文章编号:1000-5404(2013)08-0759-05

论著

姜黄素对大鼠重症胰腺炎的干预效应研究

李晓萍[1],张志坚[2],屈纪富[1] (400038 重庆,第三军医大学西南医院急救部[1];401320 重庆,巴南区人民医院ICU[2])

[摘要] **目的** 探讨趋化因子ENA-78(epithelial neutrophil activating peptide 78,ENA-78)在重症急性胰腺炎(acute pancreatitis,SAP)发病过程中的作用及姜黄素(curcumin,CUR)的干预效应。**方法** 54只SD大鼠按完全随机法分为SAP组、姜黄素治疗(SAP+CUR)组和对照组,用4%牛磺胆酸钠逆行胆胰管注射建立大鼠模型,SAP+CUR组在建立模型前2 h腹腔内注射姜黄素溶液(200 mg/kg),余组注射同等剂量的DMSO溶液。用ELISA法测定3组大鼠不同时点血清中ENA-78水平的变化;Western blot和免疫组化法检测胰腺组织不同时点ENA-78蛋白的表达水平;病理组织切片检查各时点胰腺的病理变化。**结果** SAP组血清中ENA-78水平随时间的延长逐渐增强,3 h后各时点血清ENA-78水平均高于对照组及SAP+CUR组($P<0.01$);SAP组及SAP+CUR组术后胰腺组织ENA-78蛋白表达随时间延长逐渐增加,术后各时间点表达均显著高于对照组,但同时间点比较SAP+CUR组表达明显低于SAP组($P<0.01$);病理组织切片检查显示SAP+CUR组各时点与SAP组相比较,胰腺病理损伤显著减轻。**结论** 姜黄素能有效干预SAP,其机制可能与抑制趋化因子ENA-78的表达有关。

[关键词] 重症急性胰腺炎;姜黄素;趋化因子ENA-78;基因表达
[中图法分类号] R282.71;R576;R965 [文献标志码] A

Effects of curcumin intervention on chemokine ENA-78 expression in rat severe acute pancreatitis

Li Xiaoping[1], Zhang Zhijian[2], Qu Jifu[1] ([1]Department of Emergency, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400038; [2]Intensive Care Unit, Banan District People's Hospital, Chongqing, 401320, China)

[**Abstract**] **Objective** To investigate the role of epithelial neutrophil activating peptide 78 (ENA-78) in the pathogenesis of severe acute pancreatitis (SAP) and effects of curcumin intervention on ENA-78 expression in SAP. **Methods** Fifty-four SD rats were randomized into three groups: a SAP group, a curcumin treatment group (SAP+CUR) and a control group. SAP model was induced by retrograde infusion of 4% sodium taurocholate into the bili-pancreatic duct in rats. Rats in the SAP+CUR group were injected with curcumin (200 mg/kg) through abdominal cavity before operation while those in the control and SAP groups were injected with DMSO. ENA-78 in the serum was detected by ELISA at various time points. The expression of ENA-78 in pancreatic tissues was detected by Western blotting and immunohistochemistry. The histopathological changes were observed at the same time. **Results** Serum level of ENA-78 in 3 h after operation in the SAP group was significantly higher than that in the control group and SAP+CUR group ($P<0.01$). Compared with the control group, the expression of ENA-78 in the pancreatic tissues of rats in the SAP group and SAP+CUR group increased significantly in a time-dependent manner. Compared with the SAP group, the expression of ENA-78 in the pancreatic tissues of rats in the SAP+CUR group was decreased ($P<0.01$). Pathological injury of pancreatic tissues was more obvious in the SAP group than in the SAP+CUR group. **Conclusion** Curcumin efficiently interferes SAP and may be related to inhibition of ENA-78 expression.

[**Key words**] severe acute pancreatitis; curcumin; epithelial neutrophil activating peptide 78; gene expression

Supported by the Key Project of the "Twelfth Five-year Plan" for Medical Science and Technology of PLA (BWS11J038) and the Project of Southwest Hospital, Third Military Medical University (2008XG19). Corresponding author: Qu Jifu, E-mail: qujifu@yahoo.cn

[基金项目] 全军医学科技"十二五"科研重点课题(BWS11J038);第三军医大学西南医院院管课题(2008XG19)
[通信作者] 屈纪富,E-mail: qujifu@yahoo.cn
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130125.1504.014.html(2013-01-25)

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis,SAP)是临床上较常见的一种急危重症,起病急,进展快,早期常导致急性肺损伤、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、急性肾功能不全、胃肠功能障碍,并能迅速进展为多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),病情凶险,预后差,死亡率高[1-4]。趋化因子是一类能趋化细胞定向移动的小分子分泌蛋白,其主要作用为趋化和激活白细胞,参与炎症反应。本实验通过建立大鼠SAP模型,并采用姜黄素(Curcumin,CUR)进行干预,ELISA法检测不同时点血清中ENA-78水平;免疫组织化学法及Western blot检测ENA-78蛋白在SAP模型的胰腺组织中的表达变化情况,及其与病理组织学改变的关系,探讨ENA-78在SAP发病过程中的作用,为临床治疗胰腺炎提供实验基础和理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 健康雄性SD大鼠54只,清洁级,体质量(200±30)g,由第三军医大学实验动物中心提供。完全随机分成3组:SAP组、姜黄素预处理组(SAP+Curcumin,CUR)和生理盐水对照组(Control)。

1.1.2 主要试剂 淀粉酶测定试剂盒(上海捷瑞生物技术有限公司);辣根过氧化物酶标记的山羊抗兔/兔抗小鼠IgG、Western blot检测试剂盒(美国Upstate Biotechnology公司);小鼠抗大鼠β-actin抗体、ENA-78兔多克隆抗体、ABC试剂盒、S-P免疫组化染色试剂盒(北京博奥森生物技术有限公司);牛磺胆酸钠(美国Sigma公司,临用时配制250 mg/mL的二甲基亚砜DMSO溶液);姜黄素(美国Sigma公司)。

1.2 方法

1.2.1 动物模型 大鼠于术前12 h禁食,自由饮水。术前2 h CUR组大鼠腹腔内注射姜黄素溶液(200 mg/kg),其他组注射同等剂量的DMSO溶液。CUR组和SAP组3%戊巴比妥钠腹腔注射麻醉后制造SAP模型。常规备皮、消毒、铺巾,取上腹正中切口开腹,胆胰管十二指肠开口处钳夹,注射器针头向十二指肠开口方向插入胆胰管远端,SAP组微量输液泵以0.1 mL/min的速度向胆胰管内注射4%牛磺胆酸钠(1 mL/kg),5 min后拔除注射针,松开金属夹,缝合关腹。对照组向胆胰管以1 mL/kg的速度注射无菌生理盐水。每组再分成3个时间点,每个时间点6只大鼠。分别于术后3、6、12 h处死,通过腹主动脉采取的血标本用普通真空采血管储存,离心后取血清标本用于送检血清淀粉酶。同时开腹后取胰头组织分别备份行Western blot检测、HE染色及免疫组化检测。

1.2.2 血清淀粉酶(amylase, AMS)测定 采用碘-淀粉比色法,操作严格按照试剂说明书进行,由美国Vitros-250型全自动生化分析仪测定。

1.2.3 血清ENA-78 ELISA检测 严格按照试剂盒说明书要求进行操作。取出酶标板,设空白孔,依次加入标准品及样本血清各100 μL于包被好抗大鼠ENA-78单抗的各孔中,37 ℃孵育2 h,分别加入生物素化的一抗(1∶50稀释)、辣根过氧化酶标记的链霉亲和素及底物甲基联苯胺溶液,经终止液作用后30 min内用Therm。MK3型酶标仪在450 nm处测光密度值。

1.2.4 免疫组化测胰腺组织ENA-78表达 切片脱蜡水化,PBS冲洗3 min×3次;室温3%碳酸氢钠溶液中浸泡8 min,灭活内源性过氧化物酶;将切片浸泡在0.01 mol/L枸橼酸盐缓冲液中放入微波炉加热5 min后取出冷却,重复3次,自然冷却;滴加适当稀释的ENA-78抗体(1∶50稀释),37 ℃培养箱孵育30 min后,置湿盒中于4 ℃冰箱中过夜;从冰箱中取出切片,复温10 min,PBS洗5 min×3次,滴加生物素化山羊抗兔IgG(1∶200稀释),37 ℃孵育30 min;DAB显色。镜下以细胞膜和胞浆中出现棕黄色着色颗粒为阳性标记观察ENA-78蛋白表达。每个标本切5张片子,每张片子于镜下随机选取5个完整且不重叠的高倍视野,采用免疫组织化学评分(HIS)标准分析。A为阳性细胞数分级,B为阳性细胞显色强度分级。HIS=A×B。

1.2.5 Western blot检测胰腺组织ENA-78蛋白表达 具体操作步骤见试剂盒说明书。取胰腺组织裂解30 min后,将裂解液移至1.5 mL离心管中,然后12 000 r/min离心10 min,收集上清液,Lowry法测定总蛋白量。每孔加样量为20 μg蛋白,将上样缓冲液加入制备的样本中,混匀,煮5 min,10 000 r/min离心10 min,等量上样于7.5% SDS-PAGE分离样品,电泳毕转移到PVDE膜,封闭;加入ENA-78兔多克隆抗体(1∶200)及抗β-actin(1∶500)抗体,一抗稀释在新鲜配制的含3%脱脂奶粉的PBS液洗涤3次,加入辣根过氧化物酶标记的二抗(山羊抗兔IgG)孵育,最后用化学发光法,X线片记录结果。蛋白杂交条带进行相对密度扫描并分析。

1.2.6 组织病理学检查 所有大鼠处死后均做病理检查,所取的胰腺组织和肺组织标本常规脱水、石蜡包埋,5 μm厚切片,行HE染色,进行组织病理学观察。

1.3 统计学分析

应用SPSS 16.0软件对实验数据进行分析。数据以$\bar{x}\pm s$表示,采用单因素方差分析比较均数间的差异,病理组织评分采用秩和检验。

2 结果

2.1 血清淀粉酶活性的变化

SAP和CUR+SAP组3、6、12 h各时间点血清淀粉酶活性与对照组比较均明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$);CUR+SAP组与SAP组相比较,3 h没有显著差异($P>0.05$);而6 h和12 h,CUR+SAP组血清淀粉酶活性升高程度比SAP组显著减低($P<0.01$),见表1。

表 1　各组大鼠不同时点血清淀粉酶活性的变化（U/L，$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	3 h	6 h	12 h
对照组	527.00±78.28	556.33±78.87	517.36±101.04
SAP 组	5 571.00±2 114.03[b]	6 330.70±2 674.20[b]	5 606.80±1 752.47[b]
SAP+CUR 组	5 251.52±1 823.91[b]	3 124.25±1 144.62[ab]	2 956.70±688.33[ab]

a：$P<0.01$，与 SAP 组比较；b：$P<0.01$，与对照组比较

2.2　血清 ENA-78 浓度的变化

SAP 组血清 ENA-78 水平随时间变化逐渐升高，在 3、6 h 和 12 h 点血清 ENA-78 水平高于对照组，差异有统计学意义（$P<0.01$），而 CUR 组与对照组之间血清 ENA-78 水平在 3 h 点差异无显著（$P>0.05$），6、12 h 差异有统计学意义（$P<0.05$）。SAP 组与 CUR 组血清 ENA-78 水平在各时间点均有统计学差异（$P<0.01$），见表 2。

表 2　各组大鼠不同时点血清 ENA-78 浓度的变化（ng/L，$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	3 h	6 h	12 h
对照组	105.4±7.3	110.2±6.3	115.4±7.2
SAP 组	160.3±9.8[c]	187.5±11.3[c]	230.8±13.3[c]
SAP+CUR 组	115.4±7.8[a]	133.6±4.1[ab]	171.2±9.7[ac]

a：$P<0.01$，与 SAP 组比较；b：$P<0.05$，c：$P<0.01$，与对照组比较

2.3　胰腺组织中 ENA-78 蛋白的表达

对照组 ENA-87 仅在胰岛细胞中有少量表达，腺泡细胞中无表达。SAP 组可见大量腺泡细胞胞浆及胞膜染成棕黄色，染色强度随时间持续升高，12 h 最明显，与对照组相比，同一观察时间点 ENA-87 蛋白表达差异具有统计学意义（$P<0.01$）；与 SAP 组相比，CUR 组从染色面积和强度上都有所降低，各观察时间点 ENA-87 蛋白表达较 SAP 组弱，差异具有统计学意义（$P<0.05$）。见表 3、图 1。

2.4　Western blot 检测胰腺组织中 ENA-78 蛋白的表达

对照组可检测到少量 ENA-78 蛋白表达；SAP 组 ENA-87 蛋白的表达明显升高，且随时间推移不断升高，各时间点均高于对照组（$P<0.01$）；CUR 组 ENA-87 蛋白的表达较对照组亦明显升高，与 SAP 组相比则明显降低（$P<0.05$）。见图 2、表 4。

表 3　免疫组化法检测各组大鼠不同时间点胰腺组织 ENA-78 蛋白的表达（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	3 h	6 h	12 h
对照组	2.51±0.45	3.33±0.84	3.45±0.68
SAP 组	8.25±0.63[c]	9.65±1.33[c]	10.21±1.43[c]
SAP+CUR 组	4.13±1.41[ab]	5.65±1.41[ab]	6.23±0.79[ab]

a：$P<0.05$，与 SAP 组比较；b：$P<0.05$，c：$P<0.01$，与对照组比较

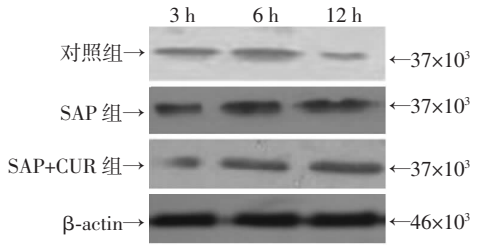


图 2　Western blot 检测各组大鼠不同时间点胰腺组织 ENA-78 蛋白的表达

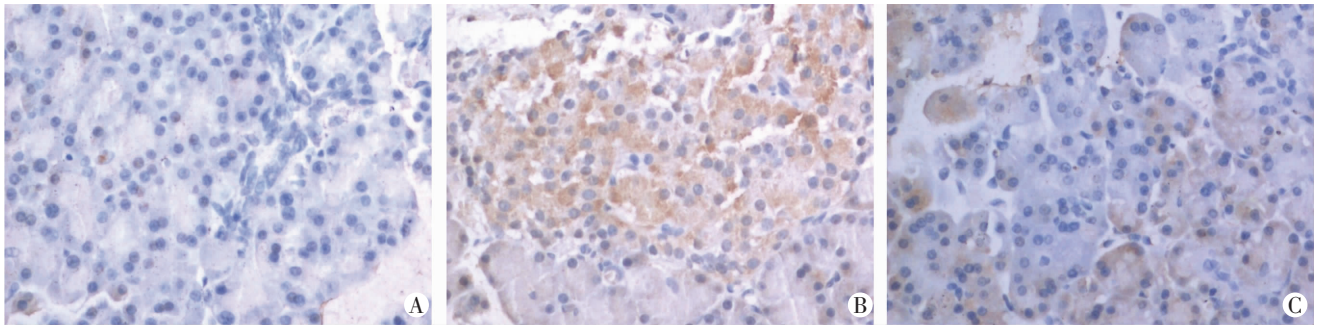
表 4　Western blot 检测各组大鼠不同时间点胰腺组织 ENA-78 蛋白的表达（$n=6$，$\bar{x}\pm s$）

组别	3 h	6 h	12 h
对照组	0.24±0.02	0.21±0.02	0.19±0.02
SAP 组	0.65±0.10[c]	0.78±0.13[c]	0.89±0.11[c]
SAP+CUR 组	0.45±0.12[ab]	0.50±0.08[ab]	0.55±0.04[ac]

a：$P<0.05$，与 SAP 组比较；b：$P<0.05$，c：$P<0.01$，与对照组比较

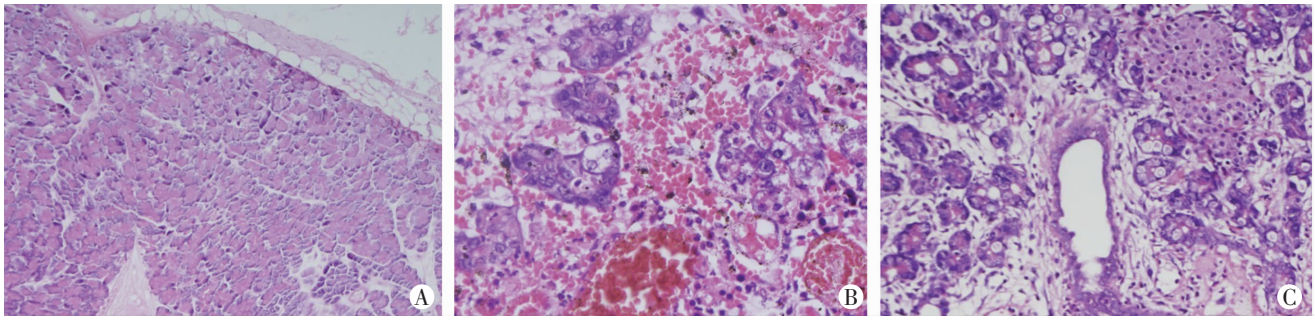
2.5　胰腺组织病理学改变

对照组胰腺组织镜下无明显病理改变，胰腺组织结构清楚，小叶结构完整，细胞形态正常，间质无明显水肿，未见出血、坏死及炎症细胞浸润（图 3A）；SAP 组胰腺组织结构破坏，小叶间隙增宽，腺泡分离呈孤岛状，部分腺泡细胞固缩，崩解。小叶结构辨别不清，有的甚至成为一片红染的无结构区。胰腺实质及间质充斥着大量红细胞、中性粒细胞、淋巴细胞。随着时间的延长，胰腺病理损伤程度有加重趋势（图 3B）；CUR 组与 AHNP 组同一观察时间点病理变化程度明显减轻（图 3C）。



A：对照组；B：SAP 组；C：SAP+CUR 组

图 1　各组大鼠术后 12 h 胰腺组织 ENA-78 蛋白的表达（SABC ×200）



A:对照组;B:SAP组;C:SAP+CUR组

图3 各组大鼠术后12 h胰腺组织病理学观察 (HE ×100)

3 讨论

SAP病程发展快,死亡率高,在发病早期即可出现全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome,SIRS),并容易引起胰腺外重要脏器(如肺、肾、肠、肝等)发生功能性和器质性损伤,并能迅速进展到多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome,MODS)[5-7]。目前对SAP的发生发展提出多种机制,其中炎症细胞浸润在SAP发生发展中占重要地位,炎症因子通过扳机样作用引发炎性介质和细胞因子瀑布样级联反应是SAP造成SIRS、MODS的重要原因[8]。

趋化因子是一类控制细胞定向迁移的细胞因子,根据其组成部分中特异的半胱氨酸排列位置不同可分为C、CC、CXC、CX_3C共4大类约50余种,研究表明趋化因子与其相关受体相互作用后控制各种免疫细胞在循环系统和组织器官间定向迁移、游走,在清除致炎因子、减轻感染、肿瘤发生发展、细胞凋亡等方面有重要作用,一直是目前研究的热点[9-10]。ENA-78属于趋化性细胞因子超家族成员中的一员,最初是从人类Ⅱ型肺泡上皮细胞中分离出来,后来发现它为多源性细胞因子,能在IL-1、肿瘤坏死因子α(tumor necrosis factor-α)、外源性凝集素和脂多糖等诱导下由巨噬细胞、单核细胞、T淋巴细胞等合成和释放[11]。近年来对ENA-78在胰腺炎的发生发展中进行了一些有益的探索。2002年一项51例SAP患者临床研究中发现ENA-78在SAP患者血浆中含量大幅度增加,在起病24 h达峰值,且与IL-8升高程度密切相关,提示SAP患者可能因ENA-78大量释放,同时激活炎症因子的释放参与了其中的炎性反应[12]。Kawano等[13]研究发现ENA-78可以通过上调E选择素蛋白、黏附分子CD_{11}a-c/CD18及细胞黏附分子等表达,引起中性粒细胞释放超氧化物和溶酶体,促进TNF-α释放,可能启动SAP后胰腺局部及全身炎症反应。ENA-78还能导致血小板激活因子释放;激活磷脂酶A、磷脂酶C;上调内皮细胞黏附分子1及黏附分子整合素β_2的表达,增强中性粒细胞与内皮细胞的黏附,引起中性粒细胞聚集并释放炎性介质,导致微血管扩张及通透性升高,引起胰腺组织缺血、缺氧及炎性反应等损害[14]。本研究中发现SAP大鼠血清中ENA-78水平随造模时间的延长不断增高,可以看出ENA-78在造模后3~12 h不断增高,与对照组比较有统计学意义。提示SAP后大鼠胰腺组织不断释放出趋化因子ENA-78并进入血液循环,ENA-78趋化大量炎症细胞不断进入组织,进一步加重SAP的发生发展,引起胰腺局部炎症反应及全身炎症反应,一系列的连锁反应引起胰外器官的损害。同时期病理切片可以观察到胰腺组织中大量炎症细胞浸润,伴有胰腺组织坏死。可以推测ENA-78因子大量入血诱导大量炎症细胞进入胰腺组织,促进炎症因子瀑布效应,引起大量胰腺腺泡细胞坏死。

姜黄素(Curcumin)是从姜科姜黄属植物姜黄中提取的一种黄色酸性酚类物质,是姜黄发挥其药理作用的主要活性成分,具有抗炎、抗氧化、抗肿瘤、抗突变、抗病原微生物等广泛的药理作用,对肿瘤、溃疡性结肠炎、肝损伤等疾病有良好的治疗作用[15]。已有研究表明姜黄素可以通过抑制NF-κB、AP-1、COX-2、p38MAPK信号通路的激活,降低TNF-α、IL-6、MDA水平减轻胰腺炎所致的炎症反应[16-18]。本实验研究发现姜黄素能够降低血清淀粉酶、减轻胰腺病理损伤程度,对SAP具有良好的保护作用。同时发现经姜黄素预处理后胰腺组织ENA-78蛋白表达较SAP组明显减弱,检测其血清中ENA-78含量也明显低于SAP组。我们推测姜黄素改善大鼠SAP胰腺组织损伤可能与其抑制趋化因子ENA-78表达,从而减少炎症介质释放密切相关。

参考文献:

[1] Karpavicius A, Dambrauskas Z, Sileikis A, *et al*. Value of adipokines in predicting the severity of acute pancreatitis: comprehensive review [J]. World J Gastroenterol, 2012, 18(45): 6620-6627.

[2] Frossard J L, Steer M L, Pastor C M. Acute pancreatitis[J]. Lancet,

2008, 371(9607): 143 - 153.
[3] Hooijmans C R, de-Vries R B, Rovers M M, *et al*. The effects of probiotic supplementation on experimental acute pancreatitis: a systematic review and meta-analysis [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e48811.
[4] Van-Baal M C, Kohout P, Besselink M G, *et al*. Probiotic treatment with Probioflora in patients with predicted severe acute pancreatitis without organ failure[J]. Pancreatology, 2012, 12(5): 458 - 462.
[5] Munsell M A, Buscaglia J M. Acute panceatitis[J]. J Hosp Med, 2010, 5(4): 241 - 250.
[6] De-Campos T, Deree J, Coimbra R. From acute pancreatitis to end-organ injury: mechanisms of acute lung injury[J]. Sury Infect (Larchmt), 2007, 8(1): 107 - 120.
[7] Zhou M T, Chen C S, Chen B C, *et al*. Acute lung injury and ARDS in acute pancreatitis: mechanisms and potential intervention [J]. World J Gastroenterol, 2010, 16(17): 2094 - 2099.
[8] Almeida J L, Sampietre S N, Mendonca-Coelho A M, *et al*. Statin pretreatment in experimental acute pancreatitis[J]. JOP, 2008, 9(4): 431 - 439.
[9] 郑科, 厉红元, 苏新良, 等. 趋化因子受体 CXCR7 对人乳腺癌细胞生长、凋亡及细胞周期的影响[J]. 第三军医大学学报, 2009, 31(20): 2005 - 2008.
[10] 张弘, 许可银, 周国雄, 等. 趋化因子 Fractalkine 在大鼠重症急性胰腺炎中的作用及乌司他丁的干预效应[J]. 中国病理生理杂志, 2011, 27(11): 2180 - 2184.
[11] Eferl R, Hasselblatt P, Rath M, *et al*. Development of pulmonary fibrosis through a pathway involving the transcription factor Fra-2/AP-1 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(30): 10525 - 10530.
[12] Shokuhi S, Bhatia M, Christmas S, *et al*. Levels of the chemokines growth-related oncogene alpha and epithelial neutrophil-activating protein 78 are raised in patients with severe acute pancreatitis[J]. Br J Surg, 2002, 89(5): 566 - 572.
[13] Kawano Y, Furukawa Y, Fukuda J, *et al*. The effects of platelet-activating factor on the secretion of interleukin-8 and growth-regulated oncogene alpha in human immortalized granulosa cell line (GC1a)[J]. Am J Reprod Immunol, 2007, 58(5): 434 - 439.
[14] Kawano Y, Zeineh K, Furukawa Y, *et al*. The effects of epidermal growth factor and transforming growth factor-α on secretion of interleukin-8 and growth-regulated oncogene-α in human granulosa-lutein cells[J]. Gynecol Obstet Invest, 2012, 73(3): 189 - 194.
[15] Aggarwal B B, Harikumar K B. Potential therapeutic effects of curcumin, the anti-inflammatory agent, against neurodegenerative, cardiovascular, pulmonary, metabolic, autoimmune and neoplastic diseases [J]. Int J Biochem Cell Biol, 2009, 41(1): 40 - 59.
[16] 陈垦, 刘君君, 龙友明, 等. 姜黄素对急性坏死性胰腺炎大鼠核因子-κB 活性的调节[J]. 中药药理与临床, 2008, 24(6): 27 - 29.
[17] 童明富, 王健. 姜黄素对重症急性胰腺炎 COX-2 表达的影响[J]. 江西医学院学报, 2009, 49(12): 23 - 36.
[18] Gulcubuk A, Altunatmaz K, Sonmez K, *et al*. Effects of curcumin on tumour necrosis factor-alpha and interleukin-6 in the late phase of experimental acute pancreatitis[J]. J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med, 2006, 53(1): 49 - 54.

(**收稿**:2012-10-30;**修回**:2013-01-12)
(编辑 吴培红)

文章编号:1000-5404(2013)08-0763-01

个案与短篇

IgM/IgG 型抗 P1 致正反定型不符 1 例

周助人,张坤莲,杨丽艳,李剑平 (110044 沈阳,辽宁省血液中心输血医学研究所)

[**关键词**] ABO 血型;抗 P1;血型系统
[**中图法分类号**] R457.11 [**文献标志码**] B

1 临床资料

无偿献血者,女性,29 岁,首次献血。初检以血型正定型为 B 型,反定型中与 A、B 和 O 型试剂红细胞凝集(强度分别为 4 +、1 + 和 ±),与自身红细胞不凝集送检。

按照《全国临床检验操作规程》[1] 复检,结果同上。该献血者红细胞其他血型表型:CcDee,MN。直抗:阴性。反定型中与 O 型试剂红细胞凝集,提示血清中可能存在 ABO 血型外不规则抗体。以 10 个 O 型谱细胞进行抗体鉴定试验,该献血者血清与 1、2、3、4、5、7 和 8 号 P_1 型谱细胞在盐水及抗人球蛋白介质中均出现凝集,而与 6、9、10 号非 P_1 型谱细胞不凝集,该反应格局表明献血者血清中存在 IgM 及 IgG 型抗 P1。将献血者血清与 P_1 型 O 型红细胞进行吸收放散试验[1],其放散液与非 P_1 型 O 型细胞无凝集反应,而与 P_1 型 O 型红细胞有凝集反应,进一步说明血清中含有的抗体为抗 P1。

献血者血清经 2-巯基乙醇处理以灭活其中的 IgM 型抗体,倍比稀释后在抗人球蛋白介质下以 P_1 型谱细胞测定其 IgG 型抗体效价,其抗 P1 效价为 16,该结果也表明献血者血清中存在 IgG 型抗 P1。献血者红细胞吸收放散试验表明红细胞上有 B 抗原,无 A 抗原;唾液血型物质检测表明唾液中有 B 血型物质,而无 A 血型物质。献血者血清与非 P_1 型 A、B 和 O 型红细胞进行反定型试验,凝集强度分别为 4 +、0、0,反定型为 B 型,说明初检时反定型与 B 和 O 型红细胞凝集(1 + 和 ±)是由血清中抗 P1 造成的,故该献血者血型为 B 型。

2 讨论

P 血型系统是继 ABO 和 Rh 后被人类认识的第 3 个血型系统,P_1 血型为红细胞 P1 抗原阳性,P_2 血型为红细胞 P1 抗原阴性。国内外研究均认为:P_2 血型人血清中通常存在抗 P1,但多数属于 IgM 型冷抗体,在 37 ℃时无活性,故临床意义不大[2-3]。本例献血者血清中同时检出 IgM 及 IgG 型抗 P1 十分罕见。国内

(下转 768 页)

[**基金项目**] 沈阳市科学技术计划项目(F10-149-9-35;F10-206-1-00)
[**通信作者**] 李剑平,E-mail: ljp_63@yahoo.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20130415.1043.001.html(2013-04-15)