

# 原发性肾病综合征患儿外周血 CD62p 的表达及临床意义

王莉 汪翼 曹修岩 谈钰贞 孙书珍 陈星 (山东省立医院 山东济南 250021)

CD62p 又称  $\alpha$  颗粒膜蛋白(GMP-140)、P 选择素(P-selectin),是分子量为 140KD 高度糖基化的跨膜糖蛋白,存在于血小板  $\alpha$  颗粒和血管内皮细胞棒管状小体(Weibel-Paladebody)内。静止的血小板和内皮细胞表面基本不表达 CD62p,当它们受到刺激活化后, $\alpha$  颗粒释放 CD62p 于血小板膜表面;Weibel-Palade 小体迅速与质膜融合,在内皮细胞表面表达 CD62p,同时释放入血增多,故 CD62p 被作为血管内皮细胞和血小板活化的分子标志物<sup>[1]</sup>。SegawaC<sup>[2]</sup>等研究发现在增生性肾炎患者的肾组织和外周血中 CD62p 表达增强,Tipping 等<sup>[3]</sup>报道实验性抗肾小球基底膜肾炎小鼠肾组织中 CD62p 表达上调,但有关 CD62p 在原发性肾病综合征(PNS)外周血中的表达甚少报告。2002 年 7 月至 2003 年 7 月,我们利用流式细胞仪检测了 35 例 PNS 患儿外周血 CD62p 的表达,旨在探讨其临床意义。

## 1 资料与方法

1.1 临床资料 在山东省立医院儿科住院、资料齐全 PNS 患儿 35 例为观察组,其中男 24 例,女 11 例;年龄 3~11 岁,平均 5.7 岁;病程 4 天~3 年,平均 1.2 年。24 小时尿蛋白定量( $4.13 \pm 0.69$ )g,血浆白蛋白(A)( $19.92 \pm 6.05$ )g/L,胆固醇(CH)( $8.93 \pm 1.58$ )mmol/L。35 例均符合全国儿科肾脏病科研协作组(1981 年)修定的诊断标准,均采用强的松常规治疗。选择 28 例健康儿童作为对照组,男 19 例,女 9 例;年龄 3~12 岁,平均 5.9 岁。

1.2 检测方法 ①外周血 CD62p 测定:采用单克隆抗体、鼠抗人 CD62p-PE,阴性对照抗体、羊抗鼠 IgG<sub>1</sub>-PE。所有观察对象取晨空腹 EDTA 抗凝血 2ml,800r/min 离心 5 分钟,取上层血清即为静脉血多血小板血清(RPS),调整血小板数为  $1 \times 10^6$ /ml 备用。取 100 $\mu$ lRPS 分别加入 2 支试管内,再加入 CD62p-PE 及 IgG<sub>1</sub>-PE 各 20 $\mu$ l,避光反应 30 分钟,PBS 洗涤 2 次,用流式细胞仪检测,使变异系数在 2%以内,上机测试。待患儿 2 周内连续 3 次尿蛋白阴转后再重复上述检查。②部分凝血指标测定:取晨空腹肝素抗凝血 2ml,胶乳法测定 D-二聚体(D-D);另取抗凝血 2ml,采用全自动血凝仪检测纤维蛋白原

(Fib)、凝血酶原时间(PT)。

1.3 统计学处理 数据均采用  $\bar{x} \pm s$ ,组间比较采用 *t* 检验,CD62p 与其他观测指标相互关系采用直线相关分析。由 Stata4.0 统计软件进行处理。

## 2 结果

2.1 PNS 患儿外周血 CD62p 表达水平 见表 1。

表 1 PNS 患儿外周血 CD62p 表达水平(% ,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	CD62p
观察组		
活动期	35	$14.05 \pm 7.01^{**}$
缓解期	28	$4.95 \pm 2.18^*$
对照组	28	$2.76 \pm 1.43$

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ;与缓解期比较,\*\* $P < 0.01$

2.2 PNS 患儿血 D-D、Fib、PT 检测结果 见表 2。

表 2 PNS 患儿部分凝血指标检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Fib(g/L)	D-D(mg/L)	PT(s)
观察组	35	$6.11 \pm 1.78^{**}$	$0.62 \pm 0.28^*$	$12.87 \pm 2.94$
对照组	28	$3.21 \pm 0.39$	$0.35 \pm 0.13$	$12.58 \pm 3.10$

注:与对照组比较,\* $P < 0.05$ ,\*\* $P < 0.01$

2.3 PNS 患儿外周血 CD62p 与各指标间单因素相关分析 CD62p 与血浆白蛋白呈负相关( $r = 0.7770$ ,  $P < 0.01$ ),与血胆固醇、D-二聚体、Fib 及 24 小时尿蛋白呈正相关( $r$  分别为 0.6221、0.6822、0.5914、0.8368,  $P$  均  $< 0.05$ )。

## 3 讨论

本文检测结果表明,PNS 患儿血液中血小板表达的 CD62p 显著高于正常健康儿童,提示 PNS 患儿体内血小板和内皮细胞处于高度激活状态。随着临床症状改善,尿蛋白消失,血 CD62p 水平显著下降。本文还发现,CD62p 在外周血的表达量与血浆胆固醇、24 小时尿蛋白定量呈正相关,与血浆白蛋白含量呈负相关,提示 CD62p 的表达水平与临床病情变化密切相关,可能参与了 PNS 的发病过程。血小板活化时,可能通过 CD62p 调节血小板、内皮细胞与中性粒细胞、单核细胞等多种细胞的粘附,亦可能介导血小板及与之相互作用的单核细胞、巨噬细胞和 T 淋巴细胞等分泌大量的正电荷和炎症蛋白,中和了肾小球基底膜(GBM)固定的负电荷;或分泌炎症蛋白对

GBM 的负电荷物质产生酶性降解作用、引起肾内血流动力学改变,以致 GBM 对蛋白质的通透性增加,使尿蛋白增多<sup>[4]</sup>。Tipping 等用抗 CD62p 单克隆抗体治疗抗 GBM 肾炎小鼠,可显著抑制肾小球内中性粒细胞的浸润,并能进一步减少纤维蛋白的沉积,从而减轻蛋白尿。由此可见,CD62p 在肾病患者外周血的表达上调与肾病时的病理损伤密切相关。

高凝状态是 PNS 患儿最为普遍的继发性改变。儿童肾病在高凝状态的基础上,不仅可导致激素治疗无效,而且可合并肾小球毛细血管内凝血甚至肾静脉血栓(RVT)形成,造成肾功能恶化,最终发展至终末期肾病(ESRD)。因此及时发现 PNS 患儿血液的高凝状态,有助于预测血栓形成及其降低栓塞、尤其是肾静脉栓塞并发症的发生,指导临床抗凝药物的合理应用。目前已经认识到血小板功能的变化是导致 PNS 高凝状态的因素之一。本文采用单克隆抗体(McAb)经流式细胞仪检测表面有活化标志物的血小板数量,可快速、灵敏、精确地反映血小板的活化程度和功能状态<sup>[5]</sup>。我们检测结果亦显示 PNS 患儿血小板处于活化状态,粘附、释放功能增强。同时发现 PNS 患儿 D-D、Fib 显著增高,而血浆 CD62p 水平与血浆 Fib、D-D 含量呈直线正相关。Fib 是机体重要的凝血因子,其含量增高表明机体凝血功能亢

进;而 D-D 是纤维蛋白经纤溶酶水解产生的一种特异性降解产物,其含量增高提示本病存在肾微血管内凝血及继发纤溶过程。二者均为肾病高凝状态的指标,其灵敏性高于 PT。血浆 CD62p 水平与 Fib、D-D 含量密切相关,表明 CD62p 作为血小板和内皮细胞活化的特异标志,同时还与 PNS 患儿高凝状态有关。以 CD62p 为指标观察和鉴别 PNS 患儿体内血小板和内皮细胞激活状态,对 PNS 高凝状态及血栓形成的监测具有十分重要的意义,同时可为临床应用抗凝和抗血小板聚集治疗提供帮助。

#### 4 参考文献

- 1 Mcever RP. GMP-140, a receptor for neutrophils and monocytes on activated platelets and endothelium. *J Cell Biochem*, 1991, 45:156~161.
- 2 Segawa C, Wada T, Takaeda M, et al. In situ expression and soluble form of P-selectin in human glomerulonephritis. *Kidney Int*, 1997, 52(4):1054.
- 3 Tipping PG, Huang XR, Berndt MC, et al. A role for P selectin in complement-independent neutrophil-mediated glomerular injury. *Kidney Int*, 1994, 46(1):79.
- 4 Oda T, Kimura M, Hishida A, et al. Cell-to-cell interaction is required to induce proteinuria in situ immune complex glomerulonephritis. *J Lab Clin Med*, 1998, 132:112~123.
- 5 白晓玲,孙晓明,姚慧,等.流式细胞仪检测肾病综合征患儿血小板活化程度. *中华儿科杂志*, 1999, 37(8):512. (2003-09-15 收稿)

## · 消息 ·

### 山东省机械通气研讨会征文通知

近年来,机械通气发展迅速,其在急危重患者的抢救中发挥了非常重要的作用。为了学习并交流机械通气应用的经验,解决临床中常见的问题,进一步推动机械通气的应用,由山东省医学会主办和山东省千佛山医院承办的山东省机械通气研讨会拟于 2004 年 4 月在威海市召开。

会议交流内容:①机械通气策略;②机械通气相关性并发症及其防治;③机械通气的撤离;④PEEP 应用技巧;⑤机械通气的护理;⑥无创机械通气的应用及其进展;⑦机械通气新进展;⑧危重患者的机械通气。会议拟聘请国内著名机械通气及危重病专家做专题报告。

征文要求:①来稿内容必须与机械通气有关,且未在杂志公开发表或未在全国学术会议交流;②来稿请寄 4000 字以内的全文及 600 字左右的论文摘要各一份(最好附软盘);③来稿需打印或用稿纸书写,字迹工整,并加盖公章;④全文及摘要均需写清作者单位、姓名、地址和邮政编码;⑤论文摘要包括目的、方法、结果和结论;⑥请自留底稿,恕不退稿;⑦截稿日期:2004 年 3 月 30 日(以邮戳为准)。

参加本次会议者均授予山东省继续教育学分 6 分。请参加会议者将来稿寄至:济南市山东省千佛山医院 ICU 姜志明、解建医生收(邮政编码:250014;联系电话:0531-5881619)。收到文章后,即寄发会议正式通知。

山东省医学会  
山东省千佛山医院  
2003 年 12 月 1 日