

原发性免疫性血小板减少症患者NK细胞相关免疫负调控的研究

张玉娇 瞿文 刘惠 王一浩 刘春燕 李丽娟 王化泉 付蓉 邢莉氏 邵宗鸿

【摘要】 目的 探讨原发性免疫性血小板减少症(ITP)患者外周血中NK细胞及其相关细胞因子IFN- γ 、IL-10、TGF- β 的变化。方法 以22例初诊ITP患者(初诊组)、20例治疗后完全缓解ITP患者(完全缓解组)为研究对象,以20名健康志愿者为对照组。采用ELISA法检测三组受试者血清IFN- γ 及IL-10水平;用流式细胞术检测NK细胞(CD3⁻CD56⁺)及其Bright亚群(CD3⁻CD56^{bright}CD16⁻)、Dim亚群(CD3⁻CD56^{dim}CD16⁺)水平;采用免疫磁珠法分离NK细胞,实时荧光定量PCR检测IFN- γ 、IL-10、TGF- β 基因mRNA的表达,并将以上测得结果做相关性分析。结果 ①初诊组ITP患者血清IFN- γ 浓度[(653.0±221.6)ng/L]高于完全缓解组[(484.4±219.5)ng/L]和对照组[(390.9±253.5)ng/L](P 值分别为0.022、0.001),血清IL-10浓度低于对照组[(52.09±26.66)ng/L对(79.44±38.43)ng/L, $P=0.007$]。②初诊组、完全缓解组患者外周血NK细胞比例[(9.53±3.93)%、(9.03±3.78)%]均低于对照组[(13.72±7.42)%]($P=0.013$, $P=0.007$);初诊患者外周血Bright亚群占NK细胞的比例高于对照组[(6.85±4.43)%对(4.05±2.81)%, $P=0.032$];初诊组外周血Dim亚群占NK细胞的比例低于对照组[(93.14±4.43)%对(95.94±2.81)%, $P=0.032$]。③初诊组、完全缓解组及对照组NK细胞IFN- γ 基因mRNA表达差异无统计学意义($P>0.05$),初诊组NK细胞IL-10、TGF- β 基因mRNA表达高于对照组(1.82±1.32对1.02±1.03, $P=0.023$; 2.80±2.31对1.46±1.37, $P=0.028$)。外周血Bright细胞占NK细胞的比例与NK细胞IL-10及TGF- β 基因mRNA表达呈正相关($r=0.424$, $P=0.001$; $r=0.432$, $P<0.001$)。结论 NK细胞可能通过加强分泌免疫负调控因子来代偿其数量的不足,在疾病中起保护作用。

【关键词】 血小板减少; 杀伤细胞,天然; 干扰素 γ ; 白细胞介素10; 转化生长因子 β

基金项目:国家自然科学基金(81170472、81370607、81400085、81400088);天津市自然科学基金重点项目(12JCZDJC21500);天津市抗癌重大专项攻关计划(12ZCDZSY179000、12ZCDZSY18000)

Research on the negative immune regulation of NK cells in patients with primary immune thrombocytopenia Zhang Yujiao, Qu Wen, Liu Hui, Wang Yihao, Liu Chunyan, Li Lijuan, Wang Huaquan, Fu Rong, Xing Limin, Shao Zonghong. Department of Hematology, General Hospital, Tianjin Medical University, Tianjin 300052, China

Corresponding author: Shao Zonghong, Email: shaozonghong@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the levels of NK cells and their relevant cytokines (IL-10, TGF- β and IFN- γ) in patients with primary immune thrombocytopenia (ITP). **Methods** All samples were obtained from 42 patients (22 newly diagnosed and 20 in remission) and 20 healthy volunteers. The levels of IL-10 and IFN- γ in blood serum were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The percentage of CD3⁻CD56⁺ NK cell, CD3⁻CD56^{bright}CD16⁻ NK cell, CD3⁻CD56^{dim}CD16⁺ NK cell in peripheral blood lymphocyte were detected by flow cytometry. The NK cells were isolated by immunomagnetic microbeads. The mRNA expression levels of IL-10, TGF- β , and IFN- γ in NK cells were detected by real-time fluorescent quantitative PCR. Correlation between the above measured results was analyzed. **Results** ① The blood serum level of IFN- γ in newly diagnosed ITP patients [(653.0±221.6) ng/L] was higher than that in remission ITP patients [(484.4±219.5) ng/L] and healthy control [(390.9±253.5) ng/L] ($P=0.022$, $P=0.001$). The blood serum level of IL-10 in newly diagnosed ITP patients was lower than that in healthy control [(52.09±26.66) ng/L vs (79.44±38.43) ng/L, $P=0.007$]. ② The

percentage of NK cell in newly diagnosed and remission ITP patients [(9.53±3.93)%, (9.03±3.78)%] were significantly lower than that in healthy control [(13.72±7.42)%] ($P=0.013$, $P=0.007$). The ratio of CD3⁻CD56^{bright}CD16⁻NK cell/total NK cells in newly diagnosed ITP patients was higher than that in healthy control [(6.85±4.43)% vs (4.05±2.81)%, $P=0.032$]. The ratio of CD3⁻CD56^{dim}CD16⁻NK cell/total NK cells in newly diagnosed ITP patients was lower than that in healthy control [(93.14±4.43)% vs (95.94±2.81)%, $P=0.032$]. ③ There was no significant difference in the mRNA expression level of IFN- γ in NK cells of ITP patients and healthy control (all $P>0.05$). The mRNA expression levels of IL-10 and TGF- β in NK cells in newly diagnosed ITP patients were significantly higher than that in healthy control (1.82±1.32 vs 1.02±1.03, $P=0.023$; 2.80±2.31 vs 1.46±1.37, $P=0.028$). The ratio of CD3⁻CD56^{bright}CD16⁻NK cell/total NK cells was positively correlated with the mRNA expression levels of IL-10, TGF- β in NK cells ($r=0.424$, $P=0.001$; $r=0.432$, $P<0.001$). **Conclusion** NK cells may compensate for the deficiency of the number by enhancing the secretion of negative regulation cytokines, acting as "protective" roles in the disease.

【Key words】 Thrombocytopenia; Killer Cell, natural; Interferon- gamma; Interleukin- 10; Transforming growth factor beta

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81170472, 81370607, 81400085, 81400088); Tianjin Major Cancer Focus Program (12ZCDZSY179000, 12ZCDZSY18000)

原发免疫性血小板减少症(ITP)是一种自身免疫介导血小板过度破坏所致的血小板减少性疾病, B淋巴细胞产生血小板相关抗体破坏血小板是ITP的经典发病机制。IL-10可以通过诱导Th0细胞向Th2细胞分化、抑制Th1分化而改变Th1/Th2平衡, 诱导初始T细胞向调节性T细胞(Treg)转化, 抑制Th17细胞的诱导作用, 抑制树突细胞分泌IL-6和IL-12发挥免疫负调控作用^[1]。TGF- β 作为一种免疫抑制因子可以抑制机体多种免疫细胞的功能及其相关细胞因子的产生^[2], 近年来有文献报道NK细胞可以通过分泌IL-10、TGF- β 等具有免疫负调控作用的细胞因子在自身免疫性疾病中起保护作用^[3]。NK细胞及其免疫负调节作用在ITP患者中研究尚少, 本研究我们通过检测ITP患者不同疾病状态及健康对照者外周血NK细胞及其细胞因子的变化, 探讨NK细胞在ITP发病机制中的作用。

对象与方法

1. 研究对象: 2016年4月至10月天津医科大学总医院血液科住院的22例初诊ITP患者(初诊组)和20例经糖皮质激素、静脉丙种球蛋白、环孢素A等治疗后获得完全缓解的ITP患者(完全缓解组)纳入研究。初诊组中男10例, 女12例, 中位年龄为50(14~64)岁, 中位PLT为43.5(8~60)×10⁹/L; 完全缓解组中男7例, 女13例, 中位年龄为42(13~71)岁, 中位PLT为138.5(105~279)×10⁹/L。以20名健康志愿者作为对照组, 男8名, 女12名, 中位年龄为41(14~55)岁, 中位PLT为225(145~302)×10⁹/L。纳入本研究的ITP患者均接受糖皮质激素治疗(泼尼

松0.5~1.0 mg·kg⁻¹·d⁻¹), 部分重症患者加用静脉丙种球蛋白(400 mg·kg⁻¹·d⁻¹×5 d)和环孢素A[(3~5) mg·kg⁻¹·d⁻¹]。诊断及疗效判定标准符合文献[4]。

本研究经天津医科大学总医院伦理委员会批准, 所有研究对象均签署知情同意书。

2. 主要试剂及仪器: IFN- γ 、IL-10 ELISA试剂盒均购自美国eBioscience公司, 酶标仪为美国BioTek公司产品; 鼠抗人PerCP-CD3、APC-CD56、FITC-CD16及各抗体同型对照均购自美国Becton Dickinson公司, 流式细胞仪为FACSCalibur型(美国BD公司产品); 分选人NK细胞的磁珠、抗体、分选液、MS分选柱均购自德国Mitenyi公司; RNA逆转录及荧光定量试剂盒购自日本TaKaRa公司, 实时荧光定量PCR仪购自美国Bio-Rad公司。

3. ELISA法检测外周血IFN- γ 、IL-10水平: 采集ITP患者及正常对照者空腹外周静脉血3~5 ml (EDTA抗凝), 30 min内1 000×g离心20 min, 取上清置于-80℃保存, 使用时于室温放置2 h, 然后按照ELISA试剂盒说明书检测IFN- γ 、IL-10水平, 最后于酶标仪读取波长450 nm处吸光度(A)值。

4. 流式细胞术(FCM)检测NK细胞: 取新鲜抗凝血200 μ l, 平分为2管, 检测管1中加入同型对照IgG1-PerCP、IgG1-FITC、IgG1-APC各20 μ l, 检测管2中加入CD3-PerCP、CD56-APC和CD16-FITC各20 μ l。4℃避光孵育30 min后加入溶血素2 ml, 摇匀后室温避光8 min溶解红细胞, 离心弃上清, 磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后, FCM检测NK细胞的数量及亚群的表达(计数30 000个细胞)。

5. NK细胞(CD3⁻CD56⁺)的分离: 采集患者及

对照组外周静脉血 10 ml (EDTA-K2 抗凝), PBS 2 倍稀释, 用淋巴细胞分离液 (相对密度 1.077) 密度梯度法分离外周血单个核细胞, 用德国 Mitenyi 公司的细胞分选缓冲液 (MACS 缓冲液) 重悬, 200×g 离心 10 min (20 °C), 吸取上清, 定容至 1 ml, 取 10 μl 计数细胞, 根据细胞计数, 每 1×10⁷ 细胞加入 MACS 缓冲液 40 μl、NK 细胞生物素标记抗体 10 μl, 充分混合, 4 °C 孵育 5 min, 加入 MACS 缓冲液 30 μl、NK 细胞磁珠 20 μl, 充分混合, 4 °C 孵育 10 min。将总容量体系用 MACS 缓冲液调至 500 μl, 过柱分选。分选之后的细胞纯度 >90%。

6. 逆转录反应及实时荧光定量 PCR 测定 NK 细胞 IFN-γ、IL-10、TGF-β 基因 mRNA 的相对表达量: 富集好的 NK 细胞放入无 RNA 酶 EP 管中, 200×g 离心 10 min, 去上清, PBS 洗 2 遍, 加入 TRIzol 液 1 ml 摇匀, 4 °C 静置 1 h, 依据 RNA 提取步骤提取总 RNA, 将提取的 RNA 用 TaKaRa 逆转录试剂盒逆转录成 cDNA (37 °C 15 min, 85 °C 5 s, 4 °C 30 min), 利用 cDNA 与 SYBR Premix Ex Taq II (日本 TaKaRa 公司产品) 进行实时荧光定量 PCR。扩增条件: 95 °C 30 s, 1 个循环; 95 °C 5 s, 60 °C 30 s, 45 个循环; 溶解曲线 1 个循环。以甘油醛-3-磷酸脱氢酶 (GAPDH) 作为内参, 由公式 2^{-ΔΔCt} 计算 NK 细胞 IFN-γ、IL-10、TGF-β 基因 mRNA 的相对表达量。引物由上海生工生物工程股份有限公司设计, 由苏州金唯智生物科技有限公司合成, 引物序列见表 1。

7. 统计学处理: 使用 SPSS 20.0 统计软件进行数据分析。符合正态分布、方差齐的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较使用 *t* 检验, 相关分析采用 Pearson 相关分析; 对非正态分布的变量用中位数 (四分位数间距) [*M(QR)*] 表示, 采用非参数检验, 相关分析采用 Spearman 相关分析。P < 0.05 为差异有统计学意义。

结 果

1. ELISA 法检测 ITP 患者血清 IFN-γ、IL-10 水平: 初诊组 ITP 患者血清中 IFN-γ 水平高于完全缓解

组 (*t* = 2.473, *P* = 0.022) 和对照组 (*t* = 3.574, *P* = 0.001), 而完全缓解组与对照组相比差异无统计学意义 (*t* = 1.247, *P* = 0.220); 初诊组 ITP 患者血清中 IL-10 水平低于对照组 (*t* = 2.548, *P* = 0.007), 与完全缓解组相比差异无统计学意义 (*t* = 1.244, *P* = 0.221), 完全缓解组与对照组相比差异无统计学意义 (*t* = 1.377, *P* = 0.176)。详见表 2。

表 2 ELISA 法检测原发免疫性血小板减少症患者血清 IFN-γ、IL-10 浓度 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

组别	例数	IFN-γ	IL-10
初诊组	22	653.0 ± 221.6	52.09 ± 26.66
完全缓解组	20	484.4 ± 219.5*	64.44 ± 29.09
对照组	20	390.9 ± 253.5*	79.44 ± 38.43*

注: 与初诊组比较, **P* < 0.05

2. FCM 检测 ITP 患者及对照组 NK 细胞及其亚群: ① 初诊组和完全缓解组 ITP 患者外周血 NK 细胞水平显著低于对照组 (*t* = 2.312, *P* = 0.013; *t* = 2.516, *P* = 0.007), 初诊组与完全缓解组相比差异无统计学意义 (*t* = 0.420, *P* = 0.676)。② 外周血 Bright 亚群 (CD3⁻ CD56^{bright} CD16⁻) 占 NK 细胞的比例: 初诊组高于对照组 (*t* = 2.416, *P* = 0.032), 与完全缓解组相比差异无统计学意义 (*t* = 0.774, *P* = 0.444), 完全缓解组与对照组相比差异无统计学意义 (*t* = 1.357, *P* = 0.183)。③ 外周血 Dim 亚群 (CD3⁻ CD56^{dim} CD16⁺) 占 NK 细胞的比例: 初诊组低于对照组 (*t* = 2.416, *P* = 0.032), 与完全缓解组相比差异无统计学意义 (*t* = 0.774, *P* = 0.444), 完全缓解组与对照组相比差异无统计学意义 (*t* = 1.375, *P* = 0.183)。详见表 3。

3. 实时荧光定量 PCR 检测 ITP 患者和对照组外周血 NK 细胞 IFN-γ、IL-10、TGF-β 基因 mRNA 的表达: 三组 NK 细胞中 IFN-γ 表达水平差异无统计学意义 (*P* = 0.997)。初诊组 NK 细胞 IL-10 基因 mRNA 表达水平高于对照组 (*t* = 2.160, *P* = 0.023), 而初诊组与完全缓解组相比差异无统计学意义 (*t* = 1.902, *P* = 0.064), 完全缓解组与对照组比较差异无统计学意义 (*t* = 0.428, *P* = 0.671)。初诊组 NK 细胞中 TGF-β 基

表 1 实时荧光定量 PCR 引物序列

基因	上游引物 (5' → 3')	下游引物 (5' → 3')
IFN-γ	GAGTGTGGAGACCATCAAGGA	GTATTGCTTTGCGTTGGACA
IL-10	CTGCCTAACATGCTTCGAGAT	CAACCCAGGTAACCCCTTAAAGT
TGF-β	TTGAGGGCTTTCGCCTTAG	GGTAGTGAACCCGTTGATGT
GAPDH	GGAGCGAGATCCCTCCAAAAT	GGCTGTGTGCATACTTCTCATGG

因 mRNA 表达水平高于对照组 ($t=2.257, P=0.028$), 初诊组与完全缓解组比较差异无统计学意义 ($t=1.319, P=0.194$), 完全缓解组与对照组比较差异无统计学意义 ($t=0.879, P=0.385$)。详见表4。

4. 相关性分析:①NK细胞中Bright亚群比例与NK细胞内IL-10、TGF- β 基因mRNA水平呈正相关 ($r=0.424, P=0.001; r=0.432, P<0.001$), 与NK细胞内IFN- γ mRNA水平无相关性 ($r=-0.226, P=0.077$), 与血清IL-10、IFN- γ 水平无相关性 ($r=-0.236, P=0.064; r=0.105, P=0.416$)。②NK细胞比例与NK细胞IL-10、IFN- γ 、TGF- β 基因mRNA表达水平无明显相关性 ($r=-0.044, P=0.773; r=0.060, P=0.645; r=-0.075, P=0.081$), 与血清IL-10、IFN- γ 水平无相关性 ($r=0.141, P=0.274; r=0.213, P=0.096$)。③NK细胞IFN- γ 基因mRNA表达与血清IFN- γ 水平无明显相关性 ($r=0.075, P=0.561$), NK细胞内IL-10基因mRNA表达与血清IL-10的水平无明显相关性 ($r=-0.119, P=0.358$)。

讨 论

ITP是常见的出血性疾病,其发病原因尚不完全清楚,其中异常B淋巴细胞产生自身抗体介导的血小板破坏是经典致病环节。另外,ITP患者Th1细胞升高,Th2细胞降低,Th1/Th2比值升高,病情缓解后则Th1和Th2逐渐恢复正常^[5-6]。Th1主要分泌IFN- γ , Th2细胞主要分泌IL-10, ITP患者血清中IFN- γ 升高、IL-10降低,经治疗后两者逐渐恢复至正常水平^[7-8]。本研究中,初诊组ITP患者血清IFN- γ 水平高于完全缓解组和对照组,IL-10水平则低于对照

组,与文献报道相符,提示ITP患者体内Th1细胞及其细胞因子水平增高,保护性的Th2细胞及其细胞因子水平不足。

近些年NK细胞作为一种免疫调节细胞是自身免疫性疾病研究的热点^[3]。多数研究者认为NK细胞在体内免疫系统中有重要的免疫监视作用,通过Bright亚群分泌细胞因子或通过Dim亚群的细胞毒性作用对下游免疫细胞起到调节作用。NK细胞可以分泌IFN- γ 使Th0细胞向Th1细胞极化,也可以分泌IL-10、TGF- β 使Th0细胞向Th2细胞极化^[9]。成熟的CD8⁺T细胞高表达主要组织相容性复合物(MHC) I类分子,更易被NK细胞杀伤^[10]。Park等^[11]发现系统性红斑狼疮(SLE)患者外周血中NK细胞数量、细胞毒性、杀伤活性显著低于对照组。NK细胞数量和功能异常也存在于类风湿性关节炎^[12]、重型再生障碍性贫血^[13]和Graves病^[14],并且多数学者认为NK细胞在自身免疫性疾病中起保护作用。

王琳等^[15]将血小板与自身CD8⁺T细胞或NK细胞(效应细胞)共同孵育后,FCM检测膜联蛋白V标记阳性血小板的比例,结果表明CD8⁺T细胞参与了对ITP患者自身血小板的杀伤作用($P<0.05$),NK细胞对自身血小板无明显杀伤作用($P>0.05$)。前已提及,NK细胞通过细胞毒作用杀伤CD8⁺T细胞,减少其对血小板的破坏^[10]。

本研究我们同时检测了NK细胞分泌的具有免疫负调控作用的细胞因子,进一步研究了NK细胞在ITP患者体内的作用。本研究中初诊组ITP患者外周血NK细胞比例较对照组明显降低、Bright亚

表3 流式细胞术检测原发免疫性血小板减少症患者和对照组外周血NK细胞及其亚群(% , $\bar{x}\pm s$)

组别	例数	NK细胞	CD3 ⁻ CD56 ^{bright} CD16 ⁻ 细胞	CD3 ⁻ CD56 ^{dim} CD16 ⁻ 细胞
初诊组	22	9.53±3.93 ^a	6.85±4.43 ^a	93.14±4.43 ^a
完全缓解组	20	9.03±3.78 ^a	5.74±4.82	94.25±4.82
对照组	20	13.72±7.42	4.05±2.81	95.94±2.81

注:与对照组比较,^a $P<0.05$

表4 实时荧光定量PCR检测原发免疫性血小板减少症患者外周血NK细胞IFN- γ 、IL-10、TGF- β 基因mRNA相对表达量 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

组别	例数	IFN- γ [$M(QR)$]	IL-10 ($\bar{x}\pm s$)	TGF- β ($\bar{x}\pm s$)
初诊组	22	1.09(4.06)	1.82±1.32 ^a	2.80±2.31 ^a
完全缓解组	20	1.12(5.45)	1.15±0.88	1.93±1.94
对照组	20	2.03(2.76)	1.02±1.03	1.46±1.37

注:与对照组比较,^a $P<0.05$

群比例升高、Dim亚群比例降低,初诊组NK细胞IL-10、TGF- β 基因mRNA表达较对照组显著升高,而IFN- γ 基因mRNA表达差异无统计学意义,具有主要分泌功能的Bright亚群比例与NK细胞中IL-10、TGF- β 基因mRNA表达呈正相关,我们推测可能是因为NK细胞数量减少、CD56^{Dim}NK亚群降低,不能充分发挥细胞毒作用以抑制异常的自身反应性T、B细胞,相对增多的CD56^{Bright}NK亚群分泌具有免疫负调控作用细胞因子IL-10、TGF- β “代偿性”增多,促使Th0细胞向Th2细胞极化来维持Th1/Th2的平衡,以代偿NK细胞的数量及杀伤功能不足。另外,初诊ITP患者血清IFN- γ 升高、IL-10降低不是NK细胞分泌异常造成的,恰恰相反,NK细胞正在努力分泌IL-10及TGF- β 来“挽回”Th2细胞的分泌不足,以上提示NK细胞很可能是一群“保护性细胞”,而不是“致病性”细胞,NK细胞免疫监视作用减弱,不能维持自身免疫系统的稳态,不能抑制过度激活的体液免疫,最终导致疾病的进展。

通过体外扩增NK细胞并回输或应用细胞因子刺激NK细胞而使其分泌的免疫负调控细胞因子增多,可能会成为ITP未来治疗方法的一个新思路。总之,我们对ITP患者NK细胞及其细胞因子做了初步探索,但是ITP患者NK细胞数量下降而分泌功能增强的机制仍有待进一步探索。

参考文献

- [1] Yang M, Rui K, Wang S, et al. Regulatory B cells in autoimmune diseases [J]. *Cell Mol Immunol*, 2013, 10 (2):122-132. DOI: 10.1038/cmi.2012.60.
- [2] Lee JH, Noh J, Noh G, et al. Allergen-specific transforming growth factor- β -producing CD19+CD5+ regulatory B-cell (Br3) responses in human late eczematous allergic reactions to cow's milk [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2011, 31 (5):441-449. DOI: 10.1089/jir.2010.0020.
- [3] 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.
- [4] 中华医学会血液学分会止血与血栓学组. 成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国专家共识(2016年版) [J]. *中华血液学杂志*, 2016, 37 (2): 89-93. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0253-2727.2016.02.001.
- [5] Lyu M, Li Y, Hao Y, et al. Elevated Semaphorin 5A correlated with Th1 polarization in patients with chronic immune thrombocytopenia [J]. *Thromb Res*, 2015, 136 (5):859-864. DOI: 10.1016/j.thromres.2015.07.032.
- [6] 瞿文, 伍星, 王珺, 等. 免疫性血小板减少性紫癜患者的T细胞免疫状态 [J]. *天津医药*, 2012, 40 (4): 389-391. DOI: 10.3969/j.issn.0253-9896.2012.04.028.
- [7] Talaat RM, Elmaghraby AM, Barakat SS, et al. Alterations in immune cell subsets and their cytokine secretion profile in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP) [J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 176 (2):291-300. DOI: 10.1111/cei.12279.
- [8] Qian BH, Ye X, Zhang L, et al. Increased miR-155 expression in peripheral blood mononuclear cells of primary immune thrombocytopenia patients was correlated with serum cytokine profiles [J]. *Acta Haematol*, 2015, 133 (3):257-263. DOI: 10.1159/000362150.
- [9] Shi FD, Van Kaer L. Reciprocal regulation between natural killer cells and autoreactive T cells [J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6 (10):751-760. DOI: 10.1038/nri1935.
- [10] Schott E, Bonasio R, Ploegh HL. Elimination in vivo of developing T cells by natural killer cells [J]. *J Exp Med*, 2003, 198 (8): 1213-1224. DOI: 10.1084/jem.20030918.
- [11] 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.
- [12] 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.
- [13] Liu C, Li Z, Sheng W, et al. Abnormalities of quantities and functions of natural killer cells in severe aplastic anemia [J]. *Immunol Invest*, 2014, 43 (5):491-503. DOI: 10.3109/08820139.2014.888448.
- [14] Zhang Y, Lyu 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.
- [15] 王琳, 张峰, 朱媛媛, 等. 特发性血小板减少性紫癜患者自身血小板的细胞毒杀伤机制 [J]. *中华医学杂志*, 2005, 85 (43): 3048-3051. DOI: 10.3760/j.issn:0376-2491.2005.43.007.

(收稿日期:2016-11-09)

(本文编辑:徐茂强)