



电子、语音版

·论著·

黏附分子 CD44 介导的雌激素对实验性变态反应性 脑脊髓炎大鼠保护作用的研究

徐晓娅¹, 郭晓聪², 邱涛¹, 蒲荣梅¹, 王明金¹, 李作孝³

1. 自贡市第一人民医院神经内科, 四川 自贡 643000

2. 自贡市第一人民医院检验科, 四川 自贡 643000

3. 西南医科大学附属医院神经内科, 四川 泸州 646000

摘要:目的 探讨雌激素对实验性变态反应性脑脊髓炎(EAE)大鼠的保护作用及其与黏附分子 CD44 的关系。方法 将 40 只大鼠随机分为 4 组: 正常对照组、EAE 组、大小剂量雌激素治疗组, 每组 10 只。观察大鼠发病情况及脑组织病理变化, 并采用免疫组织化学法检测各组大鼠脑组织 CD44 的含量。结果 EAE 组及大小剂量雌激素治疗组大鼠均有不同程度的发病, 但大小剂量雌激素治疗组 EAE 临床症状均较 EAE 组轻。免疫组织化学显示, EAE 组及大小剂量雌激素治疗组大鼠中枢神经系统(CNS)白质及灰白质交界处可见不同程度的 CD44 阳性细胞表达。图像分析结果显示, 与 EAE 组比较, 大小剂量雌激素治疗组 CNS 白质 CD44 表达水平均明显降低($P<0.01$); 与小剂量雌激素治疗组比较, 大剂量雌激素治疗组 CNS 白质的 CD44 表达水平显著降低($P<0.01$)。结论 多发性硬化动物模型 EAE 大鼠中存在黏附分子 CD44 的高表达, 雌激素可能通过抑制黏附分子 CD44 的表达而发挥对 EAE 大鼠的保护作用。[国际神经病学神经外科学杂志, 2023, 50(1): 36-40]

关键词: 多发性硬化; CD44; 雌激素; 实验性变态反应性脑脊髓炎; 自身免疫性疾病; 大鼠

中图分类号: R74

DOI: 10.16636/j.cnki.jinn.1673-2642.2023.01.007

Protective effect of estrogen mediated by the adhesion molecule CD44 on rats with experimental allergic encephalomyelitis

XU Xiaoya¹, GUO Xiaocong², QIU Tao¹, PU Rongmei¹, WANG Mingjin¹, LI Zuoxiao³

1. Department of Neurology, Zigong First People's Hospital, Zigong, Sichuan 643000, China

2. Department of Clinical Laboratory, Zigong First People's Hospital, Zigong, Sichuan 643000, China

3. Department of Neurology, Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan 646000, China

Corresponding author: LI Zuoxiao, Email: lzx3235@sina.com

Abstract: **Objective** To investigate the protective effect of estrogen on rats with experimental allergic encephalomyelitis (EAE) and its association with the adhesion molecule CD44. **Methods** A total of 40 rats were randomly divided into normal control group, EAE group, and high- and low-dose estrogen treatment groups, with 10 rats in each group. The rats were observed in terms of disease onset and pathological changes of brain tissue, and immunohistochemistry was used to measure the content of CD44 in brain tissue. **Results** The rats in the EAE group and the high- and low-dose estrogen treatment groups had disease onset with different severities, but the high- and low-dose estrogen treatment groups had milder clinical symptoms than the EAE group. Immunohistochemistry showed varying degrees of the expression of CD44-positive cells in the white matter and gray-white matter junction of the central nervous system (CNS) in the EAE group and the high- and low-dose estrogen treatment groups. Image analysis showed that compared with the EAE group, the high- and low-dose estrogen treatment groups had a significant reduction in the expression of CD44 in the CNS white matter ($P<0.01$), and compared with the low-dose es-

基金项目: 四川省自贡市重点科技计划项目(2022ZCNKY08)。

收稿日期: 2022-05-27; 修回日期: 2022-12-23

通信作者: 李作孝(1964—), 男, 教授, 主要从事神经免疫方面的研究, Email: lzx3235@sina.com。

trogen treatment group, the high-dose estrogen treatment group had a significant reduction in the expression of CD44 in the CNS white matter ($P<0.01$). **Conclusions** There is high expression of the adhesion molecule CD44 in the multiple sclerosis animal model of EAE, and estrogen may exert a protective effect on EAE rats by inhibiting the expression of the adhesion molecule CD44. [Journal of International Neurology and Neurosurgery, 2023, 50(1): 36–40]

Keywords: multiple sclerosis; CD44; estrogen; experimental autoimmune encephalomyelitis; autoimmune disease; rat

多发性硬化(multiple sclerosis, MS)是一累及中枢神经系统(central nervous system, CNS)白质的自身免疫性脱髓鞘性疾病^[1]。实验性自身免疫性脑脊髓炎(experimental autoimmune encephalomyelitis, EAE)是公认的研究MS的理想动物模型。

临床观察及较多研究均证实,妊娠剂量的雌激素可以抑制免疫反应而对MS/EAE具有保护作用,其具体作用机制尚不完全明确^[2-4]。同时有研究显示,超生理剂量的雌激素可以抑制CD44的表达,从而起到抑制免疫反应、减少炎症因子释放的作用^[5-6]。CD44是一种黏附性糖蛋白,主要参与细胞-细胞、细胞-基质之间的黏附。既往研究提示,EAE中黏附分子CD44分子表达增加,并促进EAE的发生发展^[7-10]。那么雌激素是否通过抑制CD44的表达而发挥对MS的保护作用呢?目前未见相关研究报道。本实验通过建立EAE模型,并给予大小剂量雌激素干预,测定EAE组及雌激素治疗组大鼠脑和脊髓组织中CD44的含量,探索雌激素对EAE的保护作用及其与黏附分子CD44的关系。

1 材料与方法

1.1 实验动物及试剂

西南医科大学实验动物科提供豚鼠4只,体重400~450 g;雄性Wister大鼠40只,6~8周龄,体重200~250 g。

中性甲醛固定液由西南医科大学病理教研室提供;弗氏完全佐剂由美国Sigma公司提供;兔抗大鼠CD44单克隆抗体由北京博奥森生物技术有限公司提供。

1.2 方法

1.2.1 大鼠分组及EAE模型的建立 40只雄性大鼠随机分为正常对照组、EAE组、大剂量雌激素治疗组和小剂量雌激素治疗组,每组10只。

将豚鼠处死后,在无菌操作下,迅速剥出脊髓,去掉马尾与脊膜,称重。加入生理盐水研磨成50%匀浆,与等量弗氏完全佐剂混合,用注射器反复抽打成油包水乳液,即制得粗制碱性髓鞘蛋白(myelin basic protein, MBP)抗原。将MBP抗原注入EAE组及大小剂量雌激素治疗组大鼠双后肢足垫皮下,每只0.2 mL/100 g;正常对照组注射等量生理盐水。

1.2.2 模型干预 EAE模型建立后进行常规饲养,于造模当天开始,小剂量雌激素治疗组每日皮下注射苯甲酸雌二醇250 μ g/kg,大剂量雌激素治疗组每日皮下注射苯甲

酸雌二醇1 mg/kg(用橄榄油稀释,使给药容积均为1 mL/kg);正常对照组及EAE组每日皮下注射橄榄油1 mL/kg。均连续10 d。

1.2.3 临床观察 于建模当天开始,每日同一时段由同一人单盲观察发病情况并记录,观察各组大鼠的临床症状,记录各组大鼠的发病率、发病潜伏期(从造模到开始出现神经系统症状的时间)及进展期的时间(出现症状至连续3 d症状和体征不再加重的时间),以及高峰期神经功能障碍评分。

神经功能障碍评分方法:0分=无明显异常;1分=后肢不全瘫痪;2分=后肢完全瘫痪;3分=后肢全瘫伴前肢不全瘫;4分=四肢全瘫或死亡。症状介于两条标准之间者以 ± 0.5 分计。

1.2.4 脑和脊髓组织CD44的测定 采用免疫组织化学法检测脑组织CD44的表达;严格按SP试剂盒提供的说明书进行操作。

1.3 结果判断

免疫组织化学检查的图像采集采用美国Nikon&Spot图像采集系统;图像分析采用Image-Pro Plus Version 5.1图像分析系统。包浆呈棕黄色至深棕黄色为CD44阳性染色细胞。每张大鼠脑组织切片置于光镜下($\times 400$)观察10个视野,计算CD44平均吸光度(A)值。

1.4 统计学方法

采用SPSS 26.0软件进行统计学分析。计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,正态分布的数据方差齐时,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD检验;方差不齐时,采用Kruskal-Wallis检验。符合正态分布的数据采用Pearson相关分析法进行变量间相关性分析;不符合正态分布的则采用Spearman相关分析法。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组发病情况

正常对照组大鼠未发病;EAE组发病率为100%,表现为不同程度的肢体无力、共济失调、尿便失禁等。大小剂量雌激素治疗组发病率分别为50%、80%。

EAE组及大小剂量雌激素治疗组的发病潜伏期、进展期、高峰期症状评分比较,差异有统计学意义($P<0.01$)。见表1。

表1 EAE组、大小剂量雌激素治疗组发病潜伏期、进展期时间及高峰期神经功能障碍评分比较 ($\bar{x}\pm s$)

分组	例数	潜伏期/d	进展期/d	高峰期神经功能障碍评分/分
EAE组	10	11.6±2.5	7.4±1.7	3.1±1.1
小剂量雌激素治疗组	10	17.5±1.6 ^a	5.1±1.4 ^a	1.5±1.1 ^a
大剂量雌激素治疗组	10	24.2±3.0 ^{ab}	3.2±0.8 ^{ac}	0.6±0.7 ^{ac}
F值		48.12	14.23	16.82
P值		<0.01	<0.01	<0.01

注:a为与EAE组比较, $P<0.01$;b为与小剂量雌激素治疗组比较, $P<0.01$;c为与小剂量雌激素治疗组比较, $P<0.05$ 。

2.2 CD44表达情况

正常对照组大鼠CNS内未发现CD44阳性细胞。EAE组大鼠CNS白质及灰白质交界处可见大量CD44阳性细胞,主要分布在神经细胞胞浆及部分间质细胞,呈棕黄色深染颗粒;CD44高表达部位的炎症表现较重。图像分析结果显示,与EAE组比较,大小剂量雌激素治疗组CNS白质CD44表达水平均明显降低($P<0.01$);与小剂量雌激素治疗组比较,大剂量雌激素治疗组CNS白质CD44的表达水平显著降低($P<0.01$)。见表2、图1。

表2 EAE组、大小剂量雌激素治疗组CNS内CD44表达的平均光密度值 ($\bar{x}\pm s$)

分组	例数	CD44平均吸光度值
EAE组	10	0.280±0.006
小剂量雌激素治疗组	10	0.230±0.005 ^a
大剂量雌激素治疗组	10	0.180±0.003 ^{ab}
F值		11.41
P值		<0.01

注:a为与EAE组比较, $P<0.01$;b为与小剂量雌激素治疗组比较, $P<0.01$ 。

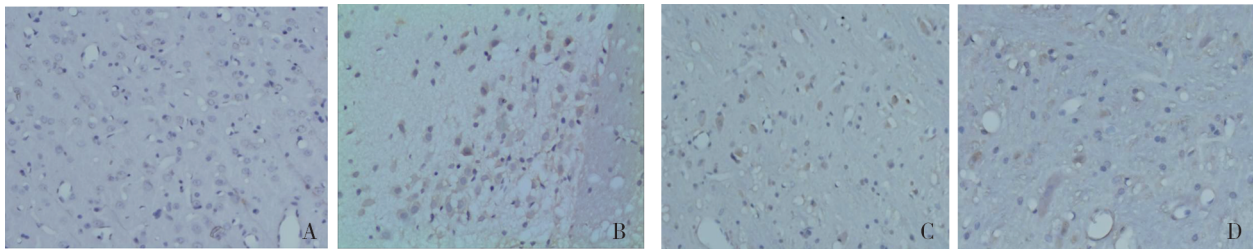


图1 大鼠脑组织免疫组织化学检查光镜下所示(×400)
A:正常对照组脑组织无CD44阳性细胞表达;B:EAE组脑组织CD44阳性细胞表达较多;C:小剂量雌激素治疗组脑组织CD44阳性细胞表达较少;D:大剂量雌激素治疗组脑组织CD44阳性细胞表达更少

2.3 3组大鼠脑组织CD44表达与潜伏期、进展期及高峰期神经功能障碍评分相关性分析

相关性分析的结果显示:EAE组及大小剂量雌激素治疗组大鼠脑组织中CD44阳性细胞的表达与潜伏期呈负相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$),与进展期呈正相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$),与高峰期神经功能障碍评分呈正相关($P<0.01$ 或 $P<0.05$)。见表3。

表3 3组大鼠脑组织CD44表达与潜伏期、进展期及神经功能障碍评分相关性

项目	EAE组		小剂量雌激素治疗组		大剂量雌激素治疗组	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
潜伏期	-0.889	<0.01	-0.875	<0.01	-0.951	<0.05
进展期	0.797	<0.01	0.832	<0.01	0.901	<0.05
神经功能障碍评分	0.772	<0.01	0.881	<0.01	0.755	<0.05

3 讨论

EAE是用动物髓鞘蛋白作抗原致敏敏感动物所引起的迟发性过敏反应性疾病。目前认为EAE是细胞免疫及体液免疫均参与的错综复杂的病理免疫过程,但其具体发病机制尚不清楚。

研究表明,生理剂量的雌激素具有促进炎症反应的作用,而妊娠剂量的雌激素具有抗炎作用^[11]。这与临床研究发现女性患者更易患MS,但女性MS患者妊娠后,临床症状却明显减轻、复发率减少相一致^[12-13]。推测可能是女性妊娠期体内大剂量的雌激素通过抑制炎症反应等机制对MS患者产生了保护作用。较多学者的研究证实了上述假设。Javadian等^[14]通过对MS患者进行雌激素干预后发现,雌激素显著增加了MS患者白细胞介素10(interleukin 10, IL-10)的表达和分泌,降低了细胞中促炎因子[肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)]的表达,提示雌激素可影响炎症和抗炎细胞因子的表达和分泌,调节免疫应答,从而发挥对MS患者的保护作用。

Talaat 等^[15]研究也发现,MS 患者雌激素水平和体内 IL-10、IL-4 含量呈正相关,而和 TNF- α 呈负相关,提示雌激素具有抗炎效应,并认为其可作为 MS 的治疗选择。Seifert 等^[16]进一步通过雌激素预处理后再制作 EAE 小鼠模型,发现雌激素可显著下调关键的促炎细胞因子、趋化因子受体基因,保护小鼠不发病或脱髓鞘明显较轻。上述研究均表明,妊娠剂量的雌激素通过抑制免疫反应对 EAE 具有保护作用。那么是否大剂量雌激素仅对雌性具有保护作用呢?该团队也进行了相关研究,其通过对雄性及雌性去势 EAE 大鼠进行外源性雌激素干预发现,外源性雌激素可不依赖于内源性雌激素,通过下调炎症因子、上调抗炎因子等免疫调节,对雌雄性 EAE 大鼠均具有保护作用^[17]。

本研究在造模当天开始使用大小剂量雌激素干预,2 组均皮下注射高于生理剂量的苯甲酸雌二醇,直至实验终结。本研究结果显示,雌激素可降低 EAE 动物的发病率,延长 EAE 动物发病潜伏期,缩短病情的进展期,减轻神经功能的损害,减轻 EAE 大鼠的病理损害,其作用大小与雌激素剂量有关,大剂量作用更明显。提示超生理剂量的雌激素对 EAE 具有保护作用,且保护作用与剂量呈正相关。目前大剂量雌激素对 EAE 产生保护作用的具体机制尚不明确,考虑主要与其介导的免疫调节有关。

CD44 分子属于细胞表面跨膜蛋白多糖,其广泛表达于多种细胞上,包括 B 淋巴细胞、T 淋巴细胞、单核巨噬细胞、内皮细胞及成纤维细胞等,其主要功能为参与细胞-细胞、细胞-基质之间的黏附。T 细胞上的 CD44 与其配体(如透明质酸、骨桥蛋白、层粘连蛋白、胶原蛋白等)结合可促进 T 细胞的黏附,增加 T 细胞的活性;而单核细胞的 CD44 与配体结合则使 IL-1 释放增多,促进单核细胞的聚集,从而促进免疫反应。目前,可见到很多关于自身免疫性疾病中 CD44 表达增加的报道,如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、特发性血小板减少性紫癜等^[18-21]。

近年来有研究发现,CD44 在 EAE 及 MS 的发生发展中具有重要作用。Li 等^[22]指出,CD44 是 MS 发病的关键细胞外蛋白。有研究发现,在 EAE 前脑中 CD44 富集表达,并增强与其配体骨桥蛋白结合的能力;同时,在活动性 MS 患者脑脊液中 CD44 表达增高,其促进 MS 的发生发展^[23]。Nagy 等^[24]研究发现,MS 及 EAE 中可见透明质酸(hyaluronic acid, HA)及其配体 CD44 分子的高表达,HA 和 CD44 结合通过 p56(LCK)激活和 ZAP-70 磷酸化介导而增强 T 细胞的活化;并通过抑制少突胶质细胞成熟和阻止受损髓磷脂的修复,从而促进 EAE 的发生发展。Reinbach 等^[25]对 CD44 在 MS/EAE 中的时空表达模式进行了初步探索,发现 CD44 的表达以时间依赖的方式被诱导;CD44 上调的位置主要是浅表及血管周围的胶质细胞及脱髓鞘的白质,尤其是脱髓鞘的胼胝体。Cavalli 等^[26]

通过对临床孤立综合征(clinically isolated syndrome, CIS)患者进行研究发现,CIS 患者外周血中巨噬细胞移动抑制因子(macrophage migration inhibition factor, MIF)和 D-多巴色素互变酶(D-dopa pigment tautomerase, DDT)及其受体 CD44 分子过度表达;从而促进 CIS 向临床确诊的 MS 的发展。有学者给 EAE 大鼠喂食黄芩素后发现大鼠的临床严重程度和病理上的脱髓鞘明显减轻,检测大鼠体内 CD44hiCD62Llow 和致病 Th17 细胞的表达下调,推测黄芩素可能通过抑制上述分子而发挥保护 EAE 的作用^[27]。上述研究均提示,黏附分子 CD44 的高表达在 MS/EAE 的发病中具有促进作用,抑制 CD44 的高表达,可能减轻 MS/EAE 的发病和病理改变。

同时,也有研究表明,生理剂量的雌激素促进 CD44 的表达,超过生理剂量的雌激素可以抑制 CD44 的表达,并由此影响细胞的分化^[5],这与雌激素对 MS/EAE 的作用一致。

汪贵明等^[28]研究发现,大鼠去势后,与对照组比较,骨髓细胞 CD44 表达明显增加,提示雌激素具有抑制 CD44 表达的作用。Salem 等^[6]在研究雌激素对免疫调节的作用时指出,避孕剂量的雌激素可抑制 CD44 的表达,此与上述超过生理剂量的雌激素可以抑制 CD44 的表达的观点一致,此研究表明大剂量的雌激素抑制 CD44 的表达,其介导的免疫反应抑制可能是由于炎症细胞归巢和激活的抑制,大剂量雌激素且可以抑制促炎因子 TNF- α 和 γ 干扰素(interferon- γ , IFN- γ)的基因表达和产生,抑制淋巴细胞功能激活蛋白 1 的数量及 CD3⁺和 CD4⁺T 细胞的相对数量等。故推测大剂量雌激素可能通过抑制 CD44 的表达,进而抑制免疫细胞与内皮细胞的黏附,抑制炎症因子的释放,从而对 MS 发挥着保护作用,但目前尚未见相关研究报道,故大剂量雌激素对 CD44 的具体作用机制及其对 MS 的保护机制尚不明确。

本研究结果显示,EAE 组及大小剂量雌激素治疗组大鼠脑和脊髓白质组织均不同程度地表达了 CD44 分子;大小剂量雌激素治疗组大鼠脑和脊髓白质组织表达的 CD44 较 EAE 组均减低。相关性分析显示,EAE 组及大小剂量雌激素治疗组发病高峰期 CD44 与发病潜伏期呈负相关,与进展期呈正相关,与发病高峰期神经功能障碍评分呈正相关。这提示 EAE 存在黏附分子 CD44 的高表达,其与 EAE 的发生发展密切相关;经雌激素治疗,CD44 明显下降,且大鼠神经功能损害明显轻于 EAE 组,提示雌激素可能通过下调 CD44 的表达而抑制 MS 的发生发展,其作用大小与剂量呈正相关。但雌激素下调 CD44 具体信号转导机制尚不清楚,后续有必要对其进行更深入的研究。

参 考 文 献

- [1] 彭永,甘露,杨珊珊,等. 多发性硬化/实验性自身免疫性脑脊髓炎中树突状细胞亚群的研究进展[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2020, 47(4): 435-438.
- [2] JOKUBAITIS VG, SPELMAN T, KALINCIK T, et al. Predictors of long-term disability accrual in relapse-onset multiple sclerosis[J]. *Ann Neurol*, 2016, 80(1): 89-100.
- [3] YSRRAELIT MC, CORREALE J. Impact of sex hormones on immune function and multiple sclerosis development[J]. *Immunology*, 2019, 156(1): 9-22.
- [4] MAGLIONE A, ROLLA S, MERCANTI SFD, et al. The adaptive immune system in multiple sclerosis: an estrogen-mediated point of view[J]. *Cells*, 2019, 8(10): 1280.
- [5] 王松,沈霖,杨月琴,等. 17β -E₂对SD大鼠股骨骨髓单个核细胞CD44、CD54表达的影响[J]. 西部医学, 2008, 20(2): 253-255.
- [6] SALEM ML, HOSSAIN MS, NOMOTO K. Mediation of the immunomodulatory effect of beta-estradiol on inflammatory responses by inhibition of recruitment and activation of inflammatory cells and their gene expression of TNF- α and IFN- γ [J]. *Int Arch Allergy Immunol*, 2000, 121(3): 235-245.
- [7] WENG X, MAXWELL-WARBURTON S, HASIB A, et al. The membrane receptor CD44: novel insights into metabolism[J]. *Trends Endocrinol Metab*, 2022, 33(5): 318-332.
- [8] CHRZANOWSKI U, BHATTARAI S, SCHELD M, et al. Oligodendrocyte degeneration and concomitant microglia activation directs peripheral immune cells into the forebrain[J]. *Neurochem Int*, 2019, 126: 139-153.
- [9] 徐晓娅,郭晓聪,邱涛,等. 黏附分子CD44在实验性自身免疫性脑脊髓炎中的作用[J]. 国际神经病学神经外科学杂志, 2019, 46(4): 383-386.
- [10] 徐晓娅. 雌激素对实验性变态反应性脑脊髓炎保护作用的研究[D]. 泸州:泸州医学院, 2011.
- [11] STRAUB RH. The complex role of estrogens in inflammation[J]. *Endocr Rev*, 2007, 28(5): 521-574.
- [12] GOLD SM, VOSKUHL RR. Pregnancy and multiple sclerosis: from molecular mechanisms to clinical application[J]. *Semin Immunopathol*, 2016, 38(6): 709-718.
- [13] FINKELSZTEJN A, BROOKS JBB, PASCHOAL FM Jr, et al. What can we really tell women with multiple sclerosis regarding pregnancy? A systematic review and meta-analysis of the literature[J]. *BJOG*, 2011, 118(7): 790-797.
- [14] JAVADIAN A, SALEHI E, BIDAD K, et al. Effect of estrogen on Th1, Th2 and Th17 cytokines production by proteolipid protein and PHA activated peripheral blood mononuclear cells isolated from multiple sclerosis patients[J]. *Arch Med Res*, 2014, 45(2): 177-182.
- [15] TALAAT FM, ABOKRYSHA NT, LABIB DM, et al. Evaluating sex hormones and cytokine profile in Egyptian females with relapsing - remitting multiple sclerosis[J]. *Egypt J Neurol Psychiatr Neurosurg*, 2018, 54(1): 30.
- [16] SEIFERT HA, GERSTNER G, KENT G, et al. Estrogen-induced compensatory mechanisms protect IL-10-deficient mice from developing EAE[J]. *J Neuroinflammation*, 2019, 16(1): 195.
- [17] SEIFERT HA, BENEDEK G, NGUYEN H, et al. Estrogen protects both sexes against EAE by promoting common regulatory cell subtypes independent of endogenous estrogen[J]. *Metab Brain Dis*, 2017, 32(5): 1747-1754.
- [18] ZEWAİL M, EL-DEEB NM, MOUSA MR, et al. Hyaluronic acid coated teriflunomide (A771726) loaded lipid carriers for the oral management of rheumatoid arthritis[J]. *Int J Pharm*, 2022, 623: 121939.
- [19] SUN L, LI LZ, SUN T, et al. Antihuman CD44 antibody BJ18 inhibits platelet phagocytosis by correcting aberrant Fc γ R expression and M1 polarization in immune thrombocytopenia[J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 95: 107502.
- [20] LATINI A, NOVELLI L, CECCARELLI F, et al. mRNA expression analysis confirms CD44 splicing impairment in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Lupus*, 2021, 30(7): 1086-1093.
- [21] NOVELLI L, BARBATI C, CECCARELLI F, et al. CD44v3 and CD44v6 isoforms on T cells are able to discriminate different disease activity degrees and phenotypes in systemic lupus erythematosus patients[J]. *Lupus*, 2019, 28(5): 621-628.
- [22] LI M, CHEN HP, YIN PQ, et al. Identification and clinical validation of key extracellular proteins as the potential biomarkers in relapsing - remitting multiple sclerosis[J]. *Front Immunol*, 2021, 12: 753929.
- [23] TREDICINE M, CAMPONESCHI C, PIROLLO D, et al. A TLR/CD44 axis regulates T cell trafficking in experimental and human multiple sclerosis[J]. *iScience*, 2022, 25(2): 103763.
- [24] NAGY N, KUIPERS HF, MARSHALL PL, et al. Hyaluronan in immune dysregulation and autoimmune diseases[J]. *Matrix Biol*, 2019, 78-79: 292-313.
- [25] REINBACH C, STADLER MS, PRÖBSTL N, et al. CD44 expression in the cuprizone model[J]. *Brain Res*, 2020, 1745: 146950.
- [26] CAVALLI E, MAZZON E, BASILE MS, et al. Upregulated expression of macrophage migration inhibitory factor, its analogue D-dopachrome tautomerase, and the CD44 receptor in peripheral CD4 T cells from clinically isolated syndrome patients with rapid conversion to clinical defined multiple sclerosis[J]. *Medicina (Kaunas)*, 2019, 55(10): 667.
- [27] YING S, YANG HH, GU QL, et al. The Small-Molecule compound baicalein alleviates experimental autoimmune encephalomyelitis by suppressing pathogenetic CXCR6⁺ CD4 cells[J]. *Int Immunopharmacol*, 2023, 114: 109562.
- [28] 汪贵明,赵志伟. 去势大鼠骨髓细胞CD44表达及其意义[J]. 四川生理科学杂志, 2009, 31(3): 101-102.

责任编辑:龚学民