

论著·临床研究

毛细支气管炎 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞和 *Foxp3* mRNA 表达及与 IgE 关系

朱亚非, 朱建央, 李卫武, 蓝陈福, 方静, 林海玲

(温州医学院附属第五医院, 丽水市中心医院儿科, 浙江 丽水 323000)

[摘要] 目的 通过对呼吸道合胞病毒(RSV)毛细支气管炎患儿 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞(CD4⁺ CD25⁺ Treg)、*Foxp3* mRNA 的表达、IgE 合成的检测,以探讨其在 RSV 毛细支气管炎发病机制中的作用。方法 在 RSV 检测阳性的 57 例毛细支气管炎患儿中,运用流式细胞仪检测外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 的比例,RT-PCR 检测 *Foxp3* mRNA 的表达量、ELISA 法检测血清总 IgE 含量。25 例健康儿童作为对照组。结果 毛细支气管炎患儿外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞数量减少,特异性体质(7.7 ± 1.6%)和非特异性体质组(8.8 ± 2.1%)均低于对照组(10.5 ± 1.6%) ($P < 0.01$)。毛细支气管炎特异性体质和非特异性体质组外周血 *Foxp3* mRNA 表达亦均低于对照组 ($P < 0.01$)。而血清总 IgE 含量毛细支气管炎特异性体质(241.2 ± 102.5 IU/mL)和非特异性体质组(125.5 ± 63.2 IU/mL)均高于对照组(27.2 ± 10.5 IU/mL) ($P < 0.01$)。外周血 CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞数量、*Foxp3* mRNA 表达及血清总 IgE 含量在毛细支气管炎特异性体质和非特异性体质组之间差异有显著性意义。CD4⁺ CD25⁺ Treg、*Foxp3* mRNA 与血清 IgE 水平之间相关密切, $r = -0.70, -0.79$ (均 $P < 0.01$)。结论 毛细支气管炎外周血淋巴细胞 CD4⁺ CD25⁺ Treg 和 *Foxp3* mRNA 表达降低,二者低水平表达使 IgE 合成增多,共同参与了 RSV 毛细支气管炎的发病。

[中国当代儿科杂志, 2009, 11(5):349-353]

[关键词] 毛细支气管炎;呼吸道合胞病毒;CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞;*Foxp3*; IgE; 儿童

[中图分类号] R725.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2009)05-0349-05

Relationship of levels of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and expression of *Foxp3* mRNA in peripheral blood with serum immunoglobulin E level in children with bronchiolitis

ZHU Ya-Fei, ZHU Jian-Yang, LI Wei-Wu, LAN Chen-Fu, FANG Jing, LIN Hai-Ling. Department of Pediatrics, Fifth Affiliated Hospital of Wenzhou Medical College/Lishui Central Hospital, Lishui, Zhejiang 323000, China (Email: lszhuyafei@sina.com)

Abstract: Objective To study the roles of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and *Foxp3* mRNA in peripheral blood as well as serum total immunoglobulin E (IgE) in the pathogenesis of bronchiolitis caused by respiratory syncytial virus (RSV). **Methods** The proportion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and expression of *Foxp3* mRNA in peripheral blood, and total serum IgE level were tested by flow cytometry, RT-PCR and ELISA respectively in 57 children with RSV bronchiolitis (26 atopic patients and 31 nonatopic patients). Twenty five healthy children were used as the control group. **Results** The proportion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in peripheral blood in children with bronchiolitis, either in the atopic (7.7 ± 1.6%) or the nonatopic group (8.8 ± 2.1%), was significantly lower than that in the control group (10.5 ± 1.6%) ($P < 0.01$). *Foxp3* mRNA expression in peripheral blood was significantly lower in both atopic and nonatopic children with bronchiolitis than that in the control group ($P < 0.01$). Significantly increased total serum IgE level was noted in both atopic (241.2 ± 102.5 IU/mL) and nonatopic children (125.5 ± 63.2 IU/mL) with bronchiolitis compared with that in the control group (27.2 ± 10.5 IU/ml) ($P < 0.01$). There were significant differences in the proportion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and *Foxp3* mRNA expression in peripheral blood ($P < 0.05$) as well as total serum IgE level ($P < 0.01$) between the atopic and the nonatopic group. The proportion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells ($r = -0.70, P < 0.01$) and *Foxp3* mRNA expression in peripheral blood ($r = -0.79, P < 0.01$) were closely negatively correlated to total serum IgE level. **Conclusions** Both the proportion of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and *Foxp3* mRNA expression in peripheral blood were reduced, in contrast, the total serum IgE level increased in children with RSV bronchiolitis. This suggested that CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells and *Foxp3* mRNA together with IgE participated in the pathogenesis of RSV bronchiolitis. [Chin J Contemp Pediatr, 2009, 11(5):349-353]

Key words: Bronchiolitis; Respiratory syncytial virus; CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells; *Foxp3*; Immunoglobulin E; Child

呼吸道合胞病毒(RSV)的感染在全球范围内十分普遍。流行病学资料显示,RSV感染的毛细支气管炎患儿在儿童期易患哮喘,多项研究已证实RSV感染存在免疫功能紊乱,但是RSV毛细支气管炎有哪些致病机制与哮喘的发生有关联尚未完全阐明。因此进一步研究RSV毛细支气管炎的发病机制、RSV毛细支气管炎与哮喘的相关性具有非常重要的意义。

CD4⁺CD25⁺调节性T细胞(CD4⁺CD25⁺Treg)是一类具有免疫调节作用的细胞群,是机体免疫功能重要调控者。CD4⁺CD25⁺Treg占正常人外周血中CD4⁺T细胞的5%~10%。人类免疫调控转录因子*Foxp3*基因主要存在于CD4⁺CD25⁺Treg上,是其分化发育的关键基因^[1]。有关毛细支气管炎患儿CD4⁺CD25⁺Treg水平、*Foxp3* mRNA表达及其与IgE生成的关系尚未见报道。因此,我们通过对RSV毛细支气管炎患儿外周血CD4⁺CD25⁺Treg及*Foxp3* mRNA表达和血清总IgE的检测,以探讨他们在毛细支气管炎发病中的相互关系。

1 对象与方法

1.1 研究对象

1.1.1 毛细支气管炎组 为2007年1月至2008年1月我院儿科住院的毛细支气管炎患儿57例。入选标准:①临床诊断符合《实用儿科学》的毛细支气管炎的诊断标准^[2];②入院后经碱性磷酸酶-抗碱性磷酸酶桥联酶标法(APAAP)检测鼻咽分泌物证实为RSV感染;③入院前未接受任何免疫抑制剂或免疫增强剂治疗;④排除患有先天性心脏病、免疫缺陷病和其他呼吸系统疾病如哮喘等。通过采集病史,有无湿疹、皮炎等过敏性疾病史及哮喘家族史,又将毛细支气管炎组分为特应体质组和非特应体质组,两组分别收集26例、31例。年龄2个月至2岁,平均(6.7±3.2)个月。

1.1.2 对照组 为健康体检儿童25例,男15例,女10例;年龄3~16个月,平均(6.2±2.3)个月;无过敏性疾病史。两组年龄、性别等经统计学处理差异均无显著性意义,具有可比性。

1.2 研究方法

1.2.1 标本采集 患儿于入院当天分别抽取乙二胺四乙酸二钠盐(EDTA)抗凝静脉血1 mL和2 mL;另抽静脉血2 mL,分离血清。

1.2.2 主要试剂 过敏原总IgE抗体检测试剂盒(北京邦定康克生物技术公司);多甲藻素叶绿素

蛋白(PerCP)标记的CD45单克隆抗体,人异硫氰酸荧光(FITC)标记的CD4单克隆抗体(McAb),藻红蛋白(PE)标记的CD25McAb(美国BD PharMingen公司);人淋巴细胞分离液(上海华精生物高科技有限公司);总RNA提取试剂盒Trizol,第一链录cDNA合成试剂盒,热启动荧光定量PCR(实时PCR)核心试剂盒(SYBR Green I染色法),引物序列(上海闪晶分子生物科技有限公司)。

1.3 检测方法

1.3.1 流式细胞仪检测外周血单个核细胞(PBMCs)中CD4⁺CD25⁺Treg的比例 取EDTA抗凝静脉血1 mL,分别加入6 μL PerCP标记的CD45McAb,测定管中加6 μL FITC标记的CD4McAb和PE标记的CD25McAb于50 μL的EDTA抗凝血中;对照管中加6 μL FITC标记的IgGMcAb和PE标记的IgG2aMcAb于50 μL的EDTA抗凝血中,室温避光孵育15 min,加入红细胞裂解液,避光溶血10 min,1 200 r/min离心5 min,弃上清液,用磷酸盐缓冲(PBS)洗涤2次,1 200 r/min离心5 min,弃上清液;再用500 μL PBS重悬细胞,用流式细胞仪(FACSCalibur)检测,记录阳性细胞百分率。

1.3.2 RT-PCR检测PBMCs *Foxp3* mRNA的表达

(1)引物设计:根据GenBank提供的*Foxp3* mRNA序列(GenBank号:AF277993)和β-actin序列(GenBank号:AY399813)设计引物。目的基因*Foxp3*引物:上游(5'-3')F:CTGACCAAGGCTTCATCTGTG,下游(5'-3')R:ACTCTGGGAATGTGCTGTTTC,扩增片段长度为176 bp,内参基因β-actin引物:上游(5'-3')F:TGACGTGGACATCCGCAAAG,下游(5'-3')R:CTGGAAGGTGGACAGCGAGG,扩增片段长度为205 bp。

(2)采用RT-PCR技术,以Trizol提取总RNA,逆转录合成cDNA,后进行PCR扩增。

(3)荧光定量PCR,仪器检测通道选择F1通道。

(4)扩增产物电泳分析:PCR产物进行1%琼脂糖凝胶电泳,最后在凝胶成像系统中拍照成像。

(5)荧光定量检测:在凝胶成像系统中,应用图像分析软件分析各条带平均灰度值,以同时扩增的β-actin为内参照,以*Foxp3*/β-actin的CT比值表示。

1.3.3 ELISA法检测血清总IgE含量 患儿于入院当天抽取静脉血2 mL,室温(20~25℃)放置60 min,2 000 r/min离心10 min,留取血清-20℃冻存备测。

1.4 统计学处理

各组数据以平均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用

SPSS 12.0 统计软件处理, 正态分布的两组样本均数比较采用 *t* 检验。用简单直线相关分析探讨两因素之间相关关系的方向和程度。

2 结果

2.1 两组外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数量的比较

RSV 毛细支气管炎患儿外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的数量减少, 特异性体质和非特异性体质组均低于对照组 ($t = 6.2, 3.6$, 均 $P < 0.01$), 且特异性体质低于非特异性体质组 ($t = 2.3, P < 0.05$) (表 1)。

表 1 外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞的水平

($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Treg
对照组	25	10.5 ± 1.6
非特异性体质组	31	8.8 ± 2.1 ^a
特异性体质组	26	7.7 ± 1.6 ^{a,b}

a: 与对照组比较, $P < 0.01$; b: 与非特异性体质组比较, $P < 0.05$

2.2 两组外周血中 Foxp3 基因表达的比较

RSV 毛细支气管炎患儿外周血中 Foxp3 mRNA 的表达减少, 特异性体质和非特异性体质组均低于对照组 ($t = 4.1, 2.6$, 均 $P < 0.01$), 且特异性体质组低于非特异性体质组 ($t = 2.2, P < 0.05$)。融解曲线和 PCR 产物电泳证实 PCR 扩增的特异性 (表 2, 图 1~4)。

表 2 外周血中 Foxp3 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	Foxp3 mRNA/ β -actin
对照组	25	0.34 ± 0.11
非特异性体质组	31	0.27 ± 0.09 ^a
特异性体质组	26	0.22 ± 0.08 ^{a,b}

a: 与对照组比较, $P < 0.01$; b: 与非特异性体质组比较, $P < 0.05$

2.3 两组血清总 IgE 含量的比较

血清总 IgE 表达特异性体质组和非特异性体质组均高于对照组 ($t = 10.4, 7.6$, 均 $P < 0.01$), 特异性体质组高于非特异性体质组 ($t = 5.2, P < 0.01$), (表 3)。

表 3 血清总 IgE 含量表达水平 ($\bar{x} \pm s, IU/mL$)

组别	例数	IgE
对照组	25	27.2 ± 10.5
非特异性体质组	31	125.5 ± 63.2 ^a
特异性体质组	26	241.2 ± 102.5 ^{a,b}

a: 与对照组比较, $P < 0.01$; b: 与非特异性体质组比较, $P < 0.01$

2.4 相关性分析

RSV 毛细支气管炎非特异性体质组、特异性体质组 Foxp3 mRNA 表达水平的检测, 与 CD4⁺CD25⁺Treg 频率的检测结果相一致, CD4⁺CD25⁺Treg 细胞频率与 Foxp3 mRNA 表达水平呈正相关。

CD4⁺CD25⁺Treg 细胞数量和 IgE 水平呈非常显著负相关 ($r = -0.70, P < 0.01$); Foxp3 基因的表达与 IgE 水平呈非常显著负相关 ($r = -0.79, P < 0.01$)。

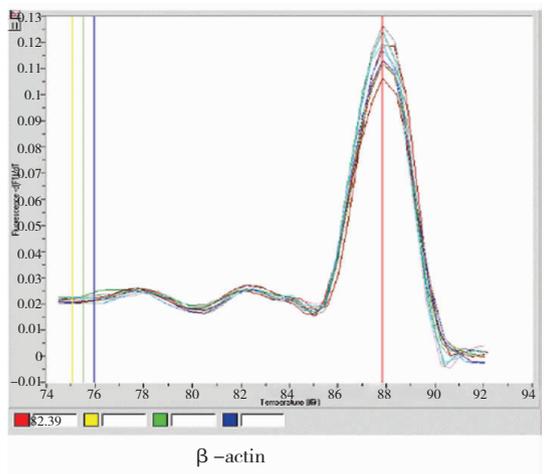
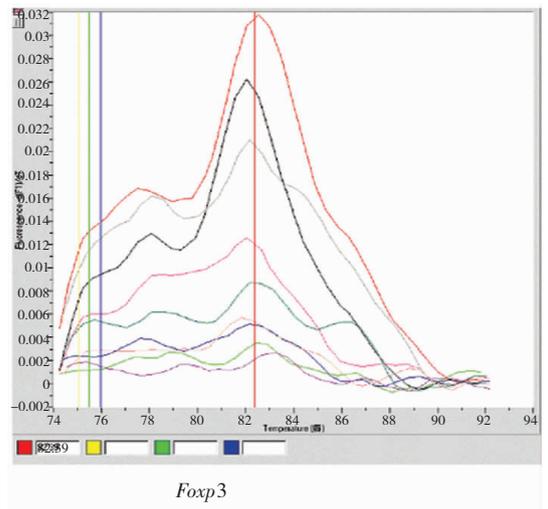


图 1 目的基因 Foxp3 mRNA 和参比基因 β -actin 融解曲线分析图 Foxp3 和 β -actin 均只有一个尖峰, 解链温度 (T_m 值) 分别为 82.4°C 和 87.8°C, 说明分别仅有一扩增产物。



图 2 参比基因 β -actin 电泳图谱 PCR 产物经琼脂糖凝胶电泳分析仅见一条带, 证实扩增的特异性。

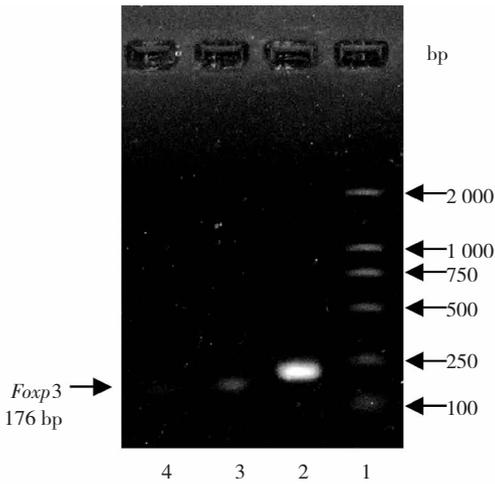


图3 毛细支气管炎患儿外周血 T 细胞 *Foxp3* mRNA 电泳图 图中可见毛细支气管炎电泳条带淡,说明 *Foxp3* mRNA 含量较正常对照组低。1. Marker; 2. 标准分子量(β -actin); 3. 正常对照组(*Foxp3* mRNA); 4. 毛细支气管炎(*Foxp3* mRNA)。

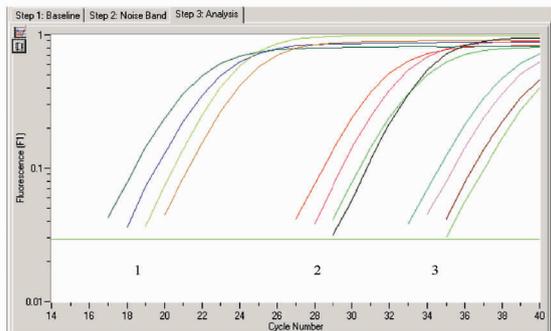


图4 *Foxp3* mRNA 实时荧光定量 PCR 结果 图中可见毛细支气管炎病人 PCR 扩增加条带出现迟,说明 *Foxp3* mRNA 含量较正常对照组低。

图4 *Foxp3* mRNA 实时荧光定量 PCR 结果 图中可见毛细支气管炎病人 PCR 扩增加条带出现迟,说明 *Foxp3* mRNA 含量较正常对照组低。

3 讨论

IgE 具有亲细胞活性,能与体内肥大细胞和嗜碱性粒细胞结合,是 I 型变态反应的介导物质, Haeuermann 等^[3] 研究发现, IgE 与变原有协同作用,可以加强 T 淋巴细胞的功能和活性,导致气道高反应性炎症反应。也有研究表明,控制血清总 IgE 基因与气道高反应性的基因靠近,表现常染色体显性遗传^[4]。故随着血清总 IgE 水平增高,气道高反应性炎症反应越强烈,从而喘息严重程度逐渐加重, RSV 感染后血清 IgE 的升高对其后发生哮喘有重要的作用^[5]。

CD4⁺CD25⁺Treg 是 Sakaguchi 等在 1995 年首次发现报道,是一种主要表达 CD25 分子的 CD4⁺T

细胞亚群。目前可以将 Treg 细胞分为两类,一类是机体内天然产生的 CD25⁺Treg (nTreg) 细胞,其来源于胸腺,大约占人外周 CD4⁺T 细胞数的 5% ~ 10%;另外也可通过免疫抑制因子诱导的方法获得 Treg (iTreg) 细胞。它是不同于 Th1 和 Th2 细胞的一种免疫调节细胞,它能使机体通过调节外周免疫耐受来控制免疫性疾病^[6]。Jaffar 等^[7] 研究表明, CD4⁺CD25⁺Treg 能够在体内强烈地抑制促进气道嗜酸性炎症形成的 Th2 的产生及 Th2 所诱导的嗜酸粒细胞在气道聚集的情况。Taylor 等^[8] 也推测 Treg 细胞可通过分泌的 IL-10 及 TGF- β , 抑制 Th2 细胞产生 IL-4, IL-5, IL-13, 从而减少 IgE 的产生;抑制嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞及肥大细胞的致炎作用,直接抑制变态反应性炎症。

随着免疫学的快速发展,大量研究已证明毛细支气管炎的发病和免疫功能紊乱有关^[9]。RSV 感染时引起低 IFN- γ , 高 IL-4, 由于 IFN- γ 和 IL-4 比例的失衡,导致 RSV 感染引起 Th2 类细胞因子强势状态, Th2 产生的细胞因子 IL-4, IL-5 等介导 IgE 的产生,因此 RSV 感染存在免疫功能紊乱,而免疫功能紊乱可能与免疫调节异常有关。

我们通过检测发现, RSV 毛细支气管炎患儿外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 含量与正常组比较明显降低,血清总 IgE 含量升高。其结果说明 CD4⁺CD25⁺Treg 参与毛细支气管炎的发生发展过程,毛细支气管炎患者免疫调节功能失调可能与患者外周血调节 T 细胞比例数量不足,免疫抑制功能下降有关,从而导致效应性 CD4⁺T 细胞尤其是 Th2 细胞大量增殖活化, IgE 抗体分泌增加,产生大量致炎因子从而导致喘息发作,因此外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 比例可能是一个较好的反映细胞免疫功能的参考指标。

由于个体 T 细胞对变应原刺激的免疫反应类型开始于母体子宫内,父母为非特异性体质者,新生儿脐血 T 细胞呈 Th1 优势分化,而父母为特异性体质者,大多数新生儿 T 细胞显示 Th2 分化类型^[10], 推测毛细支气管炎 Th2 功能增高与遗传特异性体质有关。Waris 等^[11] 在小鼠实验中也证实 RSV 感染引起临床喘息症状与特异性体质有一定的相关性,特异性体质者易有免疫混乱现象。Ling 等^[12] 研究报道,特异性体质患儿外周血中 CD4⁺CD25⁺Treg 的体外抑制功能有缺陷。本实验发现特异性体质人在感染 RSV 时 CD4⁺CD25⁺Treg 的比例、血清总 IgE 含量失调现象更明显,与吴奎等^[13] 在研究哮喘小鼠模型中发现 CD4⁺CD25⁺Treg 的数量较正常小鼠显著减少现象相一致,因此认为毛细支气管炎与哮喘

在发病机制方面有相似的地方。提示特应性体质人在RSV感染时易引起临床喘息症状,并有可能在RSV毛细支气管炎转变为哮喘过程中起着一定的作用。

人类免疫调控转录因子 *Foxp3* 基因主要存在于 $CD4^+ CD25^+ Treg$ 上。已有实验发现 *Foxp3* 突变小鼠伴随出现过敏性气道炎症、明显的IgE和嗜酸性粒细胞增高、 $Th1/Th2$ 型细胞因子失衡^[14]。Fontenot等^[15]发现,*Foxp3* 突变鼠和 *Foxp3* 缺失鼠体内的 $CD4^+ CD25^+ Treg$ 数目减少。*Foxp3* 是 $CD4^+ CD25^+ Treg$ 分化发育的关键基因。

我们的研究结果显示 RSV 毛细支气管炎外周血 *Foxp3* 的表达也明显低于对照组,同时它的表达水平与 $CD4^+ CD25^+ Treg$ 数量存在依赖关系。说明 RSV 毛细支气管炎体内由于 *Foxp3* 水平降低,引起 $CD4^+ CD25^+ Treg$ 数量、免疫调节功能受损,造成细胞免疫失调,导致 $Th2$ 细胞大量增殖活化,IgE 抗体分泌增加,从而出现气道高反应性,引起哮喘等类似于哮喘的系列临床表现。因此,毛细支气管炎患儿存在表达 *Foxp3* 的调节性 T 细胞减少和/或功能降低,该群调节性 T 细胞的异常,可能是毛细支气管炎的发病或演变为哮喘的重要原因之一^[16~18]。

[参 考 文 献]

[1] Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. *Foxp3* programs the development and function of $CD4^+ CD25^+$ regulatory T cells[J]. Nat Immunol, 2003, 4(4):330-336.
[2] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版. 北京:人民卫生出版社,2002,1199.
[3] Hamelmann E, Tateda K, Oshiba A, Gelfand EW. Role of IgE in the development of allergic airway inflammation and airway hyper-responsiveness—a murine model[J]. Allergy, 1999, 54(4):297-305.
[4] 鲁继荣,成焕吉. 儿童哮喘基因的研究[J]. 临床儿科杂志, 2005, 23(9):599-601.
[5] Khan SH, Park SS, Sirajuddin IA, Grayson MH. Respiratory virus and asthma; the role of immunoglobulin E[J]. Clin Ther,

2008, 30(12), 1017-1024.
[6] 李莹莹,冯学斌. $CD4^+ CD25^+$ 调节性 T 细胞在支气管哮喘中的研究进展[J]. 国际内科学杂志, 2007, 34(9):545-548.
[7] Jaffar Z, Sivakunu T, Roberts K. $CD4^+ CD25^+$ T cells regulate airway eosinophilic inflammation by modulating the $Th2$ cell phenotype[J]. J Immunol, 2004, 172(6):3842-3849.
[8] Taylor PA, Noelle RJ, Blazar BR. $CD4^+ CD25^+$ immune regulatory T cells are required for induction of tolerance to alloantigen via costimulatory blockade[J]. J Exp Med, 2001, 193(11):1311-1318.
[9] Smit JJ, Boon L, Lukacs NW. Respiratory virus-induced regulation of asthma-like responses in mice depends upon $CD8$ T cells and interferon-gamma production[J]. Am J Pathol, 2007, 171(6):1944-1951.
[10] Romagnani S. Lymphokine production by human T cells in disease states[J]. Annu Rev Immunol, 1994, 12(4):227-257.
[11] Waris ME, Tsou C, Erdman DD, Day DB, Anderson LJ. Priming with live respiratory syncytial virus (RSV) prevents the enhanced pulmonary inflammatory response seen after RSV challenge in BALB/c mice immunized with formalin-inactivated RSV[J]. J Virol, 1997, 71(9):6935-6939.
[12] Ling EM, Smith T, Nguyen XD, Pridgeon C, Dallman M, Arbery J, et al. Relation of $CD4^+ CD25^+$ regulatory T-cell suppression of allergendriven T-cell activation to atopic status and expression of allergic disease[J]. Lancet, 2004, 363(9409):608-615.
[13] 吴奎,孙巍,毕玉田,俊波,王长征. 哮喘小鼠 $CD4^+ CD25^+$ 调节性 T 细胞数量及功能的改变[J]. 中国呼吸与危重监护杂志, 2005, 4(6):455-458.
[14] Lin W, Truong N, Grossman WJ, Haribhai D, Williams CB, Wang J. Allergic dysregulation and hyperimmunoglobulin-emia E in *Foxp3* mutant mice[J]. J Allergy Clin Immunol, 2005, 116(5):1106-1115.
[15] Fontenot JD, Gavin MA, Rudensky AY. *Foxp3* programs the development and function of $CD4^+ CD25^+$ regulatory T cells[J]. Nat Immunol, 2003, 4(4):330-336.
[16] 李敏,宋丽,张建波,房俊,李兰. 糖皮质激素对哮喘小鼠 $CD4^+ CD25^+$ 调节性 T 细胞作用[J]. 中国当代儿科杂志, 2008, 10(4):527-530.
[17] 李兰,王智斌,李敏,张剑波,陈昌辉,李波,等. 呼吸道合胞病毒毛细支气管炎患儿 T 细胞亚群检测的临床价值[J]. 中国当代儿科杂志,2005,7(5):421-422.
[18] 张艳敏,雷春莲,成革胜,杨玉臻. RSV 感染患儿外周血 $CD4^+, CD45RO^+, CD45RA^+$ 表达变化的研究[J]. 中国当代儿科杂志,2001,3(3):260-261.

(本文编辑:吉耕中)