

论著·实验研究

过敏性紫癜患儿血清对人脐静脉内皮细胞的影响 及甲基泼尼松龙的保护作用

吴琳 袁丽萍 费文君 邓芳 张琴 胡波 鹿玲

(安徽医科大学第一附属医院儿科,安徽 合肥 230022)

[摘要] 目的 探讨过敏性紫癜(HSP)患儿血清对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)炎症损伤的作用及甲基泼尼松龙(甲泼尼龙)在其中的调节作用。方法 人脐静脉内皮细胞培养分为4组:空白对照组、正常血清组、HSP血清组及甲泼尼龙干预组。分别检测各组上清液白细胞介素-8(IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和一氧化氮(NO)水平;半定量RT-PCR和Western blot法检测HUVEC中核因子- κ B(NF- κ B)和不规则趋化因子(Fractalkine)mRNA及蛋白表达。结果 HSP血清组上清液IL-8、TNF- α 和NO水平均高于空白对照组和正常血清组($P < 0.05$),甲泼尼龙干预组上清液IL-8、TNF- α 和NO水平较HSP血清组明显降低($P < 0.05$);HSP血清组HUVEC中NF- κ B和Fractalkine mRNA表达量明显高于空白对照组($P < 0.05$),两者的蛋白表达量明显高于空白对照组和正常血清组($P < 0.05$);甲泼尼龙干预组HUVEC中NF- κ B和Fractalkine mRNA及蛋白表达量较HSP血清组明显降低($P < 0.05$)。结论 HSP急性期患儿血清可以诱导体外培养的HUVEC活化并分泌炎症细胞因子,甲泼尼龙可能通过抑制NF- κ B表达、减少炎症因子产生而减轻血管炎症。 [中国当代儿科杂志,2012,14(1):59-63]

[关键词] 过敏性紫癜;细胞因子;甲泼尼龙;内皮细胞

[中图分类号] R554⁺.6 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2012)01-0059-05

Impact of sera from children with active Henoch-Schönlein purpura on human umbilical venous endothelial cells (HUVECs) and protective effects of methylprednisolone against HUVECs injury

WU Lin, YUAN Li-Ping, FEI Wen-Jun, DENG Fang, ZHANG Qin, HU Bo, LU Ling. Department of Pediatrics, First Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei 230022, China (Lu L, Email: zbkllfdj@mail.hf.ah.cn)

Abstract: Objective To observe the changes of human umbilical venous endothelial cells (HUVECs) induced by the sera from children with active Henoch-Schönlein purpura (HSP) and the protective effects of methylprednisolone against HUVECs injury. **Methods** HUVECs were divided into four groups based on the culture conditions: blank control group, normal serum group, HSP serum group, and HSP serum plus methylprednisolone group. The levels of tumor necrosis factor (TNF)- α and interleukin (IL)-8 in the supernatants of each group were detected using ELISA and the nitric oxide (NO) level by nitrate reductase determination. Moreover, the expressions of nuclear factor-kappa B (NF- κ B) and Fractalkine in HUVECs were examined by semiquantitative reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) and Western blot, respectively. **Results** The levels of IL-8, TNF- α , and NO in the HSP serum group were significantly higher than those in the blank control and normal serum groups ($P < 0.05$). Compared with the HSP serum group, the levels of IL-8, TNF- α , and NO in the HSP serum plus methylprednisolone group decreased significantly ($P < 0.05$). The mRNA expression levels of NF- κ B and Fractalkine in the HSP serum group were significantly higher than those in the blank control group ($P < 0.05$). The protein expression levels of NF- κ B and Fractalkine in the HSP serum group were significantly higher than those in the blank control and normal control group ($P < 0.05$). Compared with the HSP serum group, the mRNA and protein expression levels of NF- κ B and Fractalkine in the HSP serum plus methylprednisolone group decreased significantly ($P < 0.05$). **Conclusions** The sera from children with active HSP can induce the *in vitro* cultured HUVECs to become activated and excrete cytokines. Methylprednisolone may inhibit NF- κ B expression, reduce the production of inflammatory factors, and thus alleviate vascular inflammation. [Chin J Contemp Pediatr, 2012, 14 (1):59-63]

Key words: Henoch-Schönlein purpura; Cytokine; Methylprednisolone; Human umbilical venous endothelial cell

[收稿日期]2011-07-21;[修回日期]2011-09-12

[基金项目]安徽医科大学第一附属医院博士科研启动基金项目(2008-2011);安徽医科大学2010年度校科研基金项目(No. 2010xkj056);2011年安徽省自然科学基金项目(No. 11040606M168)。

[作者简介]吴琳,女,硕士研究生。

[通信作者]鹿玲,教授。

过敏性紫癜 (Henoch-Schönlein purpura, HSP) 是儿童时期常见的系统性小血管炎,以毛细血管的变态反应为主,可能与血管自身免疫损伤有关^[1]。近年来 HSP 的发病有增加的趋势,17 岁以下发病率大约为 13~20/10 万人^[2]。本病常累及全身多个器官系统,远期预后主要取决于肾脏受累的严重程度,约 40% 的 HSP 患儿有肾脏受累^[3]。

目前资料^[4]提示在 HSP 发病阶段,由于免疫复合物粘附在血管内壁上,位于血管壁内侧的血管内皮细胞 (venous endothelial cell, VEC) 首先受到侵害。研究还发现在 HSP 的急性期,免疫反应强,血管的病理损害程度高,作为其构成的内皮细胞需要大量增殖来修补其创面^[5]。研究表明细胞因子在 HSP 的血管内皮损伤过程中发挥重要作用^[6]。随着 HSP 患儿急性期肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素-1 β (IL-1 β) 水平的增高,一氧化氮 (NO) 浓度升高,直接或间接损伤内皮细胞^[7]。Yang 等^[8] 研究进一步发现 HSP 患儿血清刺激人脐静脉内皮细胞 (human umbilical venous endothelial cells, HUVEC) 分泌大量 IL-8,提示炎症细胞因子在 HSP 发病过程中占有重要作用。最新研究发现不规则趋化因子 (Fractalkine, Fkn, CX3CL1) 是 CX3C-类趋化因子中唯一的成员,在内皮细胞的炎性损伤中起重要作用^[9]。这些炎症因子的表达与核因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B) 信号通路的活化有关^[10],但炎症因子在血管内皮损伤中的具体作用机制及 HSP 血管内皮损伤的始发因素仍不明确。目前甲基泼尼松龙 (甲泼尼龙) 是治疗 HSP 的有效药物^[11],但是其治疗 HSP 确切作用环节尚不清楚。因此本研究以 HUVEC 为靶细胞,进一步观察炎性细胞因子在 HSP 的 VEC 损伤中的作用及甲泼尼龙的保护作用,为深入探讨 HSP 的发病机制和治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

HUVEC 和 RPMI-1640 培养基均购自南京凯基生物有限公司;胎牛血清为 Hyclone 公司产品;胰酶、EDTA、L-谷氨酰胺为 Gibco 公司产品;Trizol 为 Introgen Life Technologies 产品;逆转录试剂盒为 Ferment 公司产品;兔抗 NF- κ B、Fractalkine 多克隆抗体和二抗为 Santa Cruz 公司产品;NF- κ B、Fractalkine 和 β -actin 引物由上海生工生物工程技术有限公司合成;硝酸纤维素膜为 Whatman 公司产品;放光液为 GE 生物公司产品。

1.2 方法

1.2.1 血清采集 采集 10 例我院确诊为急性期 HSP 患儿 (3~12 岁,男 6 例,女 4 例) 的血清标本。HSP 的诊断标准按 2005 年欧洲风湿病协会修定的 HSP 诊断标准^[12];急性期指首次发病 1 周以内,未使用过肾上腺糖皮质激素治疗。同时选取我院体检的健康儿童 10 例作为正常血清对照组。采集 2 组儿童静脉血 4 mL,分离血清,-80 $^{\circ}$ C 冰箱冻存。实验前将血清室温解冻,微孔滤器过滤除菌。以上过程均需保证无菌操作。

1.2.2 HUVEC 培养 HUVEC 用含 10% 胎牛血清的 RPMI-1640 培养基培养,放入 37 $^{\circ}$ C,含 5% CO₂ 的细胞培养箱中,每 2~3 d 换液一次,待细胞生长至融合状态时传代,取传至 3~4 代细胞进行实验。

1.2.3 各组 HUVEC 培养上清液中 IL-8、TNF- α 和 NO 的表达 将分化成熟的 HUVEC 按每孔 1×10^6 个细胞接种于 6 孔培养板,每孔体积 2 mL。放入 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 的细胞培养箱中培养,当细胞生长至部分融合后,每孔用 PBS 洗涤 2 次。随机将细胞分为 4 组 (每组 10 孔):①空白对照组:HUVEC 置于 2 mL 无血清培养液中培养 24 h;②正常对照组:HUVEC 置于含 25% 正常血清浓度的 2 mL 培养液中培养 12 h,弃上清,加入 2 mL 无血清培养液;③HSP 血清组:HUVEC 置于含 25% HSP 患儿血清浓度的 2 mL 培养液中培养 12 h,弃上清,加入 2 mL 无血清培养液;④甲泼尼龙干预组:HUVEC 置于含 25% HSP 患儿血清浓度的 2 mL 培养液中培养 12 h,弃上清,加入 2 mL 无血清培养液 (无血清培养液中甲泼尼龙浓度为 20 pg/L)。培养 12 h 后收集各组上清液检测 IL-8、TNF- α 、NO 含量;同时收集细胞用于 RT-PCR 及 Western blot 检测。IL-8、TNF- α 测定采用酶联免疫法,NO 测定采用硝酸还原酶法。

1.2.4 RT-PCR 检测 HUVEC 中 NF- κ B 和 Fractalkine mRNA 表达 将收集的 HUVEC 用 Trizol 法提取总 RNA。取 5 μ L RNA 用逆转录试剂盒逆转录为 cDNA。取 5 μ L cDNA 模板行 PCR。引物的设计:根据 GenBank 的基因序列,采用 Oligo 5.0 软件设计引物序列如表 1 所示。反应条件为:预变性 94 $^{\circ}$ C 4 min;变性 94 $^{\circ}$ C 30 s,退火 55 $^{\circ}$ C 30 s,扩增 72 $^{\circ}$ C 45 s,循环 35 次;延伸 72 $^{\circ}$ C 5 min。取扩增产物 8 μ L 在 2% 琼脂糖凝胶中电泳,凝胶扫描系统扫描并半定量分析。NF- κ B 和 Fractalkine mRNA 表达分别以 NF- κ B、Fractalkine 与内参照基因 β -actin 电泳条带密度值的比值来表示。

表1 RT-PCR引物序列和扩增产物长度

目的基因	引物序列	长度(bp)
NF-κB	上游引物:5'-AGTAAAGCCCCCAATGCATC-3'	279
	下游引物:5'-CCGAAGCTGGACAAACACAG-3'	
Fractalkine	上游引物:5'-CGAAGGAGCAATGGGCTCAAG-3'	206
	下游引物:5'-CTGGGAAGAAGGAGTCGGCT-3'	
β-actin	上游引物:5'-TGACGTGGACATCCGCAAAG-3'	205
	下游引物:5'-CTGGAAGGTGGACAGCGAGG-3'	

1.2.5 Western blot 检测 HUVEC 中 NF-κB 和 Fractalkine 蛋白表达 取各组细胞,加入裂解缓冲液 0.5 mL,冰上裂解 30 min,离心(4°C, 12000 r/min, 30 min)收集上清。采用 BCA 法行蛋白定量,用裂解缓冲液调整各标本至相同蛋白浓度,蛋白变性后用 12% 十二烷基硫酸钠聚丙烯酰胺凝胶电泳(SDS-PAGE)分离后,通过电转移法将蛋白转移至硝酸纤维素滤膜上,分别与脱脂牛奶稀释的 1:400 NF-κB、Fractalkine 单克隆抗体结合(4°C 振荡 1 h),再与 1:1000 的 HRP 标记的二抗结合(水平振荡摇床 1 h),显色。电化学发光(electrochemiluminescence, ECL)检测,凝胶图像分析系统扫描进行分析,将各组相同面积下目的蛋白条带的平均灰度值与空白对照组条带平均灰度值的比值作为细胞中目的蛋白的相对量。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析,数据采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,用方差分析或者非参检验比较多组间的差异,多组间的两两比较采用 SNK(Students-Newman-Keuls)法, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组上清液 IL-8、TNF-α 和 NO 水平

HSP 血清组上清液 IL-8、TNF-α 和 NO 水平较空白对照组、正常血清组均有显著性增高(均 $P < 0.05$),空白对照组和正常血清组之间差异无统计学意义($P > 0.05$);甲泼尼龙干预组上清液 IL-8、TNF-α 和 NO 水平较 HSP 血清组明显降低($P < 0.05$),其中甲泼尼龙干预组 IL-8、NO 与空白对照组及正常血清组比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),TNF-α 较正常血清组降低($P < 0.05$),但较空白对照组差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 2。

表2 各组上清液中 IL-8、TNF-α 和 NO 水平 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	IL-8 (pg/mL)	TNF-α (pg/mL)	NO (μmol/L)
空白对照组	736 ± 39	241 ± 25	359 ± 14
正常血清组	757 ± 33	252 ± 17	356 ± 23
HSP 血清组	961 ± 69 ^{a,b}	292 ± 12 ^{a,b}	381 ± 8 ^{a,b}
甲泼尼龙组	712 ± 55 ^c	231 ± 11 ^{b,c}	360 ± 16 ^c
F 值	50.10	20.56	4.92
P 值	<0.001	<0.001	<0.01

a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与正常血清组比较, $P < 0.05$; c: 与 HSP 血清组比较, $P < 0.05$

2.2 各组 HUVEC 中 NF-κB 和 Fractalkine mRNA 的表达

各组 NF-κB 与 Fractalkine mRNA 半定量 RT-PCR 电泳图见图 1,表达水平见表 3。HSP 血清组 HUVEC 中 NF-κB 和 Fractalkine mRNA 表达与空白对照组比较显著性增高($P < 0.05$),与正常血清组比较有增高趋势,但差异无统计学意义($P > 0.05$);甲泼尼龙干预组两者的表达较 HSP 血清组明显降低($P < 0.05$),其中 NF-κB mRNA 表达与空白对照组及正常血清组比较均明显降低(均 $P < 0.05$),Fractalkine mRNA 表达与空白对照组及正常血清组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表3 各组 HUVEC 中 NF-κB 与 Fractalkine mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s, n = 10$)

组别	NF-κB	Fractalkine
空白对照组	0.30 ± 0.09	0.22 ± 0.06
正常血清组	0.36 ± 0.10	0.31 ± 0.09 ^a
HSP 血清组	0.40 ± 0.09 ^a	0.41 ± 0.11 ^a
甲泼尼龙干预组	0.22 ± 0.06 ^{a,b,c}	0.26 ± 0.12 ^c
F 值	9.03	6.50
P 值	<0.001	<0.01

a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与正常血清组比较, $P < 0.05$; c: 与 HSP 血清组比较, $P < 0.05$

2.3 各组 HUVEC 中 NF-κB 和 Fractalkine 蛋白表达

各组 HUVEC 中 NF-κB 和 Fractalkine 蛋白电泳图见图 2,表达水平见表 4。在 HSP 患儿血清刺激下,血管内皮细胞 HUVEC 中 NF-κB 和 Fractalkine 蛋白表达明显增强,与空白对照组及正常血清组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。甲泼尼龙干预可以显著抑制 HUVEC 中蛋白表达,与 HSP 血清组、空白对照组及正常血清组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。

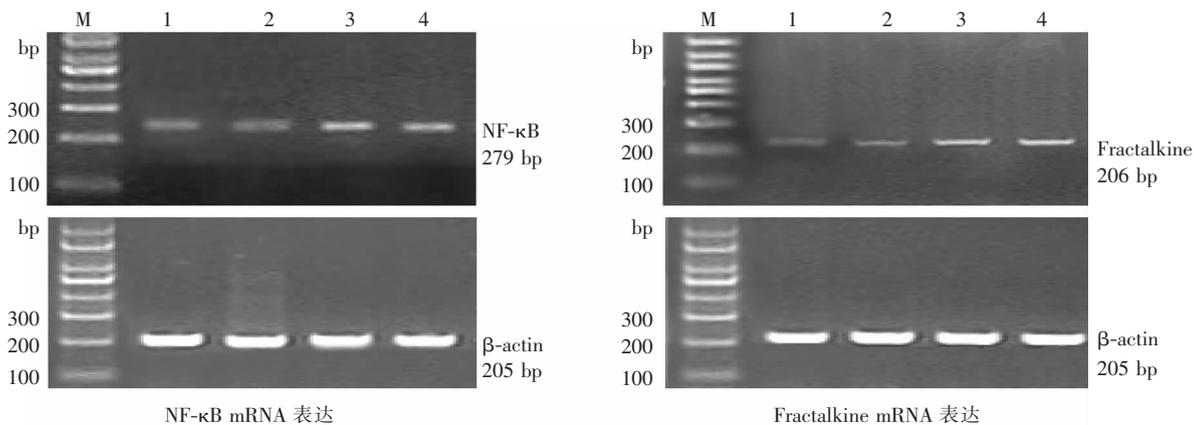


图1 RT-PCR检测各组HUVEC中NF-κB和Fractalkine mRNA表达(n=10) M:Marker; 1:空白对照组; 2:正常血清组; 3:HSP血清组; 4:甲泼尼龙组

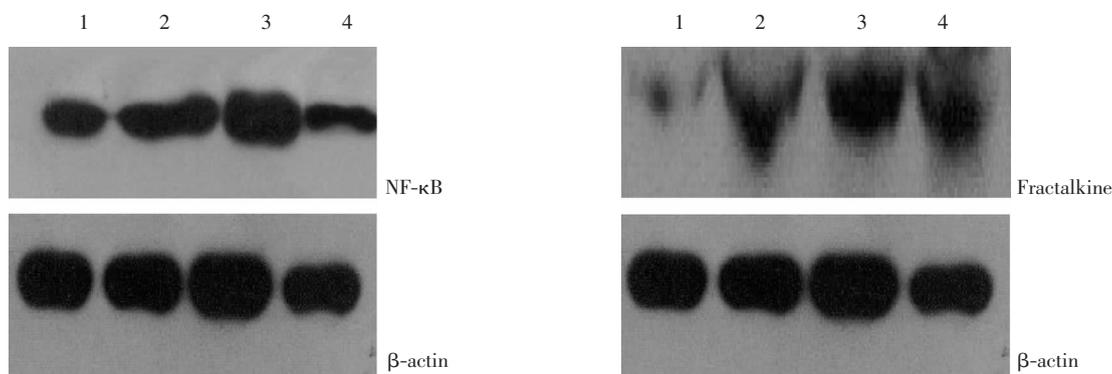


图2 Western blot检测各组HUVEC中NF-κB和Fractalkine蛋白表达(n=10) 1:空白对照组; 2:正常血清组; 3:HSP血清组; 4:甲泼尼龙组

表4 各组NF-κB与Fractalkine蛋白在HUVEC中表达水平 ($\bar{x} \pm s, n=10$)

组别	NF-κB	Fractalkine
空白对照组	0.10 ± 0.02	0.15 ± 0.02
正常血清组	0.28 ± 0.04 ^a	0.31 ± 0.01 ^a
HSP血清组	0.63 ± 0.05 ^{a,b}	0.51 ± 0.04 ^{a,b}
甲泼尼龙干预组	0.32 ± 0.03 ^{a,b,c}	0.38 ± 0.03 ^{a,b,c}
F值	83.07	181.82
P值	<0.001	<0.001

a: 与空白对照组比较, $P < 0.05$; b: 与正常血清组比较, $P < 0.05$; c: 与HSP血清组比较, $P < 0.05$

3 讨论

既往研究表明HSP是一种由多因素导致的疾病,常常是个体遗传性、环境因素(如感染等)和免疫异常综合作用的结果,这些因素通过各种途径导致VEC的损伤^[2]。一旦VEC受损,必然影响甚至破坏VEC生物学功能^[13]。研究发现IL-8、内皮素(ET)、血栓调节蛋白(TM)、NO、丙二醛(MDA)和超

氧化物歧化酶(SOD)等炎症介质的变化可在一定程度上反映血管内皮受损的程度^[14]。研究证实HSP患儿急性期血中TNF-α、IL-8水平增高^[15],TNF-α和IL-8在皮损部位表皮层细胞内呈细颗粒状浸润^[8]。NO具有舒张微小血管,增加局部血流量的作用,但过多的NO可直接损伤VEC。已有研究证实HSP急性期NO水平及NOS活性升高^[16-17]。本研究采用HUVEC细胞株观察HSP患儿血清刺激下VEC的变化。发现HSP患儿血清可以诱导VEC产生IL-8、TNF-α和NO,提示HSP患儿血清中可能存在某些因素刺激VEC过度分泌细胞因子,直接或间接损伤内皮细胞。

不规则趋化因子(Fractalkine, Fkn, CX3CL1)是CX3C-类趋化因子中唯一的成员,大多数Fractalkine表达在活化的内皮细胞表面,既有趋化作用又有粘附功能,参与白细胞向炎症组织的游走,内皮细胞表面的Fractalkine是控制炎症部位白细胞渗出的关键^[9]。炎症因子如TNF-α、IL-1等可上调内皮细胞表面膜结合型Fractalkine的表达,并且此作用与

NF- κ B 的活化有关^[10]。本研究中 HSP 患儿血清诱导 HUVEC 表达 Fractalkine mRNA 及蛋白较正常儿童有显著增高,提示 Fractalkine 可能通过介导炎症细胞渗出而参与 HSP 血管炎症过程。

NF- κ B 作为炎症反应的最为重要的转录因子,在多种因素如脂多糖、细胞因子、氧化剂及紫外线照射等诱导信号的作用下活化、转核,调控 TNF- α 、IL-8 等多种炎性细胞因子基因的转录,参与炎症反应的多个环节^[18]。当细胞受到外界信号刺激时,NF- κ B 的抑制物 I κ B 发生磷酸化并迅速降解,露出核定位信号区域,NF- κ B 被释放和激活,活化后的 NF- κ B 能增强 TNF- α 、IL-8、NO 及 Fractalkine 等的转录表达,为这些基因的快速激活提供了一条重要的途径,同时这些因子增多后又可以活化 NF- κ B,进一步加重细胞损伤^[19]。本研究发现 HSP 血清诱导 HUVEC 表达 NF- κ B mRNA 及蛋白量高于正常血清,由此可推断 NF- κ B 作为细胞因子介导的炎性反应过程中重要的调节因子可能参与上调 IL-8、TNF- α 、NO 和 Fractalkine 的转录表达,启动或加剧 VEC 的炎症反应,导致内皮细胞的损伤。

已有研究发现,糖皮质激素能有效缓解 HSP 患儿关节和胃肠道症状,且对于肾脏受累较重、临床表现为肾病综合征型的 HSPN 患儿应用糖皮质激素可有效减轻肾脏损害^[20]。HSP 的发病机制与免疫反应有关,糖皮质激素可抑制免疫反应的多个环节,从而缓解症状,但其治疗 HSP 的确切作用机制尚不清楚。本研究发现甲泼尼龙干预下 HUVEC 产生的炎性细胞因子表达较未治疗的 HSP 血清组明显下降,而且甲泼尼龙干预可显著抑制 HUVEC 中 NF- κ B 及 Fractalkine 的 mRNA 及蛋白表达,提示甲泼尼龙可能通过抑制体内 NF- κ B 表达而减少炎性因子的产生,抑制炎症细胞浸润而达到控制血管炎症的治疗效果。

综上所述,HSP 患儿血管内皮细胞损伤发生的分子机制可能通过激活 NF- κ B 途径从而上调血管内皮细胞炎性因子表达来实现小血管炎症反应;而甲泼尼龙可能通过抑制性调节体内 NF- κ B 表达,减少 IL-8、TNF- α 、NO 及 Fractalkine 产生来减轻血管炎症。

[参 考 文 献]

[1] 张琴,鹿玲,林达. 儿童过敏性紫癜血清 IgA1 和皮肤小血管 IgA1 的沉积及意义[J]. 中华皮肤病杂志,2008,41(1):55-56.
[2] Dillon MJ. Henoch-Schönlein purpura; recent advances[J]. Clin Exp Rheumatol, 2007, 25(1 suppl 44): S66-S68.
[3] de Almeida JL, Campos LM, Paim LB, Leone C, Koch VH, Silva

CA. Renal involvement in Henoch-Schönlein purpura: a multivariate analysis of initial prognostic factors[J]. J Pediatr, 2007, 83(3):259-266.
[4] 高兴华,陈楠. 血管炎的发病机制[J]. 皮肤病与性病,2008,30(1):12-13.
[5] 刘磊,江捍平,王兵. IL-10 在过敏性紫癜血管内皮损伤中的作用机制研究[J]. 小儿急救医学,2004,11(4):225-227.
[6] 乐新,曾春华,包忠宪,何中倩,李晓东. 炎性细胞因子在过敏性紫癜血管内皮损伤中的作用机制初探[J]. 广东医学,2005,26(4):520-522.
[7] 金莉,杨忠浩,沈群华,冯建华. 过敏性紫癜患者血清中 TNF- α 、NO、IL-2 和 IL-6 水平的观察[J]. 现代实用医学,2009,21(3):242-243.
[8] Yang YH, Lai HJ, Huang CM, Wang LC, Lin YT, Chiang BL. Sera from children with active Henoch-Schönlein purpura can enhance the production of interleukin 8 by human umbilical venous endothelial cells[J]. Ann Rheum Dis, 2004, 63(11): 1511-1513.
[9] Umehara H, Bloom E, Okazaki T, Domae N, Imai T. Fractalkine and vascular injury[J]. Trends Immunol, 2001, 22(11): 602-607.
[10] 欧柏青,姜德谦,张社兵,张小炼,刘虹,田铁伦. 普罗布考抑制氧化低密度脂蛋白诱导人脐静脉内皮细胞 Fractalkine 的表达[J]. 临床心血管病杂志,2008,24(3):204-206.
[11] 钟莉,李晓忠. 甲基强的松龙治疗过敏性紫癜的临床观察[J]. 中国血液流变学杂志,2006,16(3):435.
[12] Ozen S, Ruperto N, Dillon MJ, Bagga A, Barron K, Davin JC, et al. EULAR/PRReS endorsed consensus criteria for the classification of childhood vasculitides[J]. Ann Rheum Dis, 2006, 65(7): 936-941.
[13] Ben-Mahmud BM, Mann GE, Datti A, Orlacchio A, Kohner EM, Chibber R. Tumor necrosis factor-alpha in diabetic plasma increases the activity of core 2 GlcNAc-T and adherence of human leukocytes to retinal endothelial cells: significance of core 2 GlcNAc-T in diabetic retinopathy[J]. Diabetes, 2004, 53(11): 2968-2976.
[14] 周荣俊,王金燕,张莉. 过敏性紫癜患儿血管内皮细胞损伤标志物的研究进展[J]. 滨州医学院学报,2006,29(6):444-446.
[15] 余艳红,潘凯丽,李琦,张宝娟,黄莹,张静静,等. 过敏性紫癜患儿血、尿标本中 IL-13 受体 α 2 水平及其他细胞因子的检测分析[J]. 中国当代儿科杂志,2009,11(1):37-40.
[16] 孙清,朱慧娟,刘华林,蒋玉红,孙蓓蓓. 过敏性紫癜患儿血清一氧化氮的改变[J]. 中国当代儿科杂志,2000,2(3):169-171.
[17] 李晓惠,杜军保,金红芳,王天有,李媛媛,吴建新. 过敏性紫癜患儿血浆硫化氢、一氧化氮变化的意义[J]. 实用儿科临床杂志,2008,23(9):651-653.
[18] Van den Berg R, Haenen GR, Van den Berg H, Bast A. Transcription factor NF-kappaB as a potential biomarker for oxidative stress[J]. Br J Nutr, 2001(Suppl 1): S121-S127.
[19] 郑柳颖,孙健,雷明明,郭惠娇,侯文丽,吴哲. 趋化因子 FKN 对外周血单核细胞 NF- κ B 和 TNF- α 表达的影响及蛋白激酶 C 在其中的作用[J]. 大连医科大学学报,2008,30(4):310-313.
[20] Peru H, Soylemezoglu O, Bakkaloglu SA, Elmas S, Bozkaya D, Elmaci AM, et al. Henoch-Schönlein purpura in childhood: clinical analysis of 254 cases over a 3-year period[J]. Clin Rheumatol, 2008, 27(9):1087-1092.

(本文编辑:王庆红)