DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.024
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
1052 2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)-1052-04

斯氏狸殖吸虫囊蚴半胱氨酸蛋白酶 cDNA 片段的克隆和序列分析

王 英,张锡林,段建华,徐文岳 (第三军医大学基础医学部病原生物学教研室,重庆 400038)

提 要:目的 克隆斯氏狸殖吸虫囊蚴半胱氨酸蛋白酶 cDNA 片段,获得其序列,并进行序列分析。方法 利用简并引物,进行 RT-PCR,扩增斯氏狸殖吸虫囊蚴半胱氨酸蛋白酶 cDNA 片段。TA 克隆装入 pUCm-T 载体,进行鉴定、测序;利用 DNASIS 程序推导其所编码的氨基酸序列,并与相关虫种半胱氨酸蛋白酶进行氨基酸序列的同源性分析。结果 RT-PCR 扩增出了一 500 bp 左右的 cDNA 片段,对阳性克隆测序后获得其核酸序列,长 498 bp。推导出的氨基酸序列长 166;氨基酸序列的同源性分析显示,该序列与相关虫种半胱氨酸蛋白酶存在着很高的同源性,组成半胱氨酸催化三联体的半胱氨酸、组胺酸和天冬酰胺残基高度保守。结论 本实验克隆获得了斯氏狸殖吸虫囊蚴半胱氨酸蛋白酶 cDNA 片段。

关键词:斯氏狸殖吸虫;半胱氨酸蛋白酶;cDNA;克隆
中图法分类号:R383.2;R394.3 文献标识码:A

Cloning and sequence analysis of a cysteine protease cDNA fragment from *Pagumogonimus skrjabini*

WANG Ying, ZHANG Xi-lin, DUAN Jian-hua, XU Wen-yue (Department of Pathogenic Biology, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To clone the cysteine proteinase cDNA fragment from *Pagumogonimus skrjabini* metacercarias (PsMCP1), and do the sequence analysis. Methods The cysteine proteinase cDNA fragment was amplified by using reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR) with degenerate oligonucleotide primers. The product was TA-cloned into the pUCm-T vector and sequenced. DNASIS program was used to analyze the nucleotide sequence and deduce the amino acid sequence, which was aligned with the correlated parasite cysteine proteinase afterwards. Results A 498 bp cDNA fragment was amplified with RT—PCR. An amino acid sequence of 166 was deduced by DNASIS. Sequence analysis and alignment showed significant homologies with the correlated parasite cysteine proteinases, and the Cys, His and Asn residues that formed catalytic triad were of high conservation. Conclusion The cysteine proteinase cDNA fragment from *Pagumogonimus skrjabini* metacercaria is obtained in success.

Key words: *Pagumogonimus skrjabini*; cysteine proteinase; cDNA; clone

斯氏狸殖吸虫散在流行于我国四川、重庆等 14 个省市自治区,尤其是三峡库区是该虫的重要流行区,给人们健康和经济建设造成极大的危害。半胱氨酸蛋白酶(Cysteine proteinase)作为寄生虫的主要消化酶之一,在寄生虫的生存及与宿主的相互关系上具有重要的作用[1]。而利用分子生物学手段对寄生虫半胱氨酸蛋白酶 cDNA 进行克隆、分析和表达,是寄生虫半胱氨酸蛋白酶研究的一个重要方法和内容。寄生虫半胱氨酸蛋白酶 cDNA 已有了相关研究,如 Kim 等[2]克隆了卫氏并殖吸虫半胱氨酸蛋白酶的 cDNA,Temesvari 等[3]克隆了溶组织内阿米巴的半胱氨酸蛋白酶 cDNA。斯氏狸殖吸虫作为仅在我国流行的一种吸虫,其半胱氨酸蛋白酶目前有待研究。本实验对斯氏肺吸虫半胱氨酸蛋白酶 cDNA 片段进行了克隆,并通过测序和同源性分析对所克隆的 cDNA 序列进行了分析。

作者简介:王 英(1973—),男,河北省邢台市人,硕士研究生,助教,主要从事吸虫方面的研究。电话:(023)68752243
收稿日期:2001-12-17;修回日期:2002-02-03

1 材料和方法

1.1 标本的采集

从四川省宜宾地区兴文县仙峰镇采集阳性溪蟹,从中检获斯氏狸殖吸虫囊蚴。

1.2 试剂

Tripure RNA 提取液购自 Roch 公司,RT-PCR 试剂盒购自博大泰克公司,DNA 纯化回收试剂盒、pUCm-T 载体和 T4 连接酶购自上海生物工程有限公司,*EcoR* Ⅰ 和 *Hind* Ⅲ购自 Promega 公司,大肠杆菌 DH5α 菌株为我校微生物教研室惠赠。

1.3 引物

简并引物由韩国国家卫生研究所的 Kim 博士惠赠。CYS primer:5′-CA(AG)GG(AGCT)CA(AG)TG(CT)GG(AGCT)TC(AGCT)TG(CT)TGG-3′;ASN primer:5′-CCA(AG)CT(AG)TT(CT)TT(AGCT)AC(AG)ATCCA(AG)TA-3′。

1.4 方法

1.4.1 斯氏狸殖吸虫囊蚴总 RNA 的提取 取 80 只囊蚴在 Tripure RNA 提取液中用玻璃匀浆器匀浆(冰上)。按照 Tripure 的说明书进行虫体总 RNA 的提取。

1.4.2 RT-PCR 及 PCR 产物的纯化回收 以所提总 RNA 为

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

模板, 利用 RT-PCR 试剂盒进行逆转录及 DNA 的扩增。以 Oligo $(dT)_{16}$为引物进行反转录时, 37 ℃水浴 2 h, 95 ℃热变性 5 min。扩增双链 cDNA 时, 94 ℃预变性 5 min, 然后 94 ℃ 1 min、43 ℃ 2 min、72 ℃ 2 min, 共 45 个循环, 最后 72 ℃ 5 min。

1.4.3　pUC 重组质粒的构建、阳性克隆的筛选及目的片段测序

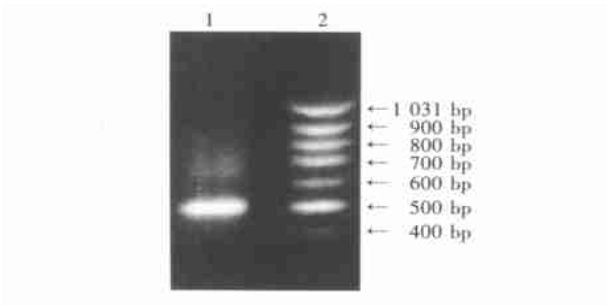
利用 Silver Beads DNA 胶纯化回收试剂盒对 PCR 产物进行纯化, TA 克隆入 pUCm-T 载体, 转入 DH5α 大肠杆菌中, 常规方法筛选出阳性重组子, 用 PCR 方法(以质粒为模板)和 *EcoR* Ⅰ、*Hind* Ⅲ双酶切鉴定阳性克隆后, 委托上海生物工程有限公司测定插入片段的序列。

1.4.4　序列分析　　根据所测的序列, 用 DNASIS 程序推测出目的片段的氨基酸序列。在 GenBank 中进行 Blast 查询。与其它相关虫种半胱氨酸蛋白酶进行氨基酸序列的同源比较分析。在 GenBank 中进行注册。

2　结果

2.1　目的片段的扩增和克隆

以斯氏狸殖吸虫囊蚴总 RNA 为模板进行逆转录, 再用半胱氨酸蛋白酶简并引物进行 PCR, 扩增出一 500 bp 左右的片段, 见图 1, 与理论预测值大小相符, 纯化目的片段, 与 pUCm-T 载体连接, 转化至 DH5α 菌株, 共获得 13 个阳性重组子。



1: Product of PCR; 2: PCR marker

图 1　1%琼脂糖凝胶电泳检测 **PCR** 产物结果

Fig 1　Electrophoresis of PCR product on 1% agarose gel

2.2　目的片段序列测定和分析

随机挑选 3 个白斑, 提取质粒后, PCR 扩增, 见图 2, 和 *EcoR* Ⅰ、*Hind* Ⅲ双酶切鉴定其中之一为阳性克隆, 见图 3, 测序得斯氏狸殖吸虫囊蚴半胱氨酸蛋白酶 cDNA 序列(PsMCP1), 长 498 bp。DNASIS 程序推测 PsMCP1 编码的氨基酸序列, 结果显示 PsMCP1 编码 166 个氨基酸, 见图 4。

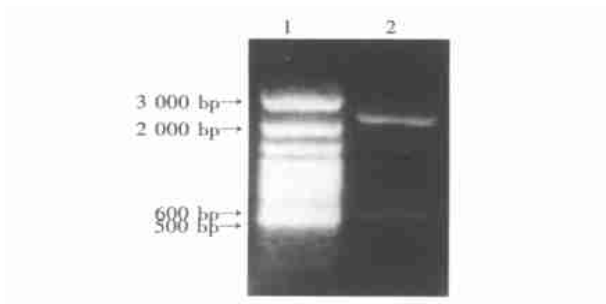
在 GenBank 进行 Blast 查询发现, PsMCP1 为尚未报道的新序列。Genbank 中进行注册, 序列号为 AF430838。利用 DNASIS 程序进行氨基酸序列同源性分析显示, PsMCP1 编码的氨基酸序列与卫氏并殖吸虫半胱氨酸蛋白酶 1(U56865)最相似, 同源性高达 87.3%; 与卫氏并殖吸虫半胱氨酸蛋白酶 2(AF071801)、华支睾吸虫半胱氨酸蛋白酶(AB020036)及日本血吸虫半胱氨酸蛋白酶(U38475)也有很高的同源性, 分别达 58%、59%和 51%。PsMCP1 编码的氨基酸序列中 5 个半胱氨酸残基(Cys, 包括位点 4)和位点 144 的组氨酸(His)、位点 15 的天冬酰胺(Asn)以及位点 48 的甘氨酸(Gly)残基在进行同源性分析的 5 种氨基酸序列间均高度保守, 见图 5。



1: PCR product; 2: PCR marker

图 2　**PCR** 鉴定阳性克隆

Fig 2　Identification of the positive clone with PCR



1: Gene marker; **2**: Product of enzyme digestion

图 3　**Hind** Ⅲ和 **EcoR** Ⅰ 双酶切鉴定阳性克隆

Fig 3　Identification of the positive clone by Hind Ⅲ and EcoR Ⅰ digestion

```
1    CAAGGTCAATGCGGCTCGTTCTGGCATTTTCAACAATCGGTAATGTTGAAGGTCAGTGG     60
1     Q  G  Q  C  G  S  F  W  A  F  S  T  I  G  N  V  E  G  Q  W      20

61   TTCAAGAAGACGGGAACCTCATAGTACTTAGTAAACAACAACTACTAGACTGTGACAAA    120
21    F  K  K  T  G  N  L  I  V  L  S  K  Q  Q  L  L  D  C  D  K     40

121  GTGGATGAAGGTTGTAATGGTGGTTACCCGATGGACGCTTACAAAGAGCTTCAGCGAATG   180
41    V  D  E  G  C  N  G  G  Y  P  M  D  A  Y  K  E  L  Q  R  M     60

181  GGTGGAGTGGAATCACAAAGCACTTATCCATACACTGGAAGACAATCGTCACAATGTTGG   240
61    G  G  V  E  S  Q  S  T  Y  P  Y  T  G  R  Q  S  S  Q  C  W     80

241  TTGGACAAAAATCTGTTTGTCGCCTACCTGAACGATTCAGTGATGCTTCCCAAAGACGAA   300
81    L  D  K  N  L  F  V  A  Y  L  N  D  S  V  M  L  P  K  D  E     100

301  CTGAAACAGGCTGCCTGGCTTGCTGATAATGGTCCTCTAAGTGTTGCCCTCAATGCTGAC   360
101   L  K  Q  A  A  W  L  A  D  N  G  P  L  S  V  A  L  N  A  D     120

361  CAGTTACAATTTTACCGGAGAGGTATTAGCCATCCACCAGAATCTCTCTGTCCTGCATCG   420
121   Q  L  Q  F  Y  R  R  G  I  S  H  P  P  E  S  L  C  P  A  S     140

421  GGATTAAACCAGCGCGTTCTGAGTGTTGGCTACGGTTCGGAGAATGGGACGCCGTATTGG   480
141   G  L  N  H  A  V  L  S  V  G  Y  G  S  E  N  G  T  P  Y  W     160

481  ATCGTAAAAATAGCTGGA                                             498
161   I  V  K  I  A  G                                               166
```

The cDNA fragment of PsMCP1 is 498 bp in length and there are 166 amino acids in the deduced amino acid sequence

图 4　**PsMCP1** 的核酸序列及所编码的氨基酸序列

Fig 4　Nucleotide sequence and deduced amino acid sequence of PsMCP1

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

PsMCP1	————————	————————	————————	————————	QGQCGSFWAF
PwACP1	TLMRNMKNRP	RTRETDVENV	LHIPDSVDWR	SLGAVNPVER	QGACGSCWAF
PwACP2	——M——NDQV—	—ERVRPT—GL	KAAPERMDWR	EWGAVGPVEN	QGACGSCWAF
ScCP	——MRFDGPIV	SEDLTPEEDV	TMDNEKFDWR	EHGAVGPVLD	QGKCGSCWAF
SjL	————————	———IPPRREV	GDIPNNFDWR	EKGAVTEVKN	QGMCGSCWAF
PsMCP1	STTGNVEGQW	FKKTGNLIVL	SKQQLLDCDK	VDEGCNGGYP	MDAYKELQRM
PwACP1	STIGNIEGQW	FRKTGDLIVL	SKQQLVDCDR	VDEGCNGGYP	MDAYNELKRM
PwACP2	SVAGNVEGQW	FLKTGQLVSL	SKQQLVDCDV	MDYGCGGGWP	TNAYMEIMRM
ScCP	SVIGNVVGQW	FRKTGHLLAL	SEQQLVDCDY	LDDGCDGGYP	PQTYTAIQKM
SjL	STTGNIESQW	FRKTGKLLSL	SEQQLVDCDS	LDDGCNGGLP	SNAYESIIRM
PsMCP1	GGVESQSTYP	YTGRQSSQCW	LDKNL—FVAY	LNDSVMLPKD	ELKQAAWLAD
PwACP1	GGVEAQSTYP	YTGRES—QCR	LXDERRFVAY	LNDSVMLPKD	EVKQAAWLAD
PwACP2	GGLELQSDYP	YVGVQQ—QCY	LNKE—KLLAK	IDDLIVLGAY	EEEHAAYLAE
ScCP	GGLELASDYP	YTGVGG—ICH	MDKS—KFVAY	INGSTILPLS	EKVQAQKLRA
SjL	GGLMLEDNYP	YDAKNE—KCH	L—KVGNVAAY	INSSVNLTQD	ESELAIWLYH
PsMCP1	NGPLSVALNA	DQLQFYRRGI	SHPPESLCPA	SGLNHAVLSV	GYGS—ENGTP
PwACP1	NGPLSVALNA	DQLQFYRRGI	SHPPKYLCPA	SGLNHAVLSV	GYGS—ENGTP
PwACP2	HGPLSSALNA	GYLQFYQSGI	SHPSYEECSP	ASLNHAVLTV	GYDT—ENGVP
ScCP	IGPLSSALNA	DTLQLYKGGI	MRPKW——CDP	AGVNHAVLTV	GYGV—QNGKP
SjL	HSAISVGMNA	LLLQFYRHGI	SHPWWIFCSK	YLLDHAVLLV	GYGVSEKNEP
PsMCP1	YWIVK	————————	————————	IAG.	. . . . .
PwACP1	————————	————————	————————	————————	. . . . .
PWACP2	YWIIKNSWGT	GWGENGYFRL	YRGDGTCGIN	RMITSAIIH.	. . . . .
ScCP	YWIVKNSWGE	DFGEEGYFRI	YRGDGTCGIN	SIVTTAIIK.	. . . . .
SjL	FWIVKNSWGV	EWGEKGYFRM	YRGDGTCGIN	TGATSALIY.	. . . . .

PwACP1：Cysteine proteinase from *Paragonimus westermani* adult worms(U56865)；PwACP1：Cysteine proteinase from *Paragonimus westermani* adult worms (AF071801)；ScCP：*Clonorchis sinensis* cysteine proteinase(AB020036)；SjL：*Schistosoma japonicum* cathepsin-L like cysteine proteinase (U38475)

图 5 推导的斯氏狸殖吸虫囊蚴半胱氨酸蛋白酶部分氨基酸序列(**PsMCP1**)与其它已知半胱氨酸蛋白酶氨基酸序列的同源性分析

Fig 5 Alinement of the deduced amino acid sequence of cysteine proteinase of PsMCP1 with those of other known cysteine proteinases

3 讨论

近年来，寄生虫半胱氨酸蛋白酶得到了越来越广泛和深入的研究。半胱氨酸蛋白酶在不同虫种和同一虫种不同期，其免疫源性均有差异，即存在着种特异性和期特异性；因此，寄生虫半胱氨酸蛋白酶可作为寄生虫病的诊断抗原[4]和候选疫苗[5]。半胱氨酸蛋白酶还是寄生虫重要的致病因子，通过抑制半胱氨酸蛋白酶的活性，能够阻断寄生虫的营养来源、入侵及对宿主的损伤，从而达到治疗寄生虫病的目的。作为寄生虫病化学治疗的靶向因子，该酶已有许多相关研究[6,7]。对它的研究不仅有助于揭开寄生虫与宿主相互作用的具体机制，也给寄生虫病的诊断与防治开辟了新的思路。同时给化学治疗所引起的越来越严重的耐药性问题的解决带来了希望。

本实验利用简并引物进行 PCR，克隆了斯氏狸殖吸虫囊蚴的半胱氨酸蛋白酶 cDNA 片段。扩增的 cDNA 片段长 498bp，与理论预测相符，其序列分析显示可编码 166 个氨基酸，编码的氨基酸序列与其他相关虫种的半胱氨酸蛋白酶具有很高的同源性，尤其是与卫氏并殖吸虫半胱氨酸蛋白酶的同源性高达 87.3%。组成半胱氨酸蛋白酶活性中心催化三联体的 His、Cys 和 Asn 高度保守[2]。在 PwACP1 中用于结合底物的 Gly 也出现于 PsMCP1 的相同位置[2]。PsMCP1 氨基酸序列中含有 5 个半胱氨酸残基，且位置与其它半胱氨酸蛋白酶相同，说明本实验克隆的 PsMCP1 基因编码的蛋白质与其它半胱氨酸蛋白酶具有相似的三级结构(Heussler 等，1994)。因此，本研究中克隆的 PsMCP1 应该是该虫半胱氨酸蛋白酶的 cDNA 片段。此研究结果为克隆该虫体半胱氨酸蛋白酶全长序列，并通过表达获得该酶的融合蛋白，从而为下一步的斯氏狸殖吸虫病的免疫诊断、防治和疫苗的研究打下了必备的基础；同时，利用 PsMCP1 作为核酸探针，还可进行该虫半胱氨酸蛋白酶的形态学和基因定位。

参考文献：

[1] Choi M H, Choe S C, Lee S H. A 54 kDa cysteine protease purified from the crude extract of Neodiplostomum seoulense adult worms[J]. Korean J Parasitol, 1999, 37(1): 39—46.

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

[2] Kim T S, Na B K, Park P H, *et al*. Cloning and expression of a cysteine proteinase gene from paragonimus westermani adult worms[J]. J Parasitol, 2000, 86(2): 333—339.

[3] Temesvari L A, Harris E N, Stanley S L, *et al*. Early and late endosomal compartments of Entamoeba histolytica are enriched in cysteine proteases, acid phosphatase and several Ras—related Rab GTPases[J]. Mol Biochem Parasitol, 1999, 103(2): 225—241.

[4] Ikeda T. Cystatin capture enzyme-linked immunosorbent assay for immunodiagnosis of human paragonimiasis and fascioliasis[J]. Am J Trop Med Hyg, 1998, 59(2): 286—290.

[5] Beyrodt C G, Pinto A R, Freymuller E, *et al*. Characterization of an antigen from Leishmania amazonensis amastigotes able to elicit protective responses in a murine model[J]. Infect Immun, 1997, 65(6): 2 052—2 059.

[6] Venturini G, Salvati L, Muolo M, *et al*. Nitric oxide inhibits cruzipain, the major papain-like cysteine proteinase from Trypanosoma cruzi[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2000, 270(2): 437—441.

[7] McKerrow J H. Development of cysteine protease inhibitors as chemotherapy for parasitic diseases: insights on safety, target validation, and mechanism of action[J]. Int J Parasitol, 1999, 29(6): 833—837.

（编辑　张大春）

（上接 1051 页）

例 2, 男性, 23 岁, 发现肝脾大 20 年, 1971 年 9 月因肺炎, 浮肿, 发现肝、脾大住院, 次日出现黄疸, 随后出现腹水, 诊断急性黄疸型肝炎, 肺炎。经治疗, 黄疸、腹水消退, 转氨酶恢复正常。住院期间骨髓检查, 网织细胞比例增高, 不能除外网状内皮细胞系统增生性疾病。于 1972 年 2 月入某院检查, 怀疑尼曼-匹克病, 未予特殊治疗, 此后常患感冒, 并易发生扁桃体炎、肺炎, 易出现皮肤淤斑, 流鼻血。无黄疸、腹水及呕血、便血史。曾多次因肺炎、感冒住外院治疗。1978 年 6 月因肺炎住院治疗, 当时肝脾大, 经 B 超、骨髓涂片检查, 怀疑尼曼-匹克病。近日因肝脾肿大, 来我院就诊, 门诊以肝脾大待诊收入院。

查体: 发育明显迟缓, 轻度贫血, 皮肤无黄染, 全身表浅淋巴结不肿大, 心肺无异常, 肝肋缘下 2 cm, 质中, 无明显触痛, 脾肋下 23 cm, 质中, 下极位于髂前上棘下 2.5 cm, 脾上极在腋下线第 7 肋间, 肝上界位于右锁骨中线第 4 肋间。血红蛋白 101 g/L, 白细胞 3.1×10^9/L, 红细胞 3.48×10^{12}/L, 血小板 64×10^9/L, 肝功、两对半阴性, B 超示、肝、脾大, 肝硬化、脂肪肝, 门脉高压。骨髓涂片, 骨髓增生明显活跃, 涂片见大量散在或成堆的组织细胞, 大小 20~70 μm, 圆形、不规则形, 部分呈多角形, 胞质红染丰富。

大体检查: 切除的脾脏组织, 大小为 10 cm×6.5 cm×5 cm, 切面灰红色, 质中等。肝脏: 灰红色绿豆大小组织一块。

光镜检查: 脾脏组织, 脾小体显著减少, 脾小梁略示增粗, 脾窦轻度扩张, 脾窦、脾索内大量的泡沫细胞, 细胞圆形、偏位, 胞质空泡状。肝脏组织肝细胞气球样变, 肝窦汇管区内见有泡沫样细胞。

细胞组织化学染色: 姬姆萨染色胞质内见少量蓝色颗粒, PAS 染色呈弱阳性。

诊断: 脾原发性贮脂性疾病(考虑为海蓝组织细胞综合征)。

讨论

海蓝组织细胞综合征(Sea-blue histocytic syndrome, SBH)也称海蓝组织细胞增生症, 由 Sawitsky 等[1] 于 1954 年首先报道, 属于分化良好型组织细胞瘤。SBH 属染色体隐性遗传脂质代谢障碍性疾病, 以骨髓、肝、脾等脏器的海蓝组织细胞浸润为主要特征。大多由于脂质代谢过程中某些酶的遗传性缺少, 使原来能被该酶分解的某些类脂质沉积在网状内皮系统中, 呈现充脂性组织细胞增殖。

本病分三类, 即原发性, 原发性家族性和继发性海蓝组织细胞综合征。家系调查符合常染色体隐性遗传性疾病的, 称为原发性家族性海蓝组织细胞综合征, 完全排除继发因素, 又无明显遗传倾向的, 称为原发性海蓝组织细胞综合征, 继发于某些疾病, 如β-地中海贫血, 白血病, 尼曼-匹克病等, 称为继发性海蓝组织细胞综合征[2,3]。

海蓝组织细胞形态根据胞内颗粒和泡沫状物多少可分为 4 型: Ⅰ型(颗粒型 SBH): 胞质内充满大小不等的深蓝色颗粒。Ⅱ型(泡沫型 SBH): 胞质内呈泡沫状, 胞壁较厚, 无色或个别区域染成粉红色, 内含红色至浅紫色或深紫色物质。Ⅲ型(颗粒泡沫型 SBH): 介于Ⅰ~Ⅱ型之间的中间型, 在泡沫状胞质中有数量不等的蓝色或深蓝色颗粒。Ⅳ型(退化型 SBH): 系Ⅱ~Ⅲ型 SBH 衰老退化形成, 该型胞质不清楚, 胞核结构模糊。电镜观察可将细胞分为三种类型。Ⅰ型: 为粗颗粒型海蓝色组织细胞, 此型细胞特征中细胞质内充满团块状的单膜包裹的颗粒, 大小不一, 颗粒内电子密度较低, 有散在高电子密度的斑块, 高倍放大下可见颗粒内容物为细绒丝状结构, 有的颗粒内细绒状结构围着致密斑块呈同心圆排列。Ⅱ型细胞具有骨髓巨核细胞的超微结构特征, 胞质内除有丰富的内质网和泡状结构及一定数量的类血小板颗粒外, 亦含有一定数量的单膜包裹的大小不一的颗粒, 颗粒内为一种无定形的半透明胶状物, 其中散在有数量不等的高电子密度块状物质。Ⅲ型细胞具有浆细胞超微结构特征, 核偏位, 胞质内充满异常扩张的粗面内质网, 其细胞形状极不规则, 胞质散在有高电子密度团状物质[2]。

我们的两例病人临床特点主要为肝脾肿大, 血小板减少, 黄疸等症状。骨髓涂片检查发现海蓝组织细胞, 与文献[3]报道一致。此外, 眼底检查, 其中 1 例眼底黄斑区有白色环。其临床特点均支持海蓝组织细胞综合征诊断。

本病是一种脂质蓄积性疾病, 需与其它类型的脂质蓄积性疾病进行鉴别, 如高雪病、尼曼-匹克病。在鉴别诊断时, 通过活体组织检查, 观察细胞特征, 另外用姬姆萨染色, PAS、类脂及苏丹Ⅲ染色, 海蓝组织细胞综合征, 姬姆萨染色胞质内有特异性海蓝颗粒, PAS 及苏丹Ⅲ染色均阳性。

本病尚无特殊治疗, 多数学者提出脾切除对本病人较好效果, 可使血小板迅速恢复正常, 减轻症状, 预后多数呈良性经过, 年龄越小预后越差。少数患者病情发展, 可因肝脏功能衰竭, 胃肠道大量出血而死亡[4]。

关键词: 海蓝组织细胞综合征
中图法分类号: R589.2　　文献标识码: B

参考文献:

[1] Sawitsky A. An unidentified reticuloendetholial cell in bone and spleen: Report of 2 cases with histochemic studies[J]. Blood, 1954, 9: 987.

[2] Marschall H U. "Sea blue histiocyte" syndrome[J]. Dtsch Med Wochenschr, 2000, 125(39): 1 178.

[3] Hiayama Y, Kohda K, Andoh M, *et al*. Syndrome of the sea-blue histiocyte[J]. Intern Med, 1996, 35(5): 419—421.

[4] Fadilash S A, Mazeni N R, Cheong S k. Successful pregnancy in a patient with familial sea-blue histiocyte syndrome[J]. Med J Malaysia, 2000, 55(4): 510—512.

（编辑　王　红）

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