

[7] 廖群,刘小玲,郭惠. 时间分辨免疫荧光法用于梅毒抗体测定的探讨[J]. 中国实验诊断学,2014,18(3):447-450.

[8] 谭玉华,于婷,范主桥,等. 时间分辨荧光免疫法人巨细胞病毒 IgG 抗体定量测定试剂盒的研制[J]. 标记免疫分析与临床,2013,20(6):446-450.

[9] Qi H,Zhong Z,Zhou HX,et al. A rapid and highly sensitive protocol for the detection of *Escherichia coli* O157:H7 based on immunochromatography assay combined with the enrichment technique of immunomagnetic nanoparticles[J]. Int J Nanomedicine, 2011,6(6):3033-3039.

[10] Tan Y, Yu T, Li Y, et al. Development and performance evaluation of time-resolved fluorescence immunoassay quantitative kit on determination of rubella virus IgG antibody[J]. Intern J Labor Med, 2014,35(4):472-474.

[11] Bertoft E, Eslola J, Nanto, et al. Competitive solid-phase immunoassay of testosterone using time-resolved fluorescence[J]. FEBS Lett, 1984,173(2):213.

[12] 王永成,唐棣,常文保,等. 时间分辨荧光免疫分析法间接测定雌二醇[J]. 分析科学学报,2001,17(2):89-92.

[13] Wu FB, Han SQ, Zhang C, et al. Synthesis of a highly fluorescent beta-diketone-europium chelate and its utility in time-resolved fluoroimmunoassay of serum total thyroxine[J]. Anal Chem, 2002, 74(22):5882-5889.

[14] Wang Z, Lao HM, Liu T, et al. Labelled antibody-based one-step time-resolved fluoroimmunoassay for measurement of free thyroxine in serum[J]. Ann Clin Biochem, 2011,48(Pt 6):550-557.

[15] 陈丕亮,陈亚. 2010-2012 年甘肃省新生儿疾病筛查状况及分析[J]. 中国优生优育,2013,19(6):470-472.

[16] 谢伟贤,黄泽棋,王晓娟,等. 溶血对时间分辨免疫荧光分析法测定胰岛素的影响[J]. 检验医学与临床,2014,11(4):443-444.

[17] 黄飏,肖华龙,朱利国. CA19-9 时间分辨荧光免疫分析方法的建立及应用[J]. 标记免疫分析与临床,2001,8(1):25-27.

[18] 蔡军,陈凤英,梁玉,等. 时间分辨荧光免疫分析法测定血清甲胎蛋白[J]. 医药论坛杂志,2005,26(20):42-44.

[19] 潘宇红,孙钧铭,陈永伟,等. 肿瘤特异性生长因子和癌胚抗原联合检测对肺癌的诊断价值[J]. 临床检验杂志,2001,19(6):371.

[20] Xie M, Huang H, Hang J, et al. Evaluation of the analytical and clinical performances of time-resolved fluoroimmunoassay for detecting carcinoma antigen 50[J]. J Immunoassay Immunochem, 2015,36(3):265-283.

[21] Aceti A, Pennica A, Caferro M, et al. Application of time-resolved fluoroimmunoassay (TR-FIA) for the diagnosis of invasive amoebiasis[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1987,81(5):764-767.

[22] de Jonge N, Boerman OC, Deelder AM. Time-resolved immunofluorometric assay (TR-IFMA) for the detection of the schistosome circulating anodic antigen[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1990, 83(5):659-663.

[23] Sorensen T, Spenter J, Jaliashvili I, et al. Automated time-resolved immunofluorometric assay for *Toxoplasma gondii*-specific IgM and IgA antibodies: study of more than 130,000 filter-paper blood-spot samples from newborns[J]. Clin Chem, 2002,48(11):1981-1986.

[24] 周彬,张珏,王珂,等. 弓形虫 IgG 和 IgM 抗体双标记时间分辨荧光免疫分析的建立及其初步临床应用[J]. 中华检验医学杂志, 2010,33(10):957-959.

[25] Kapel N, Meillet D, Buraud M, et al. Determination of anti-Cryptosporidium coproantibodies by time-resolved immunofluorometric assay[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1993,87(3):330-332.

[26] Fischer S, Gill VJ, Kovacs J, et al. The use of oral washes to diagnose pneumocystis carinii pneumonia; a blinded prospective study using a polymerase chain reaction-based detection system[J]. J Infect Dis, 2001,184(11):1485-1488.

[27] Xu J, Wang L, Deng C, et al. The serological diagnosis of human clonorchiasis by time-resolved fluoroimmunoassay based on GST2-specific IgG4 detection[J]. Parasitol Res, 2014, 113(1):149-155.

[28] Järvenpää ML, Kuningas K, Niemi I, et al. Rapid and sensitive cardiac troponin I immunoassay based on fluorescent Europium (III)-chelate-dyed nanoparticles[J]. Clin Chim Acta, 2012, 414(414):70-75.

[29] Ylikoski A, Elomaa A, Ollikka P, et al. Homogeneous time-resolved fluorescence quenching assay (TruPoint) for nucleic acid detection[J]. Clin Chem, 2004,50(10):1943-1947.

[30] Nurmi J, Wikman T, Karp M, et al. High-performance real-time quantitative RT-PCR using lanthanide probes and a dual-temperature hybridization assay[J]. Anal Chem, 2002, 74(14):3525-3532.

[31] José A, Aurelia A, Fernando M, et al. Simultaneous determination of nabumetone and its principal metabolite in medicines and human urine by time-resolved fluorescence[J]. Analyst, 2012, 137(4):5144-5152.

(收稿日期:2015-07-12)

• 综 述 •

肝素结合蛋白研究进展*

张 扬,张 慧 综述,马慧霞[△] 审校
(新疆医科大学,新疆乌鲁木齐 830011)

关键词: 感染性疾病; 脓毒症; 肝素结合蛋白; 多形核白细胞
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.19.040 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2015)19-2869-04

感染性疾病是一类严重威胁人类健康的疾病。脓毒症是病死率较高的感染性疾病之一,尽早诊断及治疗对提高脓毒症疗效及预后有重要的作用,所以现在临床面临的最大挑战是如何尽早对脓毒症患者明确诊断。近年来肝素结合蛋白(HBP)

* 基金项目:新疆维吾尔自治区人民医院内科科研项目(20140212)。 作者简介:张扬,女,硕士研究生在读,主要从事临床检验诊断学方面研究。
[△] 通讯作者,E-mail:mahuixia-xj@163.com。

被证实可以作为脓毒症早期诊断标志物之一^[1],本文现对 HBP 作一简要的综述。

1 HBP 结构

HBP 也被称为天青杀素或者阳离子抗菌蛋白 37 (CAP37),是 1984 年被 Shafer 等^[2]首先分离提取的中性粒细胞衍生颗粒蛋白。HBP 主要存在于中性粒细胞的分泌颗粒和嗜天青颗粒中,相关研究显示其对炎症反应和血管渗漏的调节可能起到重要的作用^[3]。HBP 是从 251 个氨基酸的前体中,在 N 末端去除 26 个氨基酸残基、C 末端去除 3 个氨基酸残基而合成的一个单链糖蛋白。成熟的 HBP 由上述剩余的 222 个氨基酸残基构成,相对分子质量为 24 000。序列分析表明其与人的中性粒细胞弹性蛋白酶有 45% 的同源性,与蛋白酶 3 有 42% 的同源性,与人的嗜中性粒细胞中的组织蛋白酶 G 有 32% 的同源性^[4]。HBP 上具有一个有催化作用的三联体,当其中的 41 号组氨酸和 175 号丝氨酸分别被缬氨酸和甘氨酸所替换,使其无法与二异丙基氟磷酸结合,并无法裂解人工或天然的蛋白水解酶底物,三联体中的 89 号天冬氨酸被保留。尽管 HBP 失去蛋白水解活性,但它仍然可以与胰蛋白酶抑制剂 (BPTI) 结合,使 BPTI 亲和色谱法成为提纯 HBP 的一种高效方法,而 175 号甘氨酸被大量谷氨酰胺残基所取代,能够消除天青杀素的 BPTI 亲和性,证实了 HBP 与 BPTI 亲和是作用于 HBP 活化中心三联体上的。从 HBP 的重组体中分离出三联体结构,发现三联体是由两个类似胰蛋白酶的蛋白酶类区域组成的,这两个区域是由 6 个反向平行的 13 氨基酸组成的 13 圆柱形,HBP 的整体结构同源於中性粒细胞弹性蛋白酶,差别只是在某些位置存在环形区域及电荷分布不同,而在分子表面存在酸性及碱性氨基酸组成的独立板块^[5]。

2 HBP 的功能

2.1 杀菌活性和趋化性 HBP 是一种多功能蛋白,具有杀菌功能和趋化特性,是构成人类中性粒细胞的先天防御系统的一部分。此外,HBP 是无活性的丝氨酸蛋白酶同源物,能够与肝素和牛 BPTI 结合。在 HBP 的三级结构中,16 个碱性氨基酸残基构成了一强大的阳离子区域,这个区域位于分子结构的一极,正因为这个高密度正极区域的存在可以使其与肝素及其他配体相结合,如肝素、丝氨酸蛋白酶抑制剂、BPTI、脂质 A 和脂多糖 (LPS)^[6]。后来,人们发现 HBP 的杀菌能力及趋化活性都与其自身带有较强的正电荷有关。Rasmussen 等^[7]研究发现,经 HBP 处理的单核细胞炎症介质释放明显增加,说明 HBP 具有趋化单核细胞的作用。同时也发现,经过 LPS 刺激的单核细胞释放肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 和 β -干扰素 (IFN- β) 增加。因此,HBP 对于单核细胞的趋化及激活作用可影响机体对感染或损伤的免疫反应。

2.2 增加血管内皮细胞通透性 中性粒细胞可被多种细胞因子或炎症介质激活,如白介素 (IL)-6、IL-8、内毒素及 LPS 等。近期的研究证实链球菌 M1 蛋白也参与多形核白细胞 (PMN) 的激活并促进 HBP 的释放。进入血液的 M1 蛋白与纤维蛋白原形成复合物^[8],通过与 PMN 细胞膜表面 β 2 整合素结合诱导中性粒细胞出现颗粒胞吐作用。HBP 是中性粒细胞激活后释放的主要细胞因子,是作用于血管内皮细胞的最主要的上游信号之一^[9]。HBP 在内皮细胞骨架结构改变中起到重要作用,体外实验证实 HBP 作用于内皮细胞可明显改变其通透性,并证实 HBP 作用于内皮细胞后细胞内钙离子水平明显升高,并在内皮细胞内观察到大量肌动蛋白的激活^[10]。可见,HBP 的释放过程可能在改变血管通透性中起到重要作用。

3 HBP 在各种感染性疾病中的应用

因为 HBP 主要是由 PMN 受外界刺激所释放,所以健康人血中 HBP 水平很低,一般不超过 10 ng/mL,当有感染发生时,部分细菌侵入到血管内,菌体本身或者细菌释放的毒素等物质刺激中性粒细胞释放 HBP,从而导致血中 HBP 水平升高。HBP 在一般感染时能达到 20~30 ng/mL^[9],ICU 中严重感染可能超过 100 ng/mL,甚至高达 1 000 ng/mL 以上;当 HBP 水平超过 1 000 ng/mL 时,患者已经处于极度危险中,面临着随时可能死亡的危险^[11]。正因为 HBP 有如此强大的作用,就很有必要对其在临床监测和治疗上的应用进行大量研究。

3.1 HBP 诊断脓毒症 机体发生感染时外渗的血浆和中性粒细胞聚集到感染的部位是炎症过程的重要起始步骤,进一步加重导致全身炎症反应综合征 (SIRS) 的发生,最终发展为脓毒症^[12]。近年来,虽然抗感染治疗和器官功能支持技术取得了长足的进步,但仍然是导致危重患者死亡的主要原因,因此尽早地诊断及采取合理的应对措施是成功的关键。有研究认为,HBP 可能在脓毒症的发生、发展过程中起着非常重要的作用。HBP 是一种由激活的中性粒细胞释放的蛋白,是血管通透性增强的蛋白指标。Linder 等^[13]对 233 例疑似感染的成人发热病例进行了前瞻性研究,所有患者根据 SIRS、器官衰竭和最后诊断情况分为 5 组。血液标本进行 HBP 浓度、C 反应蛋白、乳酸、血清降钙素原、IL-6 和白细胞计数检测。有 26 例患者被诊断为严重脓毒症合并感染性休克,44 例为无感染性休克的严重脓毒症,100 例为脓毒症,43 例为非脓毒症感染,20 例有非感染引起的慢性炎症反应。血浆 HBP 浓度 15 ng/mL 诊断脓毒症血症 (合并或不合并感染性休克) 优于其他实验室指标 (灵敏度 87.1%,特异度 95.1%,阳性预测值为 88.4%,阴性预测值为 94.5%)。对 32 例脓毒症患者出现循环衰竭征兆前 12 h 进行检测显示,其中 29 例 HBP 浓度已明显升高。可见早期检测血清中 HBP 水平,对脓毒症患者的诊疗具有重要的临床价值。另外,发热患者高浓度 HBP 水平有助于鉴别患者是否发展为脓毒症循环衰竭。

3.2 HBP 诊断细菌性脑膜炎 为探讨脑脊液中 HBP 水平与脑部感染的相关性,Linder 等^[14]对 174 例疑似中枢神经系统感染的患者进行检测,其中 37 例急性细菌性脑膜炎、4 例神经外科术后细菌性脑膜炎、29 例病毒性脑膜炎、7 例神经包柔螺旋体病,另外 97 例脑脊液中细胞水平正常者纳入对照组,结果显示急性细菌性脑膜炎的患者脑脊液中 HBP 的水平 (平均 376 ng/mL),明显高于病毒性神经系统感染患者 (平均 4.7 ng/mL)、神经包柔螺旋体病 (平均 3.6 ng/mL) 及对照组患者 (平均 3.5 ng/mL),并且当脑脊液中 HBP 浓度大于 20 ng/mL 时,诊断急性细菌性脑膜炎的灵敏度为 96.2%,特异度为 100.0%,阳性预测值为 96.2%,阴性预测值为 100.0%。可以推断,在细菌性脑膜炎时,通过检测脑脊液中 HBP 水平可以提高区分细菌性和病毒性神经系统感染的准确性,有助于更早采取适当的治疗措施。

3.3 HBP 诊断细菌性皮肤感染 丹毒是一种主要由 A 组 β 溶血性链球菌引起的急性真皮细菌感染而导致的炎症,感染常向四周迅速蔓延,并伴有高热、畏寒及皮肤烧灼样痛等。Linder 等^[15]的研究中,选取了 12 例腿部有丹毒的患者,在腿部有感染的区域和没有感染的区域分别取样进行检测,结果显示感染区域的标本 HBP 水平明显升高,而未受感染的区域未发现 HBP,这一研究表明溶血性链球菌在皮肤感染时导致

HBP 释放增加,检测 HBP 可能有助于丹毒的诊断。Lundqvist 等^[16]报道在细菌感染的慢性下肢静脉溃疡伤口分泌物中 HBP 的水平明显高于对照组,对照组标本来自无感染的乳房切除术患者的引流液,慢性溃疡组和对照组平均值分别为 28.2、4.2 ng/mL,说明 HBP 对局部感染也有诊断价值。

3.4 HBP 诊断急性呼吸窘迫综合征(ARDS) ARDS 是指严重感染、创伤、休克等肺内外疾病袭击后出现的以肺泡毛细血管损伤为主要表现的临床综合征。在创伤、脓毒症、病毒感染等情况下,PMN 受到刺激并释放 HBP,使血管内皮通透性增高,液体渗透到肺泡中,从而引起肺损伤。Kaukonen 等^[17]最近进行的一项前瞻性研究,收集了四例 ICU 病房的重症型 A 型流感(H1N1)患者,采用 PCR 检测 H1N1 病毒,发现确诊的患者血浆中 HBP 水平明显升高,在第 1 天和第 2 天分别能达到 98 ng/mL (62~183 ng/mL) 和 93 ng/mL (62~271 ng/mL),同时发现 HBP 水平与呼吸功能障碍之间有很大关系。Johansson 等^[18]也发现 HBP 可以作为创伤后的 ARDS 早期检测的潜在生物指标,进一步证实了 HBP 与呼吸系统也有很密切的联系。HBP 在脓毒症导致的 ARDS 发病中也起到重要作用。有研究显示,根据是否出现 ARDS 将脓毒症患者分为 ARDS 组及非 ARDS 组,ARDS 组患者 HBP 水平明显升高,而 HBP 预测 ARDS 发生的受试者特征曲线下面积(AUC)为 0.796,这可能提示存在 ARDS 的脓毒症患者病情更加严重,所以 HBP 在脓毒症早期升高,它可以作为预测脓毒症相关 ARDS 的预测指标^[19]。可以看出这些发现都与 HBP 能导致内皮细胞通透性增加的特性有着千丝万缕的关系。

4 HBP 与传统炎症指标的比较

目前临床常用于判断感染的传统炎症指标如白细胞、中性粒细胞、乳酸、C 反应蛋白及降钙素原等的影响因素较多,尤其是老年人常伴有免疫功能和机体反应低下,这些指标的升高水平不一定能准确反映病情的严重程度。Peduzzi 等^[20]发现,白细胞及中性粒细胞的升高不是感染的独立预测指标,且用于诊断感染的准确性很低,同时无法反映预后。而 C 反应蛋白是一种急性期反应蛋白,由肝脏合成并分泌,目前在临床上应用较广,但除细菌感染外,病毒感染^[21]、心血管系统疾病^[22]、哮喘^[23]、心悸骤停^[24]等均可引起 C 反应蛋白的升高,而且一般炎症反应需 12 h 后才能检出,因而存在延迟反应,且对感染的诊断缺乏特异性。降钙素原作为一个早期诊断靶标,是严重细菌感染诊断与治疗监测指标,目前为实验室和临床应用;但其只在机体感染产生全身反应时才会产生,在局部感染和慢性感染时其血清水平正常或轻微升高^[25],且有 Meta 分析表明降钙素原并不能有效区分是细菌感染还是非细菌感染所引起的 SIRS^[26],降钙素原在严重的感染性疾病中早期诊断的地位再次受到挑战。

综上所述,HBP 与细菌感染有紧密的关系,对于细菌引起的感染有较高的灵敏度和特异度,是一项非常有应用价值的诊断感染状态的炎性指标,同时也可能是细菌感染新的治疗途径。但是有关 HBP 在体内作用的分子机制及临床应用方面的研究尚存在许多空白点,这都有待科研工作者的进一步探索和努力。

参考文献

[1] Linder A, Akesson P, Inghammar M, et al. Elevated plasma levels of heparin-binding protein in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock[J]. Critical Care, 2012, 16(3):90.

[2] Shafer WM, Martin LE, Spitznagel JK. Cationic antimicrobial proteins isolated from human neutrophil granulocytes in the presence of diisopropyl fluorophosphate[J]. Infect Immun, 1984, 45(1):29-35.

[3] Tapper H, Karlsson A, Morgelin M, et al. Secretion of heparin-binding protein from human neutrophils is determined by its localization in azurophilic granules and secretory vesicles[J]. Blood, 2002, 99(5):1785-1793.

[4] Almeida RP, Melchior M, Campanelli D, et al. Complementary DNA sequence of human neutrophil azurocidin, an antibiotic with extensive homology to serine proteases[J]. Biochem Biophys Res Commun, 1991, 177(2):688-695.

[5] Watorek W. Azurocidin—inactive serine proteinase homolog acting as a multifunctional inflammatory mediator[J]. Acta Biochim Pol, 2003, 50(3):743-752.

[6] McCabe D, Cukierman T, Gabay JE. Basic residues in azurocidin/HBP contribute to both heparin binding and antimicrobial activity[J]. J Biol Chem, 2002, 277(30):27477-27488.

[7] Rasmussen PB, Bjorn S, Hastrup S, et al. Characterization of recombinant human HBP/CAP37/azurocidin, a pleiotropic mediator of inflammation-enhancing LPS-induced cytokine release from monocytes[J]. FEBS Lett, 1996, 390(1):109-112.

[8] Herwald H, Cramer H, Morgelin M, et al. M protein, a classical bacterial virulence determinant, forms complexes with fibrinogen that induce vascular leakage[J]. Cell, 2004, 116(3):367-379.

[9] Linder A, Soehnlein O, Akesson P. Roles of heparin-binding protein in bacterial infections[J]. J Innate Immun, 2010, 2(5):431-438.

[10] Lee TD, Gonzalez ML, Kumar P, et al. CAP37, a neutrophil-derived inflammatory mediator, augments leukocyte adhesion to endothelial monolayers[J]. Microvasc Res, 2003, 66(1):38-48.

[11] Beran O, Herwald H, Dzupová O, et al. Heparin-binding protein as a biomarker of circulatory failure during severe infections: a report of three cases[J]. Scand J Infect Dis, 2010, 42(8):634-636.

[12] Leibel NI, Baumann EE, Kocherginsky M, et al. Relationship of adolescent polycystic ovary syndrome to parental metabolic syndrome[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006, 91(4):1275-1283.

[13] Linder A, Christensson B, Herwald H, et al. Heparin-binding protein: an early marker of circulatory failure in sepsis[J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(7):1044-1050.

[14] Linder A, Akesson P, Brink M, et al. Heparin-binding protein: A diagnostic marker of acute bacterial meningitis[J]. Crit Care Med, 2011, 39(4):812-817.

[15] Linder A, Johansson L, Thulin P, et al. Erysipelas caused by group A streptococcus activates the contact system and induces the release of heparin-binding protein[J]. J Invest Dermatol, 2010, 130(5):1365-1372.

[16] Lundqvist K, Herwald H, Sonesson A, et al. Heparin binding protein is increased in chronic leg ulcer fluid and released from granulocytes by secreted products of Pseudomonas aeruginosa[J]. Thromb Haemost, 2004, 92(2):281-287.

[17] Kaukonen KM, Linko R, Herwald H, et al. Heparin-binding protein (HBP) in critically ill patients with influenza A(H1N1) infection[J]. Clin Microbiol Infect, 2013, 19(12):1122-1128.

[18] Johansson J, Brattström O, Sjöberg F, et al. Heparin-binding protein (HBP): an early marker of respiratory failure after trauma[J]. Acta Anaesthesiol Scand, 2013, 57(5):580-586.

[19] 刘杨, 王学斌, 马少林, 等. HBP 在急性呼吸窘迫综合征中的意义

[J]. 中华急诊医学杂志, 2014, 23(5): 549-553.

[20] Peduzzi P, Shatney C, Sheagren J, et al. Predictors of bacteremia and gram-negative bacteremia in patients with sepsis[J]. Arch Intern Med, 1992, 152(3): 529-535.

[21] Borato DC, Parabocz GC, Ribas SR, et al. Changes of metabolic and inflammatory markers in HIV infection: glucose, lipids, serum Hs-CRP and myeloperoxidase [J]. Metabolism, 2012, 61(10): 1353-1360.

[22] Abd TT, Eapen DJ, Bajpai A, et al. The role of C-reactive protein as a risk predictor of coronary atherosclerosis: implications from the Jupiter trial[J]. Curr Atheroscler Rep, 2011, 13(2): 154-161.

[23] Kociniak T, Skiepkowski R, Zietkowski Z, et al. Significance of C-reactive

protein in asthma[J]. Przegl Lek, 2010, 67(7): 472-474.

[24] Samborska-Sablik A, Sablik Z, Gaszynski W. The role of the immuno-inflammatory response in patients after cardiac arrest[J]. Arch Med Sci, 2011, 7(4): 619-626.

[25] Matwyoff GN, Prahl JD, Miller RJ, et al. Immune regulation of procalcitonin: a biomarker and mediator of infection[J]. Inflamm Res, 2012, 61(5): 401-409.

[26] Tang BM, Eslick GD, Craig JC, et al. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis[J]. Lancet Infect Dis, 2007, 7(3): 210-217.

(收稿日期: 2015-07-10)

• 综 述 •

血液制品病毒灭活系统应用的研究进展

王 霞, 潘 彤, 李红珠 综述, 杨文玲[△] 审校
(天津市血液中心检验科, 天津 300110)

关键词: 血液制品; 病原体灭活; 亚甲蓝; 补骨脂素; 紫外线
DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 19. 041 **文献标识码:** A **文章编号:** 1673-4130(2015)19-2872-03

筛查方法的“窗口期”问题、免疫静默感染、试剂灵敏度差异造成的漏检, 以及尚无法检测的新型病毒出现, 筛查方法本身的局限性, 导致血液制品的应用仍存在一定的风险。为了提高血液制品的安全性, 除加强无偿献血者的征询体检和病原检测外, 在不影响血液成分的结构、功能及对人体无不良反应的前提下, 对血制品进行病原体灭活处理是杜绝输血传染病的重要手段。现有的血液成分光化学病原体灭活技术主要包括亚甲蓝光化学法、补骨脂素光化学法及核黄素光化学法。但随着对病毒灭活研究的深入及科技的发展, 目前对病原体灭活方法的作用机制及使用现状有了更深入的认识。本文就各类血制品病原体灭活系统的作用机制、特点及其在基础与临床试验中存在的问题综述如下。

1 血液及血制品的病原体污染现状

减少经输血感染的方法主要包括献血者的屏蔽、血液检测及采用安全可靠的技术对血液成分进行病原体灭活, 是杜绝输血传染的重要手段^[1]。输血安全策略的应用使因输血感染所造成的病死率和感染率已有所降低。在发达国家, 传统的经血传播病毒感染(包括乙型肝炎病毒、丙型肝炎病毒和人类免疫缺陷病毒)的残余风险大约是 $1 \times 10^6 \sim 10 \times 10^6$ 。然而, 在一些发展中国家, 因并非对所有血制品进行病毒检测、加之未知病毒及已知病毒“窗口期”的存在, 因此经血感染的风险较高。目前开展的病毒核酸检测已经明显减少病毒“窗口期”的感染, 但并未从根本上完全消除“窗口期”。细菌污染特别是浓缩血小板(因其保存条件有利于细菌的繁殖)是经血传播感染最为常见的血液制品。常规制备的血小板中有超过 0.6% 可能存在细菌污染。因此, 细菌污染成为开展血制品病原体灭活技术(PRT)的推动力。

已知去除病原体的方法包括有机溶剂/清洁剂法、丙内酯及纳米过滤法, 已明显提高了血浆及其制品的安全性, 但这些

方法对细胞膜及功能造成损伤, 因而不适合血细胞制品病毒灭活。血细胞制品的 PRT 是基于光敏剂原理, 即在血制品制备过程中加入光敏剂, 后经可见光或紫外线照射激活产生活性氧核素或产生依赖于氧的电子转移来破坏核酸结构或形成不可逆的共价键, 从而阻止了病毒的复制、翻译和倍增。

2 血液及其制品的 PRT

PRT 被认为与 r 射线照射有同样效能的方法, 血制品 r 射线照射能预防输血相关移植物抗宿主病的发生^[2]。研究表明 PRT 对血浆和浓缩血小板的处理效果要优于对红细胞制品及全血。其原因可能是浓缩血小板制品最易于发生细菌污染, 且不含血红蛋白成分, 而红细胞制品因含有血红蛋白所以灭活效果不佳。

目前研究最为深入的有两大类, 第一类是染料光敏剂包括核黄素及吩噻嗪染料衍生物亚甲蓝。第二类是染料结合光敏剂如补骨脂素 S-59、S-303、乙烯胺 PEN-110。后者通过外部光照或提高 pH 的方法使核酸发生烷化反应从而干扰病原体核酸合成。

Intercept 处理系统是应用补骨脂素的衍生物 S-59 和 A 段紫外线光化学处理进行病毒灭活处理的系统^[3-6], 而 Mirasol 系统和 THERAFLEX MB 处理系统分别应用核黄素或亚甲蓝联合紫外线或可见光照射的光化学原理, 目前已有多种关于核黄素或亚甲蓝的试验研究报道^[7-9]。THERAFLEX 紫外-血小板处理系统仅使用 C 段紫外光照射, 而没有额外添加任何光敏剂。

2.1 Intercept 处理系统对浓缩血小板和血浆处理 目前包括德国在内的许多欧洲国家已经开始该系统的临床应用。临床上已经输注超过 700 000 单位补骨脂素-紫外线 a(UVA)处理的血制品, 尚无意外安全事件发生的报道^[6]。且已经证明该系统有足够的灭活效能包括细菌, 对非脂包膜病毒也有很强的灭

作者简介: 王霞, 女, 副主任技师, 主要从事输血相关病原检测研究。[△] 通讯作者, E-mail: yangwenling@tjbc.org.cn.