

氧、缺血因素都应想到脑损伤可能,应积极应用各种可行的检测方法尽早明确,对已经发生脑损伤的早产儿也应积极运用各种检查方法评估其预后。

参考文献

- [1] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 早产儿脑室周围-脑室内出血与脑室周围白质软化的诊断建议[J]. 中华儿科杂志, 2007, 45(1): 34-36.
- [2] 陈惠金. 美国神经学会新生儿神经影像指南[J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(2): 157-160.
- [3] 阮珊三, 刘维民, 马金凤, 等. 早产儿脑损伤 225 例超声诊断及高危因素分析[J]. 临床儿科杂志, 2009, 27(4): 380-383.
- [4] 方润婷, 陈志风, 李锐钦, 等. 33 例早产儿脑白质损伤的临床及 MRI 特征分析[J]. 当代医学, 2009, 15(9): 30-31.
- [5] 黎小秀, 张旭. 早产儿脑损伤的诊断评估[J]. 临床和实验医学杂志, 2007, 6(7): 38-39.

• 综 述 •

- [6] 姚裕家. 早产儿脑损伤的病因及病理生理机制研究进展[J]. 临床儿科杂志, 2006, 24(3): 163-165.
- [7] Chen D, Mao J, Li J, et al. Clinical and imaging features in late preterm infants with cerebral white matter damage[J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2010, 12(5): 321-326.
- [8] Cerebral Palsy International Research Foundation. Injury to the preterm brain and cerebral palsy——part 1: clinical aspects of injury to the preterm brain[EB/OL]. <http://cpirf.org/stories/1821> (accessed 7 April 2010).
- [9] Jöbsis FF. Noninvasive infrared monitoring of cerebral and myocardial oxygen sufficiency and circulatory parameters[J]. Science, 1997, 198(4323): 1264-1267.
- [10] 周丛乐, 刘云峰, 张家洁, 等. 新生儿局部脑组织氧检测的多中心研究[J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(7): 517-522.

(收稿日期: 2011-02-16)

孕妇外周血中胎儿有核红细胞分离和应用研究

肖克林, 王辉林 综述, 熊礼宽[△]审校

(广东省深圳市宝安妇幼保健院中心实验室 518133)

关键词: 孕妇; 胎儿; 研究

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.06.025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)06-0669-02

无创性产前实验诊断是指利用非侵入性方法获取胎儿细胞或核酸等物质,用于诊断胎儿是否携带遗传性疾病和先天性疾病。与传统羊水穿刺、绒毛膜取样等方法相比,该类方法最大的优势是不会引起孕妇感染、胎儿流产等并发症,因此成为当前研究的热点。现就从孕妇外周血中分离胎儿有核红细胞(fetal nucleated red blood cells, FNRBC)进行产前诊断研究的现状综述如下。

1 胎儿有核红细胞的分离

1.1 微流控技术 微流控技术(microfluidics)是利用高度敏感的微流控设备(包含 1 个微流控芯片和 1 个磁性装置)从孕妇外周血中回收和纯化有核红细胞的一项技术,它利用有核红细胞的固有特征,分离过程中无需任何抗体,并且分离效率较高。Huang 等^[1]利用此法从 58 例孕妇外周血中分离出 FNRBC,发现其产量约为磁激活细胞分选法或 SBA 亲和素分离法的 10~20 倍。Daniel 等^[2]利用微流控第 3 代技术回收纯度高达 74% 的 FNRBC。

1.2 流式细胞仪分选法 流式细胞仪(flow cytometer, FCM)又称为荧光激活细胞分选仪(fluorescence activated cell sorter, FACS),该方法是目前最常用的胎儿有核细胞分离技术之一。目前此法多是与密度梯度离心法等方法联合使用。D'Souza 等^[3]就先利用密度梯度离心法分离孕妇血液中单个核细胞,然后再运用流式细胞仪分选法从中分选出胎儿有核细胞,最后运用巢氏 PCR 技术检测 β -珠蛋白生成障碍性贫血基因突变状况,取得较好的结果。

1.3 磁激活细胞分选法 磁激活细胞分选法(magnetic activated cell sorter, MACS)是一种免疫磁性分离技术,它先将磁性微粒包被单克隆抗体,然后将其与细胞上的特异抗原结合,

在外加磁场的作用下,将结合单克隆抗体的细胞分离出来。Kwon 等^[4]利用双密度梯度离心法结合此法从母血中分离富集 FNRBC,发现其产量高于以前的一些相关报道。

1.4 密度梯度离心法 密度梯度离心法(density gradient centrifugation, DGC)根据胎儿细胞与母体细胞在体积、密度、沉降系数等方面的不同,利用分离液通过离心的方法将胎儿细胞分离出来。根据分离时所利用的介质密度不同,分为单密度、双密度和不连续密度梯度离心法 3 种。密度梯度离心法操作简便、费用较低、所需时间较短,但获得的 FNRBC 数量较少、纯度较低,直接用于产前诊断不太适合,因而一般作为分离的第一步和其他方法结合应用^[3-4]。

1.5 亲和素分离法 亲和素分离法是利用半乳糖特异凝集素(galactose-specific lectin)或大豆凝集素(soy bean agglutinin, SBA)选择性地黏附 FNRBC,从而达到从孕妇外周血中分离 FNRBC 的目的。此方法利用了 FNRBC 表面含有大量的半乳糖基这一特性。Babochkina 等^[5]比较了 SBA 亲和素分离法和磁激活细胞分选法从孕妇外周血中分离 FNRBC 的效率,发现 SBA 凝集素法分离的细胞数目比 MACS 法大约高 8 倍。

1.6 单细胞显微操作分离法 单细胞显微操作分离法(micromanipulation)是在显微镜下从形态学上识别 FNRBC,并用微操作器将其逐一挑取出,然后用于产前诊断。Nagy 等^[6]利用此法分离 FNRBC,取得了较好的实验结果,证实了该方法的可靠性。

2 胎儿有核红细胞的临床应用

2.1 胎儿性别的测定 胎儿性别检测主要是根据性染色体 Y 和 X 在基因结构上存在差异来进行检测,从而达到区别胎儿性别的目的。Krabchi 等^[7]利用双色引物原位标记(primed in

[△] 通讯作者, E-mail: xionglk@yahoo.com。

situ labeling, PRINS) 技术同时检测 FNRBC 的 X 和 Y 染色体, 发现能可靠和有效地检测胎儿性别, 且特异性与荧光原位杂交 (fluorescence in situ hybridization, FISH) 技术相似。

2.2 胎儿血型的检测 胎儿 Rh 血型检测对于预防因 Rh 血型不合而引起的新生儿溶血病非常有意义, 当 Rh 血型阴性的孕妇血液中存在 Rh 血型抗体时, 通过检测胎儿的 Rh 血型, 可以预知其是否会发生因 Rh 血型不合而引起的新生儿溶血病, 从而可以采取相应的防治措施。Simone 等^[8]直接利用流式细胞仪检测 FNRBC 的 RhD 血型, 其同时利用 CD71、GPA 和 RhD 血型 3 种单克隆抗体标记 FNRBC, 发现此方法与逆转录 PCR 法有很好的相关性, 并且有可能作为未来临床应用的一个发展方向。此外, ABO 血型基因变异时有发生, 已逐步引起重视, 利用 FNRBC 也可用于该方面的研究。

2.3 单基因遗传病的诊断 单基因遗传病种类很多, 常见的有珠蛋白生成障碍性贫血、甲型血友病等, 他们都是由某一对 (或个) 等位基因存在异常而引起。利用从孕妇外周血中分离的 FNRBC, 可用于诊断此类疾病。D'Souza 等^[3]利用 FNRBC 检测 β -珠蛋白生成障碍性贫血, 并以绒毛膜取样或脐血穿刺结果为参照, 此法的准确率为 80%。

2.4 胎儿染色体异常的诊断 利用 FNRBC 检测染色体异常, 目前主要利用 FISH 技术, Mavrou 等^[9]通过计数分离得到的 FNRBC 数量来作为检测胎儿染色体异常的一个补充指标。

2.5 病理产科相关的检测 有关胎儿有核细胞与产科病理过程的相关性研究是近年来的一大研究热点, FNRBC 及其成分在数量上的改变可用来预测产科的病理过程, 目前常用于先兆子痫、胎儿生长受限、囊性纤维病等方面的研究。Aali 等^[10]通过分析孕妇外周血和脐带血中分离的 FNRBC 数量来研究其与先兆子痫的关系, 发现母血和脐带血中的 FNRBC 数量与先兆子痫具有明显相关性, 并且其数量的增高可能与胎盘供血不足有关。

3 展 望

综上所述, 从孕妇外周血中分离胎儿有核细胞的方法众多, 且取得了一定的进展, 但这些方法尚存在, 操作相对复杂、费时费力等不足, 有些方法虽然相对简便, 但分离效率却不高。因此, 在今后的研究中, 特别是在分离方法上, 尚需寻找一些操作简便、快捷且分离效率相对较高的方法。相信随着分子生物学、免疫化学等技术的不断进步和更多胎儿细胞特异性抗原的发现, 将能够从孕妇外周血中有效地分离出胎儿细胞用于临床

• 综 述 •

产前诊断, 真正实现产前诊断的无创性。

参考文献

- [1] Huang R, Barber TA, Schmidt MA, et al. A microfluidics approach for the isolation of nucleated red blood cells (NRBCs) from the peripheral blood of pregnant women[J]. *Prenat Diagn*, 2008, 28(28):892-899.
- [2] Daniel L, Ponnusamy S, Aniza M, et al. Separation of model mixtures of epsilon-globin positive fetal nucleated red blood cells and anucleate erythrocytes using a microfluidic device[J]. *Journal of Chromatography A*, 2010, 64(71):1862-1866.
- [3] D'Souza E, Sawant PM, Nadkarni AH, et al. Evaluation of the use of monoclonal antibodies and nested PCR for noninvasive prenatal diagnosis of hemoglobinopathies in India[J]. *Am J Clin Pathol*, 2008, 130(86):202-209.
- [4] Kwon KH, Jeon YJ, Hwang HS, et al. A high yield of fetal nucleated red blood cells isolated using optimal osmolality and a double-density gradient system[J]. *Prenat Diagn*, 2007, 27(19):1245-1250.
- [5] Babochkina T, Mergenthaler S, Lapaire O, et al. Evaluation of a soybean lectin-based method for the enrichment of erythroblasts[J]. *J Histochem Cytochem*, 2005, 53(22):329-330.
- [6] Nagy GR, Bán Z, Sipos F, et al. Isolation of epsilon-haemoglobin-chain positive fetal cells with micromanipulation for prenatal diagnosis[J]. *Prenat Diagn*, 2005, 25(14):398-402.
- [7] Krabchi K, Gadjji M, Yan J, et al. Dual-color PRINS for in situ detection of fetal cells in maternal blood[J]. *Methods Mol Biol*, 2006, 334(14):141-149.
- [8] Simone N, Lai M, Rumi C, et al. Non-invasive detection of fetal rhesus D status: a comparison between polymerase chain reaction and flow cytometry[J]. *Fetal Diagn Ther*, 2006, 21(12):404-409.
- [9] Mavrou A, Kouvidi E, Antsaklis A, et al. Identification of nucleated red blood cells in maternal circulation: a second step in screening for fetal aneuploidies and pregnancy complications[J]. *Prenat Diagn*, 2007, 27(8):150-153.
- [10] Aali BS, Malekpour R, Sedig F, et al. Comparison of maternal and cord blood nucleated red blood cell count between pre-eclamptic and healthy women[J]. *J Obstet Gynaecol Res*, 2007, 33(11):274-278.

(收稿日期: 2011-01-04)

CKS2 蛋白及其在恶性肿瘤中的研究进展

王佳佳 综述, 张忠英[△] 审校

(福建医科大学教学医院/厦门大学附属中山医院临床检验中心 361004)

关键词: 细胞周期; 肿瘤; 研究; CKS2 蛋白

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.06.026

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)06-0670-04

周期蛋白依赖性激酶亚基 CKS(cyclin-dependent kinase subunit)家族广泛存在于真核生物, 它由一组相对分子质量为 $(9 \sim 18) \times 10^3$ 的小蛋白构成, 对细胞分裂周期的调节起重要

作用。人类细胞中存在两种 CKS(又称 CKSHS)蛋白, 分别为 CKS1(cyclin-dependent kinase subunit 1)和 CKS2(cyclin-dependent kinase subunit 2)。其中 CKS2 已被观察到在多种恶

[△] 通讯作者, E-mail: zhangzy1121@yahoo.com.cn.