

全国标记免疫分析 学术研讨会论文集

王建刚
主编 张世豪
温耀刚

主审 杨永青

•3-53

原子能出版社

全国标记免疫分析 学术研讨会论文集

Proceeding of National Symposium on Clinical Application of Labeled Immunoassays

王建刚
主编 张世豪
温耀刚

主审 杨永青

原子能出版社

(京)新登字 077 号

图书在版编目(CIP)数据

全国标记免疫分析学术研讨会论文集/王建刚等主编;杨永青主审. —北京:原子能出版社,1995.4

ISBN 7-5022-1326-0

I. 全… II. ①王… ②杨… III. 免疫学:肿瘤学-医学检验-标志-讨论会-文集 IV. R730.3-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字(95)第 00252 号

内 容 简 介

本书是从全国标记免疫分析学术研讨会的论文和工作报告中精选出 30 余篇汇集而成,其中 13 篇重点论文附有英文摘要。主要内容包括:标记免疫分析的基础研究;男女性功能异常时的临床应用、随访和机理探讨;肿瘤标志物的临床诊断和随访;标记免疫分析的质量控制;以及与内科、外科、妇产科、儿科等有关的临床实践等。本书可供大、中医院的内、外、妇产、儿科的临床医师参考,亦是医学院校师生和从事标记免疫分析工作的医技人员极有价值的参考书。

原子能出版社出版 发行

责任编辑:陈进贵

社址:北京市海淀区阜成路 43 号 邮政编码:100037

原子能出版社印刷厂印刷 新华书店经销

开本:787×1092 mm 1/16 印张 5.125 字数 132 千字

1995 年 4 月北京第 1 版 1995 年 4 月北京第 1 次印刷

印数:1—4500

定价:5.40 元

前 言

1994年6月24至29日在山东兖州矿务局召开了全国标记免疫分析学术研讨会,参加会议的代表达150人,分别来自28个省、市、自治区。会上北京、上海、天津和江苏的专家、教授作了专题学术讲座。会议共收到学术论文、工作报告200余篇,为了发展标记免疫分析事业,促进交流,我们选择了其中的30余篇优秀论文予以发表,主要包括:标记免疫学分析的基础研究;男女性功能异常的临床和机理探讨;肿瘤标志物的临床应用;质量控制的建立和分析以及与内、外、妇、儿科有关的临床实践等。由于编者的水平有限,时间仓促,层次体例不尽统一,欢迎读者批评指正。

编者 1994年10月

目 录

一个改良的体内同位素替换技术及其对大鼠不同组织细胞核结合 T_3

容量的测定	王兴海 马鼎志 马惠珍等(1)
放射免疫分析鼠肾上腺移植后血清中 ACTH 的变化	景润峰 任清雨 刘宏军等(6)
前列腺特异抗原放射免疫测定及临床应用	张德永 张 浩 温凯辉等(9)
性早熟儿童血清中性激素含量的放射免疫分析	任清雨 景润峰 藏卫东等(12)
透明质酸 RIA 在肝硬变诊断中的应用	王振英 高玉芳 孙宝义(15)
儿童血清铁蛋白的变化	乔建民(17)
血、尿 β_2 -MG 放射免疫分析对各种肾病的诊断意义	孙宝义 王振英 高玉芳(20)
血清铁蛋白对儿童缺铁性贫血、肿瘤、冠心病和	
甲状腺功能异常的临床意义	虞建秋 杨永青 钱敏冬等(22)
前列腺特异抗原测定及临床应用的研究	张顺英 马云川 张玉成等(25)
阻塞性黄疸患者淋巴细胞亚群变化规律的初步探讨	赵福顺 张春敏(29)
某些周围血管疾病中 SOD 改变的观察	王守义 陆 群 沈德康等(33)
RIA 室内质控方法的建立及其结果分析	侯永生(36)
健康小儿血清中甲状腺激素含量测定及其危重病儿检测的临床意义	侯永生 赵景霞 李 强等(39)
男性不育患者血清四种激素水平的观察	李 君 马堪悦(43)
尿促黄体生成激素峰值与基础体温的临床评估	王成瑜 江月珍 杨永青(45)
献血员中 SF、HA 及抗 HBc 的初步调查	李秀云 邵淑丽 于艳妮等(47)
血清透明质酸放免测定在诊断肝病中的应用	张 毅 高福兴 贾战生等(48)
745 名献血员 甲、乙、丙肝查体分析	王福金 刘素措 李 伟(50)
血清 CG、HA、Ft 对实施 α IFN 治疗 CHB 的指导意义	何雪云 王建强(51)
放射免疫分析沉淀物中残留上清液的实验研究	于东颖 杨永青(54)
酶联免疫吸附试验与放射免疫分析抗 HCV800 例的对照分析	吴爱民 李晓双 张卫平等(57)
肾病恢复期检测尿 α_1 -M、Alb 的临床意义	盛春永 康诵钧 马元涛等(58)
人降钙素放免试剂盒的研制及其临床应用	王 达 沈新义 耿培兰等(60)
脑血管患者血清甲状腺激素和皮质醇 RIA 结果分析	盛春永 王春兰 张 琴等(63)
碘番酸治疗甲亢患者时血中 T_3 、 T_4 的研究	杨荣生 张 珺 涛 娜(65)
血清 PRL 测定对女性垂体瘤的临床价值	刘春雨 潘新远 赵 军等(67)
228 例流行性出血热血清 β_2 -MG 改变的临床研究	唐步升 唐洪博 赵怀珍(69)
放射免疫分析 AFP 对原发性肝细胞癌与肝炎鉴别诊断的临床意义	成吉富 马岩松(71)
放射免疫分析 AFP 对肝脏疾病的临床诊断价值	张忠平(72)

工 作 简 报

血清甲状腺激素测定的临床意义(摘要)	刘素描 王福金(74)
阜新地区 1238 名干部 AFP 普查结果(摘要)	温晓琴(75)
孕激素放射免疫分析在抗早孕效果观察中的应用(摘要)	何颂华 陈次渝(75)
血清激素放射免疫检测在多囊卵巢综合征诊断中的意义(摘要)	陈次渝 李 敏 何颂华等(76)

CONTENTS

Contents of Original Articles

Determination of the nuclear capacity for L-triiodothyronine in vivo in liver, Kidney, Spleen, Brain, testis and anterior pituitary of rat	Wang Xinghai, et al. (6)
Radioimmunoassay study of Changes of Serum ACTH after adrenal allograft	Jing Runfeng, et al. (8)
Radioimmunoassay of plasma prostate specific antigen and its clinical value	Chang Deyong, et al. (12)
Quantity of sex-hormone in serum of sexual precocity children test by radioimmunoassay	Ren Qingyu, et al. (14)
Application of hyaluronic acid detected by radioimmunoassay in the diagnosis of cirrhosis	Wang Zhenyong, et al. (16)
Changes of Children's serum ferritin	Jian Minqiao(19)
The diagnostic value of β_2 -MG detected by RIA in the blood and urine from patients suffering from various kidney diseases	Sun Baoyi, et al. (22)
Clinical significance of radioimmunoassay serum ferritin for the cases of children iron deficiency anemia, carcinoma, coronary heart disease and thyroid disease	Yu Jianqiu, et al. (24)
Measurement of human serum prostate specific antigen with radioimmunoassay and its Clinical application	Zhang Songyin, et al. (29)
Study of lymphocyte-subpopulation in patients with obstructive Jaundice	Zhao Fushun, et al. (32)
Observations of SOD content change in some peripheral vascular diseases	Wang Shouyi, et al. (35)
The establishment and analysis of internal quality control of RIA	Hou Yongsheng(39)
The clinical significance of determination of serum thyroid hormones in healthy and critically ill children	Hou Yongsheng et al. (42)

一个改良的体内同位素替换技术及其 对大鼠不同组织细胞核结合 T_3 容量的测定

王兴海 马鼎志

(江苏省计划生育研究所, 南京 210029)

马惠珍 王世真

(北京协和医院, 北京 100730)

摘要 本文对测定组织细胞核结合 T_3 容量的体内同位素替换技术作了改进和应用, 并对技术应用的理论根据进行实验证明和讨论。应用改进后的方法测得正常成年大鼠的肝、肾、脾、大脑、睾丸和垂体前叶组织细胞核结合 T_3 容量(ng/g 组织)分别为: 1.21, 1.53, 0.24, 0.32, 0.034 和 5.10。这表明不同组织的细胞核结合 T_3 的容量差别很大。当分析这些组织细胞核的 T_3 受体量同它们对甲状腺激素刺激反应强度关系时发现: 如果以耗氧量和腺粒体甘油磷酸脱氢酶活性为判断指标, 可将组织分为对甲状腺激素刺激反应强的和反应弱的两类组织。反应强的组织, 其细胞核结合 T_3 的容量大, 如肝、肾和垂体前叶; 反应弱的组织结合 T_3 的容量就小, 如大脑和睾丸。垂体前叶结合 T_3 的容量特别大, 可能同它在垂体-甲状腺轴中的特殊调节功能有关。

尽管甲状腺激素的生理功能广泛而复杂, 但它通过与靶组织细胞核受体结合后发生生物效应的共同作用机理, 已为多数研究者所认识^[1~3]。正常成年大鼠各主要器官组织细胞核 T_3 受体的分析工作, 国内未见系统报道。本文就我们实验室条件, 对体内同位素替换技术^[4]加以改进, 并用以测定大鼠的肝、肾、脾、大脑、睾丸和垂体前叶组织细胞核结合 $L-T_3$ 的容量。这些组织对甲状腺激素刺激的反应, 通常以耗氧量和腺粒体甘油磷酸脱氢酶活性为指标^[5,6], 分为有反应的组织(肝、肾、垂体前叶)和无反应的组织(脾、大脑、睾丸)。垂体前叶是一个比较特殊的器官, 它在下丘脑-垂体-甲状腺轴系平衡调节中起重要作用。本研究目的之一是检验这些组织核 T_3 受体的容量同它们的功能之间关系。

材 料 和 方 法

1. 材料 Wistar 种大白鼠, 雄性, 体重 170~200g, 中国医学科学院实验动物中心提供。动物购回后在实验室内喂低碘块料($<50\mu g/kg$), 饮蒸馏水饲养三周使用。

$L-T_3$ (L -triiodothyronine Sodium Salt), 系 SERVA 公司产品; 无载体 $Na^{125}I$ 和 T_3 RIA Kit, 英国放射化学中心产品; Triton X-100, Calbiochem 公司产品, ^{125}I - $L-T_3$, 本实验室标记, SA: $(22\sim26)\times 10^5$ Bq/ μg , 其它所用试剂均为国产, 分析纯。

2. 方法 根据 Oppenheimer 的体内同位素替换技术^[4]加以改进。主要过程如下: 按照 Pearson^[7]方法先测定示踪剂 ^{125}I - T_3 在大鼠体内各脏器的平衡时间, 然后经大鼠尾静脉一次推

注加有不同剂量非标记 T_3 的 ^{125}I - T_3 。于注射示踪剂后的平衡时间点杀死动物。动物在乙醚麻醉下,由腹主动脉取血,取出待测组织,吸干组织表面血污,去除脂肪结缔组织,称重,然后在 $0\sim 4^{\circ}C$ 下作亚细胞分离。细胞核制备如下:将组织切碎,加 $4\sim 10$ 倍体积的 10 mmol/L 磷酸缓冲液(含有 0.25 mol/L 蔗糖, 3 mmol/L 氯化镁, 0.1 mmol/L 氯化锌, 0.5% Triton X-100), $pH\ 7.5$, 制成匀浆, $600\times g$ 离心 10 分钟。沉淀悬浮于原来相同体积的磷酸缓冲液中,搅拌均匀后,通过双层尼龙网(200和64目)过滤,滤液铺放在盛有 1.0 、 1.3 、 1.6 和 2.0 mol/L 蔗糖梯度离心管中, $600\times g$ 离心 10 分钟,吸取 1.6 和 2.0 mol/L 蔗糖液之间的样品部分,调整蔗糖浓度至 0.44 mol/L 后,再将样品以 $600\times g$ 离心 10 分钟,沉淀用磷酸盐缓冲液洗两次即得纯核。细胞核经光镜和电镜检查。以 Borton 方法^[13]测定细胞核的 DNA 的浓度核算细胞核分离回收。为了检查示踪剂在体内的完整性,血浆、组织匀浆用 20% 三氯醋酸沉淀以去除游离碘,沉淀物和胞核中的放射性用 95% 乙醇提取,提取物作下行性纸层析分离,推进剂为 t -amyl alcohol: $2N$ ammonia: hexane 系统^[8]。为了计算组织细胞核受体特异性结合 T_3 的容量,需要测定和计算下列诸参数:血浆的比活度(P),细胞核的比活度(N)和血浆总 T_3 浓度,后者等于外源性 T_3 (注入的 T_3) 和内源性 T_3 (由 RIA 测得的 T_3) 之和。

结 果

(1) 一般结果

分离的细胞核经光镜和电镜检查结果:胞核完整,未见完整的细胞,偶见质膜和其它细胞器。血浆、胞浆和细胞核中的放射性活度经纸层析鉴定, $89\%\sim 94\%$ 的放射性活度是 ^{125}I - T_3 。细胞核分离回收量,以 $mg\text{ DNA/g}$ 湿组织计分别是:肝 1.48 , 肾 2.16 , 脾 10.50 , 大脑 0.86 , 睾丸 6.76 , 垂体前叶 5.24 。

(2) 平衡时间点的测定

由大鼠尾静脉一次推注示踪剂量的 ^{125}I - T_3 ($5.2\text{ ng } T_3/100\text{ g}$ 体重),于不同的时间间隔,处死动物(每个时相点5只动物),取血和组织,测量血浆和组织细胞核中的放射性。当血浆和组织的比活度相等时,示踪剂在体内达到平衡,此一时间即为某特定组织的平衡时间点。在这个平衡时间点上,该组织摄取的示踪剂量最大,于平衡时间点之前,组织中的 T_3 比活度低于血浆中的比活度;于平衡时间点之后,组织的比活度高于血浆的比活度。经过多次实验测得正常大鼠各组织的平衡时间点如下:肝、肾和脾各为 30 min , 大脑 240 min , 睾丸 180 min 和垂体前叶 60 min 。图1系示踪剂 ^{125}I - T_3 在大鼠血浆、肝和垂体前叶组织细胞浆和细胞核中的动态分布图。从最早的观察点,注射示踪剂后 10 min 开始,血浆和胞浆中的放射性 T_3 ,随着时间的延长逐渐下降,而细胞核中的放射性,开始逐渐上升,肝细胞核于 30 min 达到高峰(肝组织平衡时间点),垂体前叶细胞核于 60 min 达到高峰(垂体前叶组织平衡时间点),随后它们类似于血浆和胞浆中的放射性活度变化形式逐渐下降。

表1系注射示踪剂后 30 min (肝组织平衡时间点)时,测得的一组动物(5只大鼠)血浆和肝组织的比活度,两者的平均比值等于 1.05 ,近似于 1.0 。说明, 30 min 时示踪剂 ^{125}I - T_3 在血浆和肝组织之间的分布已达平衡。

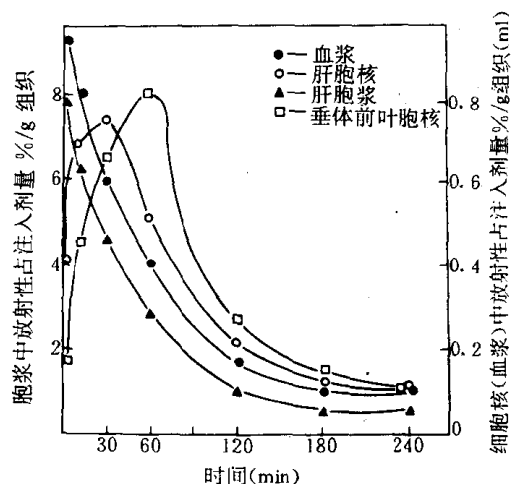


图 1 肝和垂体前叶组织平衡时间点, $^{125}\text{I}-\text{T}_3$ 体内动态分布图

表1 注射示踪剂后 30min 时的血浆和肝组织比活度

动物 (no)	血浆比活度(P) (占注入 T_3 剂量 %/ml)	肝组织比活度(N) (占注入 T_3 剂量 %/g 组织细胞核)	N/P
1	0.47	0.43	0.92
2	0.30	0.34	1.13
3	0.47	0.51	1.10
4	0.45	0.40	0.89
5	0.53	0.64	1.21
平均	0.44	0.46	1.05

(3) 细胞核特异性结合 T_3 容量的测定

随着非放射性 T_3 的注射剂量逐渐增加, 血浆比活度(P)和细胞核比活度(N)的比值(N/P)进行性下降。当剂量增加到一定数值时 6500~13000ng(T_3)/100g 体重, 取决于内源性 T_3 的饱和程度), N/P 比值受到最大的抑制, 不再随着注射 T_3 剂量的增加而下降, 这个值可代表非特异性结合 T_3 的量(N/P) $_{\infty}$, 因此, 细胞核特异性结合 T_3 的容量(q_n), 可根据下式计算:

$$q_n = q_p[(N/P)_0 - (N/P)_{\infty}]$$

式中, q_n 为组织细胞核特异性结合 T_3 的量, 以 ng(T_3)/mg (DNA) 和 ng(T_3)/g(湿组织)表示; q_p 为血浆总 T_3 浓度, 以 ng(T_3)/ml(血浆)表示, 它等于放免测得的血浆 T_3 浓度(内源性 T_3)和注入的 T_3 浓度(外源性 T_3)之和。

表2系测定肾组织细胞核结合 T_3 容量的一次实验结果。从表中可以看出, 注入的 T_3 剂量从 5 增加到 1200 ng (T_3)/100g (体重), N/P 比值从 1.548 下降到 0.053, 继续增加注入 T_3 量到 2400 ng(T_3)/100g (体重), N/P 比值是 0.076 不再下降。0.053 可代表这一组实验的非特异性结合量。

表 2 大鼠肾细胞核结合 T_3 容量的测定

注射 T_3 剂量 (ng/100g(体重))	血浆中放射性 (占注入量%/ml)	血浆中 T_3 浓度 (mg/ml)	N/P	核结合 T_3 量 (ng(T_3)/g(组织))
5	0.58	0.72	1.548	1.08
150	0.70	2.78	0.681	1.75
300	0.62	4.29	0.405	1.51
600	0.54	5.60	0.289	1.32
1200	0.63	98.66	0.053	—
2400	0.47	187.20	0.076	—

表 3 正常大鼠各组织细胞核结合 T_3 容量*

组织	$(N/P)_{ob}$	$(N/P)_{\infty}$	q_p (ng T_3 /ml)	q_n		相对容量**
				ng/mg (DNA)	ng/g(组织)	
肝	0.33	0.048	4.29	0.82	1.21	1.0
肾	0.41	0.053	4.29	0.71	1.53	1.3
脾	0.09	0.034	4.29	0.023	0.24	0.2
大脑	0.11	0.017	3.45	0.37	0.32	0.3
睾丸	0.032	0.021	2.96	0.005	0.034	0.03
垂体前叶	1.48	0.104	3.70	0.97	5.10	4.2

* 每个点代表 5~12 只动物的平均值

** 以肝核结合 T_3 量为 1.0, 各组织与之比较的相对容量

从表 3 看出, 正常成年大鼠各组织细胞核特异结合 T_3 量, 存在着明显的差别。特别是垂体前叶, 其核 T_3 受体容量为肝的 4 倍, 睾丸的 100 多倍。

讨 论

药代动力学研究证明^[9], T_3 在体内的命运符合代谢库模型, 如下述的图 2。

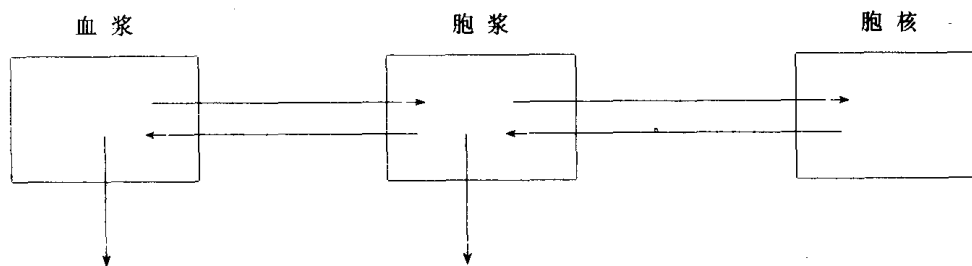


图 2 代谢库模型

根据这个模型, T_3 在血浆和胞浆及胞浆和胞核之间呈双向流动, 互相交换并能够达到平衡。从理论上考虑, 平衡时, 核 T_3 的比活度和核外(血浆或胞浆) T_3 比活度相等, 此时组织摄取

的 T_3 量最大。这是体内同位素替换技术实际应用于分析核 T_3 受体的基本理论依据。我们的结果(图1和表1)也证明这个理论的成立。从图1看出,一次注射示踪剂以后,血浆和胞浆之间的放射性活度迅速到达平衡(10min 之内)且以恒定比率随着时间的延长而下降;细胞核中放射性活度增加较缓慢,注射示踪剂后30min(肝)和60min(垂体前叶)才出现高峰,到达平衡,然后它们和血浆或胞浆类似形式呈分数衰减。表1是注射示踪剂后30min 处死的5只大鼠,测得肝细胞核和细胞浆比活度的比值平均是1.05,接近1.0。上述结果说明, T_3 在细胞核和细胞浆或血浆(因为示踪剂在血浆和胞浆之间交换迅速,很快到达平衡可视它们为一个库)这两库之间能够互相交换,达到平衡,平衡时的细胞核结合 T_3 的量最大。随着非放射性 T_3 注射剂量逐渐增加,组织中比活度进行性降低(表2),当剂量增加到一定数值时,组织中比活度不再随着注射剂量的增加而继续下降,达到一个恒定的最小值。这种替代现象和规律说明细胞核特异性结合 T_3 受体的存在,且表明这种结合是可以饱和的。这是该技术应用实际测定的另一依据所在。大鼠的某些组织细胞核存在着特异性 T_3 受体已被证明,这种受体具有对 T_3 高亲合力和可以饱和结合的特点,并已鉴定它们是一种分子量为60~65000的非组核蛋白^[10]。

本研究目的之一是,试验大鼠的组织功能和反应是否同其相应的 T_3 核受体的结合容量相一致。根据组织耗氧量和腺粒体甘油磷酸脱氢酶活性可以判断各种组织对甲状腺激素作用的反应性。按照这两个标准,大鼠的肝、肾和垂体前叶是属于有反应的组织,而脾、大脑和睾丸属无反应组织。本研究对上述的大鼠组织核受体结合 T_3 容量测定的结果发现,对甲状腺激素作用有反应的组织(肝、肾),其核结合 T_3 的容量大。而脾、大脑和睾丸这些对甲状腺激素作用反应弱和无反应的组织,其核 T_3 受体容量小。说明甲状腺激素增加组织的耗氧量是它同组织核受体结合以后启动的^[3]。垂体前叶核 T_3 受体容量特别大,是肝的5倍,睾丸的100倍,这可能与它在垂体-甲状腺轴系平衡调节中的重要功能有关^[11]。

参 考 文 献

- [1] Bernal, J. et al, Nuclear binding and effects of thyroid hormones. **Pro. Serono. Symp.**, 1981, 105
- [2] DeGroot, L. J. et al, Nuclear receptors for thyroid hormone. **Adv. Exp. Med. Biol.**, 1978, 96:45
- [3] Oppenheimer, J. H. et al, Nuclear receptors and the initiation of thyroid hormone action. **Recent Prog. Horm. Res.** 1976, 32:529
- [4] Oppenheimer, J. H. et al, Specific-nuclear triiodothyronine binding sites in Rat liver and kidney. **J. Clin. Endocrinol. Metab.**, 1972, 35:330
- [5] Barker, S. B. et al, Metabolism of tissues excised from thyroxine-injected rats. **Am. J. Physiol.** 1952, 170:81
- [6] Lee, Y. P. et al, Influence of thyroid hormone on alphas glycerophosphate dehydrogenases and other **dehydrogenases** in various organs of the rat. **Biochem. J.** 1979, 182:371
- [7] Pearson, J. D. et al, Distribution and equilibrium of thyroid hormones in rat tissues. **Strahlentherapie (Sonderb.)**, 1958, 38:290
- [8] Bellabarba, D. et al, An improved method for chromatography of iodothyronines. **J. Clin. Endocrinol. Metab.** 1968, 28:305
- [9] Oppenheimer, J. H. et al, Tissue differences in the concentration of triiodothyronine nuclear binding sites in rat. **Recent Progress in Hormone Research**, 1969, 25:381

- [10] Surks, M. I., et al, Limited capacity binding sites for L-triiodothyronine in liver nuclei. **J. Biol. Chem.** 1973,248:7066
- [11] Bowers, C. Y. et al, Interaction of L-T₄ or L-T₃ and TRH on the release and synthesis of TSH from the anterior pituitary gland of mice. **Endocrinology**, 1967, 81:741
- [12] Burton, K., et al, A study of the conditions and mechanism of the diphenylamine reaction for the colorimetric estimating of DNA. **Biochem. J.** 1956, 62:315

Determination of the Nuclear Binding Capacity for L-Triiodothyronine in Vivo in Liver, Kidney, Spleen, Brain, Testis, and Anterior Pituitary of Rat

WANG Xing-Hai, MA Ding-Zhi

(Jiangsu Family Planning Research Institute, Nanjing 210029)

MA Hui-Zhen, WANG Shi-Zhen

(Peking Union Medical College Hospital, Beijing 100730)

an improvement was made on the technique of isotopic displacement to determine nuclear binding sites for L-triiodothyronine (L-T-3) in vivo in the following rat tissues: liver, kidney, spleen, brain, testis and anterior pituitary. If liver is normalized to 1.0 the relative binding capacity is: liver 1.0, kidney 1.3, spleen 0.2, brain 0.3, testis 0.03, and anterior pituitary 4.2. The relatively low binding capacity in spleen, brain and testis is of interest since these tissues do not respond to thyroid hormone with the expected increase in oxygen consumption and in the level of mitochondrial alpha-glycerophosphate dehydrogenase, whereas the strong response in liver and kidney to thyroid hormone are consequent on high binding capacity. The anterior pituitary is an important target organ of thyroid hormone effect. Its very high binding capacity is counts for the important role of feedback regulation in synthesis and secretion of thyroid hormones.

放射免疫分析鼠肾上腺移植 后血清中 ACTH 的变化

景润峰 任清雨 刘宏军* 张 静 杜百廉

(河南医科大学解剖教研室, 郑州 450052)

摘要 本实验应用放射免疫法分析了大白鼠双侧肾上腺切除植入一枚新生鼠肾上腺后血清中 ACTH 含量的变化。实验结果表明: 切除双侧肾上腺植入一枚新生鼠肾上腺于肾被膜下, 术后一周血清中 ACTH 含量明显升高, 其值为 341.91ng/L, 第三周增至 360.49ng/L, 第五周达 391.19ng/L; 而术后第七周降至 248ng/L。正

* 河南省武警医院外科

常情况下大白鼠血清 ACTH 含量为228ng/L。移植组与对照组进行方差分析,差别具有显著性($P<0.01$)。切除双侧肾上腺术后一周血清 ACTH 亦升高,其值达307ng/L,切除组与对照组进行 t 检验,差别无显著性($P>0.5$)。实验结果显示:切除靶器官的刺激使血清中 ACTH 含量升高,但升高不如有微小移植物存在时显著。肾上腺移植后血清中 ACTH 水平逐渐增高,移植的肾上腺皮质也逐渐增大,在移植后第五周,血清中 ACTH 水平达高峰,移植的肾上腺也发育成熟;在第七周,束状带细胞呈现分泌状态,血清中 ACTH 接近术前水平。为此在以新生仔作为供体的肾上腺移植过程中,垂体分泌的 ACTH 对于肾上腺的发育成熟具有重要作用。

肾上腺移植方面的临床工作国内外报道甚多^[1~6],正常情况下垂体-肾上腺轴系的功能关系亦有较为详细的研究^[7]。肾上腺移植的基础研究,特别是移植后垂体-肾上腺轴系的功能状况国内外报告甚少,我们采用放射免疫分析对肾上腺移植后垂体-肾上腺轴系的功能关系进行了研究,现报告如下。

材 料 与 方 法

150~200g 健康雄性 Wistar 鼠48只,随机分为三组。移植组:术前取静脉血 0.5ml,离心后血清储于低温冰箱备用。取1%戊巴比妥钠腹腔内麻醉,背部正中切口切开皮肤,竖背肌与腹前外侧肌交界处分离肌肉进入腹膜外腔,暴露肾脏,摘除双侧肾上腺,同时将一枚新生鼠肾上腺用斜面微管注入肾被膜下,缝合伤口,回笼后以0.9%盐水饮用两周。分别于术后一周、三周、五周和七周取静脉血离心后低温保存备用。动物处死取肾上腺、下丘脑、肝、胸腺作组织学和电镜观察。每组动物6~10只。对照组:与移植组同等饲养条件下喂养四周后取血。切除组:腹腔内注射1%戊巴比妥钠麻醉,背部切口,切除双侧肾上腺,缝合伤口回笼,术后以0.9%盐水饮用,一周后取静脉血。上述各组动物饲养条件一致,室温15~18℃,自然采光,取血时间均在上午9点左右,离心后血清在低温下储存。ACTH 药盒购自天津 DPC 公司,所有样品同一批测出,实验资料用美国 SPSS 软件包在 IBM/PC/XT 微机上进行统计学处理。

结 果 与 讨 论

对照组大鼠血清 ACTH 均值为228.54ng/L,双侧肾上腺切除植入一枚新生鼠肾上腺术后一周大鼠血清中 ACTH 显著升高,均值达341.91ng/L,术后三周增至360.49ng/L,第五周达391.17ng/L,但在术后第七周鼠血清中 ACTH 显著下降,均值248ng/L(见表1)。移植组与对照组进行方差分析,差别具有显著性($P<0.01$)。移植前后自身对照 t 检验($0.05>P>0.01$),差别显著。移植组之间一周、三周、五周和七周两两比较,术后第五周与第七周差别显著。

表1 肾上腺移植前后血清中 ACTH 含量平均值(ng/L)

时间	术前	术后一周	三周	五周	七周
例数	37	11	8	8	7
ACTH($\bar{x}$)	228.54	341.91	360.49	391.17	248

切除双侧肾上腺一周血清中 ACTH 水平亦明显升高,均值为307.12ng/L,切除组与对照

组进行 t 检验, $P > 0.05$, 差别无显著性。

我们的实验结果表明: 新生仔作供体的肾上腺移植后, 成年受体鼠血清中 ACTH 含量发生了显著变化, 从术前的 228.54ng/L 逐渐上升, 在术后第五周达最高峰, 391.17ng/L , 而在第七周又降至 248ng/L , 相似于术前水平, 这个变化说明在肾上腺移植后垂体功能发生了巨大变化, 这个变化适应了新生仔肾上腺发育成熟的需要。众所周知, 人类肾上腺皮质在出生后有一个永久性皮质发育成熟, 胎儿性皮质消退过程。大白鼠肾上腺在出生后亦有类似人肾上腺变化的过程^[7]。我们对移植后的肾上腺进行了组织切片和电镜观察, 结果提示: 肾上腺皮质在移植后也经历了一个发育成熟的阶段, 移植后永久性皮质迅速发育, 特别是束状带逐渐增宽, 细胞日趋成熟, 在术后第五周, 移植的肾上腺在肾被膜下已达正常成年鼠肾上腺大小, 束状带细胞已有分泌功能。术后第七周皮质三个带区分明显, 束状带宽阔, 细胞成熟并呈分泌状态。实验说明: 移植后成年鼠血清中 ACTH 升高, 促使新生鼠肾上腺在体内发育成熟, 以满足对肾上腺皮质激素的需要。移植物的增大伴随着 ACTH 的进一步增高, 一旦移植的肾上腺发育成熟, 特别是束状带细胞呈现分泌状态, ACTH 降至接近术前水平。说明成年鼠移植入新生鼠肾上腺后其垂体功能的变化完全适应不成熟肾上腺的发育需要。本实验结果也提示: 仅仅切除双侧肾上腺能使血清中 ACTH 升高, 但这种升高不如如有微小移植植物存在时明显。William 的实验也证明: 成年鼠移植了自体肾上腺后血清中 ACTH 没有变化, 成年鼠切除双侧肾上腺植入新生鼠肾上腺后血清中 ACTH 升高, 但是如果仅切除成年鼠一侧肾上腺, 植入一枚新生鼠肾上腺血清中 ACTH 亦无改变^[8]。所以成年鼠为满足自身皮质激素的需要, 在移植了新生鼠肾上腺后, 垂体对于促进肾上腺的发育成熟具有重要作用。

参 考 文 献

- [1] Ott. R, et al; Successful adrenal autotransplantation in cushing's disease. Surgery 1984; 96(5), 1054
- [2] Matsuda ' M, et al; Autotransplantation of the adrenal gland using microvascular anastomosis. Transplant Proc. 1987. 19, 2581
- [3] 陈忠华, 等. 同种异位带血管肾上腺移植3例报告. 中华器官移植杂志. 1984; 5(4), 170
- [4] 黄育勉, 等. 胎儿肾上腺组织移植治疗 Addison' 病 2 例. 第四军医大学学报 1988; 9(3), 191
- [5] 谢桐, 等. 双侧肾上腺全切除及腺体自体肌肉种植治疗柯兴氏病 中华泌尿外科杂志 1982; 3(1). 41
- [6] 苗延宗, 等. 带血管的胎儿肾上腺移植 2 例报告. 中华器官移植杂志 1987; 8(2), 73
- [7] 坂元正一著, 闫国来译: 胎儿内分泌学. 人民卫生出版社 1983; 94
- [8] Engeland. cw. plasma Adrenocorticotropin concentration is elevated in adult rats with neonatal adrenal transplants. Endocrinology. 1984; 114, 2160

Rodioimmunoassay Study of Changes of Serum ACTH after Adrenal Allograft

Jing Runfeng Ren Qingyu Lion Hongjun Zhang Jing Du Bailian

(Henan Medical University, ZHeng ZHou 450052)

the changes of the serum ACTH of the adult rats which bilaterally adrenalectomized and grafted with newborn rat adrenal transplants under the kidney capsule were studied with RIA. the result demonstrated that the

contents of the serum ACTH obviously increased after transplantation. At the first week after operation, the mean value was 341.91ng/L, at the third week, it was 360.49ng/L and it reached 391.19ng/L at the fifth week, but decreased to 248ng/L at the seventh week after operation. The contents of the serum ACTH were 228ng/L in the normal rats. The difference was significant between the graft group and the control group through the analysis of variance ($P < 0.01$). One week after bilateral adrenalectomy, the serum ACTH was 307ng/L. Test was made in the removed group and the control group, and there was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). The results show that the stimulus of the remove-target-organ made the serum ACTH increase, but this increase was less than that of the stimulus of a little graft. After transplantation, the level of the serum ACTH increased, and the grafted adrenal cortex grew and developed. At the fifth week after transplantation, ACTH reached its peak, and the adrenal cells got matured. At the seventh week, the cells of the fasciculus zone possessed the function of secretion, and the serum ACTH decreased nearly to the normal level. It is suggested that ACTH secreted from hypophysis may be of great importance during the process of growth and maturation of the grafted adrenal of the newborn rats.

前列腺特异抗原放射免疫测定 及临床应用

张德永 张 浩 温凯辉* 刘 欣 宋宗禄 纪志刚

(北京协和医院, 北京 100730)

摘要 应用放射免疫法测定了204例前列腺疾病和40名正常男性血浆中前列腺特异抗原(PSA)的浓度。结果表明:前列腺良性疾患的PSA高于正常值($P < 0.01$),其中26%前列腺良性疾患患者的PSA $> 4\text{ng/ml}$,为可疑前列腺癌,随着PSA水平的增高,前列腺癌的检出率明显增加。因此PSA水平的动态检测具有出现临床症状之前筛选早期前列腺癌的价值。

前列腺癌是中老年男性主要的疾病及死亡原因之一^[1]。许多学者发现预测早期前列腺癌的的最好方法是动态检测前列腺特异抗原(Prostate Specific Antigen, PSA)。它由前列腺上皮分泌的糖蛋白,分子量为33000~34000道尔顿。具有高度的敏感性和特异性。为此我们检测了225例患者和40名正常人,现总结如下。

材 料 和 方 法

1. 来源

(1) 正常人40名,为本院查体健康,无前列腺疾患之男性,年龄50~76岁,平均62岁。

* 北京军区总医院。

(2) 前列腺肥大140例,年龄48~86岁,平均66岁。

(3) 临床检查有前列腺硬节及可疑前列腺癌的患者49例,年龄52~85岁,平均67岁。

(4) 前列腺癌15例,年龄58~79岁,平均73岁。

(5) 其它癌如膀胱癌、直肠癌等21例。

2. 标本的收集 空腹静脉取血3ml,于室温置30分钟,分出血清, -20℃ 保存待测。7例手术前后多次取血,以动态追踪其变化。

3. 试剂 中美合资天津九鼎医学生物公司 PSA 试剂盒,按说明书操作。批内变异<10%,批间变异<15%。

结 果

(1) 各组患者 PSA 测定结果,见表1。

表1 各类前列腺疾患与正常人 PSA 的检测结果

组 别	例 数	PSA(ng/ml) $\bar{x} \pm s$	测定范围	P 值
正常对照组	40	0.44±0.07	0.1~2	
前列腺肥大	140	1.09±0.1	0.1~4.6	<0.01
前列腺硬节、可疑癌	49	2.38±0.46	0.1~10.8	<0.01
前列腺癌	15	287.9±0.07	25.6~444.3	<0.01
其它癌	21	0.7±0.05	0.1~3.3	

(2) 前列腺癌患者手术前、后 PSA 动态测定情况,见表2。

表2 前列腺癌患者手术前、后 PSA 动态情况

编号	手术前 PSA (ng/ml)	手术后 PSA (ng/ml)				
		一月	二月	三月	四月	六月
1	444.3	77.4	6.1	3.5	0.9	0.3
2	376.1	89.5		0.1		2.9
3	370.2	55.7			0.4	
4	316.3	66				0.2
5	46.3	10.7		0.7		
6	238.8	43.7	0.2			0.2
7	71.9	16.2		0.5		0.3

(3) 典型病例随诊情况。1例前列腺癌症患者手术切除肿瘤后4年死于肺部感染,肿瘤切除病理检查为中分化腺癌,术后追加放疗3个月治愈出院。3年后,双肺多发性球形转移,经化疗后转移灶消失,化疗过程监测 PSA 的改变(见图1)说明 PSA 可作疗效判定标准之一。

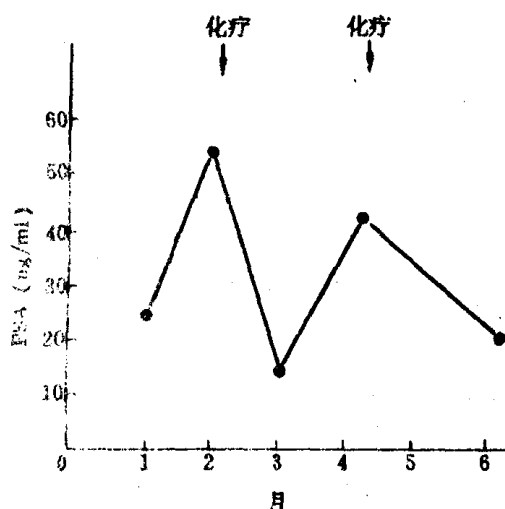


图1 前列腺癌化疗后 PSA 监测

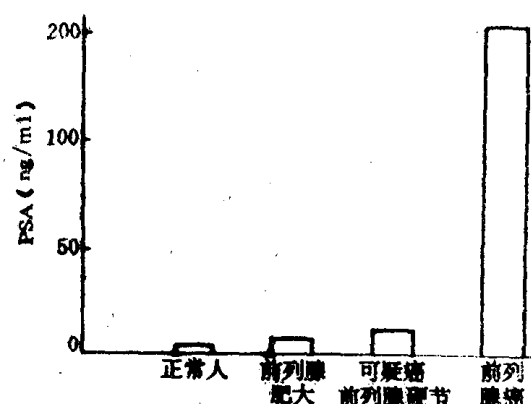


图2 不同类型前列腺疾病与 PSA 关系

讨 论

前列腺特异抗原(PSA)是检测前列腺癌的高灵敏度、特异性的肿瘤标记物。对前列腺癌的诊断、疗效判定和预后估计有参考价值^[2]。

通过204例不同类型前列腺疾患病人的 PSA 水平与正常人的 PSA 之比较,可以看出较长时间内连续 PSA 水平测定能在出现临床症状之前筛选出早期无症状的前列腺癌。此外本组资料还说明 PSA 水平升高有可疑前列腺之可能,PSA 水平越高前列腺癌的检出率越高(见图2)。

PSA 测定结果显示,当 PSA 水平超过4ng/ml 时,有26%(13/49)为可疑癌。因此我们主张 PSA 水平轻度升高者应进行活检及定期随访 PSA 水平以便早期发现微小病灶,从而进行早期治疗。国外报道^[3,4],PSA 水平高于 10ng/ml 的男性中66%发现前列腺癌。本文15例前列腺癌患者均>50岁,手术前 PSA>40ng/ml,术后一个月明显下降,最低值为10.7ng/ml,半年后降至3ng/ml 以下。美国癌症协会与美国泌尿能协会提出>50岁男性应每年测定 PSA 及作肛门指诊^[5]。并强调用肛门指诊或 B 超检查未发现病灶的人群,经 PSA 试验、筛选,约66%发现前列腺癌,因此 PSA 升高的患者即使无临床症状也应活检。我们赞同这一观点,PSA 过筛试验的价值是 PSA 升高至10ng/ml 之前即能检出癌肿,以期达到早期发现,早期确诊,早期治疗的目的。

参 考 文 献

- [1] 殷蔚伯译,前列腺癌 临床肿瘤手册. 29,310