·论　　著·

中医疗法对过敏性紫癜患者免疫功能的调节作用*

严　峰[1],许园园[2],王　萍[3],张艺凡[1],吴姗姗[1]
(1.辽宁中医药大学附属医院临床检验中心,辽宁沈阳 110032;2.辽河油田第二职工医院检验科,辽宁盘锦 124000;3.辽宁中医药大学附属医院血液科,辽宁沈阳 110032)

摘　要:目的　探讨以疏风清热、活血化瘀立法治疗过敏性紫癜(HSP)前后,外周血白细胞总数、淋巴细胞数、淋巴细胞亚群、辅助性 T 细胞(Th)1/Th2 及调节性 T 细胞的变化。**方法**　使用血细胞分析仪检测 36 例住院患者血常规,统计其中的白细胞总数及淋巴细胞数。使用流式细胞仪检测 36 例住院患者外周血淋巴细胞亚群、Th1/Th2 及调节性 T 细胞。**结果**　HSP 患者治疗后(恢复期)与治疗前(急性期)相比较,白细胞数、淋巴细胞数、$CD3^+$、$CD4^+$、$CD19^+$ 降低($P<0.05$),$CD8^+$、$CD16^+CD56^+$、Th1/Th2、$CD4^+CD25^+$ 升高($P<0.05$);HSP 患者治疗前与对照组相比较,白细胞数、淋巴细胞数、$CD3^+$、$CD4^+$、$CD19^+$ 明显升高($P<0.05$),$CD8^+$、$CD16^+CD56^+$、Th1/Th2、$CD4^+CD25^+$ 降低($P<0.05$);HSP 患者治疗后与对照组相比较,白细胞数、淋巴细胞数、$CD19^+$ 升高($P<0.05$);$CD16^+$ 降低($P<0.05$);$CD3^+$、$CD4^+$、$CD8^+$、Th1/Th2、$CD4^+CD25^+$ 无差异($P>0.05$)。**结论**　以疏风清热、活血化瘀立法治疗 HSP,能明显干预患者的外周血白细胞总数、淋巴细胞数、淋巴细胞亚群、Th1/Th2 及调节性 T 细胞,对患者的免疫功能的调节作用明确,临床效果显著,极大地提高了临床诊疗能力。

关键词:过敏性紫癜;　淋巴细胞亚群;　辅助性 T 细胞;　抑制性 T 细胞;　B 淋巴细胞;　自然杀伤细胞;　Th1/Th2;　调节性 T 细胞

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.18.007　**文献标志码:**A　**文章编号:**1672-9455(2016)18-2569-03

The effect of TCM therapy on immune function in patients with allergic purpura*

YAN Feng[1],*XU Yuanyuan*[2],*WANG Ping*[3],*ZHANG Yifan*[1],*WU Shanshan*[1]
(1.*Clinical Laboratory Center*,*Affiliated Hospital*,*Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*,*Shenyang*,*Liaoning*110032,*China*; 2.*Department of Clinical Laboratory*,*Second Worker's Hospital of Liaohe Oilfield*,*Panjin*,*Liaoning* 124000,*China*; 3.*Department of Hematology*,*Liaoning University of Traditional Chinese Medicine*,*Shenyang*,*Liaoning*110032,*China*)

Abstract:Objective　To investigate the changes of peripheral blood leukocyte count,lymphocyte count,lymphocyte subsets,Th1/Th2 and regulatory T cells before and after the treatment of Henoch－Schnlein purpura (HSP) by dispelling wind and clearing away heat,and promoting blood circulation and removing blood stasis. **Methods**　The hematology analyzer was used to detect the blood routine in 36 inpatients,in which leukocyte count and were performed statistics. The lymphocyte subsets,Th1/Th2 and regulatory T cells were detected in these 36 inpatients by using flow cytometry. **Results**　Compared with before treatment (acute phase),the leukocytes count,lymphocytes count,$CD3^+$,$CD4^+$ and $CD19^+$ after treatment (recovery phase) in the HSP patients were decreased ($P<0.05$),while $CD8^+$,$CD16^+CD56^+$,Th1/Th2 and $CD4^+CD25^+$ were increased ($P<0.05$); (2) Compared with before treatment in HSP patients and the healthy control group,the leukocytes count,lymphocytes count,$CD3^+$,$CD4^+$ and $CD19^+$ were significantly increased ($P<0.05$),but $CD8^+$,$CD16^+CD56^+$,Th1/Th2 and $CD4^+CD25^+$ were decreased($P<0.05$); (3)Compared with after treatment in HSP patients and healthy control group,the leukocytes count,lymphocytes count and $CD19^+$ were increased ($P<0.05$);$CD16^+$ was decreased($P<0.05$); there were no differences in $CD3^+$,$CD4^+$,$CD8^+$,Th1/Th2 and $CD4^+CD25^+$ ($P>0.05$). **Conclusion**　Adopting the method of dispelling wind and clearing away heat,and promoting blood circulation and removing blood stasis for treating HSP can significantly interfere peripheral blood leukocytes count,lymphocytes count,lymphocyte subsets,Th1/Th2 and regulatory T cells of patients,and has obvious effect for regulation the patient's immune function and remarkable clinical effect,which greatly improves the ability of clinical diagnosis and treatment.

Key words: Henoch-Schonlein purpura;　lymphocyte subsets;　T helper cell;　T suppressor cell;　B lymphocytes;　natural killer cell;　Th1/Th2;　regulatory cell

过敏性紫癜(HSP)又名白细胞破坏过多性血管炎,是一种自身免疫性血管炎综合征。其病理基础为广泛的白细胞破碎性小血管炎,主要临床表现为皮肤紫癜(非血小板减少性)、黏膜出血、腹痛、肾炎、关节炎、关节痛及胃肠道出血等,常见于儿童及青少年。其病因复杂,发病机制尚不明确。大量研究表明,机体免疫功能失调、失衡及紊乱与该疾病的发生、发展及转归密切相关。而人体血液内的白细胞中的淋巴细胞是构成免疫系统和执行免疫功能的主要细胞载体,在免疫机制中起到重要的作用。所以进行淋巴细胞计数和淋巴细胞亚群分析,对于了解 HSP 患者的免疫功能变化有着非常重要的临床意义。在临床实践中,以疏风清热、活血化瘀立法治疗 HSP 取得了良好的疗效,但其对患者的免疫功能,特别是淋巴细胞亚群产生了

*　**基金项目:**辽宁省省直医院改革重点临床科室诊疗能力建设项目青年项目(LNCCC-D52-2015)。
作者简介:严峰,男,技师,主要从事临床检验医学方面的研究。

哪些影响仍需阐明。本文通过测定 HSP 患者治疗前(急性期)、治疗后(恢复期)及对照组的白细胞总数、淋巴细胞数、淋巴细胞亚群、Th1/Th2 及调节性 T 细胞[1],并加以比较,对以疏风清热、活血化瘀立法治疗 HSP 的临床效果进行量化,辅助临床医生评估治疗效果,提高了临床诊疗能力。

1 资料与方法

1.1 一般资料 HSP 患者 36 例,均为 2015 年 1 月至 2015 年 10 月在辽宁中医药大学附属医院血液科住院患者,其中男 20 例、女 16 例,年龄 8～35 岁,平均 12.5 岁。均符合国内 HSP 诊断标准(《血液病诊断及疗效标准》第 3 版)。均在入院时和出院前采血。既往无风湿免疫类疾病病史,近期无感染,未使用糖皮质激素等免疫抑制剂及胸腺肽等免疫调节剂。选取同时间段本院体检中心参加健康体检的人群 36 例作为对照组。男 20 例,女 16 例。年龄 7～36 岁。两组年龄、性别比较无统计学差异。两组均知情并同意本次研究项目,并填写知情同意书。

1.2 仪器与试剂 血细胞分析仪 Advia 2120i(美国西门子公司)、流式细胞仪 BD FACSCalibur(美国 BD 公司)、四色免洗淋巴细胞亚群检测试剂盒(美国 BD 公司)、Th1/Th2 检测试剂盒(CD4 PE-Cy7:美国 BD 公司、IFN-γ/IL-4:美国 BD 公司、γ2a/γ1-control:美国 BD 公司、Pharmingen 破膜剂:美国 BD 公司)、调节性 T 细胞检测试剂盒(美国 eBioscience 公司)。

1.3 方法

1.3.1 白细胞总数及淋巴细胞数的测定 患者收入院时和出院前进行外周血常规检查,早晨空腹静脉采血 2 mL,EDTA-K2 抗凝。使用血细胞分析仪 Advia 2120i(美国西门子公司)检测血常规,统计其中的白细胞总数及淋巴细胞数。

1.3.2 淋巴细胞亚群的测定 将 5 μL CD3/CD8/CD45/CD4 和 CD3/CD16$^+$ CD56$^+$/CD45/CD19 MultiTEST 试剂加入加样管中,采用反向加样的方法加入 25 μL 上述抗凝血,混匀,室温避光 15 min,加入免洗溶血素 400 μL,室温避光 15 min,应用流式细胞仪进行检测,FACS MultiSET 软件进行自动分析,计算总 T 细胞、辅助性 T 细胞(Th)、抑制性 T 细胞(Ts)、NK 细胞和 B 细胞的相应比值。依据生物参考区间为:总 T 细胞 55%～84%;Th31%～66%;NK 细胞 5%～27%;B 细胞6%～25%。

1.3.3 Th1/Th2 的测定 抽取患者收入院时和出院前及健康人外周静脉血 5 mL(肝素抗凝),采用密度梯度离心法分离外周血单个核细胞(PBMCs)。

1.3.4 CD4$^+$ T 细胞内细胞因子 IFN-γ、IL-4 表达的检测 取分离出的 PBMCs,加入 2 mL 磷酸盐缓冲液(PBS),1 500×g 离心 5 min,弃去上清后再加入 2 mL PBS,再次 1 500×g 离心 5 min,弃去上清,加 200 μLPBS 重悬,200 μL/孔 PBMCs 细胞悬液铺入 96 孔板,加入试剂[豆蔻酰佛波醇乙酯(PMA)100 ng/mL,离子霉素 1 μg/mL,莫能霉素 2 μmol/L]刺激 6 h 后收获细胞,加入 300 μL PBS,振荡,1 500×g 离心 5 min,弃去上清后加入 50 μL PBS,再加入 5 μL CD4-APC 抗体,孵育 10 min 后,加入 300 μL PBS,振荡,1 500×g 离心 5 min,弃去上清后加胞内固定液 500 μL,30 min 后再加入 500 μL 细胞破膜剂,1 500×g 离心 5 min,弃去上清加 50 μL 细胞破膜剂,分别加入 IFN-γ、IL-4 抗体后,振荡,孵育 30 min。加入 1%胎牛血清 100 μL,10 min,加入 300 μL PBS,上流式细胞仪检测。

1.3.5 调节性 T 细胞测定 取 CD3-APC、CD4-PE、CD25-FITC 鼠抗人荧光单克隆抗体各 5 μL 加入加样管中,混匀后,采用反向加样的方法加入抗凝血 25 μL,混匀,室温避光 15 min,加入红细胞裂解液混匀,室温避光 15 min,应用流式细胞仪及 FACS Cellquest 软件检测并分析,计算调节性 T 细胞的相应比值。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件进行数据的统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,HSP 患者组治疗前、后及与对照组的比较采用 t 检验,$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 患者组治疗前后及与对照组各项指标的比较 HSP 患者治疗前急性期、HSP 患者治疗后恢复期及对照组外周血白细胞总数、淋巴细胞数的检测结果见表 1,外周血淋巴细胞亚群的检测结果见表 2,外周血 Th1、Th2、Th1/Th2 及调节性 T 细胞的检测结果见表 3。

表 1 HSP 患者组急性期、恢复期和对照组白细胞总数与淋巴细胞数的比较(×10^9/L,$\bar{x}\pm s$)

组别	n	白细胞总数	淋巴细胞数
HSP 患者组急性期	36	8.54±0.86*	4.26±0.40*
HSP 患者组恢复期	36	6.60±0.52*△	2.07±0.22△
对照组	36	5.33±0.47	1.86±0.19

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 HSP 患者组急性期比较,△ $P<0.05$。

表 2 HSP 患者组急性期、恢复期和对照组外周血淋巴细胞亚群的比较(%,$\bar{x}\pm s$)

组别	总 T 细胞	Th	Ts	NK 细胞	B 细胞
HSP 患者组急性期	67.31±3.40*	35.61±2.29*	31.69±3.57*	12.03±1.94*	20.72±2.56*
HSP 患者组恢复期	65.11±2.89△	30.47±1.89△	34.61±3.23△	19.89±2.27△	15.17±1.67*△
对照组	65.17±2.78	30.25±1.75	34.97±3.08	21.50±2.81	13.33±3.14

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 HSP 组急性期比较,△ $P<0.05$。

表 3 HSP 患者组急性期、恢复期和对照组外周血 Th 及调节性 T 细胞的比较($\bar{x}\pm s$)

组别	Th1(%)	Th2(%)	Th1/Th2	调节性 T 细胞(%)
HSP 患者组急性期	27.88±2.99*	26.02±2.06*	1.08±0.13*	4.49±0.67*
HSP 患者组恢复期	24.33±1.97*△	20.02±1.51*△	1.22±0.14*△	8.29±1.05△
对照组	18.54±1.54	16.19±1.94	1.16±0.19	8.55±1.02

注:与对照组比较,* $P<0.05$;与 HSP 患者组急性期比较,△ $P<0.05$。

2.2 IFN-γ、IL-4 表达的检测 CD4$^+$ T 细胞内细胞因子 IFN-γ、IL-4 表达的检测见图 1～3。

2.3 随访 出院患者随访至 6 个月,36 例患者中共有 9 例复发(占 25%),其症状较轻,以皮肤少量瘀血点为主,明显低于

国内平均复发率(约 40%)。

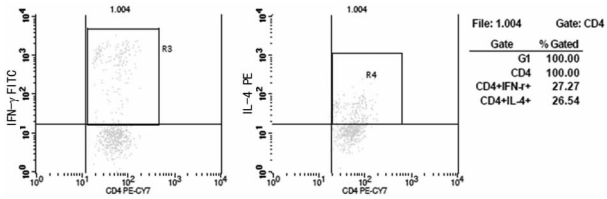

图 1　HSP 患者急性期 $CD4^+$ T 细胞内 IFN-γ、IL-4 的表达分析

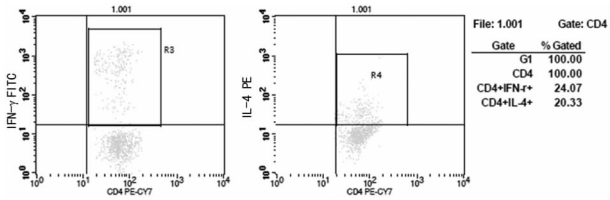

图 2　HSP 患者恢复期 $CD4^+$ T 细胞内 IFN-γ、IL-4 的表达分析

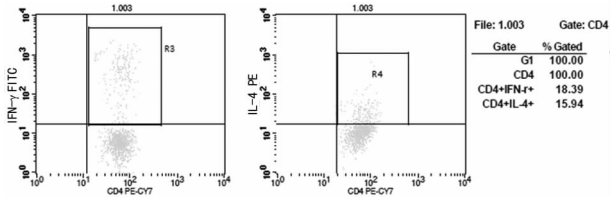

图 3　对照组急性期 $CD4^+$ T 细胞内 IFN-γ、IL-4 的表达分析

3　讨　论

因为疏风清热、活血化瘀法具有调节免疫功能的作用，所以临床上可用于免疫功能紊乱者的治疗。HSP 是一种常见的血管炎性疾病，在祖国医学中属于“斑疹”“血证”“斑毒”等范畴[2]。其致病因素以外感风热之邪为主。其病机主要是“风扰卫虚，营分郁热，血不循经，溢于脉外”。当机体卫表不固之时，风热之邪内侵，从阳化热，与气血相博结，风盛血热，灼伤脉络，血溢脉外，血溢肌肤则为紫癜，血溢膀胱则为尿血，血溢肠道则为便血，溢于四肢关节则为关节肿痛。所以，其治疗当以“疏风清热、活血化瘀”为主。目前血液科以愈风消斑汤(院内协定方，其组成为白鲜皮 30 g、蝉蜕 15 g、当归 15 g、丹参 20 g、赤芍 15 g、牡丹皮 15 g、水牛角 30 g、生地 20 g、紫草 30 g、茜草 20 g、大黄 15 g、土茯苓 20 g、地肤子 20 g、陈皮 15 g、甘草 15 g、苍耳子 10 g)为基础方，随症加减，取得了良好效果。

现代医学认为免疫功能失调、失衡和紊乱是其主要的发病机制之一。通常为具有过敏体质的人群，在环境、食物、吸入物等致敏因素的作用下发生过敏反应(变态反应)，出现免疫功能失调、失衡、紊乱和免疫调节机制障碍，从而造成一系列的机体损伤。现代医学经典观点认为：HSP 急性期患者免疫功能失衡、紊乱后，Th 过度表达，促进了 B 淋巴细胞的增殖和活化，分泌了大量的 IgA 抗体和补体等，在患者正常和紫癜皮肤的毛细血管内或周围，生成细小的颗粒状免疫复合沉积物，其中补体可为 IgA 激活补体旁路，中性粒细胞可在免疫复合物部位聚集，进行吞噬并释放蛋白活性物质形成微血栓，加重局部缺血、组织水肿。内皮细胞与白细胞黏附分子的作用、细胞间相互作用、血管周围聚集中性粒细胞等均可能参与诱发血管炎，而后引起紫癜、出血和关节肿痛等相关临床症状。此类患者在辽宁中医药大学附属医院就诊时，多收入血液科及儿科住院治疗，也有部分患者收入风湿免疫科及肾内科等科室住院治疗。其中收入血液科患者多以疏风清热、活血化瘀立法进行治疗，取得了良好的治疗效果。HSP 患者的发病机制中较为明确的有以下三个方面。(1)其诱因为上呼吸道感染，特别是溶血性链球菌的感染；(2)体液免疫功能紊乱，即免疫复合物增多，免疫球蛋白 IgA 和补体水平增高；(3)细胞免疫功能紊乱，即淋巴细胞数量、淋巴细胞亚群和功能的改变。根据上述发病机制可知，减少上呼吸道感染，特别是溶血性链球菌的感染，同时调节人体免疫功能，使免疫功能由失衡恢复到平衡状态。让免疫功能恢复自稳性，达到动态平衡。同时使外周血白细胞总数、淋巴细胞数量、亚群和功能维持在合理的区间内，就可以增强 HSP 的治疗效果并提高 HSP 的临床诊疗能力。本研究采用血细胞分析仪和流式细胞仪检测淋巴细胞数量与淋巴细胞亚群，着重研究 HSP 治疗前后的细胞免疫功能的变化情况[3-5]。研究发现，(1)HSP 患者治疗后(恢复期)与治疗前(急性期)相比较，白细胞数降低($P<0.05$)，淋巴细胞数降低($P<0.05$)，$CD3^+$ 降低($P<0.05$)，$CD4^+$ 降低($P<0.05$)，$CD8^+$ 升高($P<0.05$)，$CD16^+$ 升高($P<0.05$)，$CD19^+$ 降低($P<0.05$)，Th1/Th2 升高($P<0.05$)，$CD4^+CD25^+$ 升高($P<0.05$)提示治疗后纠正了淋巴细胞亚群的紊乱，$CD4^+$ 降低的同时 Th1/Th2 升高和调节性 T 细胞升高[6-7]，可能减少了免疫辅助作用，减少了 B 细胞的增殖和活化，减少了免疫球蛋白 IgA、补体的形成和免疫复合物的沉积。(2)HSP 患者治疗前(急性期)与对照组相比较，白细胞数明显升高($P<0.05$)，淋巴细胞数升高($P<0.05$)，$CD3^+$ 升高($P<0.05$)，$CD4^+$ 升高($P<0.05$)，$CD8^+$ 降低($P<0.05$)，$CD16^+$ 降低($P<0.05$)，$CD19^+$ 升高($P<0.05$)，Th1/Th2 降低($P<0.05$)，$CD4^+CD25^+$ 降低($P<0.05$)提示 HSP 患者治疗前(急性期)时炎性反应造成白细胞数增高，同时免疫功能失衡非常明显，Th1/Th2 降低即 Th1 细胞活性减弱，Th2 细胞活性增强，其中 Th1 细胞抑制 B 淋巴细胞分化增殖、产生抗体的活性减弱，Th2 细胞辅助 B 淋巴细胞分化增殖、产生抗体的活性增强。同时，调节性 T 细胞数量和活性明显降低，提示其免疫抑制活性明显降低是 HSP 患者治疗前(急性期)免疫失衡的主要机制之一。而后 Th 及 B 细胞的活性增强，产生了大量的 IgA 免疫复合物，沉积于全身小血管壁而致血管炎。(3)HSP 患者治疗后(恢复期)与对照组相比较，白细胞数升高($P<0.05$)，淋巴细胞数升高($P<0.05$)，$CD3^+$ 无差异($P>0.05$)，$CD4^+$ 无差异($P>0.05$)，$CD8^+$ 无差异($P>0.05$)，$CD16^+$ 降低($P<0.05$)，$CD19^+$ 升高($P<0.05$)，Th1/Th2 无差异($P>0.05$)，$CD4^+CD25^+$ 无差异($P>0.05$)。可以发现，首先，白细胞数及淋巴细胞数均有下降的趋势，表明炎性反应和应激状态都有所恢复[8-11]；其次，淋巴细胞亚群的比例恢复到正常范围内，并且是先于白细胞数及淋巴细胞数的，表明疏风清热、活血化瘀法调节免疫功能的作用是显著的，在 HSP 的病程中就可以对淋巴细胞亚群的失衡进行调节，到恢复期时其比例基本和对照组相当，没有统计学差异；最后，HSP 患者同时存在着体液免疫功能紊乱和细胞免疫功能失调，并且两者的相互作用非常复杂[12]。在研究过程中，笔者发现了 1 个有趣的现象，Th1/Th2 的比例在 HSP 的恢复期时与对照组相比较是升高的，提示 HSP 患者出现了 Th1 过度表达、活性过强和 Th2 表达减弱、活性降低的阶段，预测 Th1/Th2 随时间变化情况应为 HSP 患者治疗前(急性期)时明显下降；HSP 患者治疗后(恢复期，约 20 天时)时升高且高于对照组；后逐渐下降到正常水平。

同时，文献[13-15]报道研究发现常规药物治疗 HSP 后，患者临床症状虽缓解，但复发较多且较重，其原因可能为淋巴

细胞亚群数量、功能和异常活化状态没有改变,特别是 Th1、Th2 和调节性 T 细胞的数量和功能没有明显改善,所以引起复发较多。比较而言,疏风清热、活血化瘀法调节了患者的淋巴细胞亚群数量和功能,改善了患者的免疫功能,纠正了异常活化状态,所以临床症状控制明显,复发较少且较轻。提高患者生活质量,防止病情反复。

综上所述,疏风清热、活血化瘀法治疗 HSP,对患者的外周血白细胞总数、淋巴细胞数、淋巴细胞亚群、Th1/Th2 及调节性 T 细胞的干预作用明显,对患者的免疫功能的调节作用明确,临床效果显著,极大地提高了临床诊疗能力。同时,可以早期纠正 HSP 的免疫功能紊乱状态,减少 HSP 的复发且减轻复发时的临床症状。值得临床关注和推广。

参考文献

[1] Haxhinasto S,Mathis D,Benoist C. The AKT-mTOR axis regulates de novo differentiation of $CD4^+$ $Foxp3^+$ cells[J]. J Exp Med,2008,205(3):565-574.

[2] 许洲斌,曾萍,曾华松,等. 玉屏风散对儿童过敏性紫癜细胞亚群的影响[J]. 中华中医药杂志,2013,28(2):513-515.

[3] Long M,Park SG,Strickland I,et al. Nuclear factor-kappaB modulates regulatory T cell development by directly regulating expression of Foxp3 transcription factor[J]. Immunity,2009,31(6):921-931.

[4] Lal G,Bromberg JS. Epigenetic mechanisms of regulation of Foxp3 expression[J]. Blood,2009,114(18):3727-3735.

[5] Zheng Y,Josefowicz S,Chaudhry A,et al. Role of conserved non-coding DNA elements in the Foxp3 gene in regulatory T-cell fate[J]. Nature,2010,463(7282):808-812.

[6] 王强,任淑红,董巍,等. 转录因子 T-bet,GATA-3 和 $CD4^+CD25+$ 调节性 T 细胞及其转录因子 FoxP3 在儿童过敏性紫癜(HSP)发病机制中的作用[J]. 中国实验血液学杂志,2012,20(1):133-136.

[7] 陈祚珈,高雅懿,李志远,等. $FOXP3^+$ 调节性 T 细胞[J]. 生命科学,2010,22(6):515-527.

[8] Sakaguchi S,Yamaguchi T,Nomura T,et al. Regulatory T cells and immune tolerance[J]. Cell,2008,133(5):775-787.

[9] Littman DR,Rudensky AY. Th17 and regulatory T cells in mediating and restraining inflammation[J]. Cell,2010,140(6):845-858.

[10] Tone Y,Furuuchi K,Kojima Y,et al. Smad3 and NFAT cooperate to induce Foxp3 expression through its enhancer[J]. Nat Immunol,2008,9(2):194-202.

[11] 王蓓红. 儿童过敏性紫癜 T 细胞亚群和免疫球蛋白水平的变化与分析[J]. 实用临床医药杂志,2007,11(1):93-94.

[12] Kim JK,Klinger M,Benjamin J,et al. Impact of the TCR signal on regulatory T cell homeostasis,function,and trafficking[J]. PLoS One,2009,4(8):e6580.

[13] 杨军,李成荣,王国兵,等. Th17 细胞与调节性 T 细胞在儿童过敏性紫癜发病机制中的作用[J]. 临床儿科杂志,2011,27(7):645-647.

[14] 陈洁,曹筱筱,徐蓉,等. 银屑病血热及血瘀证患者外周血 Th1/Th2 细胞表达差异研究[J]. 中国中西医结合杂志,2014,34(1):46-50.

[15] 姚金晶,陈宜涛. Th1/Th2 平衡调节与疾病发生的研究进展[J]. 现代生物医学进展,2009,9(13):2597-2600.

(收稿日期:2016-01-25　修回日期:2016-03-28)

(上接第 2568 页)

参考文献

[1] Huang Y,Lin JJ,Zhu SY. Genetic sequencing analysis of the A307 subgroup of ABO blood group[J]. Int J Clin Exp Med,2015,8(6):9585-9589.

[2] Lee HY,Park MJ,Kim NY,et al. Rapid direct PCR for ABO blood typing[J]. J Forensic Sci,2011,56(1):S179-S182.

[3] 曾学平,王恭,陆理,等. ABO 血型 A201 等位基因表达 A 抗原活性的分析[J]. 临床和实验医学杂志,2014,(23):2000-2002.

[4] 郑凌,马玲,刘衍春,等. 2 例 Di(a+b−)血型的血清学及 PCR-SSP 检测分析[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2014,11(5):903-905.

[5] 陈青,李平,陆乐,等. 分子生物学鉴定急性白血病患者 ABO 血型抗原[J]. 临床血液学杂志(输血与检验),2015,12(1):91-93.

[6] Venables SJ,Mehta B,Daniel R,et al. Assessment of high resolution melting analysis as a potential SNP genotyping technique in forensic casework[J]. Electrophoresis,2014,35(21/22):3036-3043.

[7] 王冬梅,李俊,杨红敏,等. 高分辨率熔解曲线 HRM 在 SNP 检测中的应用[J]. 基因组学与应用生物学,2015,34(4):892-895.

[8] Tanaka M,Takahahi J,Hirayama F,et al. High-resolution melting analysis for genotyping Duffy,Kidd and Diego blood group antigens[J]. Leg Med(Tokyo),2011,13(1):1-6.

[9] 刘景汉,兰炯采. 输血免疫血液学实验技术[M]. 北京:人民卫生出版社,2011:37.

[10] 夏金晶,白浩,熊丽纹,等. 高分辨率熔解曲线法在 BIM 基因 2 903 bp 片段插入/缺失检测中的应用[J]. 中国肺癌杂志,2014,17(3):238-242.

[11] Novaretti MC,Domingues AE,Manhani R,et al. ABO genotyping in leukemia patients reveals new ABO variant alleles[J]. Genet Mol Res,2008,7(1):87-94.

[12] Lin M,Jiao JW,Zhan XH,et al. High resolution melting analysis:a rapid screening and typing tool for common β-thalassemia mutation in Chinese population[J]. PLoS One,2014,9(8):e102243.

(收稿日期:2016-02-12　修回日期:2016-04-18)