·临床研究报道·

流式细胞技术在诊断 X-连锁无丙种球蛋白血症的应用

张宁,宋淑媛

(北京市儿童医院儿科研究所临床免疫室,北京 100045)

[摘 要] 目的 探讨流式细胞技术在诊断 X-连锁无丙种球蛋白血症(XLA)中的应用。方法 采用流式细胞术检测白细胞分化抗原 19(CD19),统计循环 B 细胞数量,从而使 XLA 的临床诊断更可靠。结果 8 例 IgG < 2 g/L 的男性患儿中 5 例(62.5 %)CD19 < 1 %而确诊为 XLA 者。结论 应用流式细胞术检测 CD19 可提高诊断 XLA 的准确率。

[关 键 词] 流式细胞术;白细胞分化抗原 19;X-连锁无丙种球蛋白血症
[中图分类号] R553 [文献标识码] B [文章编号] 1008 - 8830(2001)05 - 0539 - 02

X-连锁无丙种球蛋白血症(X-linked agammaglobulinaemia, XLA)是常见的原发性体液免疫缺陷病。男性发病,血清免疫球蛋白(Ig)水平普遍降低,循环 B 细胞数量显著减少或缺如,是诊断本病的临床标准[1]。以往由于实验室检测手段不够完善,只能以 Ig 减低作为临床诊断 XLA 的标准[2],结果不够准确。现在可利用流式细胞术比较准确的统计 B 细胞数量,使临床上 XLA 的诊断更趋于完善,结果更可靠。本研究通过应用流式细胞术检测 CD19 提高了 XLA 的诊断准确率。

1 资料与方法

1.1 临床资料

1999 年 5 月至 2000 年 7 月北京市儿童医院免疫门诊和病房的反复感染患儿,同时进行 Ig 和 CD19 的检测。

1.2 方法

采用流式细胞术(flow cytometry, FCM)进行循环 B 淋巴细胞计数。首先对血液中 CD19 进行直接免疫荧光染色,然后由 FCM 分析淋巴细胞膜上 CD19 的表达,由此计算其百分比。流式细胞仪是 Bekton & Dickinson 公司产品。单克隆抗体(McAb) FITC-CD19 购自 Immunotech 公司。

2 结果

8 例 IgG < 2 g/L 的男性患儿中 5 例 CD19 < 1 %。

3 讨论

XLA 是最常见的先天性 B 细胞免疫缺陷病[3],最早由 Bruton 发现,又称 Bruton 病[4]。WHO 免疫缺陷病研究小组建议凡 IgG 显著减少或缺如的男性患儿,特别是循环 B 细胞明显减低或缺乏者,临床上应诊断为 XLA。本文涉及的 8 例男性患儿均进行了 IgG 水平和循环 B 细胞数量的检测,准确诊断 XLA 5 例,占总病例数的 62.5 %,另外 3 例均因循环 B 细胞数量正常而排除了 XLA 的可能性,占总病例数的 37.5 %。

从本研究可以看出,循环 B 细胞数量对 XLA 的诊断起至关重要的作用。其实,早在几年前,国内外就已注意到这个问题。免疫缺陷病专家冯雷教授在给 XLA 定义的时候就提到循环血液中 B 淋巴细胞显著减少或缺如[5]。1995 年,WHO 免疫缺陷病研究小组也确定循环 B 细胞明显减少或缺乏是诊断 XLA 的要素之一。

[收稿日期] 2000 - 08 - 28; [修回日期] 2001 - 02 - 07
[作者简介] 张宁(1971 -),男,大专,技师。

另外,循环B淋巴细胞是鉴别XLA和其它原发性免疫缺陷病,如暂时性低丙种球蛋白血症(TID)、常见变异型免疫缺陷病(CVID)的重要指标[5,6],它还可以区分重症感染、化疗和某些免疫抑制剂使用后的继发性免疫低下,以及肿瘤与蛋白丢失造成的IgG水平低下。

尽管循环B细胞的数量对XLA的诊断如此重要,但是,以往临床上对该病的诊断仍停留在较低水平,其主要原因是实验室诊断技术落后,仅能检测免疫球蛋白水平,无法提供准确的循环B细胞数量。WHO免疫缺陷病研究小组推荐使用流式细胞术检测成熟B细胞表面分化抗原19(CD19),通过CD19的百分比衡量循环B淋巴细胞数量[7]。该小组认为:XLA的CD19通常<0.5%,但由于实验上的误差,CD19可能略微高于此值。近年来,基因序列分析也发现突变的XLA中CD19均<1%。因此,采用CD19<1%作为本文XLA的诊断标准。

FCM是集计算机技术、激光技术、电子技术、流体技术、细胞化学、细胞免疫学等多门高新技术与方法为一体的现代细胞分析技术,已成为现代临床医学研究中最先进的分析技术之一。我们采用流式细胞术中常用的全血法,血液经荧光素标记单克隆抗体(MCAB),免疫荧光染色后,FCM分析淋巴细胞膜上白细胞分化抗原的表达,由此计算淋巴细胞各亚群的百分比。我们应用这种技术,对病人进行CD19检测,其中8例IgG<2 g/L的男性患儿5例CD19<1%,这样我们把原来的8例病人缩小到5例,可以说是从较模糊到较明确的临床XLA诊断。应用流式细胞术检测CD19可提高XLA诊断的准确性,如能进行DNA测序找到突变则能最后确诊。

[参 考 文 献]

[1] Fred SR. Ralph JP W, Martha E, et al. Primary immunodeficiency deficiency diseases-report of a WHO scientific group [J]. Clin Exp Immunol, 1995, 99(Suppl 1): 11 - 12.

[2] 张澍. 现代儿科学[M]. 北京:人民军医出版社,1998,976.

[3] 龙振洲. 医学免疫学[M]. 第2版. 北京:人民卫生出版社,1997,178 - 180.

[4] Bruton OC. Agammaglobulinemia [J]. Pediatrics, 1952, 9: 722 - 727.

[5] 冯雷. 免疫缺陷病[M]. 北京:人民卫生出版社,1988, 166.

[6] Banmert E, Wolff VG, Schlesier M, et al. Immuno-phenotypical alterations in a subset of patients with common variable immunodeficiency(CVID) [J]. Clin Exp Immunol, 1992, 90(1): 25 - 30.

[7] Fred SR, Ralph JP W, Martha E, et al. Primary immunodeficiency diseases-report of a WHO scientific group [J]. Clin Exp Immunol, 1995, 99(Suppl 1): 8.

(本文编辑:俞燕)