

本文引用: 聂甜, 江劲波, 何娅娜, 杨琳, 周欣欣, 郝敬全, 刘凯, 宁彩虹. 牛角地黄汤对免疫性血小板减少症大鼠外周血单个核细胞IDO表达的影响[J]. 湖南中医药大学学报, 2021, 41(9): 1334-1338.

牛角地黄汤对免疫性血小板减少症大鼠外周血单个核细胞IDO表达的影响

聂甜, 江劲波*, 何娅娜, 杨琳, 周欣欣, 郝敬全, 刘凯, 宁彩虹
(湖南中医药大学第一附属医院, 湖南长沙 410007)

〔摘要〕 目的 探讨牛角地黄汤对免疫性血小板减少症(ITP)大鼠外周血单个核细胞吲哚胺2,3-双加氧酶(IDO)表达的影响及其作用机制。方法 将36只SD大鼠用兔抗SD大鼠血小板血清法建立ITP大鼠模型后随机分成模型组、阳性对照组、实验组,另设空白组,每组12只。于造模第7天,实验组、阳性对照组分别予牛角地黄汤、地塞米松干预,模型组和空白组给予等体积的生理盐水干预。4周后处死各组大鼠,用RT-PCR检测外周血单个核细胞IDO、JAK1、STAT1 mRNA表达水平,Western blot检测外周血单个核细胞IDO蛋白表达量。结果 与空白组比较,模型组ITP大鼠外周血单个核细胞IDO蛋白和IDO、JAK1、STAT1 mRNA表达水平均降低($P<0.05$)。与模型组比较,实验组和阳性对照组ITP大鼠外周血单个核细胞IDO、JAK1、STAT1 mRNA和IDO蛋白表达均增高($P<0.05$)。结论 牛角地黄汤可能通过JAK1/STAT1信号分子促进ITP大鼠外周血单个核细胞IDO表达,减少血小板免疫性损伤。

〔关键词〕 免疫性血小板减少症;外周血单个核细胞;牛角地黄汤;吲哚胺2,3-双加氧酶;JAK1;SATA1

〔中图分类号〕R255.9

〔文献标志码〕A

〔文章编号〕doi:10.3969/j.issn.1674-070X.2021.09.004

Effects of Niujiiao Dihuang Decoction on IDO Expression in Peripheral Blood Mononuclear Cells of Immune Thrombocytopenia Rats

NIE Tian, JIANG Jingbo*, HE Yana, YANG Lin, ZHOU Xinxin, HAO Jingquan, LIU Kai, NING Caihong
(The First Affiliated Hospital of Hunan University of Chinese Medicine, Changsha, Hunan 410007, China)

〔Abstract〕 Objective To investigate the effect and possible mechanism of Niujiiao Dihuang Decoction on indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) expression in peripheral blood mononuclear cells of immune thrombocytopenia (ITP) rats. **Methods** ITP rat model was established by rabbit anti SD rat platelet serum method in 36 SD rats, and were randomly divided into model group, positive control group and experimental group, with a blank group, 12 rats in each group. On the 7th day of modeling, rats in the experimental group and positive control group were respectively given Niujiiao Dihuang Decoction and dexamethasone intervention, and rats in the model group and blank group were given the same volume of normal saline intervention. Rats in each group were sacrificed 4 weeks later. The mRNA expression levels of IDO, JAK1, STAT1 in peripheral blood mononuclear cells were detected by RT-PCR, and the protein expression level of IDO in peripheral blood mononuclear cells was detected by Western blot. **Results** Compared with blank group, IDO protein and mRNA expression levels of IDO, JAK1 and STAT1 in peripheral blood mononuclear cells of ITP rats in model group were decreased ($P<0.05$). Compared with model group, the mRNA expression levels of IDO, JAK1, STAT1 and IDO protein expression in peripheral blood mononuclear cells of ITP rats in experimental group and positive control group were significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** Niujiiao Dihuang Decoction may promote the expression of IDO in

〔收稿日期〕2021-03-10

〔基金项目〕湖南省教育厅科学研究项目(18C0358);湖南中医药大学护理学一级学科开放基金项目(2019HLX07)。

〔作者简介〕聂甜,男,博士,主治医师,研究方向:免疫性血小板减少症的中西医防治。

〔通信作者〕* 江劲波,男,主任医师,硕士研究生导师,E-mail:nietian198312@163.com。

peripheral blood mononuclear cells of ITP rats through JAK1/STAT1 signaling molecule and reduce platelet immune injury.

[**Keywords**] immune thrombocytopenia; peripheral blood mononuclear cells; Niujiao Dihuang Decoction; indoleamine 2,3-dioxygenase; JAK1; STAT1

免疫性血小板减少症(immune thrombocytopenia, ITP)是免疫异常介导的血小板破坏和产生不足的常见出血性疾病^[1]。细胞免疫功能紊乱,尤其是特异性自身反应性T细胞对血小板的破坏是ITP发病的重要机制^[2]。研究^[3]表明,免疫调节酶吲哚胺2,3-双加氧酶(indoleamine 2,3-dioxygenase, IDO)可以诱导血小板特异性自身反应性T细胞凋亡,从而减少ITP血小板免疫性破坏。JAK激酶和信号转导及转录活化因子(signal transducer and activator of transcription, STAT)是许多调节细胞生长、分化、存活的关键靶点。研究^[4]发现,肝炎或自身免疫性疾病患者JAK/STAT信号通路失活导致调节性树突细胞IDO表达减少,进而影响到调节性T细胞的活化,这可能导致血小板特异性T细胞加速对自身血小板的免疫性破坏。

ITP的中医病名为“紫癜病”,病理性质表现为本虚标实,本虚涉及气、血、肝、脾、肾,以肾虚为主,在本虚的基础上容易外感热毒、火邪等,导致血液溢出脉外,形成紫癜^[5]。本课题组在临床应用中发现牛角地黄汤能有效改善ITP患者出血体质,40例ITP患者的治疗总有效率高达82.5%^[6]。为进一步明确该方的药效机制,本课题组主要采用分子生物学技术研究牛角地黄汤对ITP大鼠模型外周血单个核细胞IDO mRNA和蛋白表达的影响,进一步从JAK1/STAT1信号分子探讨牛角地黄汤干预ITP大鼠外周血单个核细胞IDO表达的作用机制,旨在为ITP的中医药治疗提供实验依据。

1 材料

1.1 实验动物

健康SPF级雄性SD大鼠48只,购于湖南斯莱克景达实验动物有限公司,合格证号:SCXK(湘)2019-0004,鼠龄6~8周,体质量130~170 g。室温18~20℃,湿度为68%~70%,自由进食饮水。

1.2 主要药品与试剂

牛角地黄汤药物组成为:水牛角30 g,生地黄24 g,赤芍12 g,牡丹皮9 g,淫羊藿15 g,巴戟天15 g,锁阳15 g,甘草10 g。上述中药饮片均由湖南

中医药大学第一附属医院中药制剂中心提供,按《中华人民共和国药典》^[7]要求进行鉴定和质量控制。牛角地黄汤由湖南中医药大学第一附属医院制剂室用韩国东华DHJ-02煎药机制备,所有药物均先用冷水浸泡30 min,其中水牛角先煎30 min,再将其他药物放入后煎煮30 min,真空包装,200 mL/袋,拆开包装后倒入蒸发皿中浓缩,浓缩剂含生药0.6 g/mL。

醋酸地塞米松片(遂成药业股份有限公司,批号:2003201);抗大鼠IDO1抗体(英国Abcam公司,批号:ab106134); β -actin内参抗体(美国Proteintech公司,批号:66009-1-Ig);BCA蛋白测定试剂盒(北京Beyotime公司,批号:P0012S);鼠外周血淋巴分离液(天津市灏洋生物制品科技有限责任公司,批号:LTS1077);蛋白磷酸酶抑制剂(苏州新赛美生物科技有限公司,批号:P001);RIPA细胞裂解液(北京Solarbio公司,批号:R0020);TBST缓冲液(北京索莱宝科技有限公司,批号:T1080);超敏发光液(美国advansta公司,批号:K-12045-D50);Trizol(美国Thermo公司,批号:15596026);mRNA逆转录试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司,批号:CW2569)。

1.3 主要仪器

实时荧光定量RCP仪(美国Thermo公司,型号:PIKOREAL96);垂直电泳仪(北京六一生物科技有限公司,型号:DYY-2C);台式冷冻离心机(湖南湘仪实验室仪器开发有限公司,型号:H1650R);水平琼脂糖电泳槽(北京六一生物科技有限公司,型号:DYCP-31DN);生物样品均质仪(杭州奥盛仪器有限公司,型号:BioPrep-24);全自动化学发光/荧光图像分析系统(上海天能生物科技有限公司,型号:Tanon5200)。

2 方法

2.1 动物分组与处理

36只SD大鼠参照文献^[8]制备兔抗SD大鼠血小板血清,建立ITP大鼠模型,造模后血小板低于 $100 \times 10^9/L$,而白细胞和红细胞数均正常为造模成功。造模后采用随机数字表法将大鼠随机分成模型组、阳性对照组、实验组,另取12只正常SD大鼠为空白组。各组大鼠造模后第7天灌胃给药(均按常

表 1 RT-PCR 引物序列

名称	正向引物	反向引物	基因长度/bp
IDO	AGCATCAAGACCCGAAAGCAC	ATCCACGAAGTCACGCATCCTC	223
JAK1	TGGTCTGTGACCACTTTCC	TCCTTCATCGTCTGTGTAATCC	301
STAT1	GCCGAAGACGACCAGAAACA	CTGCTGGAAGAGGACGAAGGT	373
β -actin	ACATCCGTAAGACCTCTATGCC	TACTCTGCTTGTCTGATCCAC	101

用实验动物和人的体表面积比值表折算成大鼠等效灌胃剂量^[9]),实验组 ITP 大鼠每次灌胃 1 mL (0.6 g/mL),1 次/d,模型组 ITP 大鼠和空白组大鼠给予等体积的生理盐水灌胃,1 次/d,连续灌胃 4 周。阳性对照组 ITP 大鼠参照成人 ITP 诊治指南^[10]给予一线大剂量地塞米松连续冲击干预,每次灌胃 1 mL(0.9 mg/mL),1 次/d,连续灌胃 4 d。

2.2 标本采集与制备

各组大鼠采用 0.3 mL/100 g 的 10%水合氯醛腹腔注射麻醉,腹主动脉采血 3 mL,EDTA 抗凝。

2.3 指标检测

2.3.1 Western blot 检测外周血单个核细胞 IDO 蛋白含量 提取细胞蛋白:用冰预冷 PBS 洗涤细胞 1 次,收集悬液,离心半径 11 cm,3 000 r/min 离心 3 min,加入 200 μ L RIPA 裂解液,离心半径 11 cm,12 000 r/min 离心 15 min。采用 BCA 法测定蛋白浓度。经 SDS-PAGE 凝胶电泳,转膜,5%脱脂牛奶室温下脱色,摇床上封闭 2 h。加入 IDO 一抗,4 $^{\circ}$ C 孵育过夜。倾去一抗,用 TBST 缓冲液漂洗 3 次,每次 10 min,将滤膜转移到新的杂交袋中,加入羊抗兔 IgG 二抗,室温孵育 1 h。用 TBST 缓冲液漂洗 3 次,每次 10 min。使用超敏发光液与膜孵育 1 min,用塑封膜包裹杂交膜,在暗盒内与 X 射线摄影胶片曝光 15 min,显影冲洗。

2.3.2 RT-PCR 检测外周血单个核细胞 IDO、JAK1、STAT1 mRNA 表达 Ficoll 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,Trizol 提取细胞总 RNA。RNA 逆转录:取 RNA 提取物 8 μ L 加入 1 μ L 18 碱基 Oligo,混匀离心后 65 $^{\circ}$ C 温浴 10 min。冷却的反应液依次加入以下试剂:dNTP Mix 4 μ L、RNA 引物 2 μ L、RNA 逆转录酶 7 μ L、缓冲液 4 μ L、RNA 酶抑制剂 2 μ L、基因组 DNA 清除剂 2 μ L,42 $^{\circ}$ C 孵育 50 min,85 $^{\circ}$ C 孵育 5 min。逆转录后,进行荧光定量 PCR(引物序列见表 1,反应体系见表 2,PCR 程序设定参数见表 3)。实验数据分析:结果采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法,计算目的基因 mRNA 转录水平的差异。 $-\Delta\Delta Ct$ =目的基因的

表 2 RT-PCR 配置反应体系

试剂	体积/ μ L
Template	2
Primer R 10 μ M	1
Primer F 10 μ M	1
dd H ₂ O	11
2 \times SYBGREEN PCR Master Mix	15

表 3 RT-PCR 程序设定参数

循环	步骤	温度/ $^{\circ}$ C	时间/s
1	预变性	95	600
	变性	95	10
45	退火	60	20
	延伸	72	15
	冷却	25	30

$\Delta\Delta Ct$ -内参基因的 $\Delta\Delta Ct$ 。

2.4 统计学方法

采用 SPSS 19.0 软件分析数据。计量资料用“ $\bar{x} \pm s$ ”表示,所有资料进行正态性和方差齐性检验,若符合正态性和方差齐,两两比较用 t 检验,多组比较用单因素方差分析,反之则采用秩和检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

3 结果

3.1 各组大鼠外周血单个核细胞 IDO mRNA 和蛋白表达水平比较

与空白组相比,模型组大鼠外周血单个核细胞 IDO mRNA 和蛋白表达水平降低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与模型组相比,实验组和阳性对照组大鼠外周血单个核细胞 IDO mRNA 和蛋白表达水平增高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。与空白组和阳性对照组相比,实验组大鼠外周血单个核细胞 IDO mRNA 和蛋白表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 4、图 1。

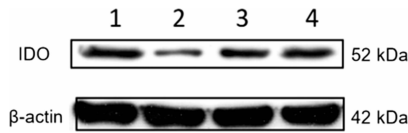
3.2 各组大鼠外周血单个核细胞 JAK1、STAT1 mRNA 表达水平比较

与空白组相比,模型组大鼠外周血单个核细胞

表4 各组大鼠外周血单个核细胞IDO蛋白和mRNA表达比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	IDO mRNA	IDO
空白组	1.07±0.07	0.35±0.02
模型组	0.38±0.05 [△]	0.09±0.01 [△]
阳性对照组	0.83±0.02*	0.25±0.03*
实验组	0.91±0.01*	0.28±0.04*

注:与空白组相比,[△] $P<0.05$;与模型组相比,* $P<0.05$



注:1.空白组;2.模型组;3.阳性对照组;4.实验组

图1 各组大鼠外周血单个核细胞IDO蛋白表达

JAK1、STAT1 mRNA 表达水平降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。与模型组相比,实验组和阳性对照组大鼠外周血单个核细胞 JAK1、STAT1 mRNA 表达水平增高,差异有统计学意义($P<0.05$)。与空白组和阳性对照组相比,实验组大鼠外周血单个核细胞 JAK1、STAT1 mRNA 表达水平差异无统计学意义($P>0.05$)。见表5。

表5 外周血单个核细胞 JAK1、STAT1 mRNA 相对表达量比较($\bar{x}\pm s, n=12$)

组别	JAK1 mRNA	STAT1 mRNA
空白组	6.36±0.16	9.62±0.31
模型组	1.97±0.22 [△]	4.25±0.17 [△]
阳性对照组	6.28±0.15*	8.45±0.25*
实验组	5.75±0.11*	7.02±0.19*

注:与空白组相比,[△] $P<0.05$;与模型组相比,* $P<0.05$

4 讨论

ITP 是一种自身抗血小板抗体和(或)自身反应性 T 细胞介导血小板破坏和产生不足导致的自身免疫性疾病,以孤立的血小板减少为特征^[11]。脾脏巨噬细胞等抗原提呈细胞将自身血小板膜糖蛋白(尤其是 GPIIb/IIIa、GPIb/IX)提呈给 CD4⁺ T 细胞,活化后的 CD4⁺ T 细胞表达 CD40L 与 B 淋巴细胞 CD40 相结合诱导其产生抗血小板抗体,而 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞则可以通过细胞毒作用加速自身血小板的破坏^[12]。中医学无 ITP 病名,既往根据临床症状特点归为“葡萄疫”“发斑”等范畴,第七届全国中西医结合血液病学术会议将 ITP 中医病名确定为“紫癜病”^[13-14]。紫癜病的病理性质主要表现为虚实错杂,急性期以

邪实为主,慢性期以正虚为主,重症患者多表现为虚实并重^[15]。本研究团队认为 ITP 病机以肾虚为本,热毒为标,肾虚导致髓血不充,血小板生成障碍,亦可因虚外感热邪或引发伏毒,迫血妄行。治疗上本课题组强调温清并用,以牛角地黄汤为组方,本方以水牛角和淫羊藿为君药,水牛角苦寒,清热解毒、凉血止血,淫羊藿益肾补阳,此即如王冰所言:“益火之源,以消阴翳”^[16]。生地黄和巴戟天为臣药,生地黄甘寒质润,补血益阴,助牛角凉血止血,巴戟天归肾经,补助元阳,益精,下气降火。赤芍、牡丹皮清热凉血、活血散瘀,锁阳补肾阳、益精血,甘草调和诸药,共为佐使之剂。

色氨酸是免疫微环境中 T 淋巴细胞赖以增殖的必需氨基酸,而 IDO 是色氨酸通过肾素途径降解的初始和限速酶,通过加速色氨酸分解导致犬尿氨酸等代谢物积累,阻止 T 细胞的增殖和阻断 T 细胞的效应活性^[17]。本研究发现,模型组 ITP 大鼠外周血单个核细胞 IDO mRNA 和蛋白表达均低于空白组大鼠($P<0.05$)。WANG C Y 等^[18]研究表明,ITP 患者 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞 IDO 表达显著低于正常健康人,无法通过色氨酸分解代谢途径维持 ITP 免疫耐受。由此可见,IDO 作为免疫调节分子,在 ITP 细胞免疫异常导致血小板免疫性破坏中扮演了重要角色,提示 IDO 表达减少可能是 ITP 细胞免疫功能亢进的重要机制。

自身反应性 CD4⁺ T 淋巴细胞和 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞对血小板的免疫性损伤是 ITP 的主要发病机制^[19]。西医常采用环孢素、长春新碱等免疫抑制剂干预 ITP 使其恢复自身免疫耐受平衡,然而临床疗效不佳,究其原因主要是上述免疫抑制剂并没有从源头促进 ITP 恢复免疫耐受,仅仅是抑制 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的数量和活性^[20]。本课题研究结果表明,牛角地黄汤干预后实验组 ITP 大鼠较模型组大鼠外周血单个核细胞 IDO mRNA 和蛋白表达显著增多($P<0.05$),实验组与阳性对照组 ITP 大鼠外周血单个核细胞 IDO mRNA 和蛋白表达相比,差异无统计学意义($P>0.05$),说明牛角地黄汤可能通过增加外周血单个核细胞 IDO 表达促使 ITP 大鼠恢复自身免疫耐受,减少血小板免疫损伤,而 IDO 有望成为中医药干预 ITP 异常免疫的潜在干预靶标。高云龙等^[21]研究发现,服用中药紫癜灵合剂后,治疗有效组患者的 IDO 在外周血 T 淋巴细胞表达明显升高。紫

癥灵和牛角地黄汤均含有水牛角、生地黄、牡丹皮,存在共同的基础方——犀角地黄汤(水牛角易犀角),进一步表明清热凉血法可能是促进 ITP 外周血单个核细胞 IDO 表达增强的重要中医治法,使患者已受损的免疫功能得到一定程度的恢复和改善。

针对影响 IDO 表达的上游机制,文献研究证实,JAK/STAT 信号通路活化与 IDO 表达密切相关,但与 ITP 发生发展的相关报道较少^[22]。XU Y M 等^[23]在 287 个 ITP 基因表达谱中发现了 155 个 JAK/STAT 异常信号分子,说明 JAK/STAT 信号通路参与了 ITP 的发病,但具体机制需要进一步探索。本研究发现,与空白组相比,模型组 ITP 大鼠外周血单个核细胞 JAK1、STAT1 mRNA 表达下降($P<0.05$),且模型组大鼠 IDO mRNA 和蛋白表达减少($P<0.05$),这证明 JAK1/STAT1 表达减少参与了 ITP 大鼠的发病,潜在的机制可能是 JAK1/STAT1 表达减少影响了 ITP 大鼠外周血单个核细胞 IDO 的表达,导致细胞免疫紊乱。与模型组相比,实验组大鼠经牛角地黄汤干预后外周血单个核细胞 JAK1、STAT1 mRNA 表达水平增高($P<0.05$),且模型组大鼠 IDO mRNA 和蛋白表达增多,这证实牛角地黄汤可能促进 JAK1、STAT1 表达,进一步影响 ITP 大鼠外周血单个核细胞 IDO 表达,减少血小板免疫性损伤。本实验基于 JAK1/STAT1 信号分子对牛角地黄汤改善 ITP 大鼠外周血单个核细胞 IDO 表达做了创新性探讨,但仍需进一步设计临床研究、优化基础研究,从多视角探讨牛角地黄汤干预 ITP 的作用机制。

参考文献

- [1] ZHANG J N, ZHAO P, LIU K Y, et al. Risk and prognostic factors for intracranial hemorrhage in elderly patients with immune thrombocytopenia[J]. *Blood*, 2020, 136: 14–15.
- [2] LEVINE D N, BROOKS M B. Immune thrombocytopenia (ITP): Pathophysiology update and diagnostic dilemmas[J]. *Veterinary Clinical Pathology*, 2019, 48(S 1): 17–28.
- [3] WEI Y, HOU M. T cells in the pathogenesis of immune thrombocytopenia[J]. *Seminars in Hematology*, 2016, 53: S13–S15.
- [4] GRZEGORZEWSKA A E. Genetic polymorphisms within interferon- λ region and interferon- λ 3 in the human pathophysiology: Their contribution to outcome, treatment, and prevention of infections with hepatotropic viruses[J]. *Current Medicinal Chemistry*, 2019, 26(25): 4832–4851.
- [5] 张瑞峰,鲍计章,周永明.从脾肾论治原发性血小板减少症研究进展[J].*中医学报*,2020,35(2):285–290.
- [6] 聂 甜,蒋文明,彭素娟,等.牛角地黄汤对 ITP 大鼠外周血细胞因

- 子 IL-10 和 TGF- β 1 的影响[J].*中医药导报*,2015,21(10):18–23.
- [7] 国家药典委员会.中华人民共和国药典(四部)[M].北京:中国医药科技出版社,2020:1885.
- [8] 聂 甜,蒋文明,彭素娟,等.大鼠原发免疫性血小板减少性紫癜热盛模型的建立与评价[J].*中国比较医学杂志*,2015,25(5):13–19.
- [9] 王 跃,聂 甜,江劲波,等.再生复血汤对再生障碍性贫血小鼠外周血 CD4⁺ CD25⁺ CD127-调节性 T 细胞及 Foxp3 mRNA 的影响[J].*中国中西医结合杂志*,2018,38(3):350–355.
- [10] 中华医学会血液学分会血栓与止血学组.成人原发免疫性血小板减少症诊断与治疗中国指南(2020 版)[J].*中华血液学杂志*, 2020,41(8):617–622.
- [11] JOLY F, REANEY M, DAAK A, et al. Understanding and measuring key symptoms and health-related quality of life in patients with chronic immune thrombocytopenia [J]. *Blood*, 2020, 136: 12–13.
- [12] MARINI I, ZLAMAL J, PELZEL L, et al. Autoantibody mediated desialylation impairs human thrombopoiesis and platelet life span[J]. *Blood*, 2019, 134: 2346.
- [13] 朱士月,陈志炉.中医药及中西医结合治疗原发免疫性血小板减少症研究概况[J].*新中医*,2020,52(1):11–14.
- [14] 钟新林,蔡江龙,杨立芳,等.健脾生血汤治疗气不摄血型慢性特发性血小板减少性紫癜的临床研究[J].*湖南中医药大学学报*, 2019,39(1):99–103.
- [15] 李艳艳,吴娟丽,崔祎哲,等.中医药辨证论治原发免疫性血小板减少症研究述评[J].*新疆中医药*,2020,38(1):102–105.
- [16] 李 露,江劲波.江劲波治疗原发免疫性血小板减少症经验[J].*湖南中医杂志*,2019,35(7):27–28.
- [17] 陈院朝.大剂量激素对原发免疫性血小板减少症患者色氨酸代谢水平的影响[J].*包头医学*,2020,44(1):1–4.
- [18] WANG C Y, SHI Y, MIN Y N, et al. Decreased IDO activity and increased TTS expression break immune tolerance in patients with immune thrombocytopenia[J]. *Journal of Clinical Immunology*, 2011, 31(4): 643–649.
- [19] 袁永平,杨 翔,陈懿建.原发性免疫性血小板减少症的发病机制研究进展[J].*中国实验血液学杂志*,2019,27(5):1706–1710.
- [20] WILSON A, DAAK A, SU J. Treatment patterns among patients with immune thrombocytopenia (ITP) in the United States: An electronic medical record (EMR)-based analysis[J]. *Blood*, 2020, 136: 43.
- [21] 高云龙,卓兰云,陈 瑶,等.紫癜灵对慢性免疫性血小板减少症患者 Trp 代谢的影响[J].*新中医*,2018,50(4):162–165.
- [22] ARUMUGAM N, BHOWMICK N A, RUPASINGHE H P. A review: Phytochemicals targeting JAK/STAT signaling and IDO expression in cancer[J]. *Phytotherapy Research*, 2015, 29(6): 805–817.
- [23] XU Y M, LI J, YANG W T, et al. A pooling genome-wide association study identifies susceptibility loci and signaling pathways of immune thrombocytopenia in Chinese Han population[J]. *International Journal of Genomics*, 2020, 2020: 7531876.