DOI:10.16016/j.1000-5404.2002.09.042
第24卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 24, No. 9
1092 2002年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2002

论著

文章编号:1000-5404(2002)09-1092-03

35例新生儿肝炎综合征血浆α_1-ACT变化及其临床意义初探

尹晓娟 (第三军医大学附属西南医院儿科,重庆 400038)

提 要:目的 探讨新生儿肝炎综合征的遗传发病机制,为防治新生儿肝炎综合征提供理论基础。方法 应用火箭免疫电泳法测定35例肝炎综合征新生儿患儿、31例健康新生儿和46例成人(成人对照组30例,患儿父母16例)血浆α_1-抗糜蛋白酶(α_1-ACT)水平,对新生儿肝炎综合征患儿急性发病期、临床痊愈期以及健康新生儿血浆α_1-ACT水平的变化进行比较,经家系调查,筛查出先天性α_1-ACT缺陷。采用全自动生化分析仪检测了先天性α_1-ACT缺陷患儿急性发病期血清的总胆红素(TB)、直接胆红素(DB)、丙氨酸氨基转移酶(ALT),用相关分析法在α_1-ACT缺陷患儿中评估α_1-ACT与血清TB、DB、ALT的关系。结果 新生儿肝炎综合征患儿急性发病期血浆α_1-ACT水平(0.3 855±0.122 g/L)显著高于临床痊愈期(0.2 527±0.072 g/L)(t=5.55, P<0.001),也显著高于儿童对照组(0.2 500±0.0 442 g/L)(t=5.854, P<0.001),新生儿肝炎综合征患儿临床痊愈期血浆α_1-ACT水平(0.2 527±0.072 g/L)与正常对照组则无显著性差异(0.2 500±0.0 442 g/L)(t=0.181, P>0.05)。35例患儿中8例血浆α_1-ACT缺陷,经家系调查,5(5/8)例确定为先天性α_1-ACT缺陷。5例先天性α_1-ACT缺陷的患儿在急性发病期血浆α_1-ACT水平与其血清TB、DB、ALT水平成显著的负相关(r分别为-0.933,-0.884,-0.822, P<0.05)。结论 先天性α_1-ACT缺陷可能是新生儿肝炎综合征发病的遗传机制之一;血浆α_1-ACT水平可作为监测病情、估计病情轻重的参考。

关键词:肝炎综合征;新生儿;α_1-抗糜蛋白酶
中图法分类号:R446.112;R725.751 文献标识码:A

Alteration of plasma α_1-antichymotrypsin in neonatal hepatitis syndrome and its clinical significance

YIN Xiao-juan (Department of Pediatrics, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To investigate the hereditary pathogenesis of neonatal hepatitis syndrome in order to provide a theoretical basis for prevention and treatment of neonatal hepatitis syndrome. Methods Plasma α_1-ACT levels were tested by rocket immunoelectrophoresis in 35 patients with hepatitis syndrome, 31 healthy neonates and 46 healthy adults (including 30 control adults and 16 parents of patients). Plasma α_1-ACT levels were compared between illed and health children. Based on family studies, congenital α_1-ACT deficiency was determined. Total bilirubin(TB), direct bilirubin(DB) and alanine aminotransterase (ALT) were tested with automatic biochemical instrument among patients with congenital α_1-ACT deficiency. A relative analysis was carried out between α_1-ACT and TB, DB, and ALT. Results Plasma α_1-ACT levels in acute period of disease group were higher than that in clinically curative period of disease group [(0.385 5±0.122 0) *vs* (0.252 7±0.072 0), t=5.55, P<0.001] and in childhood control group [(0.385 5±0.250 0) *vs* (0.250 0±0.044 2), t=5.854, P<0.001]. No difference was found in plasma α_1-ACT levels between clinically curative period of disease group and childhood control group [(0.252 7±0.072 0) *vs* (0.250 0±0.044 2), t=0.181, P>0.05]. Eight of 35 had α_1-ACT deficiency, and on the basis of family studies, 5 of 8 were classified as congenital α_1-ACT deficiency. Among these patients with congenital α_1-ACT deficiency, there was an obvious negative correlation between TB, DB, ALT in serum and plasma α_1-ACT in acute period (r=-0.933, -0.884, -0.822 respectively, P<0.05). Conclusion Congenital α_1-ACT deficiency may be one of the hereditary pathogenesis in neonatal hepatitis syndrome. Measurement of plasma α_1-ACT level may be of some help to determine the state of the illness and evaluate its severity in neonatal hepatitis syndrome.

Key words: hepatitis syndrome; neonate; α_1-antichymotrypsin

新生儿肝炎综合征是由多种病因所致的,以黄疸、肝脾肿大、肝功能损害为主要表现的综合征,病因及发病机制复杂。为进一步研究本病的遗传发病机制,为防治新生儿肝炎综合征提供理论基础,本研究对35例新生儿肝炎综合征患儿血浆α_1-ACT水平变化进行了观察,旨在探讨其临床意义。

作者简介:尹晓娟(1966-),女,湖南省邵阳市人,博士研究生,主治医师,讲师,主要从事α_1-抗糜蛋白酶遗传缺陷在中国人发病中的作用研究,发表论文14篇。电话:(023)68754414

收稿日期:2001-07-19;修回日期:2001-11-10

1 材料与方法

1.1 研究对象选择

1996年12月至2000年2月收治的汉族新生儿肝炎综合征患儿35例作为疾病组,男20例,女15例,年龄0.1~20 d(4.74±5.56) d;临床诊断均符合临床儿科学中提出的临床拟诊条件[1]。所有病例均以综合治疗、补充维生素类、退黄、保肝治疗以及酌情予以抗细菌、抗病毒、抗原虫等治疗。以一般情况、食欲及精神良好,黄疸完全消退,体重增加,肝功能全部恢复正常以及肝脾回缩到正常或接近正常范围为临床治愈。选择健康汉族新生儿31例作为儿童对照组,男17例,女14例,年龄0.3~19 d(4.61±5.41) d;汉族健康献血员30例作为成人对照组,

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

男女各半。8 例血浆 α_1-ACT 缺陷的患儿父母 16 例。

1.2　方法

1.2.1　样本采集　　所有血样本均为清晨空腹时采集, 标本不溶血, 每份样本装两管, 一管装血清 2.5 ml, 用于待检血清胆红素及 ALT; 一管装血浆 0.5 ml(ACD 液抗凝), 用于检测血浆 α_1-ACT 含量; −20 ℃冰箱保存待测。患儿入院时采第一次血, 患儿临床痊愈出院时采第二次血, 对照组仅采一次血。用于家系调查的 16 份血浆样本采自疾病组的 8 个家庭的父母。

1.2.2　血浆 α_1-ACT 水平测定　　根据 Laurell S 方法及我们报道的血浆 α_1-ACT 检测方法加以综合改良[2]。1.3 克琼脂糖用 0.03 mol/L 巴比妥钠-盐酸缓冲液(pH8.6)溶解配成 1.3% 凝胶液, 1.3% 琼脂糖凝胶液含 1∶200(v∶v)稀释的兔抗人抗血清, 然后将胶液迅速泼在 19 cm× 9 cm 的玻板上, 胶液凝固后在离阴极 2 cm 水平迅速打孔 30 只, 血浆用生理盐水按 1∶10 稀释, 每孔加样 5 μl, 玻板上 6 孔加入不同稀释度的血浆 α_1-ACT 蛋白标准品, 5 μl 中分别含 α_1-ACT 0.375、0.25、0.20、0.125、0.06、0.03 μg。CBBR 250 染色, 根据峰高及已知 α_1-ACT 含量作标准曲线, 由标准曲线求被测样本血浆中 α_1-ACT 含量。

1.2.3　TB、DB、ALT 测定　　采用瑞士罗士公司 COBAS FARA-2 型全自动生化分析仪, 试剂采用日本第一化学药品株式会社提供的全自动酶法分析试剂盒。

1.2.4　统计学方法　　测定值用 $\bar{x}\pm s$ 表示, 两样本均数定量值比较用 t 检验; 对 α_1-ACT 与 TB、DB、ALT 进行相关分析。

2　结果

2.1　新生儿肝炎综合征组与正常对照组血浆 α_1-ACT 水平的变化

从表 1 看出, 新生儿肝炎综合征发病期与临床痊愈期 α_1-ACT 水平明显高于正常对照组, 且发病期 α_1-ACT 明显高于临床痊愈期。

表 1　新生儿肝炎综合征组血浆 α_1-ACT 水平的变化(g/L, $\bar{x}\pm s$)

Tab 1　Changes of plasma α_1-ACT levels in neonatal hepatitis syndrome(g/L, $\bar{x}\pm s$)

Group	n	α_1-ACT	t
Disease			
Attack period(A)	35	0.3855±0.122	5.550 * 5.854 ▽
Cure period(B)	35	0.2527±0.072	0.181 △
Control (C)	31	0.2500±0.0442	

▽: $P<0.001$ *vs* C;　*: $P<0.001$ *vs* B;　△: $P>0.05$ *vs* C

2.2　α_1-ACT 缺陷症

35 例患儿中, α_1-ACT 含量低于正常对照组 $\bar{x}$-2s 以下者 8 例。1 例死于肝昏迷, 父母 α_1-ACT 水平正常, 2 例随病情好转 α_1-ACT 水平恢复正常。此 3 例为继发性 α_1-ACT 缺陷。余 5 例临床痊愈后 α_1-ACT 水平仍持续低下, 经家系调查, 其父母一方 α_1-ACT 含量亦低于成人对照组的 $\bar{x}$-2s, 且家族中有“肝炎”、“肝硬化”、“肝癌”等病史, 由此确定为先天性 α_1-ACT 缺陷。

2.3　α_1-ACT 与 TB、DB、ALT 相关性分析

5 例确定为先天性 α_1-ACT 缺陷的患儿发病期血浆 α_1-ACT 水平与血清 TB、DB、ALT 之间均呈显著负相关, r 依次为 −0.933, −0.884, −0.822, $P<0.05$。

3　讨论

α_1-ACT 与 α_1-AT 同属于丝氨酸蛋白酶抑制剂超家族成员, 基因相邻并定位于染色体 $14q^{31-32.3}$, 它们不仅在基因排列及氨基酸顺序上具有高度的同源性, 而且显示出十分相似的蛋白酶抑制功能。它们的靶酶为中性粒细胞释放的弹性蛋白酶及组织蛋白酶 G, α_1-ACT 还能抑制肥大细胞食糜酶(Chymase)。二者遗传缺陷可导致肺泡弹性蛋白过度水解而发生哮喘、慢性支气管炎及肺气肿; 在肝中贮积而发生慢性肝病, 在瑞典人群中 α_1-ACT 缺陷症的基因频率为 0.003, 遗传方式为常染色体显性遗传[3]。迄今为止, 众所周知, α_1-ACT 遗传缺陷为新生儿肝炎综合征发病的因素之一, α_1-ACT 是否为新生儿肝炎综合征发病的因素无人评估。α_1-ACT 主要在肝脏中合成, 也可在肺泡巨噬细胞、神经胶质细胞、人的乳腺和前列腺上皮细胞以及其他细胞中合成, 再分泌进入血液循环及相应的局部组织, 尤其在支气管液中的浓度较高。α_1-ACT 作为蛋白酶抑制剂, 特异性地灭活蛋白水解酶的水解作用, 使机体组织免遭蛋白水解酶的水解; 同时 α_1-ACT 作为一种主要的急性相反应蛋白, 在急性炎症、应激和外科手术时, 它的血浆浓度在 8 h 内可增加到正常的 4 倍, 这种血浆浓度的增加主要是由于它的合成增加, 可能的机制是 α_1-ACT 与组织蛋白酶 G 的复合物首先刺激 IL-6 合成, 后者进一步促进 α_1-ACT 的合成[3]。本研究检测 35 例新生儿肝炎综合征患儿和 31 例正常新生儿血浆 α_1-ACT 水平, 疾病组急性发病期血浆 α_1-ACT 含量显著高于临床痊愈期及正常对照组, 而临床痊愈期与正常对照组无显著差异, 这主要是由于 α_1-ACT 属于急性相反应蛋白, 如果新生儿肝炎综合征发病是由于病毒或细菌感染所致者, 可使血浆 α_1-ACT 增高, 随着病情的好转乃至临床痊愈, 血浆 α_1-ACT 又恢复至正常水平, 与文献报导相一致[3], 此结果提示 α_1-ACT 水平参与了新生儿肝炎综合征发病的病理生理过程。通过对 5 例先天性 α_1-ACT 遗传缺陷患者在疾病发病期血浆 α_1-ACT 水平变化的观察研究, 发现其血浆 α_1-ACT 水平与血清总胆红素、直接胆红素以及丙氨酸氨基转移酶呈显著的负相关, 即血浆 α_1-ACT 水平越低, 肝功能损害越重, 此结果提示血浆 α_1-ACT 水平可作为监测病情、估计病情轻重的参考。

35 例患儿中, 对 8 例 α_1-ACT 水平低于正常对照组 $\bar{x}$-2s 者进行了追踪观察及家系调查, 3 例确定为继发性 α_1-ACT 缺陷, 可能是由于肝细胞损害严重, α_1-ACT 合成和分泌减少所致, 5 例确定为先天性 α_1-ACT 遗传缺陷, 属单基因遗传的常染色体显性遗传, α_1-ACT 水平低下, 仅父母一方中有阳性家族史。迄今为止, 用基因分析方法仅发现一种 α_1-ACT 缺陷突变体与慢性肝

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

病相关联，这种突变体血浆 α_1-ACT 浓度低于正常人的 65%，基因分析显示 α_1-ACT 基因 exon Ⅲ存在点突变 Pro229→Ala(CCT→GCT)[5,6]，而有关先天性 α_1-ACT 遗传缺陷在新生儿肝炎综合征中的研究，国内外尚未见报道，此结果提示 α_1-ACT 遗传缺陷可能是新生儿肝炎综合征发病的遗传机制之一，而有关此 5 例先天性 α_1-ACT 遗传缺陷的基因结构如何有待于进一步对其进行基因分析。

本研究是初步的，要想更多地理解 α_1-ACT 遗传缺乏与新生儿肝炎综合征发病的关系，有待于更进一步的探讨。

参考文献：

[1] 廖清奎 主编. 临床儿科学[M]. 天津：天津科学技术出版社，2000.
[2] 尹晓娟，李为明，魏红光，等. 儿童哮喘 α_1-抗糜蛋白酶杂合缺失研究[J]. 第三军医大学学报，2000，22(4)：318－320.
[3] 尹晓娟，李为明. α_1-抗糜蛋白酶结构功能与疾病相互关系的研究新进展[J]. 国外医学遗传学分册，2000，23(1)：27－29.
[4] Cox D, Hoeppner V H, Levison H. Protease inhibitors in patients with chronic obstructive pulmonary disease: the α_1-antichymotrypsin heterozygote controversy[J]. Am Respir Dis, 1976, 113(3): 601－606.
[5] Elzouki A N, Verbaan H, Lindqren S, *et al*. Serine protease inhibitors in patients with chronic viral hepatitis[J]. J Hepatol, 1997, 27(1): 42－48.
[6] Verbaan H, Widell A, Bondeson L, *et al*. Factors associated with cirrhosis development inchronic hepatitis C patients from an area of low prevalence [J]. J Vital Hepatol, 1998, 5(4): 43－51.

（编辑 郭建秀）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2002)09-1094-01

头颈部薄层冰冻断层标本的制作及应用

Preparation and application of the thin ice-section of the head and neck

邱明国，张绍祥，刘正津，谭立文 （第三军医大学基础医学部解剖学教研室，重庆 400038）

高分辨率 CT、MRI 和 ECT 等现代医学影像技术在头颈部疾病的诊断治疗中广泛应用，其扫描层厚已可达到 1 mm。但由于断面切片技术的限制，目前国内制作的头颈部断层标本均在 10 mm 左右[1,2]。为了满足临床发展及科研需要，我们采用国产 G4030 型钢材锯切机制作头颈部冰冻薄层断层标本，就有关制作方法及应用作一简要报道。

1 材料与方法

1.1 选材

选择经福尔马林常规防腐固定的正常成人尸体 15 具，使用时用手锯自颈根部锯断，并根据标本大小制作一长方形塑料盒，大小约 50 cm×40 cm×30 cm，将所取头颈部标本放入盒内并摆正方位，使其听眦线平面与水平面平行，然后用水淹住标本，置于－40℃低温冰箱中，冰冻 1 周左右。如果需要进行三维重建，可在冰冻包埋前分别在冰盒两侧放置一根有色胶管用于定位。

1.2 锯制

使用湖南机床厂生产的 G4030 型钢材锯切机，该机性能良好，稳定性佳，安全性高。锯切时，先调试好机器，再将冰盒拆开取出冰冻标本，将其置于载物台上并固定。根据需要选择好锯切厚度（一般以 2～3 mm 为佳），启动电源即可自动进行锯切，可随时调节锯切速度。锯切时，如果室温较高导致冰块表面融化，可进一步固定或再次冰冻后锯切。如果需要作三维重建时，可在标本锯面的正前方放置一数码相机并调试好，每锯下一层后，用数码相机自动拍摄下一层的断面图像，最后将数字图像转入计算机工作站进行重建。

1.3 冲洗与保存

先将冰冻断层标本放在平整的塑料板或瓷砖上，室温中用流水冲去锯屑及标本周围冰渣，同时可用大小不同的毛刷轻轻刷洗。然后对每个断层进行编号，用塑料薄膜覆盖标本表面，由于断层标本较薄，可将其连同塑料板一起平放在标本架上，或者将 5～6 个断层标本重叠置于固定液中保存。

2 结果

我们已经锯制头颈部横、冠、矢状薄层冰冻断层标本各 5 套，全部冰冻切片的平均厚度约为 3.0 mm，厚薄基本一致，锯耗约为 0.8 mm。断层标本锯面平整光滑，解剖结构清楚、连续性好。在横、冠、矢状冰冻断层切片上，均可以清楚辨认颅底骨质及毗邻结构，头颈部重要血管和神经显示良好，对蝶鞍区、岩斜区、颈静脉孔区、颞下窝及耳鼻咽喉区的细微结构、颈部筋膜及间隙显示也较清楚。

3 讨论

制作断层标本过去多使用木工带锯[1,2]，其稳定性较差，断层标本厚薄不一，锯耗较大，且操作时比较危险。另外，由于头

（下转 1096 页）

基金项目：国家杰出青年基金资助项目(39925022)
作者简介：邱明国(1970－)，男，四川省南部县人，博士，讲师，主要从事断层解剖方面的研究，发表论文 10 余篇。电话：(023) 68752225
收稿日期：2001-09-10；修回日期：2002-01-25

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