

论著·临床研究

## 外周血 miR-15a、miR-16 检测在献血者 早期乙型肝炎病毒感染筛查中意义

韩金玉

(山东省菏泽市中心血站, 山东菏泽 274003)

**摘要:**目的 探讨微小 RNA(miRNA) miR-15a、miR-16 在献血者乙型肝炎病毒(HBV)早期感染筛查中的意义。方法 选择 2017 年 2 月至 2018 年 1 月该中心血站的无偿献血血液样本 156 份,其中有 49 份血液样本常规酶联免疫吸附测定(ELISA)双试剂筛查 HBsAg 呈阳性,而核酸 HBV 检测呈阴性,作为 E 单阳组;54 份血液样本经 ELISA 筛查和核酸检测(NAT)均为阳性,作为 EN 双阳组;其余 63 份血液样本经 ELISA 筛查和 NAT 均为阴性,作为正常组。采用实时荧光定量 PCR 检测 3 组献血者 miR-15a、miR-16 的表达情况。结果 相较于正常组样本,E 单阳组和 EN 双阳组血液样本 miR-15a 和 miR-16 表达均明显下调( $P < 0.05$ );且 EN 双阳组血液样本 miR-15a 和 miR-16 表达下调较 E 单阳组更为明显( $P < 0.05$ )。经 Pearson 相关性分析,miR-15a 和 miR-16 与 EN 双阳组患者 HBV DNA 拷贝数呈负相关( $r = -0.725, -0.866, P < 0.05$ )。结论 miRNA-15a、miRNA-16 表达下调与 HBV 早期感染和复制活动密切相关,在 HBV 感染的早期筛查中具有潜在的应用价值。

**关键词:**酶联免疫吸附测定; 核酸检测技术; 乙型肝炎病毒; 微小 RNA

**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2019.07.019

**中图法分类号:**R446.11

**文章编号:**1673-4130(2019)07-0839-05

**文献标识码:**A

### Significance of peripheral blood miR-15a, miR-16 measurement in screening for early hepatitis B virus infection in blood donors

HAN Jinyu

(Central Blood Station of Heze City, Heze, Shandong 274003, China)

**Abstract: Objective** To investigate the significance of microRNA (miRNA) miRNA-15a and miRNA-16 in screening for early hepatitis B virus (HBV) infection in blood donors. **Methods** Totally 156 blood samples were collected from the center blood station from February 2017 to January 2018. Among them, 49 blood samples were positive for HBsAg screened by routine double-reagents enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), which was inconsistent with the results of nucleic acid test for HBV, and were set as single-positive E group. Totally 54 blood samples were both positive in ELISA and nucleic acid test (NAT) which were set as double-positive EN group. The remaining 63 blood samples were both negative by ELISA and NAT, which were set as normal group. Real-time fluorescent quantitative PCR was used to detect the expression of miRNA-15a and miRNA-16 in the three groups of blood samples. **Results** The relative expressions of miR-15a and miR-16 in single-positive E group and double-positive EN group were lower than the normal group ( $P < 0.05$ ). The relative expressions of miR-15a and miR-16 in double-positive EN group were lower than the single-positive E group ( $P < 0.05$ ). According to the result of Pearson analysis, the relative expressions of both miR-15a and miR-16 were negatively correlated with the copy number of HBV DNA in double-positive EN group ( $r = -0.725, -0.866, P < 0.05$ ). **Conclusion** The miR-15a and miR-16 can be used for the early-stage diagnosis of HBV infection, which will be recommended as the potential biomarkers for screening the donors.

**Key words:** enzyme-linked immunosorbent assay; nucleic acid testing; hepatitis B virus; microRNA

输血是外科手术、大面积烧伤抢救等治疗中非常重要的临床手段,但同时输血也是乙型肝炎病毒(HBV)感染的主要途径之一。因此,输血前的血液筛

查和检测对保障血液和相关血液制品的安全具有十分重要的意义<sup>[1]</sup>。目前,国外普遍将乙型肝炎表面抗原(HBsAg)和乙型肝炎病毒核心抗体(HBcAb)作为

**作者简介:**韩金玉,女,副主任技师,主要从事输血传染病检测研究。

**本文引用格式:**韩金玉. 外周血 miR-15a、miR-16 检测在献血者早期乙型肝炎病毒感染筛查中意义[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(7): 839-

血液筛查指标<sup>[2-3]</sup>。之前,我国由于检测技术受限,各地采供血机构主要采用酶联免疫吸附测定(ELISA)进行血液筛查。有研究显示,HBsAg 阴性但 HBV-DNA 阳性的 HBV 感染是我国主要的经血传播疾病隐患<sup>[4]</sup>。近几年,随着我国核酸检测(NAT)技术的发展,一些大型采供血机构逐渐采取 NAT 作为主要的血液筛查手段,缩短了 ELISA 的窗口期,提高了隐匿性 HBV 感染的检出率<sup>[5]</sup>。但 NAT 在预防输血传染中的作用不仅取决于病原体窗口期的长短以及病毒拷贝速度,在很大程度上也取决于献血人群中的新感染率以及血样混合数量,当病毒载量太高或病毒发生变异时,都会造成 HBV 的漏检。而且有研究表明,当外周血中 HBsAb 大量存在时,也会抑制 HBV DNA 的复制,从而导致 HBV 漏检<sup>[6]</sup>;另外,NAT 要求很高,成本也非常昂贵。因此,寻找新的检测方法一直是临床关注的重点。近几年,微小 RNA 在多种疾病诊断和治疗领域表现出巨大的潜力,包括在肝脏感染性疾病方面也成为研究热点。有研究显示,miR-NA-15a(miR-15a)和 mi-R16 在 HBV 感染者中表达

下调<sup>[7]</sup>,本项研究通过对核酸筛查不合格的献血者进行随访追踪,探讨 miR-15a 和 miR-16 作为 HBV 感染早期诊断标志物和对献血者进行 HBV 筛查的可行性,现报道如下。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2017 年 2 月至 2018 年 1 月本中心血站的无偿献血血液样本 156 份。所有献血者献血前均经乙型肝炎金标试纸条和丙氨酸氨基转移酶(ALT)快速检测筛查合格。其中有 49 份血液样本常规 ELISA 双试剂筛查 HBsAg 呈阳性而核酸 HBV 检测呈阴性,作为 E 单阳组;54 份血液样本 ELISA 双试剂筛查和 NAT 均为阳性,作为 EN 双阳组;其余 63 份血液样本经 ELISA 双试剂筛查和 NAT 均为阴性,作为正常组。对血液样本来源进行追溯后,发现 E 单阳组和 EN 双阳组血浆标本的相应献血者均为无明显症状的轻度早期感染者。3 组献血者的一般临床资料基本一致,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性,见表 1。

表 1 献血者的一般临床资料分析( $\bar{x}\pm s$ )

组别	n	BMI(kg/m <sup>2</sup> )	平均年龄(岁)	性别(n)		心率(次/min)	血压(mm Hg)	
				男	女		SBP	DBP
正常组	63	23.92±0.84	38.86±7.94	38	25	68.67±5.79	117.85±6.85	82.34±5.93
E 单阳组	49	24.23±1.09	38.57±8.15	29	20	66.94±5.13	116.76±9.74	80.99±6.85
EN 双阳组	54	24.17±1.15	39.04±6.79	33	21	67.35±7.28	118.26±7.45	81.90±5.21
$\chi^2/F$		1.49	1.956	0.040	1.25	0.48	3.757	
P		0.228	0.376	0.980	0.290	0.619	0.153	

注: BMI 表示体质质量指数; SBP 表示收缩压; DBP 表示舒张压

### 1.2 仪器与试剂

**1.2.1 主要仪器** 5810R 型台式冷冻离心机以及移液器为德国 Eppendorf 公司产品; 5 CFX-96-C1000 real-time PCR 仪为美国 Bio-Rad 公司产品; BIOBASE2000 全自动酶免分析仪, 购自济南鑫贝西生物技术有限公司; Procleix TIGRIS System 全自动核酸检测仪器, 购自美国诺华公司; CobasS201 核酸检测系统, 购自瑞士罗氏公司; Reflotron 生化分析仪, 购自瑞士罗氏公司; Roche Modular E170 全自动电化学发光免疫分析仪, 购自瑞士罗氏公司; EDTA 抗凝管为法国 Becton Dickinson 公司产品。

**1.2.2 主要试剂** HBsAg 诊断试剂盒, 购自广州万孚生物技术股份有限公司; Biomerieux HBsAg 诊断试剂盒, 购自法国梅里埃生物公司; Cobas TaqScreen MPX test NTA 试剂盒, 购自瑞士罗氏公司; 乙型肝炎金标试纸条, 购自蓝十字生物药业有限公司; Ambion RNA 提取分离试剂盒、逆转录试剂盒、实时定量 PCR 试剂盒、mirVana™ PARISTM Kit, 购自 Takara 公司; (6) 焦碳酸二乙酯(DEPC)为美国 Sigma 公司产

品。

### 1.3 方法

**1.3.1 血液样本采集** 采血后取 5 mL 血液样本用于常规血清学检测; 另外取 5 mL 血液样本置于 EDTA 抗凝管中, 离心, 用于 NAT。

**1.3.2 ELISA** 分别采用新创和 Biomerieux 两种试剂对血液样本进行检测, 按照试剂盒说本书的操作步骤进行。灰区阈值设为待测物信号/临界值(S/CO): 0.9, 若双试剂检测 S/CO $\geq$ 0.9, 则判定为 HBsAg 检测阳性, 血液样本不合格。

**1.3.3 NAT** 按照仪器和试剂使用说明进行操作。(1)样本制备: 通过目标捕获试剂中的特异性靶标寡核苷酸捕获探针, 用磁珠吸附法从样本中特异性地分离出 HBV 核酸分子; (2)转录介导扩增; (3)杂交保护检测扩增产物; (4)联合检测验收: 待测物 S/CO $<$ 1.00 且内参在内参临界值 $>$ 650 000(RLU)范围内则判断为无反应; 待测物 S/CO $\geq$ 1.00 且内参 $\leq$ 650 000 RLU 则判断为有反应; 内参 $<$ 650 000 RLU 或待测物 S/CO $<$ 1.00 且内参 $<$ 内参临界值则判断为检测

无效。

**1.3.4 血浆 miRNA 提取** (1)向 200  $\mu\text{L}$  血液样本中加入预冷的 MZ 裂解液,振荡混匀,静置 5~10 min;(2)12 000 r/min 离心,取上清,置于无 RNase 的 EP 管中备用;(3)加入 200  $\mu\text{L}$  氯仿,震荡 30 s,静置 5~10 min;(4)12 000 r/min 离心,取下层无色水相于无 RNase 的 EP 管中;(5)加入 500  $\mu\text{L}$  异丙醇,震荡 30 s,静置 5~10 min;(6)12 000 r/min 离心,弃上清;(7)加入 1 mL 75%乙醇,震荡 30 s,12 000 r/min 离心,弃上清;(8)将 EP 管倒置于滤纸上,将 RNA 充分干燥;(9)加入 20  $\mu\text{L}$  DEPC 水溶解沉淀,分装,置于  $-80\text{ }^\circ\text{C}$  保存备用。采用凝胶电泳检测 RNA 分子量;采用分光光度计检测 RNA 浓度。

**1.3.5 RNA 反转录** 根据试剂盒说明书操作进行,将 cDNA 保存于  $-20\text{ }^\circ\text{C}$  备用。

**1.3.6 实时定量逆转录聚合酶链反应(qRT-PCR)**

将 25  $\mu\text{L}$  反应体系(12.5  $\mu\text{L}$  SYBR Premix Taq+2  $\mu\text{L}$  引物+2  $\mu\text{L}$  模板+8.5  $\mu\text{L}$  双蒸水)置于  $37\text{ }^\circ\text{C}$  恒温水浴 60 min, $85\text{ }^\circ\text{C}$  5 s,加入去离子水至 100  $\mu\text{L}$ ,各反应孔取 2  $\mu\text{L}$  进行 PCR。冰浴中配制 25  $\mu\text{L}$  PCR 反应体系, $95\text{ }^\circ\text{C}$  预变性 30 s, $95\text{ }^\circ\text{C}$  变性 5 s, $60\text{ }^\circ\text{C}$  退火 20 s,重复循环 45 次。选择  $\beta$ -actin 作为内参。引物序列如下,miR-15a 上游:5'-TGG CGA TGG CAG TGT CTT AG-3',下游:5'-GTG CAG GGT CCG AGG T-3';miR-16 上游:5'-CAG CTT TGA GGT TCG TGT TTG T-3';下游:5'-ATGCTCT-TCTTTTTTGC GGAAA-3'。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS20.0 统计学软件对数据进行处理。所有计量资料均进行正态检验,正态分布的计量资料以  $\bar{x}\pm s$  表示,两组间比较采用非配对样本的  $t$  检验,多组间比较采用方差分析。计数资料以百分率表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验。若  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 3 组献血者的血型信息** 3 组献血者血型均为 RH(+),ABO 血型分布比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见表 2。

表 2 3 组献血者血型分布[n(%)]

组别	样本(n)	A 型	B 型	O 型	AB 型
正常组	63	22(34.92)	19(30.16)	12(19.05)	10(15.87)
E 单阳组	49	14(28.57)	14(28.57)	9(18.37)	12(24.49)
EN 双阳组	54	15(27.78)	17(31.48)	10(18.52)	12(22.22)
$\chi^2/F$		1.785			
$P$		0.938			

**2.2 3 组献血者血浆 miR-15a、-16 的表达情况** 采用 qRT-PCR 法检测 3 组血液样本中 miR-15a 和 miR-16 的表达情况,结果显示,相较于正常组样本,E

单阳组和 EN 双阳组血液样本 miR-15a 和 miR-16 表达均明显下调,差异有统计学意义( $P<0.05$ )。且 EN 双阳组血液样本 miR-15a 和 miR-16 表达下调较 E 单阳组更为明显,差异有统计学意义( $P<0.05$ ),见表 3。

表 3 3 组输血者血浆 miR-15a、miR-16 表达情况( $\bar{x}\pm s$ )

组别	样本(n)	miR-15a/ $\beta$ -actin	miR-16/ $\beta$ -actin
正常组	63	1.21 $\pm$ 0.48	1.09 $\pm$ 0.41
E 单阳组	49	0.76 $\pm$ 0.39*	0.78 $\pm$ 0.26*
EN 双阳组	54	0.51 $\pm$ 0.37*#	0.58 $\pm$ 0.24*#
$\chi^2/F$		41.83	37.08
$P$		0.108	0.000

注:与正常组比较,\* $P<0.05$ ;与 E 单阳组比较,# $P<0.05$

**2.3 miR-15a、-16 与 HBV DNA 拷贝数的相关性**

通过分析 EN 双阳组无偿献血者血浆中的 HBV DNA 拷贝数,发现 miR-15a 和 miR-16 与相应的 HBV DNA 拷贝数呈负相关性( $r$  分别为  $-0.725$ 、 $-0.866$ , $P<0.05$ )。见表 4、图 1。

表 4 miR-15a、miR-16 与 HBV DNA 拷贝数的相关性

指标	EN 双阳组 HBV DNA 拷贝数	
	$r$	$P$
miR-15a	$-0.725$	0.013
miR-16	$-0.866$	0.002

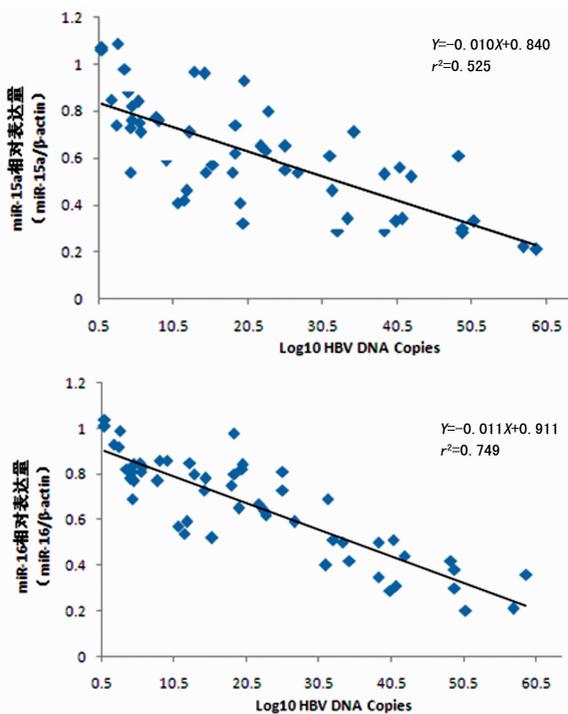


图 1 miR-15a、miR-16 与 HBV DNA 拷贝数的相关性

## 3 讨论

输血是 HBV 感染的主要途径之一,是全球范围内普遍关注的公共卫生问题。我国属于 HBV 感染大

国,每年大约有超过 8 万人死于 HBV 感染所致的各种疾病,因此,保证输血安全,提高 HBV 检测水平是我国亟须解决的重要问题<sup>[8]</sup>。自 1993 年国家卫生部颁布《血站基本标准》以来,所有献血者的血液样本必须经过 ELISA 双试剂筛查方法,从而很大程度上提高了血液和血液制品的安全性<sup>[9]</sup>。但是 ELISA 筛查存在一定的窗口期,外界因素易导致漏检风险。而 NAT 不仅可以使 HBV 的窗口期缩短为 20 d,而且操作简单,易于自动化,准确率较高<sup>[10-11]</sup>。有研究显示,90% 以上的 HBV 感染危险性来自于窗口期献血者提供的血液样本<sup>[12]</sup>。因此,为了保证输血者的用血安全,推广新的病毒检测技术势在必行。2010 年,我国议政工作会议确立了北京、上海、广州等 15 所大型采供血机构作为 NAT 首批试点单位,建议可选择 1 种 ELISA 试剂盒联合 NAT,大大缩短了 HBV 病毒检测的窗口期,提高了病毒的检出率<sup>[13]</sup>。虽然 NAT 准确性提高,但是易受到外界环境和服用药物的干扰,若病毒 DNA 合成受到抑制,则会影响 NAT 的表现,因此,ELISA 与 NAT 是互补的关系,NAT 不能完全替代 ELISA 法<sup>[14]</sup>。但是这种检测方案仍然存在一定的漏检率,主要是由于 HBV 窗口期的长短,窗口期期间的病毒拷贝速度和拷贝数,献血人群中的新感染率以及多少血样混合,都会影响到 NAT 的准确性;而且检测程序繁琐,工作量重,因此,探索新的检测方法和指标一直是输血安全领域研究的重点。

miRNAs 是真核生物基因中一类非编码的负性调控 RNA,可以通过与靶基因 3'-非编码区结合抑制 RNA 转录<sup>[15]</sup>。目前,关于 miRNAs 与多种疾病之间的关系研究已经成为全球医学界的热点,但是国内外在关于 miRNAs 是否也参与了 HBV DNA 的复制以及哪些靶基因可能作为 HBV DNA 阳性诊断的候选标志物方面研究尚少。有学者通过生物信息学和基因芯片技术,初选 HBV 携带者与健康人群具有表达差异性的 miRNA 谱,包括 miR-15a、miR-16 等多种基因呈低表达,从而证实大量 miRNAs 参与肝脏感染性疾病的发生<sup>[16]</sup>。但是,目前绝大多数关于肝炎病毒感染 miRNAs 的研究都是集中在肝脏组织和细胞中,在实际操作中,肝组织获取受限,因此,探讨外周血 miRNAs 与 HBV 感染的关系在献血者筛查中具有更大的临床意义。miR-15a、miR-16 是位于同一个基因簇上并由同一个转录本转录生成的 miRNA。有研究显示,HBV 编码蛋白 HBx 通过阻断 c-myc 的表达,可以抑制 miR-15a 和 miR-16 启动子活性,从而下调 miR-15a 和 miR-16 的表达<sup>[16]</sup>。不仅如此,还有学者通过相关研究证实,HBx 在基因方面同样可以调控 miR-15a、miR-16 的表达水平<sup>[17]</sup>。因此,笔者希望通过本项研究探讨采用血浆 miR-15a 和 miR-16 作为献血者 HBV 感染诊断标志物的可行性。结果显示,相较于正常组样本,E 单阳组和 EN 双阳组血液样本

miR-15a 和 miR-16 表达均明显下调,而且 EN 双阳组血液样本 miR-15a 和 miR-16 表达下调较 E 单阳组更为明显。经 Pearson 相关性分析,miR-15a 和 miR-16 与 EN 双阳性患者的 HBV DNA 拷贝数呈负相关,说明血浆 miR-15a 和 miR-16 表达下调与 HBV 感染以及复制活动密切相关,且 HBV DNA 拷贝数越高,血浆 miR-15a 和 miR-16 表达水平越低。

#### 4 结 论

miRNA-15a、miRNA-16 相对表达水平不仅与 HBV 早期感染密切相关,而且可以反映病毒的复制情况,在实际操作中,可以根据献血者体内 HBV 的复制情况判断其 HBV 的活动期,同时,也为疾病的转归及治疗提供一定的指导意义。但是,需要指出的是,虽然 miRNA-15a、miRNA-16 大大提高了 HBV 的检出率,但是鉴于 miRNAs 从提取条件到检测结果的成本可能较高,在目前的实际筛查工作中应用价值还有待进一步探讨。

#### 参考文献

- [1] DONG J, WU Y, ZHU H, et al. A pilot study on screening blood donors with individual-donation nucleic acid testing in China[J]. *Blood Transfus*, 2014, 12(2): 172-179.
- [2] SARIN S K, KUMAR M, LAU G K, et al. Asian-Pacific clinical practice guidelines on the management of hepatitis B: a 2015 update[J]. *Hepato Int*, 2016, 10(1): 1-98.
- [3] SAMAL J, KANDPAL M, VIVEKANANDAN P. Molecular mechanisms underlying occult hepatitis B virus infection[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2012, 25(1): 142.
- [4] 何亚琴, 徐立, 杨爱龙. 核酸检测在筛查献血者乙型肝炎病毒中的应用[J]. *中国输血杂志*, 2013, 26(3): 147-149.
- [5] 王芳, 金钊, 林松峰, 等. 核酸检测在血液 HBV 筛查中的应用研究[J]. *中国卫生检验杂志*, 2010, 20(4): 795-796.
- [6] 余谨, 毕昊, 陆华新, 等. 核酸检测技术在酶联免疫吸附法漏检 HIV 和 HBV 血样筛查中的应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(8): 964-965.
- [7] 罗杰, 杜展, 汤仕龙, 等. HBV 相关慢加急性肝衰竭患者血清 miRNA 表达谱及临床预测价值[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(2): 190-192.
- [8] 马艳华. 酶联免疫吸附试验对乙型肝炎表面抗原阴性献血者核酸筛查及降低输血传播乙型肝炎病毒效果分析[J]. *中国医学工程*, 2017, 25(10): 40-42.
- [9] 中华人民共和国卫生部, 中国国家标准化管理委员会. 中华人民共和国国家标准全血及成分血质量要求: GB18469-2012[S]. 北京: 中国标准出版社, 2012: 10-11.
- [10] SEEM D L, LEE I, UMSCHIED C A, et al. PHS guideline for reducing human immunodeficiency virus, hepatitis B virus, and hepatitis C virus transmission through organ transplantation[J]. *Public Health Rep*, 2013, 128(4): 247-343.
- [11] VERMEULEN M, COLEMAN C, MITCHEL J, et al. Sensitivity of individual-donation and minipool nucleic acid amplification test options in detecting(下转第 846 页)

助细胞分为 Th1 和 Th2 两个亚群, Th1 与 Th2 细胞相互制约、相互调节, 保持动态平衡。在 HSP 急性期, Th1/Th2 出现失衡, Th2 呈现相对优势, 引起免疫功能紊乱, 从而促进疾病的发生、进展。Th1 和 Th2 细胞的共同前体为 Th0 细胞, IL-12 是 Th0 细胞向 Th1 细胞分化的始动因子, 树突状细胞分泌 IL-12 诱导 Th0 细胞向 Th1 细胞分化, 后者产生 IFN- $\gamma$ , 而 IFN- $\gamma$  又反过来增加树突状细胞释放 IL-12, 从而形成正反馈, 增强 Th1 的免疫应答反应<sup>[13]</sup>。IFN- $\gamma$  是 Th1 细胞的代表性细胞因子, 能够促使 T 淋巴细胞的分化、成熟; 诱导巨噬细胞和单核细胞表面 MHC-II 类抗原表达, 从而参与抗原呈递和特异性免疫识别过程; 拮抗 Th2 类细胞因子 IL-4 诱导的 IgE 分泌, 降低其致敏作用<sup>[14]</sup>。本研究中, 治疗后, 两组患儿血清 IL-12 和 IFN- $\gamma$  水平均较治疗前升高, 且观察组高于对照组。IL-4 和 IL-10 是 Th2 细胞的代表性细胞因子。IL-4 刺激 B 细胞分泌 IgE, 抑制 IFN- $\gamma$  产生, 激发肥大细胞脱颗粒, 引起多种炎性介质释放; IL-10 可抑制 TNF- $\alpha$  等促炎细胞因子的产生, 抑制氧自由基的释放, 对机体炎性反应起保护作用<sup>[15]</sup>。本研究显示, 治疗后, 两组患儿血清 IL-4 和 IL-10 水平均较治疗前降低且观察组低于对照组。以上结果说明, 经过治疗的患儿血清 Th1 类细胞因子水平增加, 而 Th2 类细胞因子水平降低, 有利于纠正患儿 Th1/Th2 免疫应答失衡, 且观察组的效果要优于对照组。

#### 4 结 论

西医常规联合化瘀降浊解毒汤治疗 HSP 的效果确切, 能够有效改善患儿氧化应激状态, 同时能够调节 IL-4、IL-10、IL-12 和 IFN- $\gamma$  等细胞因子水平, 纠正 Th1/Th2 免疫应答失衡, 有效减轻氧化应激和炎性反应引起的机体损伤, 有助于 HSP 患儿早日康复。

#### 参考文献

[1] GAO J, WEI J, GAO Y, et al. Central venous catheter infection-induced Henoch-Schonlein purpura in a patient on hemodialysis[J]. Ren Fail, 2014, 36(7):1145-1147.

[2] 马艳辉, 张广舫, 马玉红, 等. 中西医结合治疗过敏性紫癜的临床研究[J]. 中国中医急症, 2014, 23(7):1378-1379.  
 [3] 张茂好. 小儿过敏性紫癜 128 例临床分析[J]. 医学临床研究, 2008, 25(4):657-659.  
 [4] 张保恒. 玉屏风散联合小剂量低分子肝素对儿童过敏性紫癜患儿氧化应激状态及早期肾损害影响的研究[J]. 临床和实验医学杂志, 2015, 14(13):1070-1073.  
 [5] 陈涛, 郭在培. 过敏性紫癜的氧化损伤及抗氧化防护[J]. 实用医院临床杂志, 2009, 6(2):44-46.  
 [6] 杜红霞, 杨昆, 王飞, 等. 泻黄散对小儿脾胃积热型过敏性紫癜 Th1/Th2 的影响[J]. 四川中医, 2016, 34(2):92-95.  
 [7] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002.  
 [8] 国家中医药管理局. 中医病症诊断疗效标准[M]. 南京: 南京大学出版社, 1994.  
 [9] 薄丽亚, 王茹, 吴婷, 等. 化瘀解毒降浊汤干预小儿过敏性紫癜性肾炎免疫反应 108 例疗效分析[J]. 四川中医, 2011, 29(8):97-98.  
 [10] KESKIN N, CIVILIBAL M, ELEVLI M, et al. Elevated plasma advanced oxidation protein products in children with Henoch-Schonlein purpura [J]. Pediatr Nephrol, 2011, 26(11):1989-1993.  
 [11] CHEN T, GUO Z, ZHANG Y, et al. Elevated serum heme oxygenase-1 and insulin-like growth factor-1 levels in patients with Henoch-Schonlein purpura [J]. Rheumatol Int, 2011, 31(3):321-326.  
 [12] 王战胜, 刘雨露, 施雪颖, 等. 纠正 Th1/Th2 迁移在小儿过敏性紫癜早期肾损伤急救中的临床意义[J/CD]. 中华损伤与修复杂志(电子版), 2016, 11(2):113-116.  
 [13] 孙大庆, 张秋业, 董增义, 等. 过敏性紫癜病树突状细胞分泌白细胞介素-12 水平与 TH1/TH2 的变化[J]. 中国当代儿科杂志, 2006, 8(4):307-310.  
 [14] 吴容, 王强, 董巍. 过敏性紫癜患儿血浆 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-4 与 TGF- $\beta$ 1 的变化及其意义[J]. 实用医院临床杂志, 2014, 11(1):144-146.  
 [15] 蔡新民. 清热化瘀汤对过敏性紫癜患者 IL-4 及 IFN- $\gamma$  水平的影响[J]. 新中医, 2015, 11(8):82-83.

(收稿日期:2018-10-03 修回日期:2019-01-03)

(上接第 842 页)

window period and occult hepatitis B virus infections[J]. Transfusion, 2013, 53(10 Pt 2):2459-2466.  
 [12] 白玉, 常卫红. 美国应用核酸检测筛查血液的历程和现状[J]. 国际生物制品学杂志, 2009, 32(2):101-105.  
 [13] 吴建忠, 郭永建, 陈君海. 建立安全献血机制筑牢血液安全第一道防线[J]. 中国输血杂志, 2010, 23(10):809-810.  
 [14] LOUISIRIOTCHANAKUL S, OOTA S, KHUPON-SARB K, et al. Occult hepatitis B virus infection in Thai blood donors[J]. Transfusion, 2011, 51(7):1532-1540.  
 [15] 王立林, 杨宝成, 朱为刚, 等. 血浆 miR-122 在抗-HCV 阳性献血者中表达的动态分析[J]. 中国输血杂志, 2017, 30

(5):454-458.

[16] WANG Y, JIANG L, JI X, et al. Hepatitis B viral RNA directly mediates down-regulation of the tumor suppressor microRNA miR-15a/miR-16-1 in hepatocytes [J]. J Biol Chem, 2013, 288(25):18484-18493.  
 [17] WU G, YU F, XIAO Z, et al. Hepatitis B virus X protein downregulates expression of the miR-16 family in malignant hepatocytes in vitro[J]. Br J Cancer, 2011, 105(1):146-153.

(收稿日期:2018-10-14 修回日期:2018-12-16)