维普资讯 http://www.cqvip.com

文章编号:0253－3626(2003)03－0375－02

5′核苷酸酶的自动化测定及临床价值探讨

吴 倩[1], 曾祝伦[1], 帅春海[2]

(1.重庆医科大学第二临床学院临检中心,重庆 400010;2.重庆医科大学检验系 98 级实习生,重庆 400016)

【中国图书分类法分类号】R446.1 【文献标识码】B 【收稿日期】2002－05－07

5′－NT(5′－nucleotidase)全名为 5′－核糖核苷酸磷酸水解酶,它广泛存在于全身各组织中,尤以肝、脑、肾、肺中含量为高,但血清中 5′－NT 升高却仅见肝胆疾病中。5′－NT 在肝脏存在于毛细胆管膜和窦状膜及枯否在细胞内,定位在细胞膜上。肝胆系统内的高浓度胆汁酸在去垢作用,在肝胆发生病变时,释放的 5′－NT 只有经胆汁酸去垢处理后才能入血,使血清中 5′－NT 活化增高。[1]正由于其高度的特异性,测定 5′－NT 活性对诊断肝胆疾病具有重要的价值[2]。然而由于测定 5′－NT 的影响因素较多,使其临床应用并不广泛。本文介绍法国梅里埃公司生产的试剂在自动生化分析仪上测定 5′－NT 的应情况。

1 材料和方法

1.1 仪器

OLYMPUS AU560 全自动生化分析仪。

1.2 试剂

法国梅里埃公司生产的 5′－NT 试剂盒。

1.3 标本采集

要求取无溶血、无黄疸、无脂血的血清标本备用。健康对照组 40 例,体检健康,无肝胆疾病,年龄 20～67 岁人群。病例组 120 例,男 62 例、女 58 例,年龄 34～70 岁,为我院住院部、门诊确诊:肝癌 21 例,肝细胞性黄疸 29 例,梗阻性黄疸 20 例,慢性重症肝炎 13 例,胆囊结石 14 例,骨折 14 例,其他肿瘤 9 例。

1.4 方法[6]

根据 5′－NT 试剂盒说明,在 OLYMPUS AU560 生化分析仪上编制测定程序,用无溶血、新鲜血清进行测定。

1.5 系统参数

标本量 5μl 试剂量 250μl 波长 540nm
方法 速率法 延迟时间 180s 读数时间 360s

2 结 果

2.1 批内重复性实验

取高、低 5′－NT 活性的病人血清标本各 1 份,用本法连续测定 20 次。高值血清平均值、标准差、批内变异系数(CV%)分别为 56、32、2.50、4.40;低值血清分别为 4.02、0.29、7.20。

2.2 批间重复性实验

取正常人血清标本 1 份,分成 3 批,每批重复 10 次,取出平均值、标准差、变异系数(CV%)分别为 4.47、0.60、13.50。

2.3 线性范围

用 1 份直接测定得 5′－NT 活性为 182.56IU/L 的血清标准用生理盐水按不同比例稀释后测定,结果见表 1。

表 1 5′－NT 线性试验结果

编号	1	2	3	4	5	6
稀释比	1:32	1:16	1:8	1:4	1:2	1:1
测定值(IU/L)	6.30	12.61	25.38	50.78	94.96	182.56

$Y = -0.0138X + 0.0055$ $r = 0.9996$

2.4 回收实验

取含量为 24.66IU/L 和 2.36IU/L 的标准血清,及 1 份病人血清标本做回收实验。用本法测定结果,见表 2。

2.5 干扰实验

在已知 5′－NT 浓度血清中,分别加入 184μmol/L 的胆红素、1000mg/L 的血红蛋白再测定 5′－NT 变化。用干扰率表明物质干扰状况,见表 3。

2.6 参考值范围

作者介绍:吴 倩(1970－),女,主管技师,
主要研究方向:临床生化。

维普资讯 http://www.cqvip.com

对 40 例 20～67 岁正常体检因清标本进行 5′－NT 测定,将得出的结果用百分位数法进行计算,得出正常参考值范围 0.25～7.13(IU/L)

2.7 统计分析

对 120 例不同疾病组的住院患者和 140 例体检正常对照者用本法测定的血清 5′－NT 结果进行回顾性统计分析,以超出正常参考值上限为阳性,$P<0.05$ 有统计学显著意义。

表 2 5′－NT 回收实验结果

基础浓度 IU/L	加入浓度 IU/L	计算浓度 IU/L	测定浓度 IU/L	回收率%
9.5	24.68	11.11	10.80	97.20
9.5	2.36	10.70	10.20	95.20
平均值				96.20

表 3 胆红素、血红蛋白对 5′－NT 测定结果干扰率

干扰物质	原始值(IU/L)	加入后测定值(IU/L)	干扰值(IU/L)	干扰率(%)
胆红素	19.23	19.85	0.62	3.00
血红蛋白	3.47	3.57	0.10	2.80

表 4 120 例不同病种 5′－NT 检测结果

病例名	例数	结果范围(IU/L)	平均值($\bar{x}\pm s$)	阳性率	P 值
正常对照组	40	0.15～6.56	3.46±1.63	——	——
原发性肝癌	21	3.66～149.95	42.94±47.98	90.50%	<0.01
肝细胞性黄疸	29	1.15～8.20	5.65±1.31	7.01%	>0.05
梗阻性黄疸	20	7.08～188.71	57.4±53.03	92.30%	<0.01
慢性重症肝炎	13	1.57～18.98	8.94±4.94	61.53%	<0.05
胆囊结石	14	1.81～24.21	6.20±5.60	12.01%	>0.05
骨折	14	1.92～7.90	3.20±2.47	7.10%	>0.05
其他肿瘤	9	3.50～9.62	7.09±2.00	33.30%	<0.05

3 讨 论

对于肝胆疾病的诊断,5′－NT(5′－核苷酸酶)是一个应用较早的酶,但目前国内外临床应用并不十分广泛,其主要原因是过去测定该酶的影响因素较多,操作繁锁,其结果精密度低。[3]而近几年在检测手段方面有较大的进展,检测不除蛋白,标本用量少,反应灵敏、快速、试剂稳定,从而提高了 5′－NT 测定的实用价值。现在的测定方法有:(1)腺苷法;(2)定量磷酸释放比色法,(3)5′－IMP(次黄嘌呤核苷酸)速率法显色测定。前两种方法需除蛋白,操作麻烦,难以自动化。本文在 OLYMPUS AU560 全自动生化分析仪上,使用法国梅里埃公司生产的 5′－NT 试剂,利用 5′－IMP 释放率计算 5′－NT 浓度。[4]测得其批内重复性高值 CV 为 4.20%,低值 CV 为 7.20%,批间 CV 为 13.50%,结果重复性较好;线性范围宽,可达 182.56IU/L,且呈高度相关性;理想的回收率为 95%～105%,本法回收率平均为 96.20%;胆红素 < 184μmol/L、血红蛋白 < 1000mg/L 均不会影响实验结果。因而 5′－IMP 速率法运用于全自动生化分析仪,具有特异性好、灵敏度高、操作简单、速度快、易于校准的特点,适用于大量临床标本的检测。

在测试中,将试剂干粉用缓冲液释释后,存放于 4℃一周,空白吸光度从 0.0341～0.0642,对测定结果无影响。但如果将酶液和橡皮塞接触,放室温保存,酶试剂会很快变红,不能使用。因此酶试剂不可和氧化剂接触,如橡皮塞、塑料、器皿中残留的洗涤剂等。

实验测定了 120 病例的 5′－NT 结果为:原发性肝癌 5′－NT 活性明显增高($P<0.01$),原因可能是肝癌引起肝组织全面损害,导致肝小胆管胆汁淤积所至。对于肝性黄疸病人,包括肝细胞性黄疸和梗阻性黄疸,肝细胞性黄疸升高不明显($P>0.05$),梗阻性黄疸升高明显($P<0.01$),原因与胆汁淤积有关。肝胆结石病人中,据文献报道,胆结石患者 5′－NT 活性会明显升高[5],然而,从我们的实验中得出,胆囊结石 5′－NT 升高不明显,胆管结石升高明显,可能与胆管上皮细胞损伤有关。骨折病人 ALP 升高而 5′－NT 不高,因此测定 5′－NT 有助于判断 ALP 活性升高是肝源性或为骨源性。基他非肝性肿瘤 5′－NT 也升高,原因尚 (下转第 378 页)

维普资讯 http://www.cqvip.com

ER、PR，发现 ER、PR 存在于平滑肌细胞的核内，PR 染色较 ER 强，这也可解释在妊娠期、绝经前、绝经后圆韧带发生的变化。Losch A[2]等也报道 1 例绝经后、子宫切除术后的妇女，在经过了 HRT(激素替代疗法)后，在其右圆韧带发生了平滑肌瘤，免疫组化检测发现 PR 阳性，而 ER 阳性。推测本例患者绝经后、子宫对雌、孕激素敏感性降低，而圆韧带内的 ER、PR 并未减少，对雌、孕激素敏感性仍然很高，而发生了平滑肌瘤，进而发生恶变，成为平滑肌肉瘤。

圆韧带肿瘤分为良性和恶性。平滑肌瘤是圆韧带最常见的良性肿瘤，其组织学结构与子宫肌瘤相同，镜检均由成束的纤维和平滑肌组织交织成旋涡状。其它良性肿瘤还有腺肌瘤、囊肿、血管瘤、脂肪瘤、良性混合性中胚叶瘤等。发生于圆韧带的恶性肿瘤极罕见，平滑肌肉瘤多为原来的良性平滑肌瘤恶变而来。本例根据其病程，可能就是先发生平滑肌瘤，然后才恶变成为肉瘤。其鉴别诊断，就其发生部位，可有两种情况。发生在腹腔内段的，难以与浆膜下子宫肌瘤及卵巢肿瘤鉴别；发生在腹腔外段的，往往误诊为腹股沟疝、肿大的淋巴结、脂肪瘤、努克管囊肿等。本例术前就误诊为子宫肌瘤。国外为提高术前诊断的正确率，采用 MRI，可以作出特异性诊断。Troiano RN[3]等认为在解剖学上，附件区是包含卵巢、输卵管、圆韧带，以及胚胎脊发生的所有结构。这一区域的特异性诊断常由传统使用的成像技术如 B 超、CT 而漏掉，而 MRI 成为评价附件区肿块性质的重要工具是因为其为多层平面成像，并且有无法超越的软组织对比度。所以，类似病例除了做常规的 B 超检查外，如高度怀疑此病，或 B 超显示欠佳时，可做盆腹腔 MRI。

子宫圆韧带平滑肌肉瘤治疗方式以手术为主，尽量切除肿瘤及清除肿大的淋巴结，术后辅以化疗或放疗。

参 考 文 献

[1] Smith P, Heimer G, Norgren A, et al. The round ligament: a target organ for steroid hormones[J]. Gynecol Endocrinol, 1993; 7(2): 97 - 100.

[2] Losch A, Haider - Angeler MG, Kainz C, et al. Leiomyoma of the round ligament in a postmenopausal woman[J]. Maturitas, 1999; 31(2): 133 - 135.

[3] Troiano RN, Mccarthy S. Magnetic resonance imaging evaluation of adnexal masses[J]. Semin Ultrasound CT MR, 1994; 15(1): 38 - 48.

(上接第 376 页)不清楚。总之，从上述不同病种 5′ - NT 的结果，可得出胆汁淤积为 5′ - NT 升高的主要原因。

参 考 文 献

[1] 徐克成. 血清酶测定对胆汗淤积的诊断意义[J]. 肝脏病杂志, 1994; 2(1): 54.

[2] Pesce AJ Kaplan LA 著，林其燧，译. 临床化学诊断方法大全[M]. 北京大学出版社, 1990: 945 - 52.

[3] Eroglu A. Activities of adenosine deaminase and 5′ - nucleotidase in cancerous and noncancerous human colorectal tissues [J]. Med Oncol 2000; 17(4): 319 - 24.

[4] 李雪志，周 谋，陶 淘，等. 血清 5′ - 核苷酸酶的自动化测定及其临床意义[J]. 第一军医大学学报, 2000; 20(6): 563 - 564.

[5] 胡建强，张洪清. 血清 5′ - 核苷酸酶测定[J]. 天津医科大学学报, 2000; 6(2): 215 - 211.

[6] 5′ - NT 试剂说明书. 法国生物 - 梅里埃公司生产.