

骨髓单个核细胞 Coombs 试验阳性 血细胞减少症患者 NK 细胞数量及功能研究

袁鑫 付蓉 刘惠 王一浩 李丽娟 刘春燕 王红蕾 邵媛媛
丁凯 陈瑾 阮二宝 王化泉 宋嘉 王国锦 邵宗鸿

【摘要】 目的 检测骨髓单个核细胞 Coombs 试验阳性血细胞减少症(CBCPC)患者外周血 NK 细胞数量和功能,探讨 NK 细胞在 CBCPC 发病中的作用机制。方法 采用流式细胞术检测 20 例 CBCPC 初治患者、22 例 CBCPC 缓解患者和 12 名健康志愿者外周血 NK 细胞及其亚群比例,表面激活性受体 NKG2D、NKp46、NKp44,抑制性受体 CD158a、CD158b 及穿孔素、颗粒酶 β 的表达。结果 ①初治组、缓解组患者 CD3⁺CD56⁺ NK 细胞比例显著低于对照组[分别为(10.04±5.33)%、(11.62±6.80)%、(19.94±7.38)% P 值均<0.01]。②初治患者 NK 细胞激活性受体 NKG2D 比例(74.03±18.24)%显著高于缓解组患者[(45.97±29.45)%]和对照组[(41.89±15.34)%](P 值均<0.01)。③初治患者 NK 细胞抑制性受体 CD158a 中位水平为 3.72%(7.88%),显著低于缓解组的 16.10%(26.43%)和对照组的 11.04%(22.87%)(P 值分别为 0.015、0.025)。④初治、缓解患者 NK 细胞穿孔素比例分别为(75.71±10.14)%、(77.88±22.82)%,均显著高于对照组的(60.22±14.58%)(P 值分别为 0.018、0.008)。⑤初治和缓解患者 NK 细胞比例与穿孔素比例乘积分别为(7.68±4.54)%、(8.24±5.80)%,均显著低于对照组的(12.13±5.19%)(P 值分别为 0.011、0.023);初治和缓解患者 NK 细胞比例与颗粒酶 β 比例乘积分别为(7.83±5.26)%、(8.37±6.83)%显著低于对照组的(14.79±8.37%)(P 值分别为 0.008、0.012)。结论 初治 CBCPC 患者 NK 细胞比例降低,激活性受体表达增加,抑制性受体表达降低,提示 NK 细胞在 CBCPC 发病机制中起保护作用,但代偿不足。

【关键词】 Coombs 试验; 杀伤细胞,天然; 穿孔素; 颗粒酶类

基金项目: 国家自然科学基金(81570106、81400088、81400085);天津市自然科学基金(14JCYB-JC25400、15JCYBJC24300);天津市抗癌重大专项攻关计划(12ZCDZSY18000)

Quantities and function of NK cells in patients with positive BMMNC-Coombs test and cytopenia

Yuan Xin, Fu Rong, Liu Hui, Wang Yihao, Li Lijuan, Liu Chunyan, Wang Honglei, Shao Yuanyuan, Ding Kai, Chen Jin, Ruan Erbao, Wang Huaquan, Song Jia, Wang Guojin, Shao Zonghong. Department of Hematology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Fu Rong, Email: florai@sina.com

【Abstract】 Objective To test NK cell quantities and function in patients with positive BMMNC-Coombs test (CBCPC) and cytopenia and to explore how NK cell participate in the progress of this disease. **Methods** The percentage of CD3⁺CD56⁺ NK cell in peripheral blood lymphocytes, the expression of activating receptor (NKG2D, NKp46, NKp44), inhibitory receptor (CD158a, CD158b), perforin and granzyme- β were detected by flow cytometry. All samples were taken from 42 patients (22 newly diagnosed and 20 in remission) and 12 healthy volunteers. The correlation between the above parameters and patients' clinical profile were evaluated. **Results** ①The percentage of CD3⁺CD56⁺ NK cell in new diagnosed and remission CBCPC patients were significantly lower than that in healthy control [(10.04±5.33)% vs (19.94±7.38)%; (11.62±6.80)% vs (19.94±7.38)%, all P <0.01]. ②The expression of activating receptor NKG2D in new diagnosed CBCPC patients was significantly higher than that in remission group and healthy control [(74.03±18.24)% vs (45.97±29.45)%; (74.03±18.24)% vs (41.89±

15.34)% , $P < 0.01$]。③The expression of inhibitory receptor CD158a in new diagnosed CBCPC patients was significantly lower than that in remission group and healthy control (median: 3.72% vs 16.10%, $P = 0.015$; 3.72% vs 11.04%, $P = 0.025$)。④The expression of perforin in new diagnosed and remitted CBCPC patients were significantly higher than that in healthy controls [(75.71±10.14) % vs (57.20±18.85)% , $P = 0.018$; (77.88±22.82)% vs (57.20±18.85)% , $P = 0.008$]。⑤The product of NK cell percentage and perforin expression in new diagnosed and remission CBCPC patient were significantly lower than that in healthy control [(7.68±4.54)% vs (12.13±5.19)% , $P = 0.011$; (8.24±5.80)% vs (12.13±5.19)% , $P = 0.023$]。The product of NK cell percentage and granzyme-β expression in the new diagnosed and remission CBCPC patient were significantly lower than that in healthy control [(7.83±5.26)% vs (14.79±8.37)% , $P = 0.008$; (8.37±6.83)% vs (14.79±8.37)% , $P = 0.012$]。 **Conclusion** Deceased quantities and impaired total NK function might play a role in pathogenesis of CBCPC.

【Key words】 Coombs' Test; Killer cells, natural; Perforin; Granzymes

Fund program: Natural Science Foundation of China (81570106, 81400088, 81400085); Natural Science Foundation of Tianjin (14JCYBJC25400, 15JCYBJC24300); Tianjin Major Cancer Focus Program (12ZCDZSY18000)

骨髓单个核细胞Coombs 试验阳性血细胞减少症(CBCPC)是由于某种原因导致机体产生抗骨髓造血细胞自身抗体,使机体正常的造血功能受到破坏(抑制)的一种疾病,临床主要表现为不同程度的贫血、出血、感染。NK 细胞是外周血大颗粒淋巴细胞,是机体固有免疫的重要组成部分,其通过分泌细胞因子和(或)发挥细胞毒性作用来清除病原体和肿瘤细胞。近年来,有文献报道NK 细胞在自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮(SLE)^[1]、类风湿性关节炎^[2]中存在数量和功能异常,且多数研究显示NK 细胞在自身免疫性疾病中主要起保护作用,具体机制尚不明确。本研究中我们通过检测CBCPC 患者外周血NK 细胞数量和功能,结合患者临床和免疫学指标,探讨NK 细胞在CBCPC 发病中的作用机制。

病例与方法

一、病例资料

选取 2015 年 1 月至 8 月我科收治的 42 例 CBCPC 患者,诊断参照文献[3-4]标准,临床特征见表 1。其中初治患者 20 例,男 11 例,女 9 例,中位年龄 26(7~65)岁;缓解患者[经过免疫抑制和造血治疗后血常规恢复正常者(男 HGB>120 g/L、女 HGB>110 g/L,中性粒细胞绝对计数>1.5×10⁹/L, PLT>100×10⁹/L)]22 例,男 14 例,女 8 例,中位年龄 19(8~60)岁。以 12 名健康志愿者为正常对照组,男 4 名,女 8 名,中位年龄 27(24~50)岁。本研究均经患者及健康志愿者知情同意并签署知情同意书。

二、试剂与仪器

鼠抗人 CD3- PerCP、CD56- APC、CD16-FITC、

NK 细胞激活受体 NKG2D- PE、NKp46- PE、NKp44-PE,抑制性受体 CD158a-PE、CD158b-PE,胞质蛋白穿孔素-PE、颗粒酶β-PE,膜抗体用抗体 CD34-FITC、Glyco-A-FITC、CD15-FITC、IgG-APC、IgM-PE,单克隆抗体同型对照 IgG1-FITC、IgG1-APC、IgG1-PE、IgG1-PerCP,溶血素,PBS 缓冲液,破膜剂均为美国 BD Bioscience 公司产品,流式细胞仪为 FACS Calibur 型,美国 Becton Dickinson 公司产品。

表 1 42 例骨髓单个核细胞 Coombs 试验阳性血细胞减少症患者临床特征

临床特征	初治组(20例)	缓解组(22例)	P值
年龄[岁,M(范围)]	26(7~65)	19(8~60)	0.711
性别(男/女,例)	11/9	14/8	0.569
HGB[g/L,M(范围)]	75(55~117)	125(109~144)	<0.001
PLT[×10 ⁹ /L,M(范围)]	24(5~81)	166.5(108~288)	<0.001
ANC[% ,M(范围)]	55.0(11.7~86.4)	44.9(24.2~85.8)	0.301
Ret[% ,M(范围)]	1.56(0.12~4.94)	2.20(0.88~4.16)	0.056
IgG[g/L,M(范围)]	1.09(0.78~1.75)	1.14(0.47~2.25)	0.836
IgM[g/L,M(范围)]	0.16(0.06~0.35)	0.11(0.06~0.31)	0.177
补体C3[g/L,M(范围)]	1.01(0.75~2.09)	1.06(0.61~1.49)	0.489
补体C4[g/L,M(范围)]	0.23(0.13~0.48)	0.23(0.11~0.33)	0.333
LDH[U/L,M(范围)]	218(91~583)	187(127~349)	0.622

注:ANC:中性粒细胞比值;Ret:网织红细胞比值

三、实验方法

1. 骨髓细胞膜抗体检测:取新鲜肝素抗凝骨髓液 500 μl,PBS 洗涤 3 次,平分为 5 管,每管 100 μl:检测管 1 中加入同型对照 IgG1-FITC、IgG1-APC、IgG1-PE 各 20 μl;检测管 2 中加入 Glyco-A-FITC、IgG-APC 和 IgM-PE 各 20 μl;检测管 3 中加入 CD15-

FITC、IgG-APC 和 IgM-PE 各 20 μl;检测管 4 中加入 CD34-FITC 和同型对照 IgG1-APC、IgG1-PE 各 20 μl;检测管 5 中加入 CD34-FITC、IgG-APC 和 IgM-PE 各 20 μl。4℃避光孵育 30 min 后加入 2 ml 溶血素,摇匀后室温避光 8 min 溶解红细胞,离心弃上清,PBS 洗涤 2 次,上流式细胞仪检测 CD34⁺细胞、Glyco-A⁺细胞、CD15⁺细胞膜表面自身抗体 IgG、IgM 的结合率。每个样品收集 15 000 个细胞。以结合率大于 4% 作为阳性标准。实验设 3 个复管。

2. NK 细胞数量的检测:取外周血 200 μl,EDTA 抗凝,平分为 2 管,每管 100 μl:检测管 1 中加入同型对照 IgG1-PerCP、IgG1-FITC、IgG1-APC 各 20 μl;检测管 2 中加入 CD3-PerCP、CD56-APC 和 CD16-FITC 各 20 μl。孵育、溶血、洗涤,上流式细胞仪检测,分别计算 CD3⁻CD56⁺、CD56^{bright}CD16⁻ (R3) 和 CD56^{dim}CD16⁺ (R4) 占单个核细胞百分率(图 1)。实验设 3 个复管。

3. NK 细胞表面受体的检测:取外周血 600 μl,平分为 6 管,每管 100 μl:检测管 1 中加入同型对照 IgG1-PerCP、IgG1-FITC、IgG1-APC、IgG1-PE 各 20 μl;检测管 2 中加入 CD3-PerCP、CD56-APC、CD16-FITC 和 NKG2D-PE 各 20 μl;检测管 3 中加入 CD3-PerCP、CD56-APC、CD16-FITC 和 NKp46-PE 各 20 μl;检测管 4 中加入 CD3-PerCP、CD56-APC、CD16-FITC 和 NKp44-PE 各 20 μl;检测管 5 中加入 CD3-PerCP、CD56-APC、CD16-FITC 和 CD158a-PE 各 20 μl;检测管 6 中加入 CD3-PerCP、CD56-APC、CD16-FITC 和 CD158b-PE 各 20 μl。孵育、溶血、洗涤,上流式细胞仪检测 CD3⁻CD56⁺NK 细胞上受体的表达。实验设 3 个复管。

4. NK 细胞胞质蛋白穿孔素、颗粒酶β的检测:取外周血 300 μl,平分为 3 管,每管 100 μl,检测管 1 中加入同型对照 IgG1-PerCP、IgG1-FITC、IgG1-APC、IgG1-PE 各 20 μl;检测管 2 中加入

CD3-PerCP、CD56-APC 和 CD16-FITC 各 20 μl;检测管 3 中加入 CD3-PerCP、CD56-APC 和 CD16-FITC 各 20 μl。孵育、溶血后,加入 600 μl 破膜剂,室温避光 10 min 破膜固定,PBS 洗涤 1 次,离心弃上清后分别加入抗体穿孔素-PE、颗粒酶β-PE 各 20 μl,4℃避光孵育 30 min,PBS 洗涤 2 次,上流式细胞仪检测 CD3⁻CD56⁺NK 细胞穿孔素、颗粒酶β的表达。实验设 3 个复管。

四、统计学处理

采用 SPSS 20.0 统计学软件分析。实验数据均为计量资料,符合正态分布且方差齐的数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD 检验,相关性分析采用 Pearson 检验;非正态分布、方差不齐的数据用中位数(四分位数间距)表示,多组间比较及两组间比较均采用秩和检验,相关性分析采用 Spearman 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、CBCPC 患者外周血 NK 细胞及其亚群占淋巴细胞比例(表 2)

CBCPC 初治组和缓解组 NK 细胞比例明显低于对照组(P 值均 < 0.01),初治和缓解组相比差异无统计学意义($P=0.480$);初治组 CD56^{bright}CD16⁻ 亚

表 2 骨髓单个核细胞 Coombs 试验阳性血细胞减少症(CBCPC)患者 NK 细胞及其亚群占淋巴细胞比例(%)

组别	例数	NK 细胞	CD56 ^{bright} CD16 ⁻ 细胞	CD56 ^{dim} CD16 ⁺ 细胞
CBCPC 初治组	20	10.04±5.33 ^a	0.35(0.80) ^a	9.20±5.22 ^a
CBCPC 缓解组	22	11.62±6.80 ^a	0.64(0.53)	10.31±7.18 ^a
对照组	12	19.94±7.38	1.31(1.12)	17.23±6.94

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;实验设 3 个复管;符合正态分布且方差齐的数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布、方差不齐的数据用中位数(四分位数间距)表示

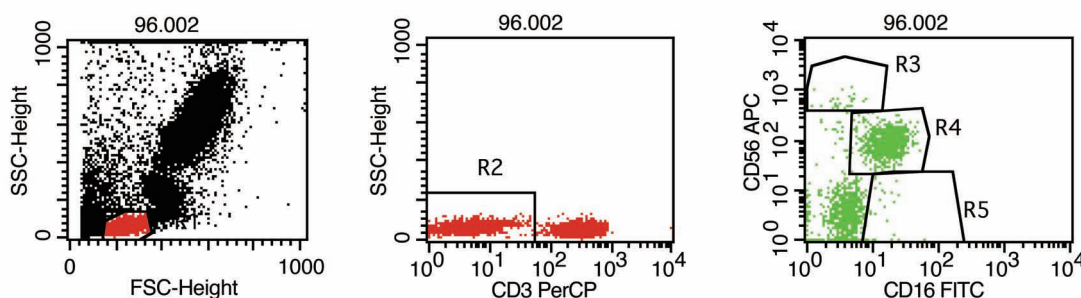


图 1 流式细胞术检测骨髓单个核细胞 Coombs 试验阳性血细胞减少症患者 NK 细胞亚群设门图

群比例低于对照组($P=0.048$),初治组与缓解组、缓解组与对照组比较差异无统计学意义(P 值分别为0.175、0.261);同对照组相比,初治和缓解组CBCPC患者CD56^{dim}CD16⁺比例均明显降低(P 值分别为0.002、0.006),初治组和缓解组相比差异无统计学意义($P=0.607$)。

二、CBCPC患者NK细胞功能

1. NK细胞激活性受体表达:激活性受体NKG2D在CBCPC初治组中的表达显著高于缓解组和对照组(P 值均 <0.01),缓解组和对照组相比差异无统计学意义($P=0.643$);激活性受体NKp46在CBCPC初治、缓解组和对照组之间的表达两两比较差异均无统计学意义(P 值均 >0.05);激活性受体NKp44在CBCPC初治、缓解组和对照组之间的表达两两比较差异均无统计学意义(P 值均 >0.05)(表3)。

2. NK细胞抑制性受体表达:抑制性受体CD158a在CBCPC初治组NK细胞表达显著少于缓解组和对照组(P 值分别为0.015、0.025),缓解组与对照组比较差异无统计学意义($P=0.620$);抑制性受体CD158b在CBCPC初治、缓解组和对照组之间的表达两两比较差异均无统计学意义(P 值均 >0.05)(表3)。

3. NK细胞胞质蛋白穿孔素和颗粒酶β表达: CBCPC初治和缓解组NK细胞穿孔素表达显著高于对照组(P 值分别为0.018、0.008),初治和缓解组之间比较差异无统计学意义($P=0.71$)。颗粒酶β在CBCPC初治、缓解组和对照组NK细胞上的表达两两比较差异无统计学意义($P>0.05$)(表3)。

三、相关性分析

1. NK细胞比例、受体表达率与患者临床指标的相关性分析: NK细胞穿孔素表达率与HGB呈正相关($r=0.452, P=0.004$),NK细胞比例与CBCPC患者外周血HGB、PLT、中性粒细胞比值、网织红细胞比值均无明显相关性(P 值均 >0.05);NK细胞比例与CBCPC患者血清免疫球蛋白水平IgG和IgM、补

体C3、补体C4、LDH水平亦均无明显相关性(P 值均 >0.05)。

2. NK细胞比例、受体表达率与患者免疫指标的相关性分析: NK细胞比例与患者B细胞亚群(CD5⁺CD19⁺/CD19⁺)呈正相关($r=0.487, P=0.006$),NK细胞比例与CD4⁺/CD8⁺比值无明显相关性($r=0.062, P=0.717$);NK细胞比例与树突细胞(DC)亚群浆细胞样DC和髓系DC比值(Lin⁻HLA-DR⁺CD123⁺/Lin⁻HLA-DR⁺CD11c⁺)无明显相关性($r=0.205, P=0.570$);NK细胞比例与骨髓单个核细胞膜抗体(BMMNC-Ab)CD15⁺细胞IgG和IgM阳性率、Glyco-A⁺细胞IgG和IgM阳性率、CD34⁺细胞IgG和IgM阳性率均无明显相关性(P 值均 >0.05)。

四、CBCPC患者NK细胞数量与NK细胞穿孔素、颗粒酶β的乘积做比较

CBCPC初治组和缓解组NK细胞数量与穿孔素的乘积少于对照组[(7.68±4.54)%对(12.13±5.19)%, $P=0.011$;(8.24±5.80)%对(12.13±5.19)%, $P=0.023$];初治组和缓解组NK细胞数量与颗粒酶β的乘积亦显著少于对照组[(7.83±5.26)%对(14.79±8.37)%, $P=0.008$;(8.37±6.83)%对(14.79±8.37)%, $P=0.012$]。

讨 论

CBCPC是我们研究意义未明的全血细胞减少症(idiopathic cytopenia of undetermined significance, ICUS)时发现对激素和大剂量丙种球蛋白治疗反应较好的一部分患者,对这部分患者骨髓样本进行研究发现骨髓上清存在IgG或IgM自身抗体,IgG中以IgG1、IgG3亚型为主^[5-7]。IgG型骨髓细胞膜抗体阳性的CBCPC患者巨噬细胞数量增多,功能亢进,通过抗体依赖细胞介导的细胞毒性作用(ADCC效应)杀伤自身抗体结合的造血细胞,骨髓细胞膜抗体IgM阳性的CBCPC患者补体激活并杀伤造血细胞^[8-10]。进一步的研究结果显示骨髓细胞表面存在IgG型自身抗体,CBCPC患者骨髓有核红

表3 骨髓单个核细胞Coombs试验阳性血细胞减少症(CBCPC)患者NK细胞激活性受体表达水平(%)

组别	例数	NKG2D	NKp46	NKp44	CD158a	CD158b	穿孔素	颗粒酶β
CBCPC初治组	20	74.03±18.24 ^{ab}	67.14±16.80	0.58(1.31)	3.72(7.88) ^{ab}	22.65(23.05)	75.71±10.14 ^a	83.22±13.78
CBCPC缓解组	22	45.97±29.45	74.98±18.39	0.71(1.78)	16.10(26.43)	8.11(37.09)	77.88±22.82 ^b	85.58±12.96
对照组	12	41.89±15.34	68.06±19.57	0.40(0.37)	11.04(22.87)	20.69(19.76)	60.22±14.58	82.07±19.27

注:与缓解组比较,^a $P<0.05$;与对照组比较,^b $P<0.05$;实验设3个复管;符合正态分布且方差齐的数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,非正态分布、方差不齐的数据用中位数(四分位数间距)表示

细胞表面EPO受体水平与自身抗体IgG水平呈负相关,免疫抑制治疗后,有核红细胞EPO受体显著升高,HGB明显上升,且已证实有核红细胞表面EPO受体可被自身抗体封闭^[11]。我们还通过蛋白质组学和质谱证实了CBCPC的靶抗原成分:G蛋白偶联受体156变异体和P链与人红细胞带3蛋白胞内域晶体结构^[12]。后续对CBCPC患者免疫细胞的研究发现浆细胞样DC细胞比例升高,诱导Th0向Th2细胞极化,分泌IL-4、IL-10等细胞因子,刺激CD5⁺B淋巴细胞增殖并产生抗骨髓造血细胞自身抗体,进而抑制和(或)破坏骨髓细胞正常的造血功能,最终表现为外周血一系、两系甚至全血细胞减少的一种自身免疫性疾病^[13-14]。此外,Th17和滤泡辅助性T淋巴细胞数量增多,功能亢进^[15-16]、调节性T淋巴细胞数量减少和功能缺失^[17],CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD19⁺T淋巴细胞端粒程度缩短等^[18],这些在CBCPC发病机制当中也发挥重要作用。

近些年NK细胞作为一种免疫调节细胞在自身免疫性疾病也越来越受到关注^[19]。Park等^[20]的研究发现SLE患者外周血中NK细胞数量、细胞杀伤活性显著降低,且合并关节炎和血小板减少的患者NK细胞数量的减少更加显著,认为NK细胞在疾病中主要起保护性作用。此外类风湿性关节炎^[2]、Graves病^[21]中也有类似发现,但NK细胞如何参与获得性免疫缺陷病的发病尚未明确。

NK有重要的免疫调节作用,可能通过多个环节参与疾病进展。NK细胞通过杀伤DC细胞,避免过度活化的DC细胞使Th0细胞向Th2细胞极化,减少Th2细胞分泌IL-4、IL-10等易化体液免疫的细胞因子,以此来减少自身抗体的形成;同时NK细胞还可以通过杀伤巨噬细胞来减少自身抗体介导的ADCC效应,减少造血细胞的损伤^[22-24]。NK细胞还可以通过分泌细胞因子如IFN- γ 促进Th0向Th1极化^[25],减少Th0细胞向Th2细胞极化,也起到了维持Th1/Th2平衡的作用。本研究我们对CBCPC患者体内的NK细胞数量及功能进行了分析,结果显示初治CBCPC患者NK细胞数量较对照组显著减少,提示CBCPC患者可能由于其体内NK细胞数量减少,免疫监视作用减弱,不能维持免疫系统的稳态,使Th1/Th2细胞比例失衡,Th2细胞占优势并分泌过多易化体液免疫的细胞因子,并产生大量自身抗体,最终造成造血细胞的损伤(抑制)。同时,我们对NK细胞受体及功能进行检测,发现NK细胞激活性受体NKG2D表达增加、抑制性受体CD158a表达

减少、穿孔素表达升高,究其原因我们考虑一是由于CBCPC患者体内NK细胞数量减少,不能发挥足够的免疫监控作用,而导致其功能代偿性增强,NK细胞可能是“保护”细胞群,而并不是“致病”细胞,是由于其数量的减低导致免疫监视减弱、免疫细胞功能亢进,进而发病;二是NK细胞原本是数量增多,功能增强状态,但由于CBCPC本身骨髓造血功能损伤,NK细胞生成减少,故呈现数量减少、功能增强状态。

总之,本研究我们对CBCPC患者NK细胞的数量及功能做了初步探索,但是CBCPC患者NK细胞数量下降而功能增强的机制仍有待进一步探索。

参考文献

- [1] Park YW, Kee SJ, Cho YN, et al. Impaired differentiation and cytotoxicity of natural killer cells in systemic lupus erythematosus [J]. *Arthritis Rheum*, 2009, 60 (6):1753-1763. doi: 10.1002/art.24556.
- [2] Leavenworth JW, Wang X, Wenander CS, et al. Mobilization of natural killer cells inhibits development of collagen-induced arthritis [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2011, 108 (35):14584-14589. doi: 10.1073/pnas.1112188108.
- [3] 邵宗鸿,付蓉. 免疫相关性血细胞减少症——一种新认知的疾病(上) [J]. *中国医刊*, 2005, 40 (1):5-8. doi: 10.3969/j.issn.1008-1070.2005.01.003.
- [4] 邵宗鸿,付蓉. 免疫相关性血细胞减少症——一种新认知的疾病(下) [J]. *中国医刊*, 2005, 40 (2):6-9. doi: 10.3969/j.issn.1008-1070.2005.02.003.
- [5] Fu R, Liu H, Wang Y, et al. Distinguishing immunorelated haemocytopenia from idiopathic cytopenia of undetermined significance (ICUS): a bone marrow abnormality mediated by autoantibodies [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 177 (2):412-418. doi: 10.1111/cei.12347.
- [6] 邴丽娟,付蓉,刘惠,等. 骨髓间接Coombs试验方法的应用及其对免疫相关性全血细胞减少症患者的临床诊断意义[J]. *中国实验血液学杂志*, 2012, 20(2):505-509.
- [7] Shao Y, Fu R, Liu H, et al. IgG autoantibody subclasses altered in immuno-related hemocytopenia [J]. *Cell Immunol*, 2015, 294 (1):13-20. doi: 10.1016/j.cellimm.2015.01.013.
- [8] 王一浩,付蓉,邵宗鸿,等. 骨髓单个核细胞Coombs试验(+)血细胞减少患者骨髓巨噬细胞数量及功能的研究[J]. *中华血液学杂志*, 2009, 30 (8):538-542. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2009.08.009.
- [9] 陈瑾,付蓉,李丽娟,等. 骨髓单个核细胞Coombs试验阳性的血细胞减少患者补体水平变化及其意义[J]. *中华血液学杂志*, 2009, 30 (7):454-457. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2009.07.008.
- [10] Wang YH, Fu R, Dong SW, et al. Erythroblastic islands in the bone marrow of patients with immune-related pancytopenia [J]. *PLoS One*, 2014, 9 (4):e95143. doi: 10.1371/journal.pone.

- 0095143.
- [11] Liu H, Fu R, Li L, et al. Erythropoietin Receptors and IgG Autoantibody Expression on Nucleated Erythrocytes in Some Cases of Immuno-Related Pancytopenia[J]. Clin Lab, 2015, 61 (7):693-698.
- [12] Liu H, Fu R, Wang Y, et al. Detection and analysis of autoantigens targeted by autoantibodies in immunorelated pancytopenia [J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013:297678. doi: 10.1155/2013/297678.
- [13] 付蓉, 邵宗鸿, 刘鸿, 等. 免疫相关性全血细胞减少症患者骨髓 B 淋巴细胞数量、功能及凋亡[J]. 医学研究通讯, 2003, 32 (11):9-12. doi: 10.3969/j.issn.1673-548X.2003.11.004.
- [14] 滕广帅, 付蓉, 刘惠, 等. 免疫相关性全血细胞减少症患者树突状细胞亚群、数量及其临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2012, 20(3):722-726.
- [15] 付蓉, 王红蕾, 陈瑾, 等. 骨髓单个核细胞 Coombs 试验(+)血细胞减少症患者 Th17 细胞数量及功能研究[J]. 中华血液学杂志, 2010, 31 (10):684-687. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2010.10.010.
- [16] Yu H, Zhang J, Fu R, et al. Increased frequency of bone marrow T follicular helper cells in patients with immune-related pancytopenia[J]. Clin Dev Immunol, 2013, 2013:730450. doi: 10.1155/2013/730450.
- [17] 付蓉, 陈瑾, 王红蕾, 等. 骨髓 Coombs 试验阳性血细胞减少症患者调节性 T 细胞数量及功能状态[J]. 中华医学杂志, 2010, 90 (42): 2989-2993. doi: 10.3760/cma.j.issn.0376-2491.2010.42.011.
- [18] 张江勃, 付蓉, 王一浩, 等. 免疫相关性全血细胞减少症患者外周血淋巴细胞端粒长度研究[J]. 中华血液学杂志, 2014, 35 (7):605-608. doi: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2014.07.008.
- [19] Tian Z, Gershwin ME, Zhang C. Regulatory NK cells in autoimmune disease [J]. J Autoimmun, 2012, 39 (3):206-215. doi: 10.1016/j.jaut.2012.05.006.
- [20] Park YW, Kee SJ, Cho YN, et al. Impaired differentiation and cytotoxicity of natural killer cells in systemic lupus erythematosus [J]. Arthritis Rheum, 2009, 60 (6):1753-1763. doi: 10.1002/art.24556.
- [21] Zhang Y, Lv G, Lou X, et al. NKG2A expression and impaired function of NK cells in patients with new onset of Graves' disease [J]. Int Immunopharmacol, 2015, 24 (1):133-139. doi: 10.1016/j.intimp.2014.09.020.
- [22] Ferlazzo G, Morandi B. Cross-Talks between Natural Killer Cells and Distinct Subsets of Dendritic Cells [J]. Front Immunol, 2014, 5:159. doi: 10.3389/fimmu.2014.00159.
- [23] Ferlazzo G, Tsang ML, Moretta L, et al. Human dendritic cells activate resting natural killer (NK) cells and are recognized via the Nkp30 receptor by activated NK cells [J]. J Exp Med, 2002, 195(3):343-351.
- [24] Tian Z, Gershwin ME, Zhang C. Regulatory NK cells in autoimmune disease [J]. J Autoimmun, 2012, 39 (3):206-215. doi: 10.1016/j.jaut.2012.05.006.
- [25] Agaogué S, Marcenaro E, Ferranti B, et al. Human natural killer cells exposed to IL-2, IL-12, IL-18, or IL-4 differently modulate priming of naive T cells by monocyte-derived dendritic cells [J]. Blood, 2008, 112 (5):1776-1783. doi: 10.1182/blood-2008-02-135871.

(收稿日期:2015-11-10)

(本文编辑:刘爽)

·读者·作者·编者·

关于重视引用国内文献的意见

部分作者在撰写论文时,只引用国外文献(或非中文语种的文献)。诚然,在医学的许多领域,国内的研究水平确实有待提高,有引用国外文献的必要。但是,不引用国内相关文献,将存在以下问题:①作者没有阅读国内文献,这样作者阅读的文献就不全面,作者所撰写的论文、综述等的科学性、先进性就值得商榷。②不引用国内文献,就不能准确、全面地反映国内的研究水平和进展,毕竟本刊发表的文章主要的阅读对象是中国医师。③有的作者虽然阅读了国内文献,但未引用。不引用国内文献的想法可能更为复杂,如轻视或忽略国内同行,或暗示首创权。除非是专门的国外医学文摘或国外文献综述,均应有国内文献的复习、引用和注解。本刊倡导在论文的撰写中应维护参考文献的科学性,鼓励作者在引用国外文献的同时检索并引用国内相关的文献。

本刊编辑部