

百草枯对小鼠脾脏淋巴细胞的影响

杨正丽, 李倩, 邵一鸣, 赵一帆, 张芬, 肖洪喜, 常秀丽, 张玉彬, 周志俊

复旦大学公共卫生学院 教育部公共卫生重点实验室, 上海 200032

摘要:

[背景] 百草枯 (PQ) 是一种广泛使用的除草剂。目前的研究主要针对 PQ 的神经毒性。然而, PQ 对外周免疫系统影响的研究尚不全面。

[目的] 观察 PQ 对外周免疫系统的影响, 特别是对淋巴细胞数量、分化及活化状态的影响。

[方法] 6~8 周龄 SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠随机分为对照组、2 mg/kg PQ 染毒 1 周组和 2 周组, 每组 8 只小鼠。采用皮下注射方式染毒, 染毒频率为每周一次, 分别于染毒 1、2 周后取脾脏, 用流式细胞术检测脾脏细胞和淋巴细胞数量, 以及淋巴细胞分化和活化情况。

[结果] 与对照组相比, PQ 染毒小鼠脾脏细胞的数量在第 1 周和第 2 周差异无统计学意义 ($P > 0.05$); CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞的数量在第 1 周和第 2 周差异亦无统计学意义 ($P > 0.05$); B 细胞的数量在第 2 周时高于对照组 ($t = -2.304, P < 0.05$), 在第 1 周时差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。与对照组相比, PQ 在第 2 周时降低辅助性 T 细胞 1 (Th1 细胞) ($t = 0.019, P < 0.05$) 和辅助性 T 细胞 2 (Th2 细胞) ($t = 0.038, P < 0.05$) 占 CD4⁺T 细胞的比例, 在第 1 周时无影响 ($P > 0.05$); 不影响辅助性 T 细胞 17 (Th17 细胞) 和调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 占 CD4⁺T 细胞的比例 ($P > 0.05$)。此外, PQ 在第 2 周时降低 B 细胞表面主要组织相容性复合体 II 类分子 I-A ($t = 0.047, P < 0.05$) 和 B 细胞表面抗原 CD40 ($t = 0.000, P < 0.01$) 的表达, 不影响 B 细胞表面抗原 CD86 的表达 ($P > 0.05$)。

[结论] PQ 可增加 B 细胞数量, 可以抑制 CD4⁺T 细胞向 Th1 和 Th2 方向分化, 并抑制 B 细胞活化, 提示 PQ 可以通过影响免疫细胞数量、分化和活化而引起免疫功能紊乱。

关键词: 百草枯; 免疫系统; 脾脏; 淋巴细胞; 分化; 活化

Effects of paraquat on lymphocytes in spleen of mice YANG Zheng-li, LI Qian, SHAO Yi-ming, ZHAO Yi-fan, ZHANG Fen, XIAO Hong-xi, CHANG Xiu-li, ZHANG Yu-bin, ZHOU Zhi-jun (School of Public Health, Key Laboratory of Public Health Safety, Ministry of Education, Fudan University, Shanghai 200032, China)

Abstract:

[Background] Paraquat (PQ) is a widely used herbicide. Current research focuses on its neurotoxicity. However, the impact of PQ on peripheral immune system is not comprehensively studied.

[Objective] This study aims to study the effects of PQ on peripheral immune system, especially on the number, differentiation, and activation of lymphocytes.

[Methods] SPF female C57BL/6 mice, 6-8 weeks old, were randomly assigned to three groups, namely control group, 2 mg/kg PQ for 1 week group, and for 2 weeks group, with 8 mice in each group. Mice were subcutaneously injected with PQ once a week. Spleen was harvested 1 or 2 weeks after exposure to measure the number of splenocytes and lymphocytes, as well as the differentiation and activation of lymphocytes by flow cytometry.

[Results] Compared with the control group, the number of splenocytes did not change after 1 or 2 weeks of PQ exposure ($P > 0.05$); the numbers of CD4⁺T cells and CD8⁺T cells did not change either ($P > 0.05$); the number of B cells was higher after 2 weeks of exposure ($t = -2.304, P < 0.05$), but not after 1 week of exposure ($P > 0.05$). Compared with the control group, PQ decreased the proportions of type 1 T helper (Th1) cells ($t = 0.019, P < 0.05$) and type 2 T helper (Th2) cells ($t = 0.038, P < 0.05$) to CD4⁺T cells after 2 weeks of exposure, but not after 1 week of exposure ($P > 0.05$); PQ did not affect the proportions of T helper 17 (Th17) cells and regulatory T (Treg) cells ($P > 0.05$) to CD4⁺T cells. In addition, PQ reduced the expressions of a major histocompatibility complex

DOI 10.13213/j.cnki.jeom.2019.19081

基金项目

国家自然科学基金 (81673202)

作者简介

杨正丽 (1993—), 女, 硕士生;
E-mail: 16211020029@fudan.edu.cn

通信作者

张玉彬, E-mail: yz001@fudan.edu.cn; 周志俊, E-mail: zjzhou@fudan.edu.cn

伦理审批

已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2019-02-21

录用日期 2019-04-24

文章编号 2095-9982(2019)06-0571-05

中图分类号 R114

文献标志码 A

引用

杨正丽, 李倩, 邵一鸣, 等. 百草枯对小鼠脾脏淋巴细胞的影响 [J]. 环境与职业医学, 2019, 36 (6) : 571-575.

本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19081

Funding

This study was funded.

Correspondence to

ZHANG Yu-bin, E-mail: yz001@fudan.edu.cn;
ZHOU Zhi-jun, E-mail: zjzhou@fudan.edu.cn

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2019-02-21

Accepted 2019-04-24

To cite

YANG Zheng-li, LI Qian, SHAO Yi-ming, et al. Effects of paraquat on lymphocytes in spleen of mice[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2019, 36(6): 571-575.

Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.13213/j.cnki.jeom.2019.19081

class II molecule I-A ($t=0.047$, $P<0.05$) and B-cell surface antigen CD40 ($t=0.000$, $P<0.01$) after 2 weeks of exposure, but did not affect the expression of B-cell surface antigen CD86 ($P>0.05$).

[Conclusion] PQ exposure could increase the number of B cells, inhibit the differentiation of CD4⁺T cells into Th1 and Th2 cells, and inhibit the activation of B cells, suggesting that PQ could cause immune dysfunction by affecting the number, differentiation, and activation of immune cells.

Keywords: paraquat; immune system; spleen; lymphocyte; differentiation; activation

百草枯 (paraquat, PQ) 是一种广泛使用的除草剂。流行病学研究发现,暴露于 PQ 可以增加神经退行性疾病的发病风险^[1]。目前的研究主要针对 PQ 的神经毒性,尤其是对多巴胺能神经元的毒性^[2-3],而关于 PQ 对外周免疫系统的影响尚缺乏系统全面的研究。目前已有的研究发现, PQ 不影响胸腺的重量,但可以降低脾脏的重量,抑制脾脏细胞增殖,降低巨噬细胞的吞噬活性^[4]。PQ 亦可引起脾脏组织病理变化,降低自然杀伤 (natural killer, NK) 细胞的数量^[5]。Hassuneh 等^[6]发现,高剂量 PQ 发挥免疫抑制的作用,但低剂量 PQ 可以增加白介素 (interleukin, IL) -17B、IL-17C、IL-17E 和 IL-17F 等炎症细胞因子释放。此外, Lim 等^[7]发现, PQ 可以通过增加金属硫蛋白的表达进而降低 NK 细胞的活性,从而产生免疫抑制的作用。

免疫系统分非特异性免疫和特异性免疫。特异性免疫细胞主要包括 CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 B 细胞。CD4⁺T 细胞可以向辅助性 T 细胞 1 (Th1 细胞)、辅助性 T 细胞 2 (Th2 细胞)、辅助性 T 细胞 17 (Th17 细胞) 和调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 等亚群方向分化。Th1 细胞可以通过活化巨噬细胞等来促进细胞介导的炎症反应^[8]。Th2 细胞可以通过促使 IL-4 和 IL-10 等细胞因子的产生来促进 B 细胞活化,从而促进体液免疫^[9]。Th17 和 Treg 细胞在自身免疫疾病中发挥重要作用^[10]。若这些细胞数量或功能发生变化,机体的免疫平衡状态会被打破,导致疾病发生^[11]。

目前关于 PQ 对免疫细胞分化及活化的研究尚少。因此,本研究探讨 PQ 对脾脏细胞和淋巴细胞数量、CD4⁺T 细胞分化功能以及 B 细胞活化功能的影响,为丰富 PQ 的免疫毒性及其机制的研究提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物

SPF 级雌性 C57BL/6 小鼠 (6~8 周龄,体重约 20~25 g) 购于上海斯莱克实验动物有限责任公司 (许可证号: 2015000559939)。实验期间,小鼠饲养于复旦大学实验动物科学部,饲养条件为:温度 22~25°C,湿度

40%~60%,昼夜交替为 12 h。本研究通过上海市食品药品检验所实验动物福利伦理审查。

1.2 动物分组与处理

将 24 只健康成年小鼠随机分为对照组、PQ 染毒 1 周组和 PQ 染毒 2 周组,每组 8 只。采用皮下注射方式染毒。染毒组给予 2 mg/kg PQ,对照组给予等体积的磷酸盐缓冲液 (PBS)。染毒频率为每周一次,分别于染毒 1、2 周后取脾脏,进行检测。本实验采用皮下注射的染毒方式,该方式可以模拟人通常接触 PQ 的方式,且可以准确控制染毒剂量^[12]。本实验采用的染毒剂量和频率基于预实验结果以及文献^[6],该文献报道,小鼠经口单次染毒 2 mg/kg PQ 即可对免疫指标产生影响。

1.3 实验试剂与仪器

主要试剂: PQ、伴刀豆球蛋白 (concanavalin A, ConA)、植物血凝素 (phytohemagglutinin, PHA)、PBS (Sigma, 美国)、胎牛血清、小牛血清、RPMI-1640 培养基 (Gibco, 美国)、抗小鼠 CD16/32、抗小鼠 CD3-异硫氰酸盐 (fluorescein isothiocyanate, FITC)、抗小鼠 CD3-藻红素 (phycoerythrin, PE) - 花青素 (cyanine, Cy7)、抗小鼠 CD4-别藻蓝蛋白 (allophycocyanin, APC)、抗小鼠 CD8-PE、抗小鼠 CD8-多甲藻黄素-叶绿素-蛋白质 (peridinin-chlorophyll-protein, PerCP)、抗小鼠 CD19-PE-Cy7、抗小鼠 CD86-太平洋蓝 (pacific blue, PB)、抗小鼠 CD40-PE、抗小鼠主要组织相容性复合体 II 类 (major histocompatibility complex class II, I-A) - FITC、抗小鼠 IL-17-FITC、抗小鼠 GATA 结合蛋白 3 (GATA binding protein-3, Gata3) -PE-Cy7、抗小鼠干扰素- γ (interferon- γ , IFN γ) -FITC、抗小鼠 CD25-PE-Cy7、抗小鼠叉头螺旋转录因子 p3 (forkhead helix transcription factor p3, Foxp3)-PE (Biolegend, 美国)。

主要仪器: 细胞计数仪 (Nexcelom, 美国), 高速冷冻离心机 (Beckman, 美国), 流式细胞仪 (BD, 美国)。

1.4 细胞处理与检测

1.4.1 脾脏细胞处理 在各时间点处死小鼠后,无菌

剖腹取出脾脏并研磨,经细胞过滤筛过滤后,移至离心管中。493×g离心5 min后,弃上清,加入1 mL红细胞裂解液,室温静置5 min 40 s,加入10 mL含4%小牛血清的PBS终止裂解;经493×g离心5 min后,弃上清,加入4 mL含10%胎牛血清的RPMI-1640培养基重悬细胞,计数备用。

1.4.2 体外刺激脾脏细胞及检测 取重悬好的脾脏细胞,将细胞数调至相同,以每孔300 μL铺于96孔板中,共铺3组,第1组用于检测Th17细胞,第2组用于检测Th1细胞和Th2细胞,第3组用于检测Treg细胞。往各孔加入ConA (50 μg/mL)和PHA (20 μg/mL)。然后将96孔板置于含5%CO₂的37°C孵箱中培养48 h。取出96孔板,经493×g离心5 min,弃上清,每孔加入50 μL稀释好的抗小鼠CD16/32 (1:1000),冰上孵育20 min。经493×g离心5 min后,弃上清。于第1组中加入50 μL稀释好的抗小鼠CD3-PE-Cy7 (1:266)、抗小鼠CD4-APC (1:266)和抗小鼠CD8-PerCP (1:333)的混合液,于第2组中加入50 μL稀释好的抗小鼠CD4-APC (1:266)和抗小鼠CD8-PerCP (1:333)的混合液,于第3组中加入50 μL稀释好的抗小鼠CD4-APC (1:266)、抗小鼠CD8-PerCP (1:333)和抗小鼠CD25-PE-Cy7 (1:266)的混合液,冰上避光30 min。493×g离心5 min后,弃上清,固定破膜,室温避光60 min。493×g离心5 min后,弃上清,于第1组中加入50 μL稀释好的抗小鼠IL-17-FITC (1:200),于第2组中加入50 μL稀释好的抗小鼠Gata3-PE-Cy7 (1:100)和抗小鼠IFNγ-FITC (1:200)的混合液,于第3组中加入50 μL稀释好的抗小鼠Foxp3-PE (1:100),室温避光120 min。493×g离心5 min后,弃上清,用破膜的稀释液洗涤一遍,493×g离心5 min后,弃上清,每孔加入200 μL简单清洗液用于重悬细胞,流式细胞仪进行检测。

1.4.3 淋巴细胞数量及活化检测 取上述剩下的脾脏细胞悬液,以每孔200 μL铺于96孔板中,共铺2组,第1组用于检测CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞,第2组用于检测B细胞和B细胞的活化指标I-A、CD40和CD86。经493×g离心5 min后,弃上清,每孔各加入50 μL稀释好的抗小鼠CD16/32 (1:1000),冰上孵育20 min。经493×g离心5 min后,弃上清,于第1组中加入50 μL稀释好的抗小鼠CD3-FITC (1:400)、抗小鼠CD4-APC (1:400)和抗小鼠CD8-PO (1:300)的混合液,于第2组中加入50 μL稀释好的抗小鼠CD19-PE-Cy7 (1:800)、抗

小鼠CD86-PB (1:400)、抗小鼠CD40-PE (1:400)和抗小鼠I-A-FITC (1:400)的混合液,冰上避光30 min。493×g离心5 min后,弃上清,用PBS洗涤一遍,493×g离心5 min后,弃上清,每孔加入200 μL 1%多聚甲醛固定细胞,用流式细胞仪进行检测。

1.5 统计学分析

采用SPSS 20.0软件进行统计分析,计量资料采用均数±标准差表示。对照组与染毒组间比较采用单因素方差分析。根据方差齐性结果,如果方差齐,两两比较采用LSD-*t*检验;如果方差不齐,两两比较则采用Dunnett-*t*检验。检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

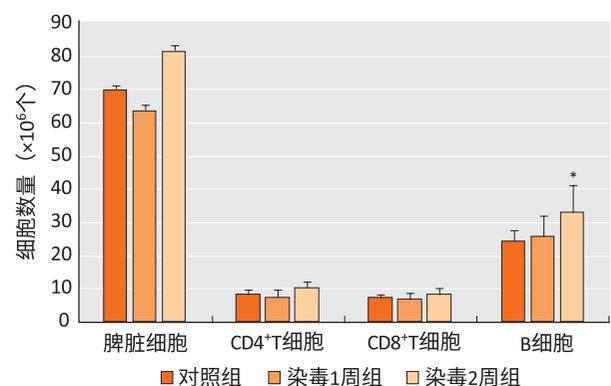
2 结果

2.1 一般情况

PQ染毒期间,染毒组和对照组小鼠精神状态、毛色、行为活动和皮肤未见异常,眼耳鼻和其他腔道未见异常分泌物。各组小鼠的食物摄入量和水消耗量无差异,体重增长亦无差异。染毒期间未见小鼠死亡。

2.2 PQ对小鼠脾脏细胞和淋巴细胞数量的影响

与对照组相比,染毒组小鼠脾脏细胞的数量差异无统计学意义($P>0.05$)。PQ在第1周时不影响B细胞的数量,但在第2周时可增加B细胞的数量($t=-2.304$, $P<0.05$);PQ不影响CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞的数量(图1)。



[注]*:与对照组相比, $P<0.05$ 。

图1 百草枯对小鼠脾脏细胞和淋巴细胞数量的影响

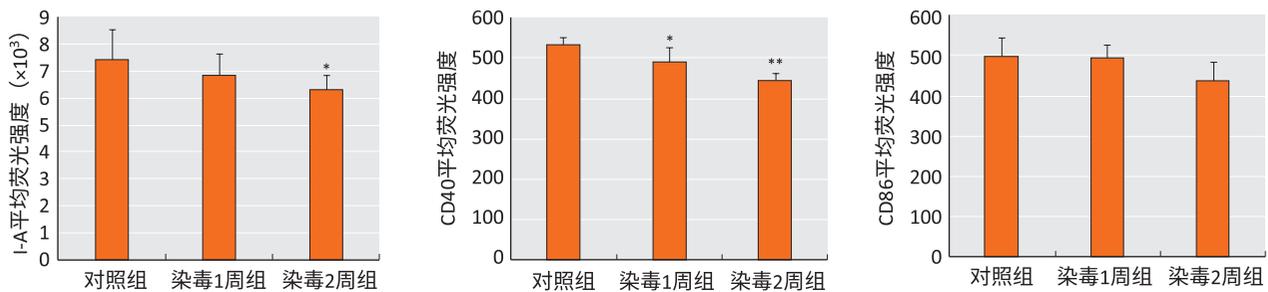
2.3 PQ对小鼠脾脏中CD4⁺T细胞分化功能的影响

与对照组相比,Th1细胞占CD4⁺T细胞的比例在PQ染毒第1周时无明显变化($P>0.05$),在PQ染毒第2周时低于对照组($t=0.019$, $P<0.05$)。Th2细胞占CD4⁺T细胞的比例在PQ染毒第1周时与对照组相比

差异无统计学意义 ($P>0.05$), 在第2周时低于对照组 ($t=0.038, P<0.05$)。与对照组相比, PQ 染毒第1周和第2周时 Th17 细胞和 Treg 细胞占 CD4⁺T 细胞的比例差异无统计学意义 ($P>0.05$) (图2)。

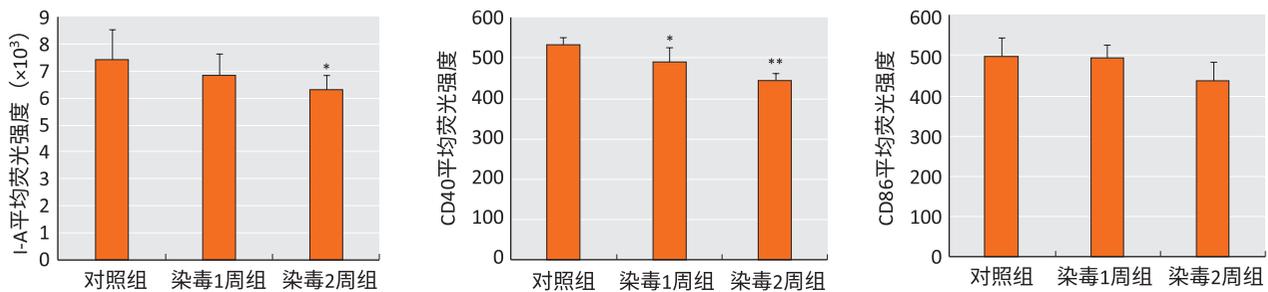
2.4 PQ 对 B 细胞活化的影响

经 PQ 染毒后, I-A 的表达在第1周无明显变化 ($P>0.05$), 在第2周时低于对照组 ($t=0.047, P<0.05$)。B 细胞表面 CD40 的表达在 PQ 染毒第1周时低于对照组 ($t=0.043, P<0.05$), 在 PQ 染毒第2周时亦低于对照组 ($t=0.000, P<0.01$)。B 细胞表面 CD86 的表达无明显变化 ($P>0.05$) (图3)。



[注] * : 与对照组相比, $P<0.05$ 。

图2 百草枯对 CD4⁺T 细胞分化功能的影响



[注] * : 与对照组相比, $P<0.05$; ** : 与对照组相比, $P<0.01$ 。

图3 百草枯对 B 细胞活化的影响

3 讨论

PQ 与土壤接触后迅速钝化, 无大气污染和残留, 对周围环境无害, 而被广泛使用^[13-14]。然而 PQ 对人类与动物有高毒性^[6], 因此其对身体造成的危害不容忽视。

免疫细胞的数量在一定程度上可以反映机体的免疫功能。脾脏是重要的免疫器官, 因此本研究观察了小鼠脾脏细胞的数量, 发现 PQ 不影响脾脏细胞的数量。Riahi 等^[4]也有类似的发现, 给予 Balb/c 小鼠腹腔注射 1 mg/kg PQ 连续 21 d 后, 发现 PQ 并不影响小鼠脾脏细胞的数量, 此外, PQ 可以降低小鼠 CD4⁺T 细胞的数量, 但不影响 CD8⁺T 细胞的数量; 在临床研究发现, 服用 PQ 剂量大于 10 mL (PQ 20% 的水溶剂) 的患者即 PQ 中重度中毒患者 CD4⁺T 细胞的数量明显减少, 而 CD8⁺T 细胞的数量不受影响^[15-16]。本研究发现 PQ 不影响 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞的数量, 表明 CD4⁺T 细胞的数量不是 PQ 造成外周免疫系统损伤的敏感指标, 只有 PQ 对机体造成中重度损伤时, CD4⁺T 的数量方有变化。此外, 本研究发现 PQ 可以增加小鼠脾脏中 B 细胞的数量。在蒋白丽等^[16]的临床研究中亦有类似的发现, PQ 中毒患者外周血 B 细胞水平升高。

以上结果提示 B 细胞的数量可以作为 PQ 造成外周免疫系统损伤的一个敏感指标。

辅助性 T 细胞是直接反映机体免疫功能的物质之一^[17]。因此, 本研究观察了 PQ 对 Th1 细胞、Th2 细胞、Th17 细胞和 Treg 细胞这四个亚群的影响, 发现 PQ 可以抑制 CD4⁺T 细胞向 Th1 细胞和 Th2 细胞方向分化, 但不影响 CD4⁺T 细胞向 Th17 细胞和 Treg 细胞方向分化。Riahi 等^[4]的研究亦有类似的发现, PQ 可以降低 IFN γ 和 IL-4 的水平。IFN γ 和 IL-4 是由 Th1 细胞和 Th2 细胞分泌而来, 这两种因子水平的降低, 说明 PQ 抑制了 CD4⁺T 淋巴细胞向 Th1 细胞和 Th2 细胞方向分化。因此推测, PQ 可以影响辅助性 T 细胞, 造成机体的免疫功能紊乱。

B 细胞是机体重要的免疫细胞之一, 在免疫应答过程中发挥重要的作用, 其异常活化或功能改变均提示机体免疫功能的紊乱^[18]。在本研究中, PQ 抑制 B 细胞表面 CD40 和 I-A 的表达。CD40 和 I-A 这两种分子水平的降低, 提示 B 细胞活化受到抑制。CD40 可以与 T 细胞表面 CD40L 相互作用, 在体液免疫中发挥重要作用。PQ 降低了 CD40 的水平, 提示 PQ 可以抑制体液免疫^[19]。I-A 的生物学功能是参与抗原加工与呈递^[20]。

在本研究中PQ降低了I-A的水平,提示PQ可以抑制B细胞的抗原提呈功能,进一步说明PQ抑制免疫应答。

综上所述,PQ可增加B细胞数量,抑制CD4⁺T细胞向Th1和Th2方向分化,并抑制B细胞活化,提示PQ可影响正常的免疫应答,导致机体免疫功能紊乱。这为深入研究PQ的免疫毒性机制提供了理论依据。

参考文献

- [1] VACCARI C, EL DIB R, DE CAMARGO JLV. Paraquat and Parkinson's disease : a systematic review protocol according to the OHAT approach for hazard identification [J]. *Syst Rev*, 2017, 6 : 98.
- [2] ZHAO F, WANG W, WANG C, et al. Mfn2 protects dopaminergic neurons exposed to paraquat both *in vitro* and *in vivo* : implications for idiopathic Parkinson's disease [J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2017, 1863 (6) : 1359-1370.
- [3] ZHANG XF, THOMPSON M, XU YH. Multifactorial theory applied to the neurotoxicity of paraquat and paraquat-induced mechanisms of developing Parkinson's disease [J]. *Lab Invest*, 2016, 96 (5) : 496-507.
- [4] RIAHI B, RAFATPANA H, MAHMOUDI M, et al. Immunotoxicity of paraquat after subacute exposure to mice [J]. *Food Chem Toxicol*, 2010, 48 (6) : 1627-1631.
- [5] RIAHI B, RAFATPANA H, MAHMOUDI M, et al. Evaluation of suppressive effects of paraquat on innate immunity in Balb/c mice [J]. *J Immunotoxicol*, 2011, 8 (1) : 39-45.
- [6] HASSUNEH MR, ALBINI MA, TALIB WH. Immunotoxicity induced by acute subtoxic doses of paraquat herbicide : implication of shifting cytokine gene expression toward T-helper (TH) -17 phenotype [J]. *Chem Res Toxicol*, 2012, 25 (10) : 2112-2116.
- [7] LIM JH, WON JH, AHN KH, et al. Paraquat reduces natural killer cell activity via metallothionein induction [J]. *J Immunotoxicol*, 2015, 12 (4) : 342-349.
- [8] HSIEH CS, MACATONIA SE, TRIPP CS, et al. Pillars article : development of TH1 CD4⁺ T cells through IL-12 produced by *Listeria*-induced macrophages. 1993. *Science* 260 (5107) : 547-549 [J]. *J Immunol*, 2008, 181 (7) : 4437-4439.
- [9] WANG J, MA L, YANG S, et al. IL-10-expressing Th2 cells contribute to the elevated antibody production in rheumatoid arthritis [J]. *Inflammation*, 2016, 39 (3) : 1017-1024.
- [10] SHAO S, YU X, SHEN L. Autoimmune thyroid diseases and Th17/Treg lymphocytes [J]. *Life Sci*, 2018, 192 : 160-165.
- [11] AN N, CHEN Y, WANG C, et al. Chloroquine autophagic inhibition rebalances Th17/Treg-mediated immunity and ameliorates systemic lupus erythematosus [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 44 (1) : 412-422.
- [12] NAKAGAWA I, SUZUKI M, IMURA N, et al. Involvement of oxidative stress in paraquat-induced metallothionein synthesis under glutathione depletion [J]. *Free Radic Biol Med*, 1998, 24 (9) : 1390-1395.
- [13] 杨正丽, 张玉彬, 周志俊. 百草枯的神经免疫毒性研究进展 [J]. *环境与职业医学*, 2017, 34 (11) : 1009-1012.
- [14] 窦婷婷, 常秀丽, 吕文, 等. 百草枯对人胚胎神经干细胞分化过程中Wnt通路分子表达的影响 [J]. *环境与职业医学*, 2013, 30 (6) : 411-415.
- [15] 李强, 刘海英, 王玉红, 等. 百草枯中毒患者免疫功能改变及临床意义 [J]. *新乡医学院学报*, 2006, 23 (6) : 575-576.
- [16] 蒋白丽, 李建平, 李文倩, 等. 百草枯中毒患者外周血淋巴细胞亚群变化及对预后判断的作用 [J]. *中国工业医学杂志*, 2018, 31 (2) : 114-115.
- [17] 王海燕. 白芍总苷辅助治疗对过敏性紫癜患儿辅助性T细胞、高迁移率族蛋白1表达的影响 [J]. *中医药信息*, 2019, 36 (1) : 76-80.
- [18] 刘环, 陈嵘祎, 张方, 等. IL-36 β 联合CpG-DNA对B细胞增殖、活化及TLR9表达的影响 [J]. *广东医科大学学报*, 2018, 36 (5) : 505-510.
- [19] HENN V, SLUPSKY J R, GRÄFE M, et al. CD40 ligand on activated platelets triggers an inflammatory reaction of endothelial cells [J]. *Nature*, 1998, 391 (6667) : 591-594.
- [20] WIECZOREK M, ABUALROUS E T, STICHT J, et al. Major histocompatibility complex (MHC) class I and MHC class II proteins : conformational plasticity in antigen presentation [J]. *Front Immunol*, 2017, 8 : 292.

(英文编辑:汪源;编辑:汪源;校对:王晓宇)