DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.031
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

2.3 新鲜及冻存1周、4周机采血小板表达CD62P和PAC-Ⅰ的情况

见表2。

表2 新鲜及冻存1周、4周机采血小板CD62P和PAC-Ⅰ($\%, \bar{x}\pm s$)

Tab 2 CD62P and PAC-I of the platelet samples at fresh and after 1 or 4 weeks' cryopreservation ($\%, \bar{x}\pm s$)

CD62P(%)			PAC-I(%)		
Fresh platelet products	Cryopreserved for 1 week of platelet-products	Cryopreserved for 4 weeks of platelet-products	Fresh platelet products	Cryopreserved for 1 week of platelet-products	Cryopreserved for 4 weeks of platelet-products
50.72±14.31	30.96±11.02	32.07±9.21	53.23±20.26	22.19±9.90	19.55±10.33

3 讨论

本实验结果显示以DMSO为保护剂－120 ℃深低温保存1周及4周机采血小板平均RR值分别为79.49%±6.14%和74.07%±5.39%,该结果与国外报道[2]相近。血小板形态学的改变直接关系到冻融后血小板的RR值,但形态学改变与血小板功能间的关系尚待进一步研究。冻存1周及4周的机采血小板在超微结构上仍然维持了较好的形态,在外形上尽管出现伪足并向球形转变,但尚未发现空泡样血小板以及血小板互相粘附聚集等严重激活损伤的改变,血小板冻融后形态接近正常,基本结构仍清晰可辨。储存颗粒仍然散布于血小板细胞内,尚未完全进入中央区,储存颗粒仍然可以看到完整的包膜,线粒体完整,DMSO及－120 ℃的深低温保存对血小板的外衣没有造成破坏。据报道[3],低温保存血小板膜表面粘附受体结合能力明显增强,促凝血活性明显提高,即刻止血效果显著。活化血小板与静止血小板相比,其质膜糖蛋白(GP)常发生显著变化,尤其是原来存在于颗粒膜上的GP在质膜上大量表达,成为活化血小板的分子标志物[4~5]血小板被活化时,其颗粒膜与质膜或表面连接小管系统膜融合,颗粒膜蛋白CD62,CD63,GMP-33,LAMP-1和LAMP-2,PAC-Ⅰ等检测表达活化标志物在质膜上表达检测冻存前后血小板CD62P和PAC-Ⅰ的改变可反映血小板活化功能的改变,本实验结果显示CD62P(%)和PAC-Ⅰ(%)均有不同程度的下降趋势,实验提示DMSO除对机采血小板产品有一定的低温保护作用外,对血小板的膜有一定的损害。

多年的临床实践证明,冷冻保存机采血小板不但极大地方便了临床,随用随取,并有良好的止血效果。从减少手术出血和减少各种血液成分的需求方面,冷冻保存血小板明显优于液体保存血小板,就止血效果而言,前者好于后者[6]。

参考文献:

[1] 刘景汉,王青梅,李茨芬,等.血小板低温保存与临床应用研究[J].解放军医学杂志,1998,23(4):293－294.
[2] 刘玉英,欧阳绚林,刘景汉.富含血小板血浆冰冻保存及保存效果的研究[J].第三军医大学学报,2001,23(12):1455－1456.
[3] Barnard M R, MacGregor H, Ragno G, *et al*. Fresh, liquid-Preserved, and cryopreservedn platelets: adhesive surface receptors and membrane procoagulant activity[J]. Transfusion, 1999, 39(8): 880.
[4] Andrews R K, Lopez J A. Molecular mechanisms of platelet adhesion and activation[J]. Int J Biochem Cell Biol, 1997, 29(1): 91.
[5] Metzeiaar M J, Sixma J J, Nieuwenhuis H K. Detection of platelet activation using activation specific monoclonal antibodies[J]. Blood Cells, 1990, 16(1): 85.
[6] Khuri S F, Healey N, MacGregor H, *et al*. Comparison of the effects of transfusions of cryopreserved and liquid-pressrved platelets on hemostasis and blood loss after cardiopulmonary bypass[J]. J thorac Cardiovasc Surg, 1999, 117(1): 172.

(编辑 张大春)

文章编号:1000-5404(2002)09-1069-01

个案与短篇

免疫组织化学染色方法在纤维支气管镜细胞学诊断中的应用

Application of immunohistochemical staining in cytological diagnosis by fibrobronchoscopy

刘丽梅,柳凤轩,段光杰 (第三军医大学附属西南医院病理研究所,重庆 400038)

临床对疑为肺癌患者作纤维支气管镜检测活检或刷片进行病理诊断已广泛开展,但对于刷片细胞学常规HE染色诊断中肺癌分型较为困难。为此,我们应用免疫组织化学方法标记,检测4种抗体在纤维支气管镜刷片细胞的表达,旨在探讨分型意义。

1 材料和方法

1.1 材料

收集临床疑为肺癌的纤维支气管镜刷片42例(每例2张),年龄最大76岁,最小25岁,平均年龄为54.26岁。男女之比为3.57∶1。在做刷片的同时作纤维支气管镜组织活检,常规HE染色。2张刷片,其中一张刷片用4%的多聚甲醛固定10 min,水洗后,行苏木精染色,镜下观察细胞形态,在查见癌细胞或可疑癌细胞的刷片处用DAKO笔画圈,防止抗体流动而引起交叉反应,室温干燥10 min后进行免疫组化染色。另一张刷片做常规HE染色。

1.2 试剂

特异性一抗CK、CK-HMW、CK-LMW、NSE及EnVision试剂盒K4001均购自丹麦DAKO公司。以上试剂均为即用型。

(下转1072页)

作者简介:刘丽梅(1973－),女,四川省通江县人,技师,主要从事病理实验技术方面的研究。电话:(023)68754434

收稿日期:2001-07-20;修回日期:2001-09-10

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

3.3 移民区移民人群肺吸虫感染较高的原因分析

首先，三峡库区的自然地理环境有利于肺吸虫中间宿主的孳生和动物传染源的栖息。从奉节县、巫山县到三峡工程大坝均属于峡谷地区，以高山为主，支流众多，山间溪涧纵横，草木丛生，野生动物种类繁多，属亚热带气候，年平均气温 16℃～20 ℃，这些地理景观为肺吸虫中间宿主的孳生、传染源动物的繁殖和肺吸虫病的流行创造了有利条件。其次，在 3 个移民区移民普遍生活和生产用溪水，很少用自来水。农民、学生阳性构成比最高，这主要与农民、学生卫生意识差有关，有生吃、半熟吃蟹的习惯，从而增加了感染的机会。

3.4 肺吸虫病流行趋势预测与防治策略的制定

三峡水库建成后，水位升高 175 m，支流及溪涧会显著增加，水流更缓慢(可能减缓 60％～80％)，更适宜于肺吸虫中间宿主孳生和保虫动物的繁殖，极有可能发生流行。因此，及早制定防治对策和采取防制措施是必要的。首先，要对移民进行卫生知识宣传和健康教育，让他们了解肺吸虫病的有关医学知识，提高防病意识，并养成不饮用生水、生吃蟹等习惯。其次，彻底治疗病人和患有本病的、且有价值的保虫动物，对无价值的动物可进行焚烧或淹埋，以控制传染源。最后，建议当地有关部门为移民提供自来水，管理好粪便，杀灭痰、粪中虫卵，防止虫卵入水，以切断传播途径。

3.5 加强流行病学调查研究

深入调查肺吸虫的中间宿主和保虫动物，扩大调查的范围，采用多种方法进行调查，如肺吸虫皮试、痰检、粪检和血清免疫学相结合，以提高检出率。同时进行病原学研究，查明虫种。

参考文献：

[1] 阮小明. 为了三峡百万移民的健康[J]. 医学与哲学，1995，16(9)：461－463.

[2] 刘纪伯，刘宗华，易德友，等. 长江三峡地带肺吸虫病流行病学调查[J]. 四川寄生虫防治研究，1988，16(1)：21－24.

[3] 段芸芬，宋昌存，寿干城，等. 酶联免疫吸附试验在肺吸虫病流行病学调查中的应用[J]. 中华流行病学，1986，7(4)：206－208.

[4] 陈佩惠 主编. 人体寄生虫学[M]. 第 4 版. 北京：人民卫生出版社，1999. 96－99.

[5] 詹希美 主编. 人体寄生虫学[M]. 第 5 版. 北京：人民卫生出版社，2001. 129.

(编辑 汪勤俭)

(上接 1069 页)

1.3 方法

PBS 洗后，用 0.1％Triton x-100 内浸 10 min，以增加细胞膜通透性。PBS 洗 3× 5 min，3％H_2O_2 阻断内源性过氧化物酶 10 min。PBS 洗 3× 5 min，滴加特异性一抗，37 ℃ 60 min。PBS 洗 3×5 min，Envision™ 15 min。PBS 洗 3× 5 min，DAB 显色。水洗，苏木精复染，常规封固。

2 结果

42 例临床疑为肺癌作活检和纤维支气管镜刷片细胞学检查中，活检经 HE 染色诊断为鳞状细胞肺癌的有 30 例，2 例腺癌，小细胞肺癌的有 6 例，因组织太少，诊断不能确定类型的有 4 例。细胞学经 HE 染色诊断为鳞状细胞肺癌的有 20 例，2 例腺癌，小细胞肺癌的有 4 例，癌细胞不能确定类型有 16 例。在 42 例纤维支气管镜刷片中用免疫组化染色分型诊断：鳞状细胞肺癌 29 例(高分子量角蛋白染色阳性)，2 例腺癌(低分子量角蛋白染色阳性)，小细胞神经内分泌肺癌 5 例(角蛋白阳性，NSE 阳性)，其余 6 例因细胞成分太少，免疫组化结果对诊断及分型尚不能明确，见表 1。

表 1 42 例肺癌组织学、刷片 HE 及免疫组化染色结果(例)

方法	鳞状细胞肺癌	小细胞肺癌	腺癌	不能确定类型
活检组织 HE 染色	30	6	2	4
支气管刷片 HE 染色	20	4	2	16
免疫组化在刷片上的染色	29	5	2	6

3 讨论

42 例纤维支气管镜刷片的免疫组化的检查结果表明，经免疫组化染色分型与组织学检查基本一致，而且明显优于刷片常规 HE 染色分型，免疫组化染色对肺癌的类型鉴别诊断有实用意义。涂片 HE 染色癌细胞虽有一定的形态特点，但确切分型仍有一定的困难，特别是在涂片中 HE 染色难以确定癌细胞类型，故结合免疫组化染色，可以达到刷片诊断的确切分型，若在纤维支气管镜不做活检的情况，刷片经免疫组化标记明确癌细胞的类型，有利临床治疗和判断预后。该方法简便、快速、经济。

要做好细胞涂片上的免疫组化染色，我们体会和结合文献[1，2]提出：①细胞涂片的质量要高，固定必须及时。②在一张涂片上做两种特异性抗体，为了避免交叉反应，需用记号笔标记区域，如 DAKO 笔。③封闭内源酶要彻底，以防假阳性的出现。④由于细胞涂片背景常有一些粘液残渣，做免疫组化染色时洗涤要充分彻底。⑤用 Triton X-100 预处理细胞，提高膜的通透性，结合 EnVision 法免疫组化技术染色可获得较满意的结果。

关键词：免疫组织化学；染色；诊断
中图法分类号：R446.8；R563.9 文献标识码：B

参考文献：

[1] 孟 刚. 细胞涂片免疫组化染色的一点体会[J]. 临床与实验病理学杂志，1992，8(2)：152.

[2] 沈 明，蒋海鹰. Triton X-100 在培养细胞免疫组化染色中的应用[J]. 临床与实验病理学杂志，1998，14(2)：197.

(编辑 陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net