

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2020.19.003

CD14 蛋白表达、纯化及单克隆抗体制备*

王会平 郜赵伟 刘冲 刘丽 和婷 董轲[△]

(空军军医大学第二附属医院检验科 陕西 西安 710038)

摘要 目的:制备 CD14 重组蛋白及抗 CD14 单克隆抗体。**方法:**从人外周血淋巴细胞中克隆 CD14 编码基因,将其连接至质粒 pRSETC,构建表达质粒 pRSETC/CD14,转染大肠杆菌表达菌株 BL21(DE3),筛选阳性克隆、用 IPTG 诱导表达,SDS-PAGE 检测 CD14 蛋白表达水平,应用镍柱进行亲和纯化,SDS-PAGE 及 Western blot 进行纯化产物鉴定。纯化后的 CD14 蛋白免疫 BALB/c 小鼠,利用杂交瘤技术筛选分泌单克隆抗体细胞株,制备单克隆抗体,利用 Western blot 鉴定抗体活性。**结果:**获得 CD14 编码基因,并成功进行了原核表达,SDS-PAGE 显示 CD14 以包涵体形式表达,纯化产物的纯度超过 95%。利用杂交瘤技术筛选出稳定分泌抗 CD14 抗体的细胞株,并制备了高纯度的单克隆抗体,抗体具有 CD14 蛋白结合活性。**结论:**成功表达纯化了 CD14 蛋白,并制备了抗 CD14 单克隆抗体,为后续开发 CD14 检测技术提供抗体。

关键词:CD14;克隆;表达;纯化

中图分类号:R-33;Q789;R446.6 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2020)19-3616-05

Expression and Purification of CD14 Protein and Preparation of Anti-CD14 Monoclonal Antibody*

WANG Hui-ping, GAO Zhao-wei, LIU Chong, LIU Li, HE Ting, DONG Ke[△]

(Department of Clinical Laboratories, The Second Affiliated Hospital, Air Force Medical University, Xi'an, Shaanxi, 710038, China)

ABSTRACT Objective: To express CD14 protein and prepare anti-CD14 monoclonal antibody. **Methods:** The CD14 encoding sequence was cloned from human peripheral blood lymphocytes, which was connected to the pRSETC vector, the expression plasmid pRSETC/CD14 was transfected into BL21 (DE3). Expression of recombinant protein was induced by using IPTG. SDS-PAGE and western-blot were used to detect the purified recombinant protein. Hybridoma cells stably secreting anti-CD14 monoclonal antibodies were prepared by using hybridoma technology, the activity of purified antibody was identified by Western blot. **Results:** The coding sequence of CD14 was obtained. SDS-PAGE showed that recombinant protein expressed in the forms of inclusion body. And moreover, SDS-PAGE showed the purification rate of the purified product was higher than 95%. The positive hybridoma clone which secreted the mAb against CD14 protein were obtained, high purity monoclonal antibody which had the binding activity to CD14 protein was prepared. **Conclusion:** CD14 protein and anti-CD14 monoclonal antibody were successfully prepared, which provided the experimental basis for the development of CD14 detection technology.

Key words: CD14; Clone; Expression; Purification

Chinese Library Classification(CLC): R-33; Q789; R446.6 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2020)19-3616-05

前言

CD14,即脂多糖(Lipopolysaccharide, LPS)受体,是一种磷脂酰肌醇锚定膜蛋白,CD14 是存在于单核细胞、巨噬细胞等细胞表面的白细胞分化抗原^[1],于 1981 年首次从人单核细胞表面发现。CD14 基因位于人 5 号常染色体的长臂端 5q23-q31^[2]。作为 LPS 受体,CD14 的主要生物学功能是识别、结合 LPS 或 LPS/LBP 复合物,介导 LPS 性细胞反应。当机体发生革兰氏阴

性菌等感染源侵入时,CD14 识别并结合 LPS 后,可激活 Toll-like 受体 4 信号转导通路,并进一步介导单核巨噬细胞分泌炎症因子和共刺激因子的表达,激发机体炎症反应^[3]。研究表明,CD14 具有可溶性的形式,即 sCD14(soluble CD14),可由单核-巨噬细胞膜上的 CD14 脱落入血产生,也可由 CD14 基因转录后直接分泌产生。当机体发生炎症反应时,血清中 sCD14 水平会呈现升高现象^[3-9],因此检测血浆、血清或其他体液中的 sCD14 水平有望成为潜在的感染检测指标^[10-14]。制备高特异度

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(81572974)

作者简介:王会平(1985-),女,硕士研究生,主管技师,主要研究方向:恶性肿瘤发生、发展机制及临床检验相关工作,电话:13991923440, E-mail: huiping0419@126.com

△ 通讯作者:董轲(1971-),男,副主任医师、副教授,主要从事肿瘤分子生物学研究及临床检验诊断学相关工作, E-mail: 250528144@qq.com

(收稿日期:2020-03-27 接受日期:2020-04-23)

和敏感度的抗 CD14 单克隆抗体,能够为 CD14 的临床检测试剂开发提供原材料,具有较好的应用价值。本研究拟通过克隆 CD14 基因,利用原核表达系统对其进行异源表达,并利用亲和层析对其进行纯化,获得活性较好且纯度较高的 CD14 重组蛋白,并通过杂交瘤技术制备单克隆抗体,为可溶性 CD14 检测提供基础。

1 材料和方法

1.1 材料

淋巴细胞分离液为达科为科技公司产品, BL21(DE3)、JM109 菌株及 pRSETC 质粒均为本实验室保存; pMD18-T 载体 (6011)、RNAiso Plus (9109)、PrimeScript® RT Master Mix perfect Real time (RR0036A)、PrimeSTAR® HS DNA Polymerase (R010A)、限制性内切酶 *Bam*HI (1010A)、*Eco*RI (1040A)、T4 DNA Ligase (D2011A)均购自 Takara 公司; 弗氏完全佐剂、PEG1500 购自西安润德生物公司; HRP 标记的山羊抗鼠 IgG 购自中杉公司, Anti-CD14 抗体购自 R&D 公司; 胶回收试剂盒、Ni-NTA Agarose 购自 QIAGEN 公司; SDS-PAGE 凝胶试剂盒购自碧云天生物技术有限公司; Urea 及其他生化试剂均为国药集团化学试剂有限公司产品; BALB/c 小鼠购自空军军医大学动物中心。

1.2 方法

1.2.1 PBMC 分离, RNA 提取及 cDNA 合成 取 2 mL 的 EDTA 抗凝全血, 加入 2 mL PBS 稀释全血; 在离心管中加入 2 mL 的 Ficoll 分离液, 将稀释后的血样加至分离液液面上方, 保持两液界面清晰; $800 \times g$ 离心 20~30 min; 离心结束后吸取 PBMC 层至另一离心管中; 用 PBS 稀释到一定体积, 颠倒混匀后室温、水平转子 $250 \times g$ (1000 rpm) 离心 10 min, 弃上清; 重复洗涤两次, 加入 1 mL Trizol 试剂裂解细胞, 按 RNA 提取试剂盒说明书提取 RNA, 提取产物以 20 μ L RNAase-free 水溶解, 测定浓度。取 1 μ g RNA, 反转录为 cDNA。

1.2.2 CD14 编码基因扩增 根据 CD14 参考序列信息 (Gene ID: 929), 设计合成引物: 上游引物 5'-3': GGATCCGAAC-CACGCCAGAACCTTGTGAGCT; 下游引物 5'-3': GAATCT-TACAGCACCAGGGTTCCCGACACCC; PCR 扩增参数为: 94°C 5 min; 94°C 30 s, 58°C 30 s, 72°C 1 min, 循环 30 次; 72°C 延伸 5 min, 然后将 PCR 产物进行琼脂糖凝胶电泳, 回收目的条带。

1.2.3 pRSETC/CD14 重组质粒构建 回收 PCR 产物, 将其连接至 pMD18-T 载体上, 转化 JM109, 涂布氨苄抗性 LB 培养板, 挑取阳性克隆进行测序鉴定。测序正确的克隆提取质粒, 应用 *Bam*HI、*Eco*RI 双酶切质粒, 回收目的片段后连接至 pRSETC 载体上, 转化 JM109, 提取质粒, 双酶切鉴定阳性克隆。

1.2.4 原核表达 将 pRSETC/CD14 重组质粒转化至 BL21 (DE3) 菌株。挑取阳性克隆, 于 37°C 摇床内培养至 OD_{600} 达到 0.6 时, 加入 0.5 mM IPTG 进行诱导表达, 37°C 、200 rpm 诱导 4~6 h 后, 收集菌体, 超声破碎菌体, 分离上清和沉淀, SDS-PAGE 检测表达结果。

1.2.5 CD14 重组蛋白纯化鉴定 重组蛋白以包涵体形式表达, 将 CD14 包涵体蛋白用 8M 尿素溶解变性, 加入 Ni 柱进行边纯化边复性, 依次采用 8M 尿素、6M 尿素、4M 尿素 (含 20

mM 咪唑)、2 M 尿素 (含 50 mM 咪唑)、PBS (含 100 mM 咪唑)、PBS (含 200 mM 咪唑) 进行洗脱, SDS-PAGE 检测纯化效果, 利用 Western blot 鉴定目的蛋白。

1.2.6 单克隆抗体制备 取纯化获得的 CD14 重组蛋白免疫 8 周龄 BALB/c 小鼠, 经初次免疫、再次免疫及加强免疫后处死小鼠, 取小鼠脾脏进行细胞融合, 将融合细胞接种至含滋养细胞 (6 周龄 BALB/c 鼠胸腺细胞) 96 孔细胞培养板中, 采用含 1% HAT 及 20% FBS 的 1640 培养基进行培养, 收集培养液上清后 ELISA 方法检测培养上清中的抗体, 经筛选获得分泌抗 CD14 单克隆抗体的杂交瘤克隆。经培养后, 将 1×10^6 抗 CD14 单克隆杂交瘤细胞接种至 BALB/c 小鼠腹腔, 制备腹水。利用 Protein A 抗体纯化柱纯化单克隆抗体, 透析除盐后, SDS-PAGE 检测抗体纯度。

1.2.7 抗体活性鉴定 利用 Western blot 鉴定纯化后抗 CD14 单克隆抗体的活性, CD14 蛋白进行 SDS-PAGE, 然后转至硝酸纤维素膜上, 以纯化抗体作为一抗, 4°C 孵育过夜, 然后 PBST 溶液清洗 2 次, HRP- 山羊抗鼠二抗孵育 2h, PBST 溶液清洗 2 次, 显影定影, 观察条带。

2 结果

2.1 CD14 原核表达结果

0.5 mM IPTG 诱导表达 6 h 后, 收集菌体, 经超声破碎后离心分离上清和沉淀, SDS-PAGE 结果显示 (图 1) 菌体破碎上清中未见目的大小的蛋白片段、菌体沉淀中可见目的大小的蛋白片段, 表明 CD14 重组蛋白以包涵体形式表达, 表达水平较高。

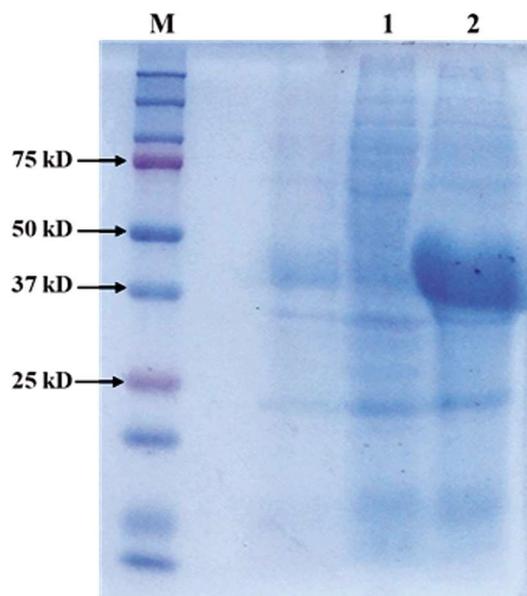


图 1 SDS-PAGE 电泳鉴定 pRSETC/CD14 在大肠杆菌 BL21(DE3) 中表达结果

Fig.1 SDS-PAGE identifying protein expression of pRSETC/CD14 in BL21(DE3)

M: 蛋白分子量 marker; 1: 上清; 2: 沉淀

M: protein molecular weight maker; 1: supernatant; 2: precipitation

2.2 CD14 重组蛋白纯化结果

将包涵体蛋白用 8M 尿素溶解变性, 然后采用边复性边纯

化的策略进行蛋白纯化。SDS-PAGE 结果显示(图 2),PBS (含 200 mM 咪唑)可将目的蛋白洗脱下来,蛋白纯度较高,4℃放置过夜后未见蛋白沉淀析出,重组蛋白复性成功。Western blot 鉴定结果显示纯化后蛋白为目标蛋白(图 3)。

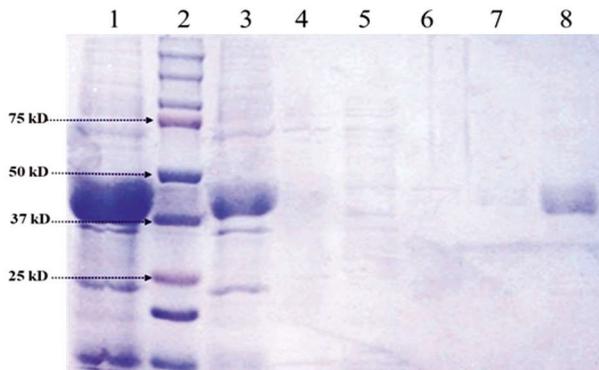


图 2 SDS-PAGE 鉴定亲和层析纯化获得的 CD14 重组蛋白

Fig.2 SDS-PAGE identifying the purified CD14 recombinant protein by affinity chromatography

1:包涵体;2:蛋白分子量 maker;3:穿透液;4:6M 尿素洗脱液;5:4M 尿素洗脱液(含 20mM 咪唑);6:2M 尿素洗脱液(含 50mM 咪唑);7: PBS 洗脱液(含 100mM 咪唑);8: PBS 洗脱液(含 200mM 咪唑)

1: Inclusion body; 2: protein molecular weight maker; 3: penetrating solution; 4: 6 M urea eluate; 5: 4 M urea eluate (containing 20 mM imidazole); 6: 2 M urea eluate (including 50mM imidazole); 7: PBS eluate (including 100 mM imidazole); 8: PBS eluate (including 200 mM imidazole)

2.3 单克隆抗体制备

利用纯化的 CD14 蛋白免疫 BALB/c 小鼠后制备杂交瘤细胞,ELISA 方法检测细胞上清,筛选分泌抗 CD14 单克隆抗体的杂交瘤细胞株(图 4、表 1),筛选到一株具有较高亲和力的抗 CD14 抗体细胞株。培养抗 CD14 抗体杂交瘤细胞,制备腹水,利用 Protein A 柱纯化试剂盒纯化抗体,透析除盐后经

SDS-PAGE 鉴定结果显示(图 5)纯化结果良好。

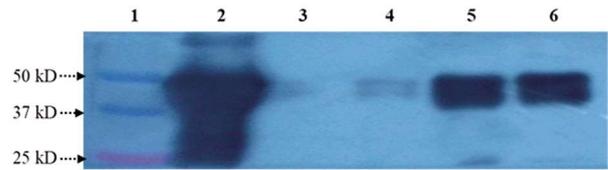


图 3 Western blot 鉴定亲和层析纯化获得的 CD14 重组蛋白

Fig.3 Western blot identifying CD14 recombinant protein purified by affinity chromatography

1: 蛋白分子量 maker;2: 包涵体;3: 6 M 尿素洗脱液;4: PBS 洗脱液(含 100 mM 咪唑);5、6: PBS 洗脱液(含 200 mM 咪唑)

1: Protein molecular weight maker; 2: inclusion body; 3: 6 M urea eluate; 4: PBS eluate (containing 100 mM imidazole); 5, 6: PBS eluate (containing 200 mM imidazole)

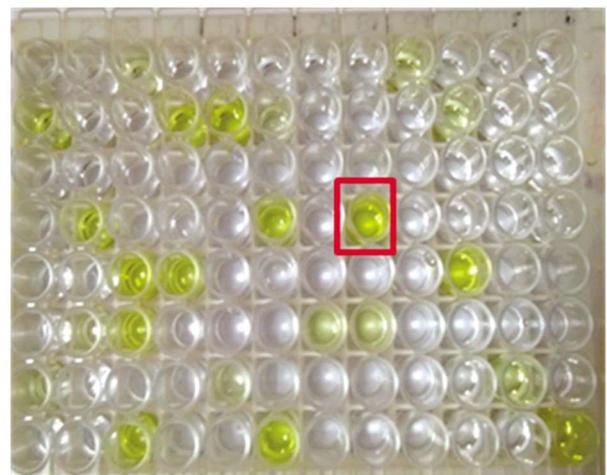


图 4 ELISA 方法筛选抗 CD14 单克隆抗体的杂交瘤细胞株

Fig.4 The anti - CD14 monoclonal antibody hybridoma cell lines were screened by ELISA

表 1 ELISA 方法筛选抗 CD14 单克隆抗体杂交瘤细胞株吸光度值

Table 1 The absorbance values of anti-CD14 monoclonal antibody hybridoma cell lines screened by ELISA

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.161	0.096	0.202	0.112	0.177	0.111	0.2	0.2	0.202	0.19	0.142	0.082
B	0.828	0.173	0.124	0.889	0.844	0.13	0.117	0.076	0.047	0.395	0.017	0.078
C	0.068	0.135	0.063	0.083	0.684	0.123	0.1	0.251	0.199	0.141	0.096	0.123
D	0.056	0.863	0.079	0.056	0.082	0.707	0.139	1.746	0.03	0.073	0.038	0.062
E	0.139	0.168	1.153	1.108	0.089	0.123	0.138	0.123	0.156	0.87	0.077	0.043
F	0.058	0.117	0.506	0.117	0.065	0.103	0.339	0.344	0.096	0.189	0.096	0.045
G	0.284	0.124	0.172	0.098	0.271	0.158	0.09	0.051	0.139	0.133	0.337	0.048
H	0.096	0.142	1.151	0.156	0.026	1.175	0.036	0.087	0.058	0.19	0.082	1.365

2.4 单克隆抗体活性鉴定

利用 Western blot 鉴定纯化后的抗体活性,结果显示(图6)纯化后抗体具有 CD14 抗原结合活性。

3 讨论

CD14 作为 LPS 的受体,以磷脂酰肌醇 -GPI 锚定的形式,

表达于单核 - 巨噬细胞表面,或以可溶型形式存在于机体的血液循环中,可识别 LPS / LBP 蛋白复合物,从而增强细胞对低浓度 LPS 的敏感性^[5]。研究显示,CD14 在感染性疾病及变态反应性疾病等^[16-18]的发生、发展过程中发挥重要的作用^[10, 19-26]。张国民等(2019 年)以感染者(自发性细菌性腹膜炎感染所致肝衰竭患者)、未感染的肝衰竭患者、健康对照(体检者)为研究对

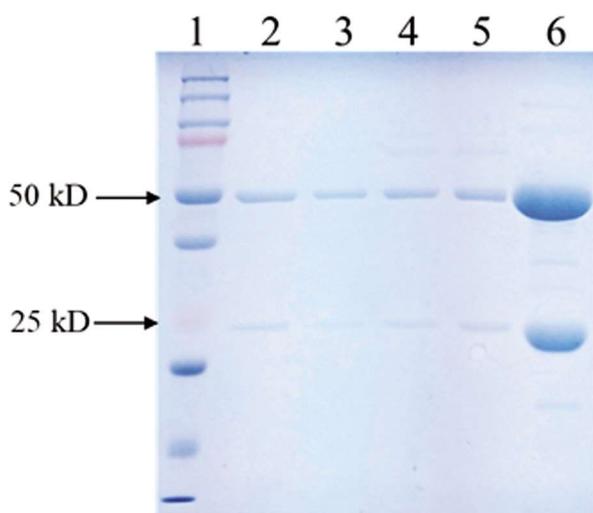


图5 抗 CD14 单克隆抗体 SDS-PAGE 电泳图

Fig.5 SDS-PAGE electrophoresis of anti-CD14 monoclonal antibody
1: 蛋白分子量 maker; 2~5: 纯化单克隆抗体; 6 浓缩后单克隆抗体。
1: Protein molecular weight maker; 2-5: purified monoclonal antibody;
6 concentrated monoclonal antibody.

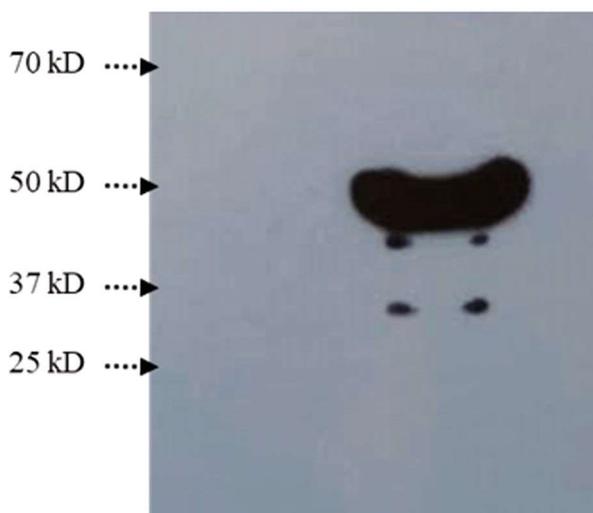


图6 Western blot 鉴定抗 CD14 单克隆抗体活性

Fig.6 The activity of purified antibody was identified by Western blot

象,检测了三组人群血清或腹水中的 CD14 水平,结果发现,在治疗前,与未感染组和健康对照组相比,感染者血清及腹水中的 CD14 水平显著升高(健康对照组无腹水数据)。并且发现,感染者血清中 CD14 水平低于腹水,表明 CD14 在感染所致肝衰竭的诊断中具有一定的参考价值,且腹水检查的敏感性优于血清检查^[13,27]。Marzouni. HZ 等研究人员发现(2019),血清 CD14 水平可以作为过敏性鼻炎(Allergic Rhinitis, AR)患者的生物标志物,AR 患者血清 CD14 水平显著高于对照($6237.2 \pm 3618.25 \text{ ng/mL}$ vs $4589.38 \pm 2907.22 \text{ ng/mL}$; $P=0.007$)^[28]。此外,有证据显示,血浆或血清 CD14 水平检测可能有助于评估相关感染性疾病的疗效。Sun H 等(2019 年)收集了 30 例急性布氏杆菌病患者及 28 名健康对照者的血样,抗生素治疗前,布氏杆菌病患者血清 sCD14 水平明显高于健康对照组($P<0.0001$);在治疗 6 周后,患者 sCD14 水平明显下降($P<0.001$),因此,sCD14 水平的下降可作为评价急性布氏杆菌病治疗效果的一个指标^[9]。

李世荣等(2016 年)以生殖道沙眼衣原体感染伴炎症患者为研究对象,结果发现,经治疗后的患者血清中 CD14 水平显著下降($P=0.039$),提示检测 CD14 水平为生殖道沙眼衣原体感染的疗效评估及预后提供参考^[29]。何耀祖等(2017 年)发现人类免疫缺陷病毒-HIV-1 感染的患者血浆中的 sCD14 水平上升,但经过有效的 HAART(highly active antiretroviral therapy, 高效抗逆转录病毒治疗)后,血浆 sCD14 水平显著下降($P<0.001$),表明血浆 sCD14 有望成为 HAART 疗效判断的实验室标志物^[30]。上述的研究表明,血清、血浆或其它体液样本的 sCD14 浓度检测在感染性疾病的诊断及治疗方面具有较高的临床应用价值,因此,制备可识别并结合 CD14 抗原的单克隆抗体,可以为后续的检测试剂盒开发提供基础。

本实验克隆了 CD14 编码基因,并利用 BL21(DE3)大肠杆菌表达系统成功表达了 CD14 重组蛋白,且表达水平较高。尽管重组蛋白以包涵体形式表达,但是本实验在 CD14 重组蛋白纯化过程中利用边纯化边复性操作,成功得到了可溶性的 CD14 重组蛋白,SDS-PAGE 结果显示纯化重组蛋白的纯度较高。利用纯化的 CD14 重组蛋白免疫 BALB/c 小鼠,然后利用杂交瘤技术制备并筛选了可以分泌抗 CD14 单克隆抗体的杂交瘤细胞株,并制备纯化了抗 CD14 单克隆抗体且进行了 Western blot 鉴定。

综上所述,血浆或血清可溶性 CD14 检测,在感染性疾病、过敏性疾病等的实验室诊断、病情评估以及临床治疗效果评估中均表现出了潜在的应用价值。然而目前尚无成熟的 CD14 检测产品应用于临床检验。因此,本研所得到的纯度较高的 CD14 重组蛋白和抗 CD14 单克隆抗体,经 Western blot 鉴定显示纯化单抗具有抗原结合活性。后期课题组将会对抗 CD14 单克隆抗体进行 HRP 标记,进一步制备检测试剂盒用于感染性疾病的诊断及疗效监测。当然,本研究的局限性在于,CD14 重组蛋白以包涵体形式表达,尽管通过变性-复性实验得到了可溶性的 CD14 重组蛋白,然而一方面重组蛋白回收率较低;另一方面复性的重组蛋白与天然活性蛋白在结构上可能存在差异,这种结构差异可能会造成抗原表位和免疫原性的不同,进一步导致所筛选抗体的功能差异。后续可利用其他表达系统,如昆虫表达系统、仓鼠卵巢细胞表达系统等真核表达系统表达 CD14 蛋白,以期获得更接近天然结构的重组蛋白和高效价抗体。

参考文献(References)

- [1] Zaroni I, Tan Y, Di Gioia M, et al. By Capturing Inflammatory Lipids Released from Dying Cells, the Receptor CD14 Induces Inflammation-Dependent Phagocyte Hyperactivation [J]. *Immunity*, 2017, 47(4): 697-709
- [2] 赵虎,周庭银,孔宪涛. CD14 的结构和功能 [J]. *免疫学杂志*, 2000, (01): 78-79
- [3] Janova H, Bottcher C, Holtman I R, et al. CD14 is a key organizer of microglial responses to CNS infection and injury [J]. *Glia*, 2016, 64(4): 635-649
- [4] Sun H, Jiang R, Han B, et al. Serum levels of soluble CD163 and soluble CD14 following antibiotic therapy of patients with acute brucellosis[J]. *J Infect Dev Ctries*, 2019, 13(8): 714-719
- [5] 董丽华. 化脓性牙髓炎患者血清 TNF- α , IL-8 及 CD14 水平的变化及意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(15): 1873-1875

- [6] 林涛. 新生儿坏死性小肠结肠炎发病危险因素及 IL-8、IL11、CD14 对手术预后的影响[D]. 大连医科大学, 2016
- [7] 韩志娟, 王守安. 手足口病患儿血清模式识别受体胶原凝集素、Dectin、CD14 检测对病情评估的价值 [J]. 海南医学院学报, 2017, 23(03): 401-403
- [8] 郑富军, 马芬, 田小龙. 慢性牙周炎患者牙龈组织中 TLR2、TLR4、CD14 的表达水平及意义 [J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(19): 2079-2082
- [9] Brooks P, Zur B T, Boyle E C, et al. CD14 and ALPK1 Affect Expression of Tight Junction Components and Proinflammatory Mediators upon Bacterial Stimulation in a Colonic 3D Organoid Model[J]. Stem Cells Int, 2020, 2020: 4069354
- [10] Pizzolato E, Ulla M, Galluzzo C, et al. Role of presepsin for the evaluation of sepsis in the emergency department[J]. Clin Chem Lab Med, 2014, 52(10): 1395-1400
- [11] Ackland G L, Prowle J R. Presepsin: solving a soluble (CD14) problem in sepsis?[J]. Intensive Care Med, 2015, 41(2): 351-353
- [12] 金齐力, 韦莉, 李柏青. 结核分枝杆菌感染对 THP-1 细胞 CD14 表达的影响[J]. 蚌埠医学院学报, 2012, 37(02): 131-133
- [13] 张国民, 韩智炜, 牛兴杰, 等. IL-6、CD14、CD64 检测在感染所致肝衰竭患者中意义[J]. 现代医学, 2019, 47(02): 137-140
- [14] 王龙. 炎症性肠病患者尿 sCD14 水平的检测及临床分析[D]. 安徽医科大学, 2017
- [15] Aalto H, Takala A, Kautiainen H, et al. Monocyte CD14 and soluble CD14 in predicting mortality of patients with severe community acquired infection[J]. Scand J Infect Dis, 2007, 39(6-7): 596-603
- [16] Zhou T, Huang X, Ma J, et al. Association of plasma soluble CD14 level with asthma severity in adults: a case control study in China[J]. Respir Res, 2019, 20(1): 19
- [17] 郑富军, 马芬, 田小龙. 慢性牙周炎患者牙龈组织中 TLR2、TLR4、CD14 的表达水平及意义 [J]. 临床和实验医学杂志, 2018, 17(19): 2079-2082
- [18] Nur E S, Yalaz M, Altun K O, et al. Reference ranges of presepsin (soluble CD14 subtype) in term and preterm neonates without infection, in relation to gestational and postnatal age, in the first 28 days of life[J]. Clin Biochem, 2020, 77: 7-13
- [19] Kim-Chang J J, Donovan K, Loop M S, et al. Higher soluble CD14 levels are associated with lower visuospatial memory performance in youth with HIV[J]. AIDS, 2019, 33(15): 2363-2374
- [20] 陈志霞, 梅舒雅, 邵珍珍, 等. CD14 参与固有免疫应答抵御感染的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2016, 32(04): 553-556
- [21] 郝秀娟. CD14 的研究进展及临床意义[J]. 中西医结合心血管病电子杂志, 2016, 4(29): 32-33
- [22] 邵珍珍, 李泉. CD14 在脓毒症中的最新进展[J]. 同济大学学报(医学版), 2016, 37(06): 136-140
- [23] 王海霞. sCD14-ST 对成人脓毒症诊断价值的 Meta 分析[D]. 河北医科大学, 2018
- [24] 赵元明, 陆书华, 申爱华, 等. 可溶性 CD14 亚型检测作为脓毒症标志物的探讨[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(05): 804-806
- [25] 刘凌云, 赵元明, 申爱华, 等. 可溶性 CD14 亚型在脓毒症患者诊断和预后评估中的应用[J]. 中国现代医生, 2018, 56(18): 107-110
- [26] 齐曼, 夏成青, 李文雄, 等. 外周血单核细胞膜 CD14 表达预测脓毒症患者预后的研究 [J]. 中华临床医师杂志 (电子版), 2012, 6(08): 1993-1997
- [27] 张国民, 韩智炜, 牛兴杰, 等. PCT、IL-6、CD14、CD64 及 TNF- α 表达对肝衰竭合并医院感染患者预后的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(16): 2450-2453
- [28] Zare M H, Farid-Hosseini R, Jabari-Azad F, et al. CD14 as A Serum Immune Biomarker and Genetic Predisposition Factor for Allergic Rhinitis[J]. Iran J Otorhinolaryngol, 2019, 31(102): 1-9
- [29] 李世荣, 苏园园, 黄颖珊. E- 选择素、CD14 及 VCAM1 水平与生殖道沙眼衣原体感染的相关性分析 [J]. 标记免疫分析与临床, 2016, 23(07): 760-762
- [30] 何耀祖, 李凌华, 雷华丽, 等. 血浆可溶性 CD14 在 HIV-1 感染者 HAART 中的变化和意义 [J]. 中国艾滋病性病, 2017, 23(07): 599-602