

论著 · 临床研究

变态反应性疾病儿童血浆肥大细胞羧肽酶和类糜蛋白酶含量的检测

潘琼¹ 丁梅芳² 张舒¹ 宁颖³ 刘宏伟² 魏红⁴ 岳虹霓⁵

(淮安市妇幼保健院,1.遗传实验室;2.儿科;3.药剂科;4.检验科;5.新生儿科,江苏 淮安 223002)

[摘要] 目的 测定变态反应性疾病患儿血浆中肥大细胞羧肽酶和类糜蛋白酶的含量,评价其在变态反应性疾病诊断中的意义。方法 采用ELISA法检测59例变态反应性疾病儿童和53例健康儿童血浆中肥大细胞羧肽酶和类糜蛋白酶水平。结果 变态反应性疾病患儿血浆羧肽酶和类糜蛋白酶含量分别为 1.089 ± 0.752 ng/mL、 $0.905(0.375 \sim 2.318)$ ng/mL,显著高于健康儿童 $[0.593 \pm 0.380$ ng/mL、 $0.454(0.097 \sim 1.077)$ ng/mL],差异有统计学意义($P < 0.05$)。变态反应性疾病患儿血浆羧肽酶水平与类糜蛋白酶水平呈显著正相关($r = 0.684, P < 0.01$)。结论 变态反应性疾病儿童血浆中肥大细胞羧肽酶和类糜蛋白酶水平增高,提示二者可作为变态反应性疾病的诊断的有意义的指标。 [中国当代儿科杂志,2011,13(10):814-816]

[关键词] 羧肽酶;类糜蛋白酶;肥大细胞;变态反应性疾病;儿童
[中图分类号] R72 [文献标识码] A [文章编号] 1008-8830(2011)10-0814-03

Measurement of plasma mast cell carboxypeptidase and chymase levels in children with allergic diseases

PAN Qiong, DING Mei-Fang, ZHNAG Shu, NING Ying, LIU Hong-Wei, WEI Hong, YUE Hong-Ni. Huai'an Women and Children's Health Care Hospital of Jiangsu Province, Huai'an, Jiangsu 223002, China (Yue H-N, Email: yuehongni@hotmail.com)

Abstract: Objective To evaluate the roles of plasma mast cell carboxypeptidase and chymase in the diagnosis of allergic diseases by measuring the contents of both in children. **Methods** A total of 59 children with allergic diseases and 53 healthy children were recruited into the study. Plasma levels of mast cell carboxypeptidase and chymase were measured using ELISA. **Results** The plasma levels of mast cell carboxypeptidase and chymase in children with allergic children were 1.089 ± 0.752 ng/mL and $0.905(0.375-2.318)$ ng/mL, respectively, which were significantly higher than those in healthy children $[0.593 \pm 0.380$ ng/mL and $0.454(0.097-1.077)$ ng/mL respectively; $P < 0.05$]. There was a significantly positive correlation between plasma mast cell carboxypeptidase and chymase levels in children with allergic diseases ($r = 0.684, P < 0.01$). **Conclusions** Plasma levels of mast cell carboxypeptidase and chymase increase in children with allergic diseases, suggesting that mast cell carboxypeptidase and chymase may serve as the indexes for the diagnosis of allergic diseases. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13(10):814-816]

Key words: Carboxypeptidase; Chymase; Mast cell; Allergic disease; Child

随着全球社会经济发展及环境的变化,儿童变态反应性疾病的发病率有明显增加的趋势,严重影响儿童的生活质量。据统计变态反应性疾病发病率占全球人口的30%~40%^[1]。婴幼儿发生严重变态反应后可能在数分钟内引起呼吸系统或循环系统衰竭等而危及生命^[2],如何进行正确的诊断成为临床的首要问题。然而,目前已建立的变态反应性疾病的血清IgE、组胺、肥大细胞类胰蛋白酶含量的检测方法,尚不能满足临床的需要^[3-7]。近年来,有学者认为肥大细胞羧肽酶和类糜蛋白酶是变态反应中肥大细胞的特异性激活标志物,可作为变态反应性疾病诊断的指标^[8-12]。本研究通过对变态反应性疾病患儿及健康儿童的羧肽酶和类糜蛋白酶检测结果进行比较分析,探讨二者的临床应用价值。

[收稿日期]2011-06-27;[修回日期]2011-07-27
[基金项目]淮安市社会发展科技计划资助项目(HAS2009013);淮安市产学研合作促进计划资助项目(HAC0825);淮安市科技创新载体平台建设计划资助项目(HAP201016)。
[作者简介]潘琼,男,博士,助理研究员。
[通信作者]岳虹霓,主任医师。

1 资料与方法

1.1 研究对象

2008年9月至2011年3月在我院儿科住院或儿童哮喘中心就诊被确诊为变态反应性疾病的患儿共59例(病例组),其中支气管哮喘34例,过敏性紫癜11例,药物过敏性皮炎6例,变应性鼻炎4例,尿布性皮炎3例,荨麻疹1例。所有病例均符合临床诊断标准^[13]。同时选取健康儿童53例作为对照组。

1.2 方法

1.2.1 血标本收集和处理 在患儿发生变态反应的8 h内采集静脉血2 mL,置于EDTA抗凝管中离心,取血浆移入塑料管中分装,置于-80℃保存。

1.2.2 仪器和试剂 所用仪器为Wellscan MK3酶标仪和Wellwash MK2洗板机(Thermo Lab-systems)。人肥大细胞羧肽酶、类糜蛋白酶ELISA检测试剂盒购自武汉华美生物工程有限公司。

1.2.3 血浆羧肽酶和类糜蛋白酶含量测定 采用ELISA测定血浆羧肽酶和类糜蛋白酶含量,严格按照试剂盒说明书操作。用酶标仪在450 nm波长测量各孔的OD值。采用Curve Exert 1.3软件绘制标准曲线,根据标准曲线的直线回归方程式,以样品的OD值计算出待测样品的实际含量。

1.3 统计学分析

应用SPSS 18.0统计软件进行数据分析。正态

分布计量资料用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用 t 检验或方差分析。偏态分布计量资料用中位数(四分位间距)表示,两组间中位数比较用Mann-Whitney U 检验。计数资料以率或构成比表示,组间比较采用卡方检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

两组儿童年龄、类糜蛋白酶的测定值呈偏态分布,羧肽酶的测定值呈正态分布,因而对年龄、类糜蛋白酶的测定值采用偏态资料的中位数和四分位数 Q 进行描述,对羧肽酶的测定值采用正态资料的均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。

病例组59例患儿中,男31例,女28例,年龄41 d至14岁,年龄中位数2.13(1.00~6.69)岁。对照组中,男33例,女20例,年龄21 d至11岁,年龄中位数1.33(0.88~3.00)岁。两组之间年龄、性别差异无统计学意义(均 $P > 0.05$),见表1。

2.2 血浆羧肽酶和类糜蛋白酶含量测定结果

病例组患儿血浆羧肽酶水平显著高于对照组($P < 0.05$)。对病例组和对照组的类糜蛋白酶水平进行Mann-Whitney U 检验法进行比较,对照组的平均秩次(Mean Rank)为30.43,病例组的平均秩次为41.42, $U = 435$, $W = 1065$, $Z = -2.243$, $P = 0.025$,示病例组的类糜蛋白酶水平高于对照组。见表1。

表1 两组年龄、血浆羧肽酶、类糜蛋白酶水平的比较 [$\bar{x} \pm s$ 或中位数(四分位间距)]

	例数	年龄(岁)	男/女(例)	类糜蛋白酶(ng/mL)	羧肽酶(ng/mL)
对照组	53	1.33(0.88~3.00)	33/20	0.454(0.097~1.077)	0.593±0.380
病例组	59	2.13(1.00~6.69)	31/28	0.905(0.375~2.318)	1.089±0.752
统计值		$Z = -1.214$	$\chi^2 = 1.077$	$Z = -2.243$	$t = -2.241$
P 值		0.225	0.299	0.025	0.029

2.3 病例组羧肽酶与类糜蛋白酶的相关性

在病例组中,对羧肽酶与类糜蛋白酶的测定值作Spearman相关分析,得 $r = 0.684$, $P = 0.002$,示病例组患儿羧肽酶与类糜蛋白酶呈正相关。

3 讨论

变态反应性疾病是严重影响人类健康的常见病、多发病,多种炎症性细胞(尤其肥大细胞)及其介质参与变态反应的发生发展。这些介质引起变态

反应的临床症状,又可作为肥大细胞被激活的证据,有助于变态反应性疾病的鉴别与诊断。尽管目前有一些可帮助诊断变态反应的指标,包括IgE、组胺、类胰蛋白酶,但其实际应用受到限制。血浆组胺水平仅在变态反应发生后15~60 min内升高,其半衰期极短,在血浆中会很快释放、迅速降解。血清总IgE或特异性IgE水平受年龄、性别、种族、寄生虫感染等多种因素影响,在正常人群中含量变化范围较大,其检测方法无统一标准,相关参考值不一致,对变态反应性疾病的诊断价值及临床意义还存在争

论^[4-7,14-15]。血浆或血清总类胰蛋白酶水平一般在变态反应发生后的15 min至3 h内升高;在发生食物过敏或在低血压、非休克状态时,类胰蛋白酶水平很少增高^[16-18]。

肥大细胞类糜蛋白酶是一种存在于肥大细胞分泌颗粒中的类似糜蛋白酶的丝氨酸蛋白酶^[19],是肥大细胞中的一种特异标记物,平时仅有极少量类糜蛋白酶分泌到血液及体液中,但当肥大细胞活化、脱颗粒时则大量释放入血液或体液中,导致患者血液或体液中类糜蛋白酶的含量急剧升高^[19]。羧肽酶催化蛋白质、肽类的芳香族或脂肪族氨基羧基端的水解。羧肽酶在胰脏和肥大细胞中含量丰富。在肥大细胞中羧肽酶是高度保守的分泌颗粒蛋白酶,其对肥大细胞的分化极为重要^[20]。肥大细胞羧肽酶水平在严重的急性变态反应中升高,这种酶被认为是变态反应的敏感生物标记物,甚至比类胰蛋白酶更敏感^[8]。

本研究显示,病例组的羧肽酶、类糜蛋白酶含量显著高于对照组,羧肽酶水平与类糜蛋白酶水平之间呈正相关,表明在变态反应发生过程中,激活的肥大细胞脱颗粒同时释放出羧肽酶、类糜蛋白酶,测定血浆中肥大细胞羧肽酶、类糜蛋白酶含量可作为变态反应诊断的实验室检测方法。

由于本研究中所收集的发生变态反应的儿童从婴儿期、学龄前期至学龄期,而且包括多种不同临床表型的变态反应性疾病,所测得的血浆羧肽酶、类糜蛋白酶水平在个体之间可能存在差异,将在以后的研究中扩大样本量,进一步分析不同年龄组之间及不同类型的变态反应性疾病之间的差异。

[参 考 文 献]

[1] Matasar MJ, Neugut AI. Epidemiology of anaphylaxis in the United States[J]. *Curr Allergy Asthma Rep*, 2003, 3(1): 30-35.

[2] Pumphrey RS, Gowland MH. Further fatal allergic reactions to food in the United Kingdom, 1999-2006 [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2007, 119(4): 1018-1019.

[3] Hamilton RG. Laboratory analyses in the diagnosis of human allergic disease[J]. *Methods*, 1997, 13(1): 25-32.

[4] Baur X, Szuppon A. Diagnostic validation of specific IgE antibody concentrations, skin prick testing, and challenge tests in chemical workers with symptoms of sensitivity different anhy-drides[J]. *Allergy Clin Immunol*, 1995, 96(4): 489-494.

[5] Hamelmann E, Tadedo K, Oshiba A, Gelfand EW. Role of IgE in the development of allergic airway inflammation and airway hyper-responsiveness: A murine model[J]. *Allergy*, 1999, 54(4): 297-305.

[6] Geha RS. Regulation of IgE synthesis in human [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1992, 90(2): 143-150.

[7] Sala A, Guilarte M, Zhou X, Labrador M, Luengo O, Rueda M, et al. Mast cell tryptase in anaphylaxis diagnosis. Is it sufficient? [J]. *Allergy*, 2008, 63(Suppl 88): 567.

[8] Zhou X, Buckley MG, Lau LC, Summers C, Pumphrey RSH, Walls AF. Mast cell carboxypeptidase as a new clinical marker for anaphylaxis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2006, 117(Suppl 2): S85.

[9] Brown TA, Whitworth HS, Zhou XY, Lau L, Eren E, Walls AF. Mast cell carboxypeptidase as a confirmatory and predictive marker in allergic reactions to drugs[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 127(2): 143-144.

[10] Alangari A, Lau LC, Zhou XY, Mochizuki A, Salagean EM, Sal-ib RJ, et al. Differential release and clearance of mast cell and ba-sophil mediators in the upper airways of patients with allergic rhini-tis[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(Suppl 2): S152.

[11] Zhou X, Cox C, Rajenthirar S, Mahrous A, Masters B, Roche W, et al. Mast cell chymase can disrupt the human bronchial epi-thelium and stimulate the loss of adhesion molecules[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2008, 121(Suppl 2): S110.

[12] Sanz ML, Gamboa PM, García-Figueroa BE, Ferrer M. In vitro diagnosis of anaphylaxis[J]. *Chem Immunol Allergy*, 2010, 95: 125-140.

[13] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 北京:人民卫生出版社,2002:1153-1216.

[14] Jensen EJ, Pedersen B, Schmidt E, Dahl R. Serum IgE in nona-topic smokers and nonsmokers, and recent exsmokers: relation to lung function, airway symptoms, and atopic predisposition[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 1992, 90(2): 224-229.

[15] 曾迎红,张丹,树叶,孙磊,韦祝,周斌,等. 437例变态反应性疾病患儿血清特异性IgE抗体检测和分析[J]. *中国当代儿科杂志*, 2009, 11(7): 543-545.

[16] Sampson HA, Mendelson L, Rosen JP. Fatal and near-fatal ana-phyllactic reactions to food in children and adolescents[J]. *N Engl J Med*, 1992, 327(6): 380-384.

[17] Sampson HA, Jolie PL. Increased plasma histamine concentrations after food challenges in children with atopic dermatitis[J]. *J Al-lergy Clin Immunol*, 1984, 311(6): 372-376.

[18] 任华丽,张宏誉. 类胰蛋白酶在过敏性疾病诊断中的应用[J]. *中华检验医学杂志*, 2005, 28(8): 828-830.

[19] Nishio H, Takai S, Miyazaki M, Horiuchi H, Osawa M, Uemura K, et al. Usefulness of serum mast cell-specific chymase levels for postmortem diganosis of anaphylaxis[J]. *Int J Legal Med*, 2005, 119(6): 331-334.

[20] Feyerabend TB, Hausser H, Tietz A, Blum C, Hellman L, Straus AH, et al. Loss of histochemical identity in mast cells lacking Car-boxypeptidase A[J]. *Mol Cell Biol*, 2005, 25(14): 6199-6210.

(本文编辑:邓芳明)