[3] Auerbach R, Alby L, Morrissey L W, *et al*. Expression of organ-specific antigens on capillary endothelial cells[J]. Microvasc Res, 1985, 29(3): 401 - 411.
[4] Kaiser D, Freyberg M A, Friedl P. Lack of hemodynamic forces triggers apoptosis in vascular endothelial cells[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1997, 231(3): 586 - 590.
[5] Bacabac R G, Smit T H, Cowin S C, *et al*. Dynamic shear stress in parallel-plate flow chambers[J]. J Biomech, 2005, 38(1): 159 - 167.
[6] Ives C L, Eskin S G, McIntire L V. Mechanical effects on endothelial cell morphology: *in vitro* assessment[J]. *In Vitro* Cell Dev Biol, 1986, 22(9): 500 - 507.
[7] 宋晓燕, 曾衍钧, 李彩霞, 等. 流动剪切力对鼠脑微血管内皮细胞 ICAM-1 表达的影响[J]. 生理学报, 2001, 53(1): 13 - 17.

（编辑　栾　嘉）

文章编号:1000-5404(2008)06-0495-01

个案与短篇

儿童哮喘急性发作期血小板参数和 CD62p、CD63 的测定及临床意义

孙　萍,陈婷婷,吴星恒,杨　明,黄正刚　（南昌大学第一附属医院儿科,南昌 330006）

近年来研究表明支气管哮喘急性发作期存在血小板的活化[1]。本研究测定哮喘急性发作期的儿童血小板膜糖蛋白 CD62p、CD63 阳性表达率和血小板计数(PLT)、平均血小板体积(MPV)、血小板分布宽度(PDW)和大血小板比率(P-LCR)4 项指标,旨在探讨 CD62p、CD63 及血小板与儿童哮喘的发病关系,为哮喘的治疗提供一定的理论依据。

1　对象与方法

1.1　对象

选取 2004 年 1 月至 2006 年 7 月在我院哮喘门诊或住院的发作期哮喘患儿 83 例,全部病例均符合哮喘诊断[2]。男性 47 例,女性 36 例;年龄 3 个月至 14 岁,平均(3.96 ± 3.69)岁;其中 25 例测定 CD62p、CD63 阳性表达率;缓解后 77 例,男性 43 例,女性 34 例,年龄 4 个月至 14 岁,平均年龄(4.02 ± 3.52)岁,其中 20 例测定 CD62p、CD63 阳性表达率。正常对照组 80 例,为我院健康体检儿,男性 45 例,女性 35 例,平均年龄(4.01 ± 3.90)岁,既往无血液病,肝肾疾病和过敏性疾病等, 其中 20 例测定 CD62p、CD63 阳性表达率。各组性别构成和平均年龄差别均无显著性意义($P > 0.05$)。

1.2　方法

1.2.1　血小板 4 项指标检测　　采用日本东亚 SYSMEX 公司生产的 XE-2100 型全自动血液分析仪,使用配套试剂,取空腹静脉血,15% EDTA-K2 抗凝,2 h 内放入仪器进行自动测试。

1.2.2　血小板 CD62p、CD63 阳性表达率的测定,清晨空腹采血 2 ml,15% EDTA 抗凝,室温下离心(800 r/min)5 min,取上层富含血小板血浆,调整血小板 $300 \times 10^9\ L^{-1}$,每管中分别加入 CD62p -FITC,CD63-PE 和阴性对照 IgG1-FITC 及 IgG1-PE,置 20 ~ 25 ℃室温暗处孵育 15 min 后,PBS 洗涤 2 次,采用美国 Becton-Dickins 公司生产的流式细胞仪检测,CellQuest 软件(BD 公司)获取血小板 10 000 个,分析数据。

1.2.3　统计学分析　　数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 11.5 统计软件进行计量资料间比较 t 检验和直线回归法的相关分析。

2　结果

2.1　血小板各参数测定

哮喘发作组 PLT 水平明显高于对照组($t = 8.523$, $P < 0.01$),MPV,PDW 和 P-LCR 低于对照组($t = 2.537$, $t = 2.115$, $t = 3.859$, $P < 0.01$, $P < 0.05$),哮喘发作组 PLT 水平高于缓解组($t = 5.432$, $P < 0.01$), MPV 低于缓解组($t = 2.524$, $P < 0.01$), 缓解组各参数与对照组比无统计学差异($P > 0.05$)。见表 1。

表 1　各组血小板 4 项指标检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	PLT(10^9/L)	MPV(fL)	PDW(GSD)	P-LCR(%)
哮喘组					
发作期	83	310.86 ± 102.71[ac]	8.41 ± 1.55[ad]	15.30 ± 2.79[b]	20.26 ± 7.10[ac]
缓解期	77	210.82 ± 57.57	8.98 ± 1.36	15.89 ± 2.98	25.16 ± 8.34
正常对照组	80	201.33 ± 41.87	9.13 ± 1.26	16.21 ± 2.23	24.99 ± 9.32

a: $P < 0.01$, b: $P < 0.05$, 与正常对照组比较; c: $P < 0.01$; d: $P < 0.05$, 与哮喘缓解期比较

2.2　哮喘儿童 CD62p、CD63 的表达

急性发作组 CD62p、CD63 阳性表达率均显著高于正常对照组及缓解组($t = 7.186$, $t = 6.998$, $P < 0.01$)。缓解组与对照组比无统计学差异($P > 0.05$)。见表 2。

表 2　各组 CD62p、CD63 检测结果($\bar{x} \pm s$, %)

组别	n	CD62p	CD63
哮喘组			
发作期	25	8.62 ± 2.95[ab]	6.72 ± 1.88[ab]
缓解期	20	3.76 ± 1.53	3.09 ± 1.36
正常对照组	20	2.84 ± 1.34	2.67 ± 0.98

a: $P < 0.01$, 与正常对照组比较; b: $P < 0.01$, 与哮喘缓解期比较

2.3　哮喘儿童 CD62p、CD63 的表达水平与 PLT 的关系

哮喘儿童 CD62p、CD63 的阳性表达与 PLT 相关分析两者呈显著正相关($r = 0.45$, $r = 0.47$, $P < 0.05$)。

（下转 498 页）

基金项目:江西省卫生厅科学研究基金(040023)
Supported by the Scientific Research Funds of Public Health Department of Guangxi Zhuang Autonomous Region (040023)
作者简介:孙　萍,女,江西省万年县人,博士,主任医师,主要从事儿童呼吸系统疾病方面的研究,发表论文 20 余篇。电话:(0791)8692558
收稿日期:2007-05-11;修回日期:2007-09-25

对病毒抗原进行浓缩纯化,用两步纯化法,第 1 步用 Sepharose 6FF 层析柱去除大部分杂蛋白,再经过第 2 步 DEAE-Sepharose Fast Flow 柱把与病毒发生吸附作用的小部分杂蛋白和大部分 DNA 去除。WHO 规程中规定的标准为 <10 ng/剂量,我们建立的病毒液后处理工艺 3 批病毒收获液的 DNA 残留量均 <10 pg/剂量,其 DNA 残留量大大低于规程要求。血凝效价在 1:128 以上,获得了高纯度的病毒原液,病毒原液经 8 倍稀释后,效价测定各项指标均达到乙脑疫苗规程的要求,为进一步研制高质量的乙脑疫苗及产业化打下了良好的基础。

参考文献:

[1] 俞永新. 流行性乙型脑炎的全球流行动态及控制策略[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(6): 567 - 569.

[2] Chambers T J, Nestorowicz A, Mason P W, *et al*. Yellow fever/Japanese encephalitis chimeric viruses: construction and biological properties[J]. J Virol, 1999, 73(4): 3095 - 3101.

[3] Tsarev S A, Sanders M L, Vaughn D W, *et al*. Phylogenetic analysis suggests only one serotype of Japanese encephalitis virus[J]. Vaccine, 2000, 18 (Suppl 2): 36 - 43.

[4] Kurane I, Takasaki T. Immunogenicity and protective efficacy of the current inactivated Japanese encephalitis vaccine against different Japanese encephalitis virus strains[J]. Vaccine, 2000, 18 Suppl 2: 33 - 35.

[5] Hoke C H, Nisalak A, Sangawhipa N, *et al*. Protection against Japanese encephalitis by inactivated vaccines[J]. N Engl J Med, 1988, 319(10): 608 - 614.

[6] 丁志芬. 流行性乙型脑炎疫苗[M]//卢锦汉, 章以浩, 赵 铠, 等. 医学生物制品学. 北京: 人民出版社出版, 1995: 528 - 538.

[7] 贾丽丽, 郑铮, 郭玉鹏, 等. 流行性乙型脑炎减毒活疫苗生产毒株(SA14-14-2)的稳定性研究[J]. 中国生物制品学杂志, 1992, 5(4): 174 - 176.

[8] Wills M R, Sil B K, Cao J X, *et al*. Antigenic characterization of the live attenuated Japanese encephalitis vaccine virus SA14-14-2: a comparison with isolates of the virus covering a wide geographic area[J]. Vaccine, 1992, 10(12): 861 - 872.

[9] 周立本, 贾丽丽, 许先兰, 等. 流行性乙型脑炎减毒活疫苗大面积接种后安全性和流行病学效果的 5 年观察[J]. 中华流行病学杂志, 1999, 20(1): 38 - 41.

[10] Tsai T F, Yu Y X, Jia L L, *et al*. Immunogenicity of live attenuated SA14-14-2 Japanese encephalitis vaccine--a comparison of 1- and 3-month immunization schedules[J]. J Infect Dis, 1998, 177(1): 221 - 223.

[11] 流行性乙型脑炎灭活疫苗制造及检定规程[S]//中国生物制品标准化委员会编. 中国生物制品规程. 2000 年版. 北京: 化学工业出版社, 2000: 118 - 123.

[12] 丁志芬, 石慧颖, 庞成华, 等. 转瓶培养非洲绿猴肾传代细胞生产纯化流行性乙型脑炎疫苗的研究[J]. 中华医学杂志, 1998, 78(4): 261 - 262.

(编辑 邓强庭)

(上接 495 页)

3 讨论

支气管哮喘的发病涉及多种炎性细胞和细胞因子[3]。近年来,血小板与哮喘的关系逐步受到医学界的重视。特别在小儿,随着血细胞分析仪的不断更新,PLT、MPV、PDW 和 P-LCR 等参数受到大家的关注。血小板大多数来源于骨髓成熟巨核细胞,少数来自肺泡内巨核细胞,其中 PLT 是反映血小板生成与衰亡的指标, MPV、PDW 是反映血小板大小或体积及其差异程度的参数,P-LCR 是大血小板占血小板总数的百分比,综合分析血小板各项参数之间的关系,能准确评估血小板代谢状态。

本研究显示儿童哮喘急性发作期 PLT 增加,MPV、PDW 和 P-LCR 减低,缓解期各项指标均已恢复,与叶松道等[4]研究结果一致。提示儿童哮喘急性发作时血小板质量发生了变化。

CD62p、CD63 均为血小板膜糖蛋白,是血小板粘附、聚集及释放功能的分子基础,分别存在于静息血小板细胞质内颗粒膜及溶酶体膜上,当血小板被激活时,血小板内颗粒与血小板膜整合,CD62p、CD63 表达于血小板表面,故 CD62p、CD63 是血小板活化的膜标志物[5]。

本研究显示,儿童哮喘急性发作期 CD62p 、CD63 阳性表达率明显增加,随病情的缓解血小板活化水平明显下降与正常对照组比较无显著差异,提示儿童哮喘发作时存在血小板活化,CD62p、CD63 在哮喘的发病过程中可能起了作用。

有研究表明 CD62p 与哮喘患者 PEV_1% Pred 呈显著负相关[6],但儿童,特别是婴幼儿哮喘目前缺乏好的监控方法,我们的研究还提示哮喘患儿 CD62p、CD63 的阳性表达与 PLT 呈显著正相关,而血小板参数的测定简单易行,不需要专用仪器,动态观察血小板各参数变化可能有助于病情监测。

因此,儿童哮喘急性发作期试行抗血小板治疗可能能为哮喘治疗提供一定的途径,值得临床进一步研究。

关键词: 哮喘;儿童;血小板

中图法分类号: R725.622.5 **文献标识码**: B

参考文献:

[1] 卓致远, 黄 茂. 血小板激活因子与支气管哮喘[J]. 国际呼吸杂志, 2007, 27(1): 26 - 28.

[2] 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童支气管哮喘防治常规 (试行)[J]. 中华儿科杂志, 2004, 42(2): 100 - 106.

[3] 徐孝华, 杭 果. 293 例哮喘患儿变应原分析[J]. 实用临床医药杂志, 2006, 10(4): 119 - 120.

[4] 叶松道, 苏士海, 陶洪群. 支气管哮喘患儿血小板 5 项参数检测的临床意义[J]. 临床检验杂志, 2005, 23(3): 222.

[5] Sedlmayr P, Grosshaupt B, Muntean W. Flow cytometric detection of intracellular platelet antigens[J]. Cytometry, 1996, 23(4): 284 - 289.

[6] 雷 伟, 黄建安, 於葛华, 等. 血小板源性 CD40L、CD62P 在哮喘患者外周血中的表达及其临床意义[J]. 国际呼吸杂志, 2006, 26(1): 8 - 11,15.

(编辑 郭建秀)