 验证结果表明，凝血酶和 MIF 可分别作为反映高凝与炎症的潜在尿生物标志物，有望用于动态监测 IgAV 患儿的病情变化和疗效评价。本研究的不足之处在于样本量相对较小，仅对尿液中的差异蛋白进行了分析并验证，未来计划扩大样本量，通过动物实验，并加用抑制剂等干预措施，探索差异蛋白之间相互作用的机制。

作者贡献声明：刘萌萌负责研究设计、数据分析、结果可视化、论文初稿撰写；侯改灵参与研究设计、数据整理与管理；杨晓青、张秋爽、梅晓峰负责标本的预处理及保管；丁樱负责研究课题监管与指导；宋兰负责实验平台提供与实验方法指导；黄岩杰负责研究概念生成、研究资金获取、研究资源采集、实验设计验证与核实、研究课题监管与指导、论文审阅与修订。

利益冲突声明：作者声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Trnka P. Henoch-Schönlein purpura in children[J]. *J Paediatr Child Health*, 2013, 49(12): 995-1003. PMID: 24134307. DOI: 10.1111/jpc.12403.
- [2] Mayer-Hain S, Gebhardt K, Neufeld M, et al. Systemic activation of neutrophils by immune complexes is critical to IgA vasculitis[J]. *J Immunol*, 2022, 209(6): 1048-1058. PMID: 35985788. DOI: 10.4049/jimmunol.2100924.
- [3] Giardini AC, Evangelista BG, Sant'Anna MB, et al. Crotalpine attenuates pain and neuroinflammation induced by experimental autoimmune encephalomyelitis in mice[J]. *Toxins (Basel)*, 2021, 13(11): 827. PMID: 34822611. PMCID: PMC8624587. DOI: 10.3390/toxins13110827.
- [4] McPartland K, Wright G. Acute abdominal pain: Henoch-Schönlein purpura case in a young adult, a rare but important diagnosis[J]. *Clin Med (Lond)*, 2019, 19(1): 77-79. PMID: 30651252. PMCID: PMC6399654. DOI: 10.7861/clinmedicine.19-1-77.
- [5] Grande MA, Belström D, Damgaard C, et al. Salivary concentrations of macrophage activation-related chemokines are influenced by non-surgical periodontal treatment: a 12-week follow-up study[J]. *J Oral Microbiol*, 2020, 12(1): 1694383. PMID: 31893018. PMCID: PMC6913660. DOI: 10.1080/20002297.2019.1694383.
- [6] Jaszczura M, Mizgala-Izworska E, Świętochowska E, et al. Serum levels of selected cytokines [interleukin (IL)-17A, IL-18, IL-23] and chemokines (RANTES, IP10) in the acute phase of immunoglobulin A vasculitis in children[J]. *Rheumatol Int*, 2019, 39(11): 1945-1953. PMID: 31468124. PMCID: PMC7575498. DOI: 10.1007/s00296-019-04415-4.
- [7] Kapopara PR, Safikhan NS, Huang JL, et al. CD248 enhances tissue factor procoagulant function, promoting arterial and venous thrombosis in mouse models[J]. *J Thromb Haemost*, 2021, 19(8): 1932-1947. PMID: 33830628. PMCID: PMC8571649. DOI: 10.1111/jth.15338.
- [8] Witkowski M, Landmesser U, Rauch U. Tissue factor as a link between inflammation and coagulation[J]. *Trends Cardiovasc Med*, 2016, 26(4): 297-303. PMID: 26877187. DOI: 10.1016/j.tcm.2015.12.001.

- [9] 马一飞, 李玉峰, 郭桂梅, 等. 新型尿液标志物在紫癜性肾炎患儿中的水平变化[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2020, 40(6): 841-846. DOI: 10.3969/j.issn.1674-8115.2020.06.021.
- [10] 中华医学会儿科学分会免疫学组, 《中华儿科杂志》编辑委员会. 儿童过敏性紫癜循证诊治建议[J]. 中华儿科杂志, 2013, 51(7): 502-507. PMID: 24267130. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1310.2013.07.006.
- [11] Liu Y, Song L, Zheng N, et al. A urinary proteomic landscape of COVID-19 progression identifies signaling pathways and therapeutic options[J]. *Sci China Life Sci*, 2022, 65(9): 1866-1880. PMID: 35290573. PMCID: PMC8922985. DOI: 10.1007/s11427-021-2070-y.
- [12] Huang W, Zhan D, Li Y, et al. Proteomics provides individualized options of precision medicine for patients with gastric cancer[J]. *Sci China Life Sci*, 2021, 64(8): 1199-1211. PMID: 34258712. DOI: 10.1007/s11427-021-1966-4.
- [13] Jia L, Wu J, Wei J, et al. Proteomic analysis of urine reveals biomarkers for the diagnosis and phenotyping of abdominal-type Henoch-Schonlein purpura[J]. *Transl Pediatr*, 2021, 10(3): 510-524. PMID: 33850810. PMCID: PMC8039785. DOI: 10.21037/tp-20-317.
- [14] Fang X, Wu H, Lu M, et al. Urinary proteomics of Henoch-Schönlein purpura nephritis in children using liquid chromatography-tandem mass spectrometry[J]. *Clin Proteomics*, 2020, 17: 10. PMID: 32190014. PMCID: PMC7066733. DOI: 10.1186/s12014-020-09274-x.
- [15] Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, et al. Acute renal failure—definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group[J]. *Crit Care*, 2004, 8(4): R204-R212. PMID: 15312219. PMCID: PMC522841. DOI: 10.1186/cc2872.
- [16] Pocock JM, Storisteanu DML, Reeves MB, et al. Human *Cytomegalovirus* delays neutrophil apoptosis and stimulates the release of a pro-survival secretome[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1185. PMID: 28993776. PMCID: PMC5622148. DOI: 10.3389/fimmu.2017.01185.
- [17] Audemard-Verger A, Pillebout E, Guillevin L, et al. IgA vasculitis (Henoch-Schönlein purpura) in adults: diagnostic and therapeutic aspects[J]. *Autoimmun Rev*, 2015, 14(7): 579-585. PMID: 25688001. DOI: 10.1016/j.autrev.2015.02.003.
- [18] Dzedzic A, Miller E, Saluk-Bijak J, et al. The molecular aspects of disturbed platelet activation through ADP/P2Y₁₂ pathway in multiple sclerosis[J]. *Int J Mol Sci*, 2021, 22(12): 6572. PMID: 34207429. PMCID: PMC8234174. DOI: 10.3390/ijms22126572.
- [19] Zeng FY, Kratzin H, Gabius HJ. Migration inhibitory factor-binding sarcolectin from human placenta is indistinguishable from a subfraction of human serum albumin[J]. *Biol Chem Hoppe Seyler*, 1994, 375(6): 393-399. PMID: 7980871. DOI: 10.1515/bchm3.1994.375.6.393.
- [20] Wu M, Schneider DJ, Mayes MD, et al. Osteopontin in systemic sclerosis and its role in dermal fibrosis[J]. *J Invest Dermatol*, 2012, 132(6): 1605-1614. PMID: 22402440. PMCID: PMC3365548. DOI: 10.1038/jid.2012.32.
- [21] Murthy S, Karkossa I, Schmidt C, et al. Danger signal extracellular calcium initiates differentiation of monocytes into SPPI/osteopontin-producing macrophages[J]. *Cell Death Dis*, 2022, 13(1): 53. PMID: 35022393. PMCID: PMC8755842. DOI: 10.1038/s41419-022-04507-3.
- [22] Luo Y, Yi H, Huang X, et al. Inhibition of macrophage migration inhibitory factor (MIF) as a therapeutic target in bleomycin-induced pulmonary fibrosis rats[J]. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2021, 321(1): L6-L16. PMID: 33881353. DOI: 10.1152/ajplung.00288.2020.
- [23] Shull MM, Ormsby I, Kier AB, et al. Targeted disruption of the mouse transforming growth factor-beta 1 gene results in multifocal inflammatory disease[J]. *Nature*, 1992, 359(6397): 693-699. PMID: 1436033. PMCID: PMC3889166. DOI: 10.1038/359693a0.
- [24] Kulkarni AB, Huh CG, Becker D, et al. Transforming growth factor beta 1 null mutation in mice causes excessive inflammatory response and early death[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1993, 90(2): 770-774. PMID: 8421714. PMCID: PMC45747. DOI: 10.1073/pnas.90.2.770.
- [25] Janssens R, Struyf S, Proost P. Pathological roles of the homeostatic chemokine CXCL12[J]. *Cytokine Growth Factor Rev*, 2018, 44: 51-68. PMID: 30396776. DOI: 10.1016/j.cytogfr.2018.10.004.
- [26] van der Vorst EP, Döring Y, Weber C. MIF and CXCL12 in cardiovascular diseases: functional differences and similarities [J]. *Front Immunol*, 2015, 6: 373. PMID: 26257740. PMCID: PMC4508925. DOI: 10.3389/fimmu.2015.00373.
- [27] Liu L, Liu H, Zhu K, et al. Proteome analysis reveals novel serum biomarkers for Henoch-Schönlein purpura in Chinese children[J]. *J Proteomics*, 2023, 276: 104841. PMID: 36796721. DOI: 10.1016/j.jprot.2023.104841.
- [28] Tarasuk M, Pongpair O, Ungsupravate D, et al. Human single-chain variable fragment antibody inhibits macrophage migration inhibitory factor tautomerase activity[J]. *Int J Mol Med*, 2014, 33(3): 515-522. PMID: 24424397. PMCID: PMC3926510. DOI: 10.3892/ijmm.2014.1622.
- [29] Brown FG, Nikolic-Paterson DJ, Hill PA, et al. Urine macrophage migration inhibitory factor reflects the severity of renal injury in human glomerulonephritis[J]. *J Am Soc Nephrol*, 2002, 13 (Suppl 1): S7-S13. PMID: 11792756.

(本文编辑: 邓芳明)

(版权所有©2024中国当代儿科杂志)