

• 论 著 • DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2022. 14. 001

流式细胞术检测孕妇外周血中胎儿红细胞的应用价值*

崔 瑾¹,詹 茜¹,罗 琴¹,李俊男²,张玉洪^{1△}

重庆医科大学附属第一医院:1. 临床分子医学检测中心;2. 产科,重庆 400016

摘 要:**目的** 探讨流式细胞术和血红蛋白电泳联合检测诊断胎母输血综合征的价值。**方法** 采用抗胎儿血红蛋白(HbF)单克隆荧光抗体滴度试验找出流式细胞术检测时抗 HbF 单克隆荧光抗体与胎儿红细胞数量的最佳反应比,再对该方法的准确度、灵敏度、特异度及重复性进行评价,最后对临床疑似发生胎母输血综合征的孕妇外周血分别采用流式细胞术和血红蛋白电泳进行胎儿红细胞和 HbF 检测。**结果** 胎儿红细胞数量与抗 HbF 单克隆荧光抗体的最佳反应比为 5×10^4 个:6 μ L;流式细胞术检测结果与血红蛋白电泳及 K-B 法结果均具有一致性,该方法的灵敏度随流式细胞仪收集红细胞总量的增加而增加,抗 HbF 单克隆荧光抗体对除 HbF 外的血红蛋白变异性无染色,并且对固定及渗透处理后的红细胞悬液在 90 d 内的检测结果重复性好;90 例孕妇外周血标本中成功检出 2 例胎母输血综合征。**结论** 该研究建立了流式细胞术检测胎母输血综合征的非创伤性产前确诊方法。

关键词:胎母输血综合征; 流式细胞术; 血红蛋白电泳; 胎儿红细胞
中图法分类号:R714.2 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2022)14-1873-06

Application value of flow cytometry in the detection of fetal red blood cells in maternal peripheral blood*

CUI Jin¹,ZHAN Qian¹,LUO Qin¹,LI Junnan²,ZHANG Yuhong^{1△}

1. Center for Clinical Molecular Medical Detection ;2. Department of Obstetrics ,

the First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University ,Chongqing 400016,China

Abstract: Objective To explore the value of combined detection of flow cytometry and hemoglobin electrophoresis in the diagnosis of fetomaternal hemorrhage. **Methods** Used the anti-fetal hemoglobin (HbF) monoclonal fluorescent antibody titer experiment to find out the optimal response ratio of the anti-HbF monoclonal fluorescent antibody to fetal red blood cells in the detection by flow cytometry. Then the accuracy, sensitivity, specificity and repeatability of the method were evaluated. Finally, fetal red blood cells and HbF were respectively detected by flow cytometry and hemoglobin electrophoresis in the peripheral blood of pregnant women with suspected FMH. **Results** The optimal ratio of fetal red blood cells to anti-HbF antibody was 5×10^4 : 6 μ L. The results of flow cytometry were consistent with the results of hemoglobin electrophoresis and K-B method. The sensitivity of the method increased with the total amount of red blood cells collected by the flow cytometer. Anti-HbF monoclonal fluorescent antibody did not stain hemoglobin variants except HbF, and the detection results of the fixed and permeabilized red blood cell suspension within 90 days had good repeatability. Two cases of fetomaternal hemorrhage were successfully detected in the peripheral blood samples of 90 pregnant women. **Conclusion** A non-invasive prenatal diagnosis method for the detection of fetomaternal hemorrhage by flow cytometry is established.

Key words: fetomaternal hemorrhage; flow cytometry; hemoglobin electrophoresis; fetal red blood cells

健康的胎盘在母体和胎儿间起转运营养、气体和废物的作用,母体和胎儿各自外周循环中细胞是互相独立的。当胎盘受损,引起胎儿失血,且胎儿全血进入母体血液循环达到一定量时可引起母亲和胎儿发生溶血性反应,即胎母输血综合征(FMH),其发病率和病死率均较高,病情的严重性取决于胎儿的失血量^[1]。FMH 患者早期没有明显的临床症状,晚期诊断主要依靠胎动减少或消失,胎心监护出现典型的正弦曲线、胎心基线变异减少及晚期减速,B 超检查显示胎儿水肿及胎儿生长受限等^[2]。因此,FMH 早发现极为重要,建立一个快速、准确、客观评估胎儿失血量的方法非常关键。国外几乎所有(96%)对 FMH

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81873972)。
作者简介:崔瑾,女,主管技师,主要从事疾病的分子检测及诊断治疗研究。 △ 通信作者,E-mail:363082852@qq. com。

的确诊依靠纸片扩散(K-B)法。血红蛋白电泳(HBE)检测胎儿血红蛋白F(HbF)百分含量也可作为辅助诊断FMH的方法。FMH评估指南指出,随着流式细胞术(FCM)的广泛使用,这项技术已成为诊断FMH的金标准,受限于流式细胞仪,该方法在国内还没有推广^[3];同时,荧光素、圈门策略及仪器的灵敏度不同^[4],也会导致检测结果的变异和缺乏客观性,每个实验室在建立该方法时应进行性能确认。本研究先通过抗HbF单克隆荧光抗体滴度试验找出胎儿红细胞数量与抗HbF单克隆荧光抗体的最佳反应比,建立FCM检测胎儿红细胞的标准化操作步骤,再对该方法的准确度、灵敏度、特异度及重复性进行确认,最后分别采用FCM及HBE对疑似FMH孕妇外周血标本进行胎儿红细胞和HbF检测,并将检测结果与K-B法进行比较,结合患者临床相关症状,明确FCM在FMH诊断中的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019年10月至2021年7月本院产科90例孕妇作为研究对象,年龄21~36岁,中位年龄27岁,患者自觉胎动减少、超声多普勒检查示胎儿大脑中动脉收缩期血流峰值>正常值的1.5倍中位数倍数(MoM)、胎心监护出现典型的正弦曲线、胎心基线变异减少及晚期减速。通过HBE或珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)基因筛查,选出最常见的含有血红蛋白变异体或地贫相关基因的5份外周血标本,分别含有 α -链血红蛋白变体(α -HbV)、 β -链血红蛋白变体(β -HbV)、 δ -链血红蛋白变体(δ -HbV)、 α -地贫相关基因、 β -地贫相关基因。

1.2 仪器与试剂 主要仪器包括血细胞分析仪(日本希森美康公司),流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司),血红蛋白电泳仪(法国赛比亚公司),显微镜(日本奥林巴斯公司);主要试剂包括血红蛋白测定试剂盒(法国赛比亚公司),磷酸盐缓冲液(PBS,美国HyClone公司),25%戊二醛(美国Sigma公司),聚乙二醇辛基苯基醚(美国赛默飞公司),抗人HbF-FITC单克隆抗体(美国赛默飞公司),磷酸氢二钠(重庆博艺化学试剂有限公司),枸橼酸(成都市科隆化学品有限公司),伊红(天津市科密欧化学试剂有限公司),小牛血清清蛋白(BSA,美国Sigma公司),乙醇(重庆川东化工集团有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 FCM 采用FCM检测胎儿红细胞百分比(fetal-RBC)。血细胞分析仪计数EDTA抗凝脐带血和孕妇外周血红细胞数量后,选择红细胞数量和血红蛋白含量相似的2个样品,按照抗体说明书制备脐血和孕妇血红细胞悬液,并使其终浓度为 $(4\sim6)\times 10^4/\mu\text{L}$,然后按比例混合上述红细胞悬液,得到一系列fetal-RBC理论值(THV)为100%、25%、8%、5%、

2%和0%的混合红细胞悬液;加1~5 μL 红细胞悬液、4~8 μL 抗HbF抗体和70 μL PBS/BSA(0.1%)到流式管中,室温避光孵育15 min,再加入2 mL PBS/BSA涡旋混匀后以 $600\times g$ 离心5 min,最后移除上清液并加入0.5 mL PBS/BSA重悬红细胞上机检测^[5]。

1.3.2 K-B法 采用K-B法检测fetal-RBC。按常规制备血涂片,自然干燥>10 min,80%乙醇固定5 min,水洗待干,将固定后的血涂片在37℃的酸性缓冲液(0.2 mol/L磷酸氢二钠12.3 mL、0.1 mol/L枸橼酸37.7 mL、pH值为 3.3 ± 0.2)中洗脱8 min,冲洗干燥;在10 g/L伊红染液中染色1 min,水洗待干后,计数1 000个红细胞中胎儿红细胞数量^[6],胎儿红细胞为红色,成人红细胞为无色淡影。

1.3.3 HBE 采用HBE检测HbF。血红蛋白电泳仪开机自检结束后,检测血红蛋白A2(HbA2)和HbF质控标本,室内质控通过后将待测标本推入进样仓进行外周血HbF检测。

1.4 统计学处理 采用GraphPad Prism 5软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用配对 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 FCM检测胎儿红细胞数量方法的建立 按试剂说明书推荐5 μL 抗HbF单克隆荧光抗体可染色 2×10^5 个红细胞,上机检测结果不佳。为检测抗体的效价,采用THV为25%且胎儿红细胞数量约为 5×10^4 个脐血和孕妇血混合红细胞悬液,分别与3、4、5、6和7 μL 抗HbF单克隆荧光抗体反应,上机检测fetal-RBC为 $(23.33\pm 0.33)\%$,胎儿红细胞数量与成人红细胞数量平均荧光强度差(ΔMFI)为10.65~55.52(图1A)。为进一步验证抗原抗体最适反应比,取1 μL 脐血红细胞悬液(含胎儿红细胞 5×10^4 个)分别与5、6、7和8 μL 抗HbF单克隆荧光抗体反应,抗体量为5~6 μL 时,fetal-RBC及荧光强度(MFI)升高幅度最大,但随着抗体量增加,MFI缓慢增加,而fetal-RBC开始降低(图1B)。综合考虑后,fetal-RBC和MFI在后续试验中均按胎儿红细胞数量与抗HbF单克隆荧光抗体比为 5×10^4 个:6 μL 进行荧光抗体染色。

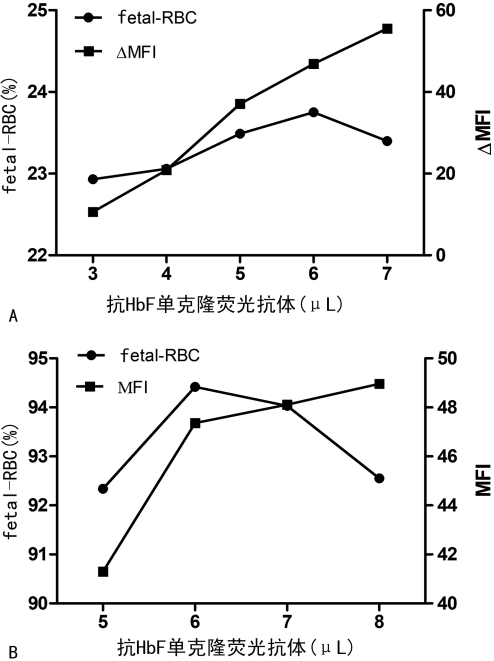
2.2 FCM检测胎儿红细胞方法性能验证 分别采用FCM、HBE及K-B法检测fetal-RBC理论值(THV)为25%、8%、5%、2%的脐血和孕妇混合血红细胞悬液,3种方法准确度比较,差异无统计学意义($P>0.05$),THV与FCM、FCM与HBE、FCM与K-B法fetal-RBC理论值与实测值比较,差异均无统计学意义($P=0.591,0.217,0.286$)(图2A)。同时采用FCM检测值(Y)与理论值(X_1)及HBE检测值(X_2)

分别进行直线回归分析,得到 $Y=0.969X_1+0.426$ ($R^2=0.999\ 95$) 和 $Y=1.185X_2-0.229$ ($R^2=0.999\ 76$)。

检测灵敏度和流式细胞仪收集的总细胞数密切相关,总细胞数越多,灵敏度越高。引入反应体系的总红细胞量数最少为 5×10^4 个,仪器收集到 30 个及以上信号数为有效细胞群,该方法检测胎儿红细胞的最低灵敏度为 0.06%,随着参加反应总红细胞数量增加,相应的检测灵敏度也不断提高,见表 1。

采用 FCM 对含有 α -HbV、 β -HbV、 δ -HbV、 α -地贫伴 HbCs 外周血进行 fetal-RBC 检测,结果均 < 0.68%,见表 2。值得注意的是,对于 β -地贫伴 HbF 升高的成人外周血,FCM 检测到 30.08% HbF 弱阳性,即 MFI 较低的红细胞(F-RBC)(图 2B),而 HBE 检测到 HbF 相对含量仅为 10.6%,通过比较 FCM 和 HBE 结果,可以将 fetal-RBC 与 F-RBC 明确区分开来。

由于 FCM 分析对象为活细胞,为了避免自然凋亡造成的计数降低,将外周血标本制成固定好的红细胞悬液并储存在 4℃,在 90 d 内进行了 5 次 fetal-RBC 检测,高、中、低 3 种水平的变异系数(CV)分别为 1.36%、3.22%、7.00%,均小于 10.00%(图 2C)。



注:A 为混合红细胞悬液中 fetal-RBC 理论值为 25%;B 为脐血红细胞悬液中 fetal-RBC 理论值为 100%。

图 1 不同剂量抗 HbF 抗体染色后 FCM 检测 fetal-RBC 及 MFI

2.3 FCM 检测胎儿红细胞和 HBE 检测 HbF 将 K-B 法检测胎儿红细胞百分比大于 0.68% 暂定为 FMH 诊断标准,对 90 例疑似 FMH 孕妇外周血标本进行 FCM 和 HBE 联合检测:82 例孕妇外周血标本联合检测均为阴性,排除 FMH 诊断;各有 3 例孕妇外

周血标本单检阳性,结合地贫基因筛查结果,判定为假阳性;2 例孕妇外周血标本联合检测均为阳性,确诊为 FMH。

表 1 FCM 检测胎儿红细胞的灵敏度评价实验

THV (%)	总细胞采集数(个)	胎儿红细胞采集数(个)	胎儿红细胞 MFI	fetal-RBC (%)
100.00	8 038	7 836	45.02	97.49
25.00	6 753	1 621	47.95	24.00
8.00	5 767	473	68.34	8.20
5.00	5 506	308	68.01	5.59
2.00	5 013	136	71.03	2.71
0.00	58 549	151	33.95	0.26

表 2 FCM 检测胎儿红细胞的特异度评价实验

异常血红蛋白病种类	总细胞采集数(个)	fetal-RBC (%)
α -HbV	58 005	0.54
β -HbV	57 539	0.00
δ -HbV	59 122	0.04
α -地贫伴 HbCs	60 001	0.13
β -地贫伴 HbF 增高	57 653	30.08

2.4 诊断 FMH 病例 2 例 1 例患者孕 40 周,胎心监护异常 6 h 后采集外周静脉血进行 FMH 检测,结果如下:FCM 检测 fetal-RBC 为 6.09%,MFI 为 56.78(图 3A),HBE 检测 HbF 百分含量为 4.90%(图 3B),随后进行 K-B 法验证,K-B 法计数为 6.30%(图 3C),3 项检测结果一致,均提示 FMH 发生,医生对患者紧急进行剖宫产,产下 1 名活胎男婴,Apgar 评分为 8 分(肤色扣 1 分、肌张力扣 1 分)-10-10 分。另 1 例患者孕 39 周,腹痛 2 h,坚持顺产,常规子宫收缩近 5 h,顺产分娩一活女婴,Apgar 评分 6 分(肤色扣 2 分,呼吸扣 1 分,肌张力扣 1 分)-7 分(肤色扣 2 分,呼吸扣 1 分)-7 分(肤色扣 2 分,呼吸扣 1 分),并进行 FMH 相关检测,fetal-RBC 为 6.57%,HbF 为 4.90%,根据公式估计胎儿失血量为 230 mL,考虑存在新生儿贫血转入新生儿科。

2.5 除外 FMH 诊断病例 1 例 孕妇 27 岁,妊娠 12 周后开始常规产前检查,HBE 屡次发现 HbF 升高。最近 1 次 HBE 结果:HbF 为 6.40%,HbA2 为 2.1%(图 4A),血常规检测结果如下:红细胞计数为 $3.56\times10^{12}/\text{L}$,血红蛋白为 120 g/L,血细胞比容为 36.10%,平均红细胞体积为 101.4 fL,平均红细胞血红蛋白含量为 33.7 pg,平均红细胞血红蛋白浓度为 332.0 g/L。产科医生建议孕妇先进行地贫基因筛查,基因位点包含 α -地贫的 153 个突变和 4 个常见缺失, β -地贫的 348 个突变和 3 个常见缺失,未见阳性结果;再进行 FMH 实验室检查,FCM 未检测到胎儿红细胞

(图 4B), 但 F-RBC 百分比高达 38.93%, MFI 为 12.29, 与 HBE 检测的 HbF 含量相差较大。随后对该患者标本行针对 α 基因稀有缺失、 α 三联体和血红

蛋白持续增多症相关的 DNA 凝胶电泳, 得出此患者是存在 $\alpha\alpha^{anti4.2}$ 的 α -地贫患者(图 4C), 这就解释了孕妇 HbF 百分比增高的原因。

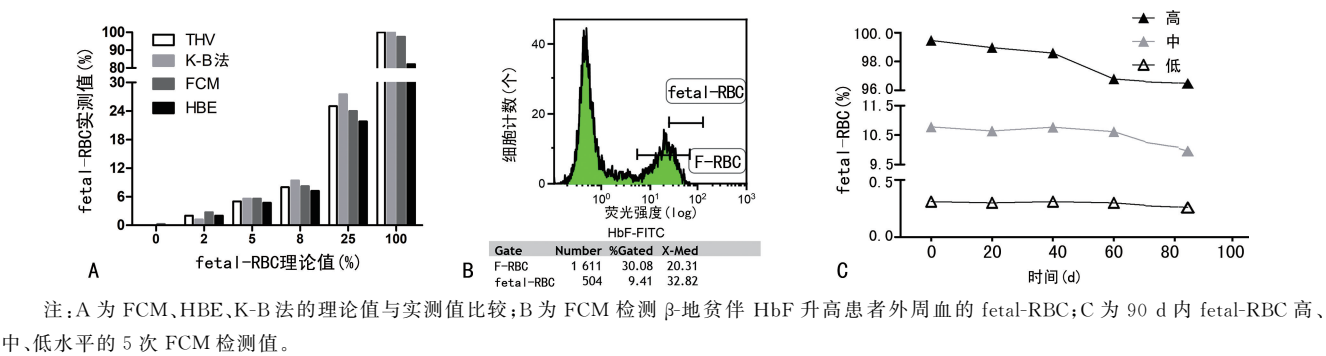


图 2 FCM 检测胎儿红细胞方法的准确性、特异度及重复性验证

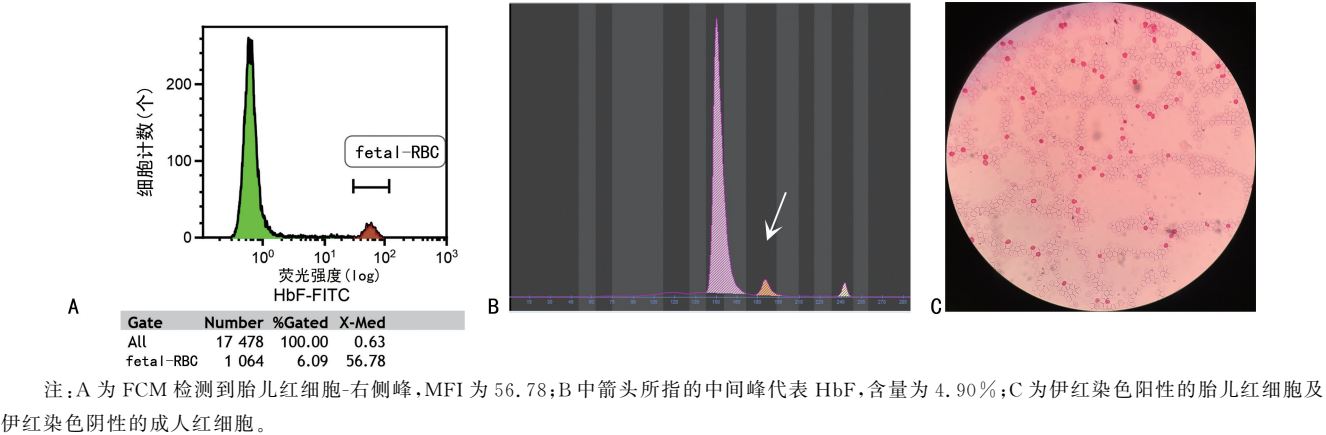


图 3 1 例 FMH 阳性病例检测结果

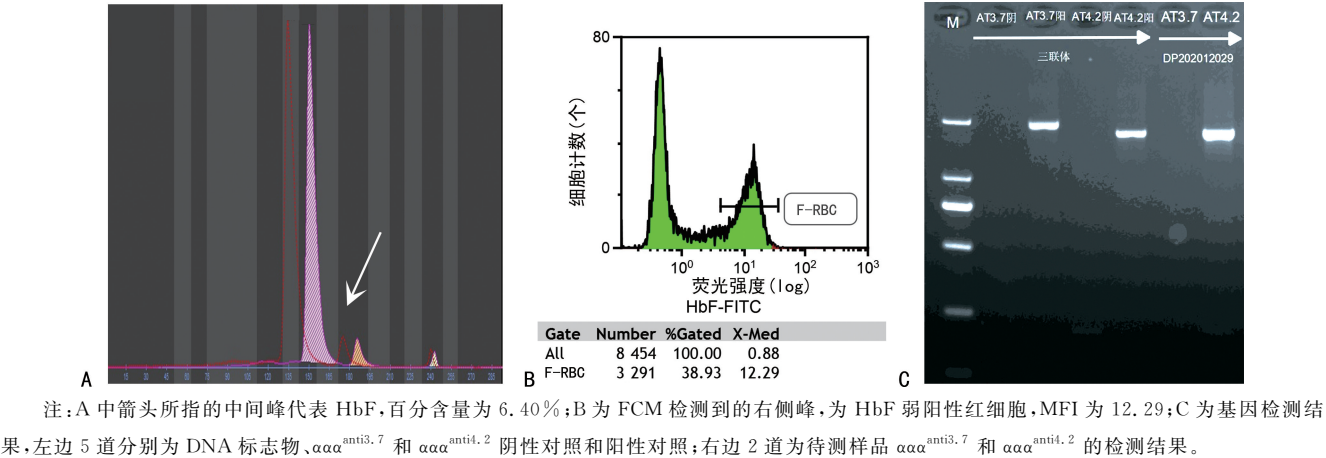


图 4 1 例排除 FMH 的 $\alpha\alpha^{anti4.2}$ 地贫病例检测结果

3 讨论

FMH 发病机制或诱因目前不清楚, 中度到严重程度的 FMH 发病率估算为每 1 000 个新生儿出现 1~3 个^[7-9]。FMH 的流行病学调查缺乏大量数据的前瞻性研究, 同时部分产科医生对其警惕程度不够均导致该病现有发病率比实际情况低很多^[1]。有研究支持对急性腹部创伤的孕妇, 若出现新生儿贫血、胎儿宫内发育迟缓、胎儿水肿及不明原因死胎均应及时

开展 FMH 筛查^[10-11]。本研究共检测 90 例临床怀疑 FMH 的孕妇外周血标本, 确诊 FMH 2 例, 阳性率为 2.22%, 远远高于其估算的发病率, 提示对于出现胎儿宫内贫血的孕妇很大一部分可能漏诊了 FMH。因此, 有必要将 FMH 的确诊试验作为常规产前检查项目, 以便能够及时发现早期 FMH, 避免晚期出现严重后果; 同时对这类病例的积累, 也为 FMH 的流行病学研究提供了临床参考数据。

K-B 法检测胎儿红细胞已有 60 年历史,它是利用 HbF 不被酸洗脱的原理使胎儿红细胞显红色,成人红细胞为无色淡影,最初主要用来评估 Rh 阴性孕妇预防性抗 RhD 免疫球蛋白的使用剂量,因此,只对 Rh 阴性孕妇做该检查。因其成本低,不需要特殊仪器,目前仍是大部分中国医生诊断 FMH 的首选实验室方法,待产妇胎儿红细胞百分含量参考值范围小于 0.68%,但手工操作(如血片厚度、干燥度及酸性缓冲液洗脱时间等)均会影响胎儿红细胞染色^[10],结果判定主观性强,重复性差,在不同实验员或实验室间检测结果差异较大,而且当孕妇红细胞存在耐酸的血红蛋白变体,或存在如 β -地贫、镰刀型细胞贫血、遗传性持续性胎儿血红蛋白综合征等造成 F-RBC 比例升高的血红蛋白病时,K-B 法检测会出现假阳性^[12-13]。HBE 检测的是红细胞溶血后各血红蛋白组分的百分比,成人红细胞仅有非常少量甚至没有 HbF(0~2%),胎儿红细胞主要组分即 HbF,然而 25% 的孕妇从怀孕 8 周起红细胞 HbF 开始增加,到孕 32 周时 HbF 百分含量可高达 7%^[3],因此,HBE 虽可以辅助诊断 FMH^[14],但不能确诊。与 K-B 法比较,FCM 检测操作简单,省时、省力,该法基于胎儿红细胞含 70% 以上的 HbF,健康成人红细胞含 90% 以上的 HbA,利用抗 HbF 单克隆荧光抗体特异性标记胎儿红细胞中的 HbF,而不与母血红细胞中的 HbA 或其他血红蛋白变体反应,从而准确测定胎儿红细胞在母血红细胞中的百分比,且流式细胞仪可在短时间内收集数万至数十万个细胞信号,检测灵敏度及重复性较高^[10,15],结果客观稳定,是临床确诊 FMH 的实验室检测发展方向。

本研究对临床 90 例疑似 FMH 的孕妇外周血标本分别进行 FCM 和 HBE 两种方法检测,93.33% (84/90) 的结果具有一致性。其中 3 例标本 FCM 结果为胎儿红细胞百分含量偏高,而 HBE 结果显示红细胞裂解液中主要为 HbA 和 HbA2,HbF 相对百分含量较低,其原因可能是没有采用新鲜脐血作为阳性对照,流式细胞仪每天的 flowcheck 虽然合格,但光路同前次还是有少许差异,因而造成 FCM 检测后结果为假阳性;另外 3 例检测结果不一致的情况是 FCM 仅检测到 HbF 弱阳性的 F-RBC,未检测到 HbF 强阳性的胎儿红细胞,HBE 结果为 HbF>2% 且 HbA2>3.5%,因为 HbA2>3.5% 是 β -地贫患者 HBE 的典型表现,相对高水平的 HbF 也是地贫表现之一^[16],经过地贫基因检测,3 例患者均确诊为伴 HbF 升高的 β -地贫。因此,本研究在后续进行 FMH 确诊试验时,均采用 FCM 和 HBE 两种方法,并且每次 FCM 检测需加新鲜脐血作为阳性对照,以确定阴阳界限。

值得注意的是,母血中胎儿红细胞数量主要和以下 3 个因素有关,胎儿失血量、出血时间及母血中是

否存在胎儿红细胞抗体,出血时间太久或母血中存在针对胎儿红细胞的抗体,均可导致检测结果偏低甚至假阴性。因此,检测时机非常重要。本研究 2 例 FMH 患者,1 例患者采用 FCM 及 HBE 联合检测确诊为 FMH 后及时行剖宫产,胎儿情况良好,另 1 例孕妇腹痛发生后坚持顺产,医生对 FMH 的警惕性不足,未及时进行检测,新生儿贫血严重,情况较差。FCM 及 HBE 联合检测操作简单,检测时间短,孕妇仅需提供 1 mL 抗凝外周血,即可对外周血中胎儿红细胞数量进行动态监测,为 FMH 筛查纳入大规模常规产前检查提供了可能性。重庆作为全国地贫高发地区之一,FMH 筛查同样也能为稀有基因型地贫的鉴别诊断提供新证据。而且 ABO 血型相容的胎儿红细胞与成人外周血红细胞的寿命相同^[17],对于分娩时出现胎儿窘迫或贫血的产妇在生产 4 个月内均可采集外周血进行 FMH 筛查找到原因。

综上所述,本研究建立了 FCM 检测 FMH 的非创伤性产前诊断方法,其联合 HBE 检查,不但可以动态监测评估宫内胎儿出血量,而且为后续治疗方案的调整提供依据,改善了胎儿不良预后。

参考文献

- [1] STROUSTRUP A, PLAFKIN C, SAVITZ D A. Impact of physician awareness on diagnosis of fetomaternal hemorrhage[J]. Neonatology, 2014, 105(4): 250-255.
- [2] 马翠,伍绍文,郝丽英. 胎母输血综合征的诊治进展[J]. 医学综述, 2017, 23(20): 4127-4131.
- [3] STANIC Z, STANISIC L, FURES R, et al. Fetomaternal hemorrhage: can we use hemoglobin electrophoresis as a diagnostic tool[J]. Z Geburthsh Neonatol, 2020, 224(3): 150-152.
- [4] FARIAS M G, BÓ S D, CASTRO S D, et al. Flow cytometry in detection of fetal red blood cells and maternal F cells to identify fetomaternal hemorrhage[J]. Fetal Pediatr Pathol, 2016, 25(6): 385-391.
- [5] DAVIS B H. Enumeration of fetal red blood cells, hemoglobin-specific RBC cells, and F reticulocytes in human blood[J]. Curr Protoc Cytom, 2019, 90(1): e56.
- [6] 杨树法,翟燕红,王文娟. 影响 Kleihauer-Betke 实验结果的实验因素分析[J]. 国际检验医学杂志, 2013, 34(2): 138-142.
- [7] 杨玉芳,叶红,罗飞,等. 胎母输血综合征临床研究进展[J]. 海南医学, 2018, 29(21): 3-4.
- [8] 吕娜,朱宏远,战思恩. 孕妇外周血液中胎儿红细胞的研究进展[J]. 标记免疫分析与临床, 2020, 27(3): 4-5.
- [9] 单静,贺晶. 胎母输血综合征的诊治[J]. 医学信息, 2018, 31(8): 3-5.
- [10] AKORSU E E, ACQUAYE J K, BENNEH A A, et al. Fetomaternal hemorrhage among pregnant women in accra, ghana[J]. Int J Gynaecol Obstet, 2019, 146(3): 333-338.

成分,多糖是由多个单糖聚合而成的一类天然的高相对分子质量物质,对羟基自由基有明显的清除作用,具有良好的抗氧化活性^[21],而羟基自由基诱发的细胞损伤是 ILD 的病理生理基础之一^[22]。因此,多糖具有抗炎、抗菌、抗肿瘤、抗衰老、抗病毒及免疫调节等多种功能;天然活性多糖在调节机体免疫功能的同时无明显不良反应,是理想的免疫调节剂。

综上所述,笔者认为,举元煎联合 GC 和 CTX 治疗 CTD-ILD 能控制或逆转 CTD-ILD 病情,起到增效减毒作用,安全性较高,值得在临床推广。

参考文献

[1] 孙广仁. 中医基础理论[M]. 2 版. 北京:中国中医药出版社,2010:110.

[2] 郑筱萸. 中药新药临床研究指导原则[M]. 北京:中国医药科技出版社,2002:111-115.

[3] DINESH K, SHIKHA M, ROHIT A, et al. Connective tissue disease-associated interstitial lung diseases (CTD-ILD): report from OMERACT CTD-ILD Working Group [J]. J Rheumatol, 2015, 42(11): 2168-2171.

[4] HOZUMI H, FUJISAWA T, NAKASHIMA R, et al. Efficacy of glucocorticoids and calcineurin inhibitors for anti-aminoacyl-trna synthetase antibody-positive polymyositis/dermatomyositis-associated interstitial lung disease: a propensity score-matched analysis[J]. J Rheumatol, 2019, 46(5): 509-517.

[5] ELIZABETH R V, DONALD P T, MYUNG S, et al. Cyclophosphamide for systemic sclerosis-related interstitial lung disease: a comparison of scleroderma lung study I and II [J]. J Rheumatol, 2019, 46(10): 1316-1325.

[6] LI J, CHEN X L, QU Y P. Effects of cyclophosphamide combined with prednisone on TNF- α expression in treatment of patients with interstitial lung disease[J]. Exp Ther Med, 2019, 18(6): 4443-4449.

[7] 刘娜, 张伟. 从“肺朝百脉”论治结缔组织病相关性间质性肺病[J]. 中医学报, 2017, 32(9): 1600-1602.

[8] 刘勇. 炙甘草汤联合激素治疗结缔组织病所致间质性肺疾病疗效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(21):

2323-2325.

[9] 郝伟欣, 董振华. 升陷汤加味治疗结缔组织病合并肺间质纤维化体会[J]. 中华中医药杂志, 2008, 23(8): 707-709.

[10] 王国勤, 吴敏毓, 孙瑞元. 不同剂量黄芪组方的举元煎对小鼠免疫功能的影响[J]. 中成药, 1998, 20(12): 27-28.

[11] 黄容容, 钱颖, 向明. 人参皂苷 Rh2 免疫调节作用研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(23): 2936-2941.

[12] 王文婷, 施展, 林向辉, 等. 基于环磷酰免疫抑制模型研究鲜人参膏增强小鼠免疫力的作用[J]. 特产研究, 2020, 42(3): 30-34.

[13] 史晶晶, 时博, 苗明三. 黄芪多糖对环磷酰胺致免疫抑制小鼠免疫功能的影响[J]. 中医学报, 2016, 31(2): 244-246.

[14] 刘晓凤, 姜顺军, 梁峰华. 黄芪多糖对环磷酰胺致大鼠毒性的保护作用[J]. 广州医科大学学报, 2015, 43(1): 9-11.

[15] LI F, TANG R, CHEN L B, et al. Effects of astragalus combined with angelica on bone marrow hematopoiesis suppression induced by cyclophosphamide in mice[J]. Biol Pharm Bull, 2017, 40(5): 598-609.

[16] 徐伟, 方思佳, 关然, 等. 白术多糖对小鼠淋巴细胞的免疫调节作用[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36(13): 1573-1577.

[17] 相雪莲, 许丹宁, 曹楠, 等. 白术多糖对环磷酰胺诱导的免疫抑制小鼠白细胞数量及功能的修复作用[J]. 中国兽医杂志, 2020, 56(7): 36-43.

[18] 张燕丽, 孟凡佳, 田园, 等. 炙甘草的化学成分与药理作用研究进展[J]. 化学工程师, 2019, 50(8): 60-66.

[19] 陈兰英, 罗雄, 胡瑞刚, 等. 炙甘草汤对大鼠气血两虚型心律失常及免疫系统的影响[J]. 中国中医基础医学杂志, 2009, 15(1): 49-51.

[20] 陈娜. 升麻素苷抗炎及抗小鼠肺损伤作用的研究[D]. 长春: 吉林大学, 2014: 81-85.

[21] 吴彦. 升麻多糖提取及其抗氧化作用[J]. 光谱实验室, 2013, 30(5): 2444-2446.

[22] CHEN M H, ZHANG J, CHEN Y, et al. Hydrogen protects lung from hypoxia/reoxygenation injury by reducing hydroxyl radical production and inhibiting inflammatory responses[J]. Sci Rep, 2018, 22(8): 873-880.

(收稿日期: 2021-11-29 修回日期: 2022-03-19)

(上接第 1877 页)

[11] MURPHY N J, QUINLAN J D. Trauma in pregnancy: assessment, management, and prevention [J]. Am Fam Physician, 2014, 90(10): 717-722.

[12] KARAFIN M S, GLISCH C, SOUERS R J, et al. Use of fetal hemoglobin quantitation for Rh-positive pregnant females: a national survey and review of the literature[J]. Arch Pathol Lab Med, 2019, 143(12): 1539-1544.

[13] CHAMBERS E, DAVIES L, EVANS S, et al. Comparison of haemoglobin F detection by the acid elution test, flow cytometry and high-performance liquid chromatography in maternal blood samples analysed for fetomaternal haemorrhage[J]. Transfusion Med, 2012, 22(3): 199-204.

[14] 刘莹. 联合检测母血 HbF、AFP 值在预测胎母输血综合

征中的应用价值[J]. 中国医学创新, 2017, 14(13): 44-47.

[15] PASTORET C, PRIOL J L, FEST T, et al. Evaluation of FMH quik quant for the detection and quantification of fetomaternal hemorrhage[J]. Cytometry B Clin Cytom, 2013, 84(1): 37-43.

[16] WEATHERALL D J. Phenotype-genotype relationships in monogenic disease: lessons from the thalassaemias[J]. Nat Rev Genet, 2001, 2(4): 245-255.

[17] DZIEGIEL M H, KOLDKJAER O, BERKOWICZ A. Massive antenatal fetomaternal hemorrhage: evidence for long-term survival of fetal red blood cells[J]. Transfusion, 2010, 45(4): 539-544.

(收稿日期: 2021-10-18 修回日期: 2022-04-08)