

## 儿童特发性血小板减少性紫癜淋巴细胞亚群和血小板相关抗体的检测意义

冯燕玲<sup>1</sup> 胡涛<sup>2</sup> 鲁杰<sup>3</sup> 王芳<sup>3</sup> 师晓东<sup>2\*</sup>

儿童特发性血小板减少性紫癜(ITP)是一种临床常见的儿童出血性疾病,其发生和发展与免疫功能紊乱相关。我们于2007年1~12月采用流式细胞术检测ITP患儿外周血淋巴细胞亚群水平,采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血小板相关抗体(PA-Ig),以了解ITP患儿机体免疫紊乱状态,探讨儿童ITP的免疫发病机制,报告如下。

### 对象与方法

1. 一般资料:本组50例,男30例,女20例;年龄1个月~14岁,平均4.55岁,均为我院住院确诊的初发病患儿,全部病例诊断符合《血液病诊断及疗效标准》<sup>[1]</sup>。选取我院保健科门诊体检儿童50例作为对照,对照组年龄、性别与实验组具有可比性。

### 2. 方法

(1)淋巴细胞亚群检测:淋巴细胞免疫表型采用双色免疫荧光法,按照美国临床实验室标准化委员会(NCCLS)推荐方法<sup>[2]</sup>完成。EDTAK3真空采血管分别采集2ml ITP患儿和健康儿童抗凝静脉血,标本在6h内完成染色实验。荧光抗体为Simultest IMK-淋巴细胞亚群试剂盒(美国Becton Dickinson公司)。每份标本均同时做CD<sub>45</sub>/IgG<sub>1</sub>/IgG<sub>2a</sub>、CD<sub>3</sub>/CD<sub>19</sub>、CD<sub>3</sub>/CD<sub>4</sub>、CD<sub>3</sub>/CD<sub>8</sub>、CD<sub>16</sub>/56支反应管。

(2)血小板相关抗体(PA-Ig)测定:ELISA法检测PA-IgA、PA-IgG、PA-IgM,试剂盒为上海太阳生物技术公司产品。特殊抗凝采血管采静脉血,标本测试均按试剂说明书要求操作。血小板相关抗体正常值为,PA-IgA < 22ng/10<sup>7</sup>PA, PA-IgG < 108ng/10<sup>7</sup>PA, PA-IgM < 40ng/10<sup>7</sup>PA, 高于正常值为抗体阳性,分别计算各组PA-Ig,对不同组进行比较。

3. 统计学方法:应用SPSS11.5统计软件,PA-Ig数据为非正态分布资料,以中位数及百分位数表示;淋巴细胞CD分型以 $\bar{x} \pm s$ 表示。采用秩和检验进行组间比较。

### 结果

1. PA-Ig检测结果:ITP患儿PA-Ig总阳性率为52%(26/50),抗体单项阳性率为35%(17/50),2项或3项阳性率为18%(9/50),抗体水平显著高于对照组( $P < 0.05$ ),对照组未见抗体阳性(表1)。7例ITP患儿在治疗后血小板恢复正常时复查PA-Ig,PA-IgG治疗前后比较有显著性差异(表2)。

2. 淋巴细胞亚群水平检测结果:ITP患儿外周血CD<sub>3</sub>、CD<sub>4</sub>和CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub>比值显著低于对照组,CD<sub>8</sub>、CD<sub>19</sub>、CD<sub>16</sub>/56细胞显著高于对照组(表3)。

表1 两组患儿PA-Ig的比较[M(P<sub>5</sub>, P<sub>95</sub>), ng/10<sup>7</sup>PA]

PA-Ig分类	ITP组	对照组	P值
PA-IgA	7.72(1.42, 519.46)	5.90(0.01, 2.20)	0.03
PA-IgG	31.93(3.27, 5510.00)	11.00(0.01, 90.88)	0.016
PA-IgM	22.62(3.82, 2615.45)	6.30(0.01, 39.70)	0.000

表2 7例ITP患儿治疗前后PA-Ig的比较(ng/10<sup>7</sup>PA)

序号	治疗前			治疗后		
	PA-IgA	PA-IgG	PA-IgM	PA-IgA	PA-IgG*	PA-IgM
1	10	4510	2820	6	78.40*	1.40
2	75.40	9.90	181.80	18.90	40*	34.40
3	24.10	122.99	114.90	5.70	6.97*	126.60
4	37.50	208.30	208.30	5.60	55.60*	66.70
5	26.60	444.40	106.40	6	50*	12.50
6	4.77	230.80	69.20	17.90	10*	22.30
7	4.25	171.70	135.40	7.58	1.52*	30.30

与治疗前比较 \* $P < 0.05$ 表3 两组淋巴细胞亚群水平的比较( $\bar{x} \pm s$ , %)

CD表型分类	ITP组	对照组
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> T淋巴细胞	57.32±13.30*	65.40±3.57
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> T辅助淋巴细胞	24.80±9.010*	38.60±2.39
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> T抑制淋巴细胞	29.98±9.68**	18.36±2.39
CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> CD <sub>4</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>3</sub> <sup>+</sup> CD <sub>8</sub> <sup>+</sup> 比值	0.882±0.36*	1.48±0.24
CD <sub>3</sub> <sup>-</sup> CD <sub>19</sub> <sup>+</sup> B淋巴细胞	24.66±12.12*	5.76±2.39
CD <sub>3</sub> <sup>-</sup> CD <sub>16</sub> <sup>+</sup> /CD <sub>56</sub> <sup>+</sup> NK淋巴细胞	16.98±10.40**	10.72±2.39

与对照组比较 \* $P < 0.01$ , \*\* $P < 0.005$ 

### 讨论

本研究结果显示,ITP患儿PA-Ig明显升高,抗体总阳性率为52%,反映机体体液免疫异常;ITP患儿自身血小板抗原变异刺激机体产生抗体的过程中,不同株B淋巴细胞受到激活产生相应抗体,也表明PA-IgA、PA-IgG、PA-IgM 3项联合检查可提高PA-Ig阳性率,有助于儿童血小板减少症的病因分析。但仍有部分患儿抗体水平正常,提示儿童ITP的发病可能并非单一免疫学机制,可能与患儿巨核细胞本身的异常有

1. 北京,首都儿科研究所细菌研究室(邮编 100020)

2. 血液科

3. 分子免疫研究室

\* 通讯作者

关<sup>[3]</sup>。PA-Ig 的主要靶抗原是血小板膜糖蛋白(GP b/ a),可导致血小板生存时间缩短;同时由于巨核细胞(MK)表面亦表达 GP b/ a,因此 PA-Ig 可与其结合,抑制 MK 使其成熟障碍,也可导致血小板生成减少<sup>[4]</sup>。7 例 ITP 患儿免疫治疗前后 PA-Ig 的检测结果显示,PA-Ig 可作为 ITP 患儿治疗效果的判断指标,尤其对于那些 PA-Ig 增高的 ITP 患儿来说是较为可靠的指标。

本研究测定了 50 例 ITP 患儿的淋巴细胞亚群水平,结果显示 CD<sub>3</sub>、CD<sub>4</sub> 细胞和 CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> 比值显著降低,CD<sub>8</sub>、CD<sub>19</sub>、NK 细胞明显增加。CD<sub>4</sub> 细胞是 T 辅助/诱导细胞(Th/Ti)的表面标志,Th 细胞是机体免疫应答中心细胞,CD<sub>4</sub> 细胞减少,自身反应性 CD<sub>8</sub> 细胞和(或)B 细胞抑制后活化增殖,进而发展成 ITP,CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub>(Th/Tc)细胞比值变化反映机体的免疫功能状况,CD<sub>4</sub>/CD<sub>8</sub> 降低提示患儿机体免疫力低下,T 细胞异常导致 B 细胞激活产生针对血小板的自身抗体可能是 ITP 的发病机制之一<sup>[5]</sup>。CD<sub>19</sub> 是 B 细胞的重要标记,可与多种激酶结合促进 B 细胞激活,CD<sub>19</sub><sup>+</sup>B 淋巴细胞的明显升高提示 B 淋巴细胞活化可能是 ITP 抗血小板抗体产生的直接根源。文献报道,可溶性 Fas 阳性患者的 NK 细胞比例高于可溶性 Fas 阴性患者,可溶性 Fas 可抑制杀伤细胞激活诱导的细胞凋亡(AICD),从而造成对血小板的破坏,NK 细胞的升高提示可能 Fas/FasL 表达异常,而 Fas/FasL 表达异常和自身免疫性疾病的发生有关<sup>[6]</sup>。淋巴细胞亚群水平的变化提示 ITP 体内免疫功能紊乱,体液紊乱与细胞免疫异常同时存在,T、B 淋巴细胞之间的作用是相互的。

由于细胞免疫异常和免疫功能紊乱常表现在 T、B 淋巴细胞亚群比例、细胞数量和 PA-Ig 的改变上,提示 ITP 患儿发病机制存在异质性,所以可根据患儿免疫功能选择不同的治疗方案和判断预后。血小板相关抗体和淋巴细胞亚群水平检测的联合使用对免疫性血小板减少症的诊断及疗效观察有较好的实用价值。

参 考 文 献

[1] 张之南,沈悌.血液病诊断及疗效标准.2版.北京科学技术出版社,1998:279-284.  
 [2] NCCLS. Clinical applications of flow cytometry: Quality assurance and immunophenotyping of peripheral blood lymphocytes. NCCLS Document H42-7, 1992, 12:1-15.  
 [3] 胡涛,师晓东,冯燕玲,等.儿童特发性血小板减少性紫癜骨髓巨核细胞的研究.中国实验血液学杂志,2004,12:480-483.  
 [4] Kuwana M, Kaburaki J, Kitasato H, et al. Immunodominant epitopes on glycoprotein IIb-IIIa recognized by autoreactive T cells in patients with immune thrombocytopenic purpura. Blood, 2001, 9:130-139.  
 [5] 张峰,侯明. T 细胞异常与特发性血小板减少性紫癜.中华血液学杂志,2005,26:188-190.  
 [6] Yoshimura C, Nomura S, Nagahama M, et al. Plasma-soluble Fas (APO -1, CD -95) and soluble Fas ligand in immune thrombocytopenic purpura. Eur J Haematol, 2000, 64:219-224.

(收稿:2008-06-20)

• 短篇报道 •

高分子绷带在新生儿马蹄足矫形中的应用

王昕 邓京城 马强 杨斌

对于新生儿期的先天性马蹄内翻足患儿,Ponseti 保守疗法已被大多数矫形外科医师所接受,即早期连续石膏固定+经皮跟腱切断术+足外展矫形支具,其中连续石膏固定矫形尤为重要<sup>[1]</sup>。我院 2006 年 10 月至 2008 年 3 月分别采用普通石膏及高分子绷带<sup>[2]</sup>应用于 Ponseti 保守治疗中,疗效满意,报告如下。

对象与方法

1. 一般资料:本组 60 例 78 足,男 36 例,女 24 例;年龄 7d~3 个月;单侧 42 例,双侧 18 例。均表现为马蹄、内翻、内收畸形,被动手法不能恢复至正常位置。根据 Dimeglio 评分<sup>[3]</sup>分级,轻型 35 足,中型 30 足,重型及极重型 13 足。随机分为两组,每组 30 例,分别采用普通石膏及高分子绷带固定。

2. 方法:患儿静脉麻醉后平卧,屈髋屈膝位,一手拇指压于足背外侧凸起的距骨头处,另一手将前足旋后,推顶第一

跖骨头,外展前足,维持 3~5min,矫正足内收及高弓畸形,使距骨复位,然后松弛检查血运 2~3min,重复 3~5 次后固定制动。

高分子绷带组患儿下肢套以双层棉质袜套,置足矫形位,屈膝 90°~120°,将高分子绷带浸水后,自股骨上 2/3 由外向内侧缠绕 2~3 圈后,向膝关节及踝关节“8 字”环绕达足尖部;普通石膏组患儿下肢套以单层棉质袜套,外层缠绕石膏棉,置足矫形位,屈膝 90°~120°,将普通石膏浸水后,自股骨上 2/3 由外向内侧缠绕达足尖部,膝关节及踝关节“8”字环绕加强,缠绕 3~4 层。两组缠绕后均一手握持股骨,一手于足底维持矫形位置,2~3min 后石膏塑性完成,检查足趾血运。普通石膏组术后石膏烤灯 12~24h 使石膏彻底干燥。一般 10~14d

(下转第 688 页)

北京,首都儿科研究所附属儿童医院骨科(邮编 100020)