

文章编号 1006-8147(2018)06-0562-04

综述

组蛋白 H3K4 甲基转移酶 KMT2D 研究进展

阎晗,于明航 综述,尹洁,王玺 审校

(天津医科大学细胞生物学系,天津 300070)

摘要 组蛋白-赖氨酸 N-甲基转移酶 2D(KMT2D),属于哺乳动物 H3K4 甲基转移酶家族成员,在成人组织中广泛表达,对于早期胚胎发育有重要作用。C-末端的 SET 区域负责组蛋白 H3K4 甲基化,维持 KMT2D 蛋白的稳定性。KMT2D 与 WRAD、NCOA6、PTIP、PA1 和 H3K27 去甲基化酶 UTX 组成复合物,在其中起到支架蛋白的作用,维持 UTX 的稳定性。KMT2D 主要催化哺乳动物 H3K4 单甲基化,与转录因子共同作用于增强子区域,从而调控基因表达。KMT2D 在调节细胞发育、分化、新陈代谢和肿瘤抑制方面具有重要作用,其突变导致多种疾病发生。进一步研究 KMT2D 有助于揭示其异常所引发多种疾病的病因,并且对开发临床药物提供有力的帮助。

关键词 KMT2D;H3K4 甲基转移酶;H3K4 甲基化;增强子;表观遗传调控

中图分类号 Q7

文献标志码 A

表观遗传学在调控基因表达上扮演重要角色。组蛋白 H3K4 的甲基化是细胞修饰启动子和增强子的 1 种方法。组蛋白 H3K4 的三甲基化(H3K4me3)主要聚集在转录活跃的启动子区域,而一/二甲甲基化(H3K4me1,H3K4me2)则主要集中在增强子区域^[1]。酵母菌中,Set1 复合物中的催化亚基 SET1,具有组蛋白 H3K4 的甲基转移酶活性,参与组蛋白 H3K4 的 me1,me2,me3 的修饰^[2-3]。在果蝇中,dSet1、Trx 和 Trx 是已知的 3 种 Set1 样组蛋白 H3K4 甲基转移酶。哺乳动物体内存在 6 种 Set1 样 H3K4 甲基转移酶,分别是 KMT2A(MLL1)、KMT2B(MLL2)、KMT2C(MLL3)、KMT2D(MLL4、ALR、MLL2)、KMT2F(SET1A)和 KMT2G(SET1B)。KMT2D 对于基因调控起到重要作用,其突变导致多种发育疾病和肿瘤的发生。本文对哺乳动物中最主要的 H3K4 单甲基化转移酶-KMT2D 进行探讨,以期探究疾病治疗的新方法提供思路。

1 KMT2D 蛋白

如图 1 所示,KMT2D 蛋白的结构包括 N-末端的两组植物同源结构域 (PHD)(每组包含 3 个 PHD),C-末端的 SET 结构域负责组蛋白 H3K4 的甲基化^[3]。体外实验表明,第 2 组 PHD(PHD4-6)识别核小体的 H4 尾巴,对于 KMT2D-催化组蛋白甲基化起决定作用^[4]。SET 结构域的突变和缺失导致 KMT2D 蛋白的不稳定,表明 SET 区域不仅具有酶

催化活性,并且对于维持蛋白稳定性至关重要^[5-6]。在 SET 结构域上游是一个 PHD 区域和富含苯丙氨酸和酪氨酸(FY-rich)N/C-末端(FYRN 和 FYRC)区域。此外,还包含一个高速泳动族非组蛋白(HMG-1)和九个核受体相互作用基序(LXXLLs)^[7]。体外实验表明,氨基酸 Y5426 和 Y5512 对于人 KMT2D 的酶活性起决定性作用^[6]。人胚胎干细胞(ESCs)中 KMT2D 的 Y5426 突变后,KMT2D 会失去酶活性,但并不影响 KMT2D 蛋白的稳定性^[5]。

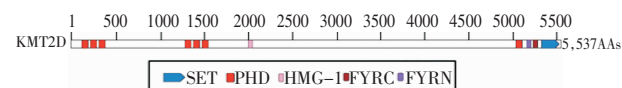


图1 人类组蛋白 H3K4 甲基转移酶 KMT2D 蛋白

2 KMT2D 蛋白复合物

KMT2D 是首次在 Hela 细胞核提取物一个蛋白复合体中分离纯化出来的。对 Pax 反式激活结构域作用蛋白(PTIP,一种与组蛋白 H3K4 甲基转移酶类相关的蛋白)相互作用蛋白的亲纯化研究表明,PTIP 除了与 DNA 损伤应答有关的蛋白质相互作用外,还与 ASH2L、RbBP5、WDR5、DPY30、NCOA6、UTX(KDM6A)、PA1、KMT2C 和 KMT2D 有关联^[8](图 2)。纯化的 KMT2C 和 KMT2D 表现出强 H3K4 甲基转移酶活性^[9]。WDR5、RbBP5、ASH2L 和 DPY30 形成 4 个亚基的子复合物 WRAD,此复合物对于所有哺乳动物中 Set 样组蛋白甲基转移酶复合物的酶活性起关键作用^[10]。WDR5 直接与 KMT2C 和 KMT2D 的 C-末端 FYRN/FYRC 区域结合^[8]。PTIP 和 PA1 是 KMT2C 和 KMT2D 复合物中独特的亚基,除此之外还包含一个特殊的亚基 UTX,它介导组蛋白 H3K27 的去甲基化^[11]。缺失 KMT2D 将导致细胞中 KMT2D

基金项目 国家重点基础研究发展计划基金资助项目(2014CB910100);国家自然科学基金资助项目(31600705);国家自然科学基金资助项目(31600693)

作者简介 阎晗(1989-),女,助理实验师,硕士,研究方向:肿瘤免疫;通信作者:王玺,E-mail:wangxi@tmu.edu.cn。

复合物的解体和 UTX 的不稳定。

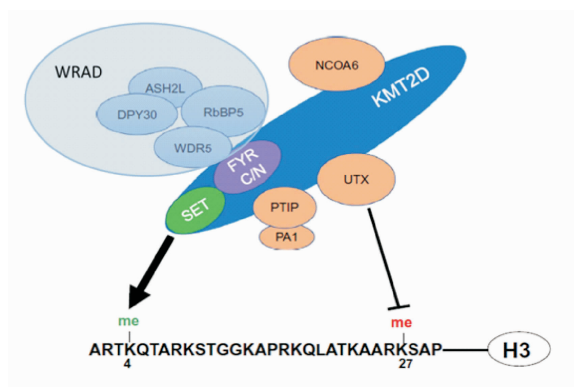


图2 KMT2D 蛋白复合物

3 KMT2D 主要催化组蛋白 H3K4 一甲基化

增强子是顺式作用元件,常与细胞型特异转录因子(TFs)结合,在真核细胞中对于特异基因的表达至关重要^[12]。研究表明,KMT2D 主要是通过其酶活性对细胞增强子区域进行 H3K4—甲基化修饰,与 KMT2C 有功能冗余^[13]。Lee 等^[13]运用 ChIP-Seq 研究,表明 KMT2D 在不同的细胞类型和分化水平,选择性的结合在特异增强子区域。在细胞分化期间,转录因子(TFs)募集 KMT2D 与特异增强子结合。在未分化的 KMT2C 敲除细胞中,KMT2D 基因缺失引起 H3K4me1/2 和 H3K27 乙酰化水平降低,转录辅助因子和 RNA 聚合酶 II 结合增强子的能力减弱,导致基因表达和细胞分化受阻。此外,KMT2D 还识别超级增强子。在细胞分化过程中 KMT2C 和 KMT2D 对于超级增强子的形成是必须的^[14]。

KMT2C 和 KMT2D 对于 H3K27 乙酰转移酶 CREB—结合蛋白(CBP)和/或 p300 与增强子区域的结合、激活增强子、增强子—启动子成环、活化启动子,这一系列生物学过程是必须的^[14-15]。由于乙酰化和甲基化往往是互相排斥的,可以推论,KMT2C 和 KMT2D 复合物中的 UTX 亚基催化组蛋白脱甲基形成一个 H3K27 位点后,CBP 和/或 p300 对 H3K27 位点乙酰化 (H3K27ac)。但是,研究表明 UTX 的 H3K27 脱甲基酶活性对于增强子活化和细胞特异基因表达是非必须的,其功能主要是与 KMT2C 和 KMT2D 形成复合物后作用于增强子^[16]。

H3K4me1、H3K27ac 是活化的增强子的标志^[1],基于此论断,提出 KMT2D 与增强子作用的三步式模型,如图 3 所示,过氧化物酶体增殖物活化受体- γ (*Ppar- γ*)的增强子活化过程。(1)转录因子,如 C/EBP β ,与增强子区域结合。(2)C/EBP β 和特异转录因子,如 PPAR γ 和 C/EBP α ,共同募集 KMT2D 与增强子区域结合,催化 H3K4—甲基化。(3)KMT2D

促进 CBP 和/或 p300 的结合,活化增强子区域,使其标记乙酰化 H3K27。转录因子和乙酰化的 H3K27 可募集 bromodomain 结构域结合蛋白 4(BRD4),进而招募 RNA 聚合酶 II,从而活化特异基因表达。

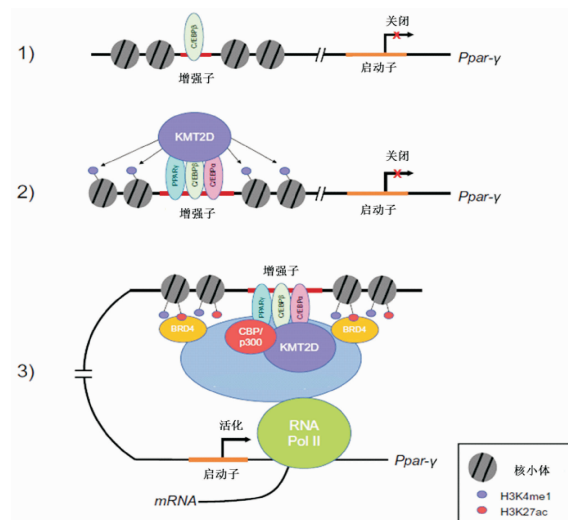


图3 KMT2D 调控 *Ppar- γ* 增强子,诱导特异基因表达的三步式模型

4 KMT2D 在细胞发育、分化、新陈代谢和肿瘤抑制方面的作用

KMT2D 在哺乳动物细胞中参与许多生命活动的进程,如发育、分化、新陈代谢和肿瘤抑制。其主要功能是通过激活增强子从而调控基因的表达。

4.1 发育和分化 *Kmt2d* 基因敲除的小鼠呈现出 E9.5(胚胎第 9.5 d)胚胎致死^[13]。运用 *Myf5* 启动子驱动的 Cre 转基因小鼠,特异敲除肌肉和褐色脂肪前体细胞中的 *Kmt2d* 基因,导致褐色脂肪组织和肌肉质量的显著下降,说明 KMT2D 在肌肉和脂肪组织发育中起重要作用^[13]。特异敲除心脏前体细胞和心肌细胞中的 *Kmt2d* 基因导致严重的心脏缺陷和胚胎致死^[17]。心脏发育进程中,KMT2D 介导的 H3K4me1/2 在特异基因表达中有重要作用^[17]。在 B 细胞发育过程中,KMT2D 也扮演重要角色^[18]。此外,KMT2D 调控神经元和成骨细胞分化过程中特异基因的表达^[4,19]。研究发现,KMT2D 对于细胞命运转变有重要作用,但对于胚胎干细胞和成体细胞的维持是非必须的^[15]。

4.2 新陈代谢 在肝脏中,KMT2D 与 KMT2C 也存在功能冗余,二者在多种新陈代谢过程中发挥显著作用。*Kmt2d*^{-/-}杂合小鼠,表现出糖耐受性、胰岛素敏感性的增强,其血清胆汁酸水平升高^[20]。Kim 等^[20]运用 RNA-Seq 分析发现,KMT2D 和 KMT2C 对于肝脏生理节奏的表观遗传调控至关重要,作为生理节律转录因子视黄酸—相关孤儿核受体(ROR)- α 和- γ 的转录辅助因子发挥重要作用。该课题组实验表

明 *Kmt2d*^{-/-}小鼠表现出对高脂饮食诱导的肝脂肪变性的抵抗性^[21]。

4.3 肿瘤抑制 大量研究表明,KMT2C 和 KMT2D 具有肿瘤抑制作用。相关实验表明,NCOA6 和 KMT2C 或 KMT2D 作为抑癌基因 p53 转录辅助因子,是在 DNA 损伤药物阿霉素作用细胞后,内源性 p53 基因表达所必须的^[22]。小鼠体内研究表明,KMT2C 和 KMT2D 在急性髓系白血病、滤泡性淋巴瘤和弥漫大 B 细胞淋巴瘤中起到抑制肿瘤的作用^[23-24]。Chen 等^[23]运用 RNAi 和 CRISPR/Cas9 技术,研究发现 KMT2C 基因表达水平低于大约 50%会诱发白血病。Zhang 等^[24]在 *Kmt2d* 敲除的小鼠中,过表达致癌基因 *Bcl2*,导致生发中心来源的 B 细胞淋巴瘤的发生率上升。Ortega-Molina 等^[18]研究表明,敲除小鼠 B 细胞中的 *Kmt2d*,会影响抑癌基因 *TNFAIP3*, *SOCS3* 和 *TNFRSF14* 的表达,并进一步诱发淋巴瘤。

另一方面,有研究发现,在乳腺癌和结肠癌中,KMT2D 缺失会降低癌细胞增殖率^[25-26]。此外,在雌激素受体阳性的乳腺癌细胞中,KMT2D 活性升高会促进染色质解螺旋招募转录因子,如雌激素受体(ER)。在 MCF7 细胞中,AKT 结合并磷酸化 KMT2D,使其甲基转移酶活性和 ER α 活性降低^[27]。研究发现,加入 PI3K 抑制剂使 AKT 失活,导致雌激素受体目的基因表达上调,会降低乳腺癌药物的治疗效果^[27]。研究表明 KMT2D 在不同细胞类型中具有多种功能,这可能取决于基因活化过程中 KMT2D 招募的特殊的转录因子结合基因组的特异位点。

5 KMT2D 突变导致发育疾病和肿瘤发生

已证明 *KMT2D* 基因突变是引发 Kabuki 综合征最常见的原因。序列分析结果显示,Kabuki 综合征患者中,*KMT2D* 基因突变率高达 56%~75%^[28]。此外,先天性心脏病患者表现出大量的调节 H3K4 甲基化水平的基因的突变,其中包括 *KMT2D* 基因^[29]。Ang 等^[17]发现,敲除小鼠 *Kmt2d* 基因将导致心脏发育缺陷。

KMT2D 基因作为最常见的突变基因之一出现在多种癌症中^[30]。研究发现,在恶性肿瘤中,*KMT2D* 基因的 SET 和 PHD 区域的突变,其中 37%是移码突变,60%是无义突变^[7]。*KMT2D* 基因突变导致多种组织发生癌变^[7],如成神经管细胞瘤^[31]、嗜铬细胞瘤^[32]、非霍奇金淋巴瘤^[33]、弥漫性大 B 细胞淋巴瘤^[34]、食管鳞状细胞癌^[35]、胰腺癌^[36]、前列腺癌^[37]。经过对 *KMT2D* 分子在疾病发生发展中作用的不断研究,已研发出其相应抑制剂,这可能为疾病的治疗提供新的手段^[7]。

参考文献:

- [1] Calo E, Wysocka J. Modification of enhancer chromatin: what, how, and why? [J]. Mol Cell, 2013, 49(5): 825
- [2] Roguev A, Schaft D, Shevchenko A, et al. The *Saccharomyces cerevisiae* set1 complex includes an Ash2 homologue and methylates histone 3 lysine 4 [J]. EMBO J, 2001, 20(24): 7137
- [3] Ruthenburg A J, Allis C D, Wysocka J. Methylation of lysine 4 on histone H3: intricacy of writing and reading a single epigenetic mark [J]. Mol Cell, 2007, 25(1): 15
- [4] Dhar S S, Lee S H, Kan P Y, et al. Trans-tail regulation of MLL4-catalyzed H3K4 methylation by H4R3 symmetric dimethylation is mediated by a tandem PHD of MLL4 [J]. Gene Dev, 2012, 26(24): 2749
- [5] Dorighi K M, Swigut T, Henriques T, et al. Mll3 and Mll4 Facilitate Enhancer RNA Synthesis and Transcription from Promoters Independently of H3K4 Monomethylation [J]. Mol Cell, 2017, 66(4): 568
- [6] Jang Y, Wang C, Zhuang L, et al. H3K4 Methyltransferase Activity Is Required for MLL4 Protein Stability [J]. J Mol Biol, 2017, 429(13): 2046
- [7] Rao R C, Dou Y. Hijacked in cancer: the KMT2 (MLL) family of methyltransferases [J]. Nat Rev Cancer, 2015, 15(6): 334
- [8] Cho Y W, Hong T, Hong S, et al. PTIP associates with MLL3- and MLL4-containing histone H3 lysine 4 methyltransferase complex [J]. J Biol Chem, 2007, 282(28): 20395
- [9] Lee M G, Villa R, Trojer P, et al. Demethylation of H3K27 regulates polycomb recruitment and H2A ubiquitination [J]. Science, 2007, 318(5849): 447
- [10] Erns T P, Vakoc C R. WRAD: enabler of the SET1-family of H3K4 methyltransferases [J]. Brief Funct Genomics, 2012, 11(3): 217
- [11] Cho Y W, Hong S, Ge K. Affinity purification of MLL3/MLL4 histone H3K4 methyltransferase complex [J]. Methods Mol Biol, 2012, 809: 465
- [12] Bulger M, Groudine M. Functional and mechanistic diversity of distal transcription enhancers [J]. Cell, 2011, 144(3): 327
- [13] Lee J E, Wang C, Xu S, et al. H3K4 mono- and di-methyltransferase MLL4 is required for enhancer activation during cell differentiation [J]. Elife, 2013, 2: e01503
- [14] Lai B, Lee J E, Jang Y, et al. MLL3/MLL4 are required for CBP/p300 binding on enhancers and super-enhancer formation in brown adipogenesis [J]. Nucleic Acids Res, 2017, 45(11): 6388
- [15] Wang C, Lee J E, Lai B, et al. Enhancer priming by H3K4 methyltransferase MLL4 controls cell fate transition [J]. P Natl Acad Sci USA, 2016, 113(42): 11871
- [16] Faralli H, Wang C, Nakka K, et al. UTX demethylase activity is required for satellite cell-mediated muscle regeneration [J]. J Clin Invest, 2016, 126(4): 1555
- [17] Ang S Y, Uebbersohm A, Spencer C I, et al. KMT2D regulates specific programs in heart development via histone H3 lysine 4 dimethylation [J]. Development, 2016, 143(5): 810
- [18] Ortega-molina A, Boss I W, Canfla A, et al. The histone lysine methyltransferase KMT2D sustains a gene expression program that represses B cell lymphoma development [J]. Nat Med, 2015, 21(10): 1187

- 1199
- [19] Munehira Y, Yang Z, Gozani O. Systematic analysis of known and candidate lysine demethylases in the regulation of myoblast differentiation [J]. *J Mol Biol*, 2017, 429(13): 2055
- [20] Kim D H, Rhee J C, Yeo S, et al. Crucial roles of mixed-lineage leukemia 3 and 4 as epigenetic switches of the hepatic circadian clock controlling bile acid homeostasis in mice [J]. *Hepatology*, 2015, 61(3): 1012
- [21] Kim D H, Kim J, Kwon J S, et al. Critical roles of the histone methyltransferase MLL4/KMT2D in murine hepatic steatosis directed by ABL1 and PPARgamma2 [J]. *Cell Rep*, 2016, 17(6): 1671v
- [22] Lee J, Kim D H, Lee S, et al. A tumor suppressive coactivator complex of p53 containing ASC-2 and histone H3-lysine-4 methyltransferase MLL3 or its paralogue MLL4 [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2009, 106(21): 8513b
- [23] Chen C, Liu Y, Rappaport A R, et al. MLL3 is a haploinsufficient 7q tumor suppressor in acute myeloid leukemia [J]. *Cancer Cell*, 2014, 25(5): 652
- [24] Zhang J, Dominguez-sola D, Hussein S, et al. Disruption of KMT2D perturbs germinal center B cell development and promotes lymphomagenesis [J]. *Nat Med*, 2015, 21(10): 1190
- [25] Guo C, Chen L H, Huang Y, et al. KMT2D maintains neoplastic cell proliferation and global histone H3 lysine 4 monomethylation [J]. *Oncotarget*, 2013, 4(11): 2144
- [26] Kim J H, Sharma A, Dhar S S, et al. UTX and MLL4 coordinately regulate transcriptional programs for cell proliferation and invasiveness in breast cancer cells [J]. *Cancer Res*, 2014, 74(6): 1705
- [27] Toska E, Osmabayoglu H U, Castel P, et al. PI3K pathway regulates ER-dependent transcription in breast cancer through the epigenetic regulator KMT2D [J]. *Science*, 2017, 355(6331): 1324
- [28] Bogershausen N, Wollnik B. Unmasking Kabuki syndrome [J]. *Clin Genet*, 2013, 83(3): 201
- [29] Zaidl S, Choi M, Wakimoto H, et al. De novo mutations in histone-modifying genes in congenital heart disease [J]. *Nature*, 2013, 498(7453): 220
- [30] Lawrence M S, Stojanov P, Mermel C H, et al. Discovery and saturation analysis of cancer genes across 21 tumour types [J]. *Nature*, 2014, 505(7484): 495
- [31] Jones D T, Jager N, Kool M, et al. Dissecting the genomic complexity underlying medulloblastoma [J]. *Nature*, 2012, 488(7409): 100
- [32] Juhlin C C, Stenman A, Haglund F, et al. Whole-exome sequencing defines the mutational landscape of pheochromocytoma and identifies KMT2D as a recurrently mutated gene [J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2015, 54(9): 542
- [33] Morin R D, Mendez-Lago M, Mungall A J, et al. Frequent mutation of histone-modifying genes in non-Hodgkin lymphoma [J]. *Nature*, 2011, 476(7360): 298
- [34] Lohr J G, Stojanov P, Lawrence M S, et al. Discovery and prioritization of somatic mutations in diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) by whole-exome sequencing [J]. *P Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(10): 3879
- [35] Gao Y B, Chen Z L, Li J G, et al. Genetic landscape of esophageal squamous cell carcinoma [J]. *Nat Genet*, 2014, 46(10): 1097
- [36] Sausen M, Phallen J, Adleff V, et al. Clinical implications of genomic alterations in the tumour and circulation of pancreatic cancer patients [J]. *Nat Commun*, 2015, 6: 7686
- [37] Grasso C S, Wu Y M, Robinson D R, et al. The mutational landscape of lethal castration-resistant prostate cancer [J]. *Nature*, 2012, 487(7406): 239

(2018-01-23 收稿)

(上接第 561 页)

冲击、 γ 射线辐照血小板^[20]等治疗,但疗效及安全性有待临床检验。

参考文献:

- [1] Thorsen K, Ringdal K G, Strand K, et al. Clinical and cellular effects of hypothermia, acidosis and coagulopathy in major injury [J]. *Br J Surg*, 2011, 98: 894
- [2] MacLeod J B, Winkler A M, McCoy C C, et al. Early trauma induced coagulopathy (ETIC): prevalence across the injury spectrum [J]. *Injury*, 2014, 45: 910
- [3] Brohi K, Cohen M J, Ganter M T, et al. Acute coagulopathy of trauma: hypoperfusion induces systemic anticoagulation and hyperfibrinolysis [J]. *J Trauma*, 2008, 64(5): 1211
- [4] Brenner M, Stein D M, Hu P F, et al. Traditional systolic blood pressure targets underestimate hypotension-induced secondary brain injury [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 72(5): 1135
- [5] 黄坚, 黄盛, 钟媛. 丙种球蛋白治疗特发性血小板减少性紫癜合并血小板无效输注 18 例分析 [J]. *当代医学*, 2013, 19(10): 136
- [6] 刘厚强, 李娥成, 刘丽, 等. 老年特发性血小板减少性紫癜 16 例临床分析 [J]. *中国厂矿医学*, 2002, 15(5): 397
- [7] 姚乃中, 周霭祥, 柯微君, 等. 免疫性血小板减少性紫癜的诊治 [J]. *中国中西医结合杂志*, 1992(5): 304
- [8] Legler T J, Fischer I, Dittmann J, et al. Frequency and causes of refractoriness in multiply transfused patients [J]. *Ann Hematol*, 1997, 74: 185
- [9] 杨润霞, 胡兆坤. 血小板输注无效的影响因素分析 [J]. *现代中西医结合杂志*, 2004(14): 1857
- [10] Vassallo R R. Recognition and management of antibodies to human platelet antigens in platelet transfusion-refractory patients [J]. *Immunohematology*, 2009, 25(3): 119
- [11] 徐国莉, 马莉娜. 对血小板输注无效其非免疫因素的探讨 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2008, 18(12): 2805
- [12] Petz L D, Garratty G, Calhoun L, et al. Selecting donors of platelets for refractory patients on the basis of HLA antibody specificity [J]. *Transfusion*, 2010, 40(12): 1446
- [13] Alcorta I, Pereira A, Ordinas A. Clinical and laboratory factors associated with platelet transfusion refractoriness: a case-control study [J]. *Br J Haematol*, 1996, 93(1): 220
- [14] Gawaz M, Dickfeld T, Bogner C, et al. Platelet function in septic multiple organ dysfunction syndrome [J]. *Intensive Care Med*, 1997, 23(4): 379
- [15] 王雪明, 邱骏, 卢艳, 等. 机采浓缩血小板质量及输注疗效的初探 [J]. *临床检验杂志*, 2002, 20(1): 56
- [16] George J N, Raskob G E, Shah S R, et al. Drug-induced thrombocytopenia: a systematic review of published case reports [J]. *Ann Intern Med*, 1998, 129(11): 886
- [17] Mcgrath K, Wolf M, Bishop J, et al. Transient platelet and HLA antibody formation in multitransfused patients with malignancy [J]. *Br J Haematol*, 1988, 68(3): 345
- [18] Sayeh E, Sterling K, Speck E, et al. IgG antiplatelet immunity is dependent on an early innate natural killer cell-derived interferon-gamma response that is regulated by CD8+ T cells [J]. *Blood*, 2004, 103(7): 2705
- [19] 杨尊鲜, 唐万兵. 单采血小板输注无效 18 例临床观察 [J]. *中国医药导报*, 2010, 7(2): 28
- [20] 马金, 杨和. 血小板输注无效的病因和对策 [J]. *中国输血杂志*, 2012, 25(9): 906

(2018-04-19 收稿)