

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.17.006

胃促胰酶和肥大细胞在豚鼠过敏性休克死亡的应用*

喻永敏^{1,2} 赵振宾^{1,2} 马智华³ 刘振江^{1,2} 王 昊^{1,2} 李红卫^{1,2} 蒋正英^{4△}

(1 重庆市公安局物证鉴定中心 重庆 400021; 2 重庆市刑事侦查工程技术研究中心 重庆 400021;

3 西南政法大学刑事侦查学院 重庆 401120; 4 重庆市肿瘤研究所重症医学科 重庆 400030)

摘要 目的:建立豚鼠过敏性休克模型,研究胃促胰酶和肥大细胞在过敏性休克诊断上的应用。**方法:**20 只清洁级豚鼠随机分为 10 只实验组和 10 只对照组,应用混合人血清构建的过敏模型,ELISA 方法测定豚鼠血清 IgE 含量,免疫组化染色观察胃促胰酶在喉头、气管、肺、胃、肠的表达,肥大细胞特殊染色计数肥大细胞。**结果:**实验组豚鼠有 70% 发生过敏性休克死亡,实验组豚鼠血清中 IgE 的含量显著高于对照组豚鼠($P<0.05$),实验组豚鼠于喉头、气管、肺胃促胰酶的表达高于对照组($P<0.05$),实验组豚鼠于喉头、气管、肺、胃的肥大细胞总数高于对照组豚鼠($P<0.05$),肺组织观察到肥大细胞脱颗粒。**结论:**胃促胰酶和肥大细胞可以为过敏性休克死亡的法医学鉴定提供参考。

关键词:胃促胰酶;肥大细胞;过敏性休克;IgE

中图分类号:Q95-3;R441.9 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2015)17-3223-05

Application of Chymase and Mast Cell in Guinea Pig Death of Anaphylactic Shock*

YU Yong-min^{1,2}, ZHAO Zhen-bin^{1,2}, MA Zhi-hua³, LIU Zhen-jiang^{1,2}, WANG Hao^{1,2}, LI Hong-wei^{1,2}, JIANG Zheng-ying^{4△}

(1 Evidence Identification Center of Chongqing Public Security Bureau, Chongqing, 400021, China; 2 Chongqing Engineering Research Center for Criminal Investigation Technology, Chongqing, 400021, China; 3 School of Criminal Investigation, Southwest University of Political Science and Law, Chongqing, 401120, China; 4 Chongqing Cancer Institute Intensive Care Unit, Chongqing, 400030, China)

ABSTRACT Objective: To establish guinea pig anaphylactic shock model and explore the application of chymase and mast cell in diagnosing anaphylactic shock. **Methods:** 20 healthy guinea pigs were random classified into experiment group ($n=10$) and control group ($n=10$). The mixed human serum-induced anaphylactic shock model was established. The ELISA was used to detect the serum IgE in guinea pig. Immunohistochemistry was used to detect the expression of chymase in larynx, trachea, lung, stomach and bowel. Toluidine blue was used to count mast cells. **Results:** 70 percent of guinea pigs died due to anaphylactic shock. The serum IgE of experiment group was significantly higher than that of control group, $P<0.05$, and chymase-positive mast cells were found in the larynx, trachea, lung and not found in the stomach and bowel. There was significant difference between the two groups, $P<0.05$. The total mast cells were found in the larynx, trachea, lung and stomach, $P<0.05$ compared with control group. The degranulation of mast cells was found in the lung. **Conclusions:** The chymase and mast cells can assist in forensic diagnosis of anaphylactic shock.

Key words: Chymase; Mast cell; Anaphylactic shock; IgE

Chinese Library Classification(CLC): Q95-3; R441.9 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)17-3223-05

前言

过敏性休克死亡是法医学工作中常见的急死之一,同时是易导致医疗纠纷的一类急死。法医学诊断上,因缺乏特异性的指标及检验方法,通常采用排除法进行综合判断。因此,研究简单易行的病理诊断方法,成为许多法医病理工作者的研究方向。过敏反应过程中,肥大细胞(Mast cell, MC)参与并释放相关酶类,胃促胰酶(chymase)就是其中之一。本实验应用胃促胰酶的免疫组化染色、肥大细胞特殊染色研究过敏性休克动物模型,以期过敏性休克死亡诊断提供实际参考。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 **样本及动物** 10 人以上的健康人的血清来自重庆市物证鉴定中心志愿者,清洁级豚鼠 20 只,体重 250-300 g,性别不限,由重庆市第三军医大学附属大坪医院动物中心提供。将豚鼠随机分为实验组 10 只和对照组 10 只。

1.1.2 **实验试剂及仪器** 豚鼠 IgE ELISA 试剂盒(加拿大 HCB 公司),小鼠抗胃促胰酶抗体(美国 santa cruz 公司),甲苯胺蓝,酶标仪(雷杜 RT-6100),低温高速离心机(Beckman)。

* 基金项目:公安部应用创新计划项目(2012YYCXCQSJ086)

作者简介:喻永敏(1976-),男,副主任医师,电话:023-63751617

△ 通讯作者:蒋正英(1975-),女,医学硕士,副主任医师,电话:023-65075684, E-mail: cqxj5112@163.com

(收稿日期:2015-01-06 接受日期:2015-01-28)

1.2 实验方法

本研究采用陈炯垣^[1]混合人血清构建的动物模型。

1.2.1 致敏原的准备 将 10 人以上健康人的血清混合后,以 3000 r/min 离心 10 min, 取上清液按实验组数分装并于 -80 °C 低温保存。实验组致敏的过敏原为 1:2 稀释的混合人血清,诱发过敏的过敏原稀释比例为 1:10^[1]。

1.2.2 过敏模型的构建 豚鼠适应性饲养一周后,在实验组豚鼠双侧后爪掌皮内注射过敏原稀释液(1:2)各 0.1 mL,隔一天同样方法、剂量注射过敏原以加强免疫,对照组以 0.9%的生理盐水代替,方法、剂量同实验组,两次致敏后室温环境下饲养 2 周^[1]。激发过敏反应前,所有豚鼠禁食(不禁水)12 小时。所有豚鼠后腿足背剃毛显露足背静脉,固定豚鼠后腿并用止血带扎住近心端,显露足背静脉后,将抽有 1 mL 过敏原稀释液(1:10)的注射器刺入豚鼠后腿足背静脉,回抽见血后注入过敏原诱发过敏反应。对照组以同种方式注射等量的 0.9%的生理盐水^[1]。

1.2.3 动物解剖、取材、常规 HE 染色 实验组死亡的豚鼠取胸腔血 1.5 mL 置于 EP 管内,室温静置 1 小时,4 °C 2500 转离心 15 min,取上清部分,冻存备用。取喉头、气管、肺、胃、肠,4 °C 下 4%的多聚甲醛固定 72 小时,常规做 HE 染色。实验组未死的豚鼠和对照组的豚鼠均放置 12 小时后脱颈处死,方法同上。

1.2.4 豚鼠血清 IgE 检测 取豚鼠血清,按照豚鼠 IgE ELISA 试剂盒说明书的方法进行检测。

1.2.5 胃促胰酶免疫组化检测 各脏器切 4 μm 厚切片置于涂有多聚赖氨酸的载玻片上,捞片后,脱蜡至水,柠檬酸盐进行抗原修复 15 min,内源性过氧化物酶阻断 30 min,含 0.5%的 TritonX-100 的 PBS 溶液通透 20 min,2%的山羊非免疫血清封闭 20 min,滴加 1:50 稀释的小鼠抗胃促胰酶抗体 4 °C 过夜,二抗 37 °C 孵育 30 min,DAB 染色 5 min,苏木素核复染,脱水,二甲苯脱酒精,中性树脂封片。胞浆呈黄色或胞浆周围有黄色颗粒定义为阳性细胞,每张切片在高倍镜(× 400)下随机选择 10 个视野(视野之间无交叉),计数胃促胰酶阳性细胞。

1.2.6 肥大细胞特殊染色 利用甲苯胺蓝染色法对各脏器的肥大细胞进行染色,染色后胞浆呈紫红色,胞核呈蓝色。每张切片在高倍镜(× 400)下随机选择 10 个视野(视野之间无交叉),计数肥大细胞。

1.3 统计学分析

数据采用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,实验组与对照组之间均数比较采用两独立样本 t 检验,用 SPSS 16.0 统计软件分析处理, P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 豚鼠过敏表现与解剖所见

实验组豚鼠中有 7 只经静脉注射人混合血清后 30 s,活动减少,1 min 出现甩头、打喷嚏、咳嗽,之后逐渐躁动并搔鼻,2 min 左右出现原地打转,蹦跳样动作,2 min 30 s 出现倒地、抽搐、呼吸急促、口鼻部紫绀、眼球呈暗红色,3 min 左右出现深大呼吸,部分豚鼠出现大小便失禁。5 min 左右停止呼吸,心跳维持 3 min 左右死亡。另有 3 例豚鼠出现躁动后,于 20 min 左右出现抖毛后,恢复正常呼吸及活动状态。

对照组豚鼠未出现过敏表现。

解剖见,实验组豚鼠喉头水肿,并有少量泡沫。双肺高度膨胀,表面散在少量斑片出血。心脏未见心包积液。胸腔未见积液。腹腔内胃及肠管水肿。

对照组豚鼠喉头未见水肿,双肺淤血,心脏未见心包积液。

胸腹腔其他脏器未见异常。

2.2 HE 染色所见

实验组豚鼠喉头及气管粘膜水肿,粘膜下血管扩张充盈,肺组织见肺泡腔高度扩张、肺泡壁变薄,支气管粘膜痉挛呈花瓣样改变(图 1H),胃、肠管粘膜下层血管扩张充盈。喉头(图 1A)及气管粘膜、粘膜下(图 1C),肺支气管及血管(图 1E、G)、肺泡壁,胃粘膜及肠粘膜(图 1I、J)见较多嗜酸性粒细胞浸润。对照组各脏器未检见嗜酸性粒细胞(图 1B、D、F)。

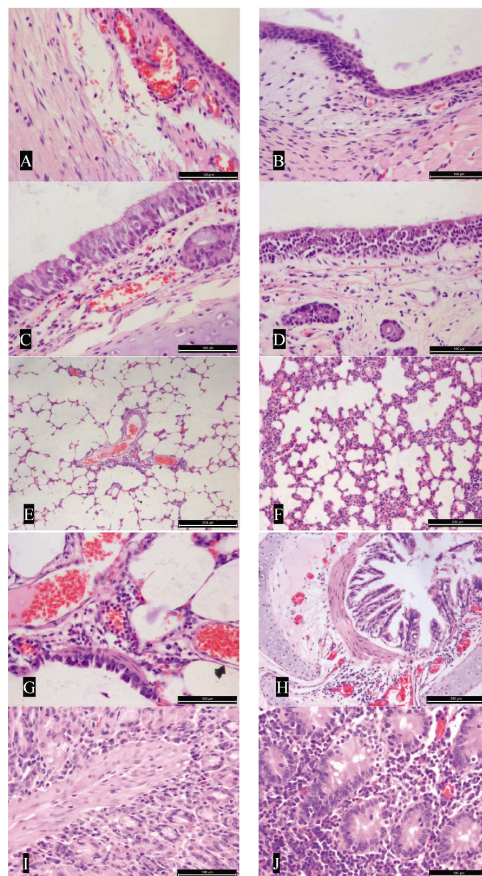


图 1 喉头、气管、肺、胃、肠的 HE 染色

Fig. 1 Harris-eosin staining in the larynx, trachea, lung, stomach and bowel注:(A)实验组喉头粘膜下血管扩张充盈,周围大量嗜酸性粒细胞(× 400);(B)对照组喉头粘膜下血管周围未检见嗜酸性粒细胞(× 400);(C)实验组气管粘膜及粘膜下较多嗜酸性粒细胞(× 400);(D)对照组气管粘膜未检见嗜酸性粒细胞(× 400);(E)实验组肺泡腔扩张融合,肺泡壁变薄(× 200);(F)对照组肺泡间毛细血管扩张充盈(× 200);(G)实验组肺间质血管周围嗜酸性粒细胞浸润(× 400);(H)实验组肺间质气管粘膜呈花瓣样改变(× 200);(I)实验组胃粘膜固有层散在嗜酸性粒细胞浸润(× 400);(J)实验组肠粘膜层散在嗜酸性粒细胞浸润(× 400)

Note: (A) lots of eosinophils located in the larynx mucosa of experiment group, magnification × 400; (B) no eosinophils were found in larynx mucosa of control group, magnification × 400; (C) more eosinophils located in trachea mucosa of experiment group, magnification × 400; (D) no eosinophils were found in larynx mucosa of control group, magnification × 400; (E) alveolar ectasia, and alveolar septum was thinner in experiment group, magnification × 200; (F) alveolar septum capillaries congested in control group, magnification × 200; (G) eosinophils located in alveolar septum of experiment group, magnification × 400; (H) bronchia mucosa was petal-like in alveolar septum of experiment group, magnification × 200; (I) eosinophils located in stomach lamina propria mucosae of experiment group, magnification × 400; (J) eosinophils located in bowel mucosa of experiment group, magnification × 400

2.3 IgE 检测

实验组豚鼠 IgE 含量(264.94 ± 39.37) mg/L, 显著高于对照组豚鼠(103.57 ± 12.84) mg/L, 两者比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)(表 1)。实验组死亡豚鼠的 IgE 含量显著高于实验组未死豚鼠的 IgE 含量, 差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

表 1 实验组及对照组 IgE 含量结果($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Comparison of IgE between experimental group and control group($\bar{x} \pm s$)

Group	IgE(mg/L)
Experimental group	$264.94 \pm 39.37^*$
Control group	103.57 ± 12.84

注: * 实验组与对照组比较, $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with control group.

2.4 免疫组化染色

实验组胃促胰酶阳性肥大细胞主要位于肺间质小血管周围(图 2A)及喉头粘膜下层(图 2C)、气管粘膜(图 2D)。阳性细胞边界不清, 部分细胞内阳性颗粒较少。胃及肠组织未检见胃促胰酶阳性肥大细胞。对照组于气管粘膜下及肺泡间隔(图 2B)偶见阳性细胞, 形态完整。实验组和对照组在喉头、气管及肺组织的表达具有显著性差异($P < 0.05$)(表 2)。

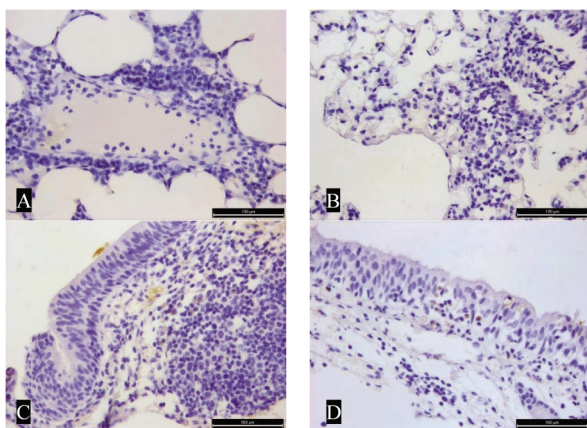


图 2 喉头、气管及肺的胃促胰酶免疫组化染色($\times 400$)

Fig. 2 Immunohistochemical staining of chymase in the larynx, trachea, lung ($\times 400$)

注: (A) 肺组织血管周围见较多胃促胰酶阳性肥大细胞; (B) 对照组肺间质偶见少量阳性肥大细胞; (C) 喉头粘膜下检见较多胃促胰酶阳性肥大细胞; (D) 气管粘膜检见较多胃促胰酶阳性肥大细胞。

Note: (A) more anti-chymase mast cells located in alveolar septum of experiment group; (B) less anti-chymase mast cells located in alveolar septum of control group; (C) more anti-chymase mast cells located in larynx mucosa of experiment group; (D) more anti-chymase mast cells located in trachea mucosa.

2.5 肥大细胞特殊染色

实验组肥大细胞边界不清, 周围散在紫红色的细颗粒, 主要位于肺间质血管周围(图 3C)。胃(图 3D)、肠粘膜下偶见肥大细胞, 喉头及气管粘膜下层(图 3A、B)血管周围间质部分肥大细胞脱颗粒不明显。对照组阳性细胞边界较清, 周围未见脱颗粒, 仅喉头、气管粘膜下血管周围间质及肺间质偶见肥大细胞。(表 3)

表 2 胃促胰酶阳性肥大细胞在各脏器的表达($\bar{x} \pm s$)

Table 2 The number of chymase-positive mast cells in different organs($\bar{x} \pm s$)

Organ	Experimental group (number)	Control group (number)
Larynx	$17 \pm 1.2^*$	0
Trachea	$13 \pm 2.2^*$	0.28 ± 0.08
Lung	$42 \pm 2.7^*$	0.6 ± 0.13
Stomach	0	0
Bowel	0	0

注: 实验组与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with control group.

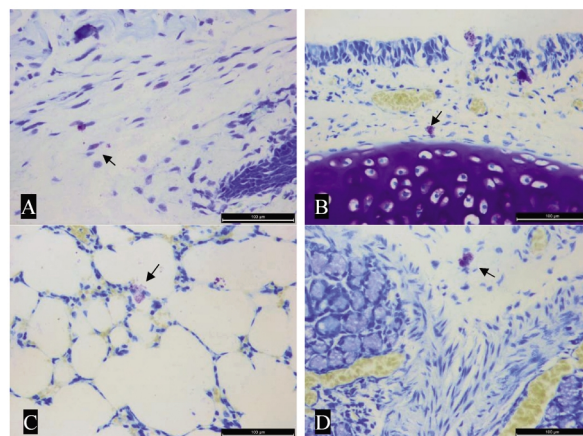


图 3 肥大细胞 - 甲苯胺蓝特殊染色($\times 400$)

Fig. 3 Toluidine blue staining of mast cells($\times 400$)

注: (A) 实验组喉头下检见肥大细胞; (B) 实验组气管粘膜下检见肥大细胞; (C) 实验组肺间质周围检见脱颗粒的肥大细胞; (D) 实验组胃组织检见少量肥大细胞。

Note: (A) mast cells located in larynx of experiment group; (B) mast cells located in trachea mucosa of experiment group; (C) degranulated mast cells located in alveolar septum of experiment group; (D) mast cells located in stomach of experiment group.

表 3 特殊染色 - 各脏器肥大细胞总数($\bar{x} \pm s$)

Table 3 The total number of mast cell in different organs by toluidine blue staining($\bar{x} \pm s$)

Organ	Experimental group (number)	Control group (number)
Larynx	$10 \pm 1.1^*$	0.4 ± 0.12
Trachea	$8 \pm 1.4^*$	0.4 ± 0.1
Lung	$20 \pm 3.5^*$	0.8 ± 0.15
Stomach	$1.6 \pm 0.5^*$	0
Bowel	0.4 ± 0.13	0

注: 实验组与对照组比较, * $P < 0.05$ 。

Note: * $P < 0.05$, compared with control group.

3 讨论

过敏性休克是一种以过敏原致敏, IgE 介导的 I 型变态反应, 它起病隐匿, 发病突然, 致死率高; 过敏原包括食物、蚊虫叮咬、药物等, 在我国, 不同于西方国家, 以抗生素类药物为主^[2]。

在西部重庆急死病例中,过敏性休克占 4.9%^[3]。法医学诊断上,过敏性休克因缺乏相应的特异性指标,而成为国内法医工作者长期研究的课题^[4-9]。

本研究预实验阶段按照传统的过敏动物模型^[10],出现(1)豚鼠过敏死亡成功率低,耗费豚鼠数量大;(2)因激发时需要心脏注射,在操作中心包积血发生率非常高;(3)周期长,从致敏到激发需要 3 周。因此本研究采用陈建立的过敏模型^[1],实验组过敏性休克发生率为 100%,死亡率为 70%。实验组无论从个体表现、解剖所见,还是血清学和病理学检查,均与过敏性休克的典型变化相符,并且将实验的周期缩短为 2 周。与陈不同之处在于(1)实验组豚鼠过敏性猝死的发生率为 70%,低于陈的研究;(2)激发浓度为 1:10,高于陈的 1:20(1:20 的浓度仅出现过敏症状,并不致死)。分析考虑激发时选择后足背静脉注射,血管极细,操作中难免部分混合血清扩散到周围组织间隙,直接导致进入血液循环的量出现不足。

在血清总 IgE 的结果上看,本研究结论跟既往的研究结论^[11]相同,实验组豚鼠的血清 IgE 含量显著高于对照组。实验发现过敏致死的血清 IgE 含量显著高于过敏未致死的,说明过敏强度越大,血清 IgE 含量越高。因各种因素(IgE 对热不稳定、半衰期短^[12]、死后溶血及凝血)的影响,IgE 在非过敏性休克死亡者血清中偶有异常升高的情况,使其在临案实践中的应用价值受到一定的限制^[13,14]。

胃促胰酶占肥大细胞总蛋白的 3%,合成后与肝蛋白多糖结合形成复合物存在于胞浆颗粒中。本研究发现实验组胃促胰酶阳性细胞主要表达于肺间质血管周围和喉头粘膜下层、气管粘膜,并观察发现部分阳性细胞胞浆颗粒较少,考虑系肥大细胞脱颗粒及自身蛋白含量低造成。

本研究在肥大细胞计数方面采用甲苯胺蓝特殊染色法^[15]。实验组在喉头及气管粘膜下、肺间质及胃肠粘膜下等发现胞浆紫红色的肥大细胞,肥大细胞脱颗粒以肺明显,在喉头、气管、肺及胃的肥大细胞计数上与对照组的比较有显著性差异。但在数量上低于免疫组化阳性细胞计数,分析原因考虑肥大细胞大量脱颗粒后不易着色,造成数量上低于免疫组化结果。因此,肥大细胞特殊染色只能作为辅助技术。

肥大细胞胞浆内包括 2 种特异性蛋白酶,分别是类胰蛋白酶(trypsin)、胃促胰酶。胃促胰酶在不同种属和不同肥大细胞分型的表达均不相同^[16],在人类,胃促胰酶只有 1 种,又叫 CMA1,仅表达于 MCTC 型肥大细胞中,其含有 2 种特异性蛋白酶,主要位于皮肤、肠粘膜下层和其他器官的结缔组织内^[17]。最近在人过敏性休克猝死的肺组织中发现仅含胃促胰酶的 C-MC^[18]。在豚鼠,胃促胰酶同样只有一种,基因序列与人的有 77%的相似性,并编码含有 337 个氨基酸的蛋白,其长度与人的一样,均属于 α -胃促胰酶^[19],这是本实验采用小鼠抗人胃促胰酶单克隆抗体的依据。本研究采用连续切片分别做免疫组化和特殊染色,阳性细胞表达位置不完全一致(比如在胃组织免疫组化未检出阳性细胞,而在特殊染色检出肥大细胞),考虑系特殊染色不能对肥大细胞进行亚型区分致表达位置的不对应。

另外,胃促胰酶在其他方面的检测也具有一定的优势。Hajime Nishio 通过血清学方法检出有过敏性反应患者的血清胃促胰酶非常高,其他死因致死的死者绝大部分无法检出,而且血清中的胃促胰酶的稳定性要优于 IgE,胃促胰酶在 30℃ 保存 5 天,60%的标本能保持初始活性,在反复冻融的情况下,其

浓度能保持 5 天^[20]。

本文在血清 IgE 检测、胃促胰酶免疫组化和肥大细胞计数三种方法的结果均证实实验组较对照组有统计学意义。将血清 IgE 检测和胃促胰酶免疫组化两种方法联合已有过研究^[12],本文在此基础上结合了肥大细胞特殊染色,使结论更可信,且三种方法易操作,希望对今后的过敏实际案例有一定的参考价值。

参考文献(References)

- [1] 陈炯垣,赖跃,李冬日. 混合人血清诱发豚鼠过敏反应死亡模型的改良[J]. 法医学杂志, 2012, 28(6): 408-412
Chen Jiong-yuan, Lai Yue, Li Dong-ri. The Improvement of Mixed Human Serum-induced Anaphylactic Reaction Death Model in Guinea Pigs[J]. Journal of Forensic Medicine, 2012, 28(6): 408-412
- [2] Shen Y, Li L, Grant J, et al. Anaphylactic deaths in Maryland (United States) and Shanghai (China): a review of forensic autopsy cases from 2004 to 2006[J]. Forensic Sci Int, 2009, 186: 1-5
- [3] 李剑波,唐仁宽,李永国. 316 例急死的法医学分析 [J]. 法律与医学杂志, 2005, 12(1): 45-47
Li Jian-bo, Tang Ren-kuan, Li Yong-guo. An analysis of 316 autopsy cases on sudden unexpected natural death [J]. Journal of Law And Medicine, 2005, 12(1): 45-47
- [4] 阳宇,罗斌,林俊莲,等. 过敏性休克法医学鉴定的研究进展[J]. 中国法医学杂志, 2009, 24 (2): 107-109
Yang Yu, Luo Bin, Lin Jun-lian, et al. Advancement on the diagnosis of anaphylactic shock in forensic medicine [J]. Chin J Forensic Med, 2009, 24 (2): 107-109
- [5] 杨凯,郭相杰,闫学斌,等. 前列腺素 D₂、羧肽酶 A3 和血小板活化因子在过敏性休克豚鼠体内含量变化[J]. 法医学杂志, 2012, 28(3): 175-178
Yang Kai, Guo Xiang-jie, Yan Xue-bin, et al. Changes of Prostaglandin D₂, Carboxypeptidase A3 and Platelet Activating Factor in Guinea Pig in Anaphylactic Shock [J]. Journal of Forensic Medicine, 2012, 28(3): 175-178
- [6] 景丽霞,郭相杰,靳茜茜,等. 过敏性休克大鼠嗜碱性粒细胞 CD63 的表达[J]. 法医学杂志, 2012, 28(3): 172-174
Jing Li-xia, Guo Xiang-jie, Jin Qian-qian, et al. Basophil CD63 Expression in the Blood of the Anaphylactic Shock Rat[J]. Journal of Forensic Medicine, 2012, 28(3): 172-174
- [7] 程红霞,李斌,高彩荣,等. P 物质在过敏性休克家兔胃肠道内的表达[J]. 中国法医学杂志, 2010, 25(4): 245-248
Cheng Hong-xia, Li Bin, Gao Cai-rong, et al. The expression of substance P in gastrointestinal tract in rabbits with anaphylactic shock [J]. Chin J Forensic Med, 2010, 25(4): 245-248
- [8] 李倩楠,熊兴良,邢扬,等. SPR 生物传感器检测过敏致死动物血清类胰蛋白酶[J]. 传感器与微系统, 2013, 32(9): 39-41
Li Qian-nan, Xiong Xing-liang, Xing Yang, et al. SPR biosensor detection for serum trypsin in animal of anaphylactic shock [J]. Transducer and Microsystem Technologies, 2013, 32(9): 39-41
- [9] 李晓洁,郭相杰,高彩荣,等. 血管细胞粘附分子-1 在过敏性休克大鼠器官中的表达[J]. 法医学杂志, 2011, 27 (2): 87-90
Li Xiao-jie, Guo Xiang-jie, Gao Cai-rong, et al. The Expression of VCAM-1 in Organs of Rats Died of Anaphylactic Shock [J]. Journal of Forensic Medicine, 2011, 27 (2): 87-90
- [10] 任广睦,白吉伟,高彩荣,等. 混合人血清诱发豚鼠过敏性休克致死模型的建立[J]. 法医学杂志, 2005, 21(3): 169-170

- Ren Guang-mu, Bai Ji-wei, Gao Cai-rong, et al. Lethal Anaphylactic Shock model Induced by Human Mixed Serum in Guinea Pigs[J]. Journal of Forensic Medicine, 2005, 21(3):169-170
- [11] 王昌亮, 张国华, 吴旭, 等. 豚鼠过敏性休克肺组织中类胰蛋白酶和胃促胰酶的表达[J]. 中国法医学杂志, 2010, 25(4): 236-239
- Wang Chang-liang, Zhang Guo-hua, Wu Xu, et al. An immunohistochemical study of tryptase and chymase in the lungs of guinea pigs died of anaphylactic shock[J]. Chin J Forensic Med, 2010, 25(4): 236-239
- [12] 龚非力. 医学免疫学[M]. 北京: 科学出版社, 2009:32-33
- Gong Fei-li. Medical Immunology [M]. Beijing: Science Press, 2009: 32-33
- [13] 王红杰, 宋纬平, 阳宇, 等. 血清总 IgE、类胰蛋白酶和类糜蛋白酶在药物过敏性休克死亡鉴定中的应用 [J]. 法医学杂志, 2012, 28(3): 167-171
- Wang Hong-jie, Song Wei-ping, Yang Yu, et al. Application of Serum Total IgE, Tryptase and Chymase in the Identification of Death Caused by Drug Anaphylactic Shock [J]. Journal of Forensic Medicine, 2012, 28(3): 167-171
- [14] 杨旭, 刘艳. 过敏性休克鉴定研究进展 [J]. 华南国防医学杂志, 2011, 25(6): 552-554
- Yang Xu, Liu Yan. The Progress on Identification of Anaphylactic Shock[J]. Mil Med J S Chin, 2011, 25(6): 552-554
- [15] 王伯云, 李玉松, 黄高昇, 等. 病理学技术[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2000: 171-172
- Wang Bo-yun, Li Yu-song, Huang Gao-sheng, et al. Pathology Technology [M]. Beijing: People's Health Publishing House, 2000: 171-172
- [16] Caughey GH. Mast cell tryptases and chymases in inflammation and host defense[J]. Immunol Rev, 2007, 217: 141-154
- [17] Krishnaswamy G, David S Chi. Mast cells: methods and protocols [M]. New York: Humana Press, 2006:13-34
- [18] Perskvist N, Edston E. Differential accumulation of pulmonary and cardiac mast cell-subsets and eosinophils between fatal anaphylaxis and asthma death: A postmortem comparative study [J]. Forensic Sci Int, 2007, 169(1): 43-49
- [19] Caughey GH, Beauchamp J, Schlatter D, et al. Guinea pig chymase is leucine-specific: a novel example of functional plasticity in the chymase/granzyme family of serine peptidases[J]. J Biol Chem, 2008, 283(20): 13943-13951
- [20] Nishio H, Takai S, Miyazaki M, et al. Usefulness of serum mast cell-specific chymase levels for postmortem diagnosis of anaphylaxis [J]. Int J Legal Med, 2005, 119(6):331-334

(上接第 3222 页)

- [6] Evans DM, Zhu G, Dy V, et al. Genome-wide association study identifies loci affecting blood copper, selenium and zinc[J]. Hum Mol Genet, 2013, 22(19): 3998-4006
- [7] Petricevich VL, Lebrun I. Immunomodulatory effects of the Tityus serrulatus venom on murine macrophage functions in vitro [J]. Mediators Inflamm, 2005, 2005(1): 39-49
- [8] Arsnoe DM, Ip HS, Owen JC. Influence of body condition on influenza A virus infection in mallard ducks: experimental infection data[J]. PLoS One, 2011, 6(8): e22633
- [9] Baum MK, Miguez-Burbano MJ, Campa A, et al. Selenium and interleukins in persons infected with human immunodeficiency virus type 1[J]. J Infect Dis, 2000, 182(1): S69-73
- [10] 程建中, 杨萍, 桂仁意. 植物硒形态分析的研究综述 [J]. 浙江农林大学学报, 2012, 29(2): 288-395
- Cheng Jian-zhong, Yang Ping, Gui Ren-yi. Research progress on speciation of selenium compounds in plants[J]. Journal of Zhejiang A & F University, 2012, 29(2): 288-395
- [11] Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, et al. Selenium in human health and disease[J]. Antioxid Redox Signal, 2011, 14(7): 1337-1383
- [12] Sanmartin C, Plano D, Font M, et al. Selenium and clinical trials: new therapeutic evidence for multiple diseases [J]. Curr Med Chem, 2011, 18(30): 4635-4650
- [13] Reeves MA, Hoffmann PR. The human selenoproteome: recent insights into functions and regulation [J]. Cell Mol Life Sci, 2009, 66(15): 2457-2478
- [14] Moreno-Reyes R, Egrise D, Nève J, et al. Selenium deficiency-induced growth retardation is associated with an impaired bone metabolism and osteopenia [J]. J Bone Miner Res, 2001, 16(8): 1556-1563
- [15] Duntas LH. Selenium and inflammation: underlying anti-inflammatory mechanisms[J]. Horm Metab Res, 2009, 41(6): 443-447
- [16] Seo SH, Webster RG. Tumor necrosis factor alpha exerts powerful anti-influenza virus effects in lung epithelial cells[J]. J Virol, 2002, 76(3): 1071-1076
- [17] Jaspers I, Zhang W, Brighton LE, et al. Selenium deficiency alters epithelial cell morphology and responses to influenza [J]. Free Radic Biol Med, 2007, 42(12): 1826-1837
- [18] Ravaglia G, Forti P, Maioli F, et al. Effect of micronutrient status on natural killer cell immune function in healthy free-living subjects aged ≥ 90 y[J]. Am J Clin Nutr, 2000, 71(2): 588-590
- [19] Look MP, Rockstroh JK, Rao GS, et al. Serum selenium versus lymphocyte subsets and markers of disease progression and inflammatory response in human immunodeficiency virus-1 infection [J]. Biol Trace Elem Res, 1997, 56(1): 31-41
- [20] Hoffmann PR, Berry MJ. The influence of selenium on immune responses[J]. Mol Nutr Food Res, 2008, 52(11): 1273-1280