维普资讯 http://www.cqvip.com

(13) 40-42
R521.02
R446.63

肺结核病人淋巴细胞 ANAE 活性的初步观察

临床微生物免疫教研室 陈 芳 卢贤瑜

提 要 本文对40例肺结核病人和57例健康正常人进行了ANAE活性的初步观察。其ANAE阳性细胞百分率($\bar{x}$±SD)分别为：53.5±14.5和74.9±9.5。肺结核病人ANAE阳性细胞率明显低于正常人($P<0.01$)。在疾病组同时观察了ANAE阳性率与病人的性别、年龄、疾病分期和痰中结构菌检查结果的关系，结果显示ANAE活性与这些因素无关。

关键词 淋巴细胞；α－醋酸萘酯酶(ANAE)；肺结核
中图分类号 R521；R446.63

自从Mueller发现ANAE(α－醋的萘酯酶，或叫酸性非特异性酯酶α－acidnaphthyl acetate esterase：ANAE)反应能特异地标记人及小鼠T淋巴细胞以来[1]，国内外许多学者作了广泛研究，认为ANAE可作为T细胞的标记[2,3,4]，以ANAE活性研究细胞免疫功能也越来越广泛和深入。结核病与细胞免疫功能密切相关，但以ANAE检测作为研究细胞免疫功能的手段在结核病方面的应用报道甚少。本文对肺结核病人淋巴细胞的ANAE活性作了初步观察，并与正常人的ANAE活性进行了比较；同时，在疾病组中分别对其性别、年龄、疾病分期和痰菌检查情况与ANAE活性的关系进行了分析，现报道如下：

材料及方法

1. 实验对象

(1) 肺结核病人血标本40份：取自重庆市肺科医院，经胸片、痰中结核菌检查和结核抗体检查确诊的住院病人。

(2) 正常人血标本57份：来自重庆市中心血站的健康献血员。

2. 试剂

(1)固定液40%甲醛

(2) 六偶氮对品红溶液对品红2g溶于100ml2NHcl中，4℃保存备用。临用前将新鲜配制的4%亚硝酸钠3ml滴入等量的对品红溶液中。

(3) 2%醋酸－1－萘酯2g醋酸－1－萘酯溶于100ml乙二醇甲醚中，4℃避光保存。

(4) 孵育液取mol／15磷酸盐缓冲液(pH＝7.6) 90ml置染色缸中，缓慢滴入六偶氮对品红溶液6ml，然后再缓慢滴入2%醋酸－1－萘酯溶液2.5ml，边滴边搅匀，注意控制滴加的速度，以60～90滴／min为宜。此时pH为5.8，37℃预温20min。

(5)复染液：1%甲基绿溶液。

3. ANAE法染色步骤：

参照武建国主编的《实用临床免疫学检验》[5]，略有改动。

维普资讯 http://www.cqvip.com

取1－2ml静脉血肝素抗凝，静置30min，吸取富含淋巴细胞的血浆推片，自然干燥，加40%甲醛固定5－10min，水洗，凉干；浸入孵育液中37℃ 150min，取出以流水冲洗，待干；1%甲基绿复染30秒，流水冲洗，干燥，用油镜计数。

4. 结果判断

在淋巴细胞浆中有1个到7－8个红色或棕色粗颗粒者为ANAE阳性，无颗粒者为阴性。计算出200个淋巴细胞算出ANAE阳性的细胞百分率。

实验结果

1. 健康献血员血标本57份，经ANAE染色其阳性细胞百分率（$\bar{x}\pm s$）为74.9±9.5，作为本实验室的正常参考值；肺结核病人血标本40份，其ANAE阳性细胞百分率（$\bar{x}\pm s$）为53.5±14.5，明显低于正常值，经统计学处理，$P<0.01$两者有显著性差异，见表1：

表1 正常人及肺结核病人ANAE阳性细胞率

组别	例数	$\bar{x}\pm s$(%)	P值
肺结核病人	40	53.5±14.5	$P<0.01$
健康正常人	57	74.9±9.5	

2. 在肺结核病人组中进行不同性别、年龄、病期、痰中结核菌检查结果的ANAE活性比较，结果显示病人的ANAE阳性细胞百分率与其性别、年龄、疾病分期、痰菌结果无明确相关性，见表2。

表2 肺结核病人ANAE活性与性别、年龄、病期、痰菌结果的分析

组别	性别		年龄			病期		痰中结核菌	
	男	女	<36岁	36－60岁	>60岁	进展期	好转期	阳	阴
例数	31	6	8	11	17	21	15	16	21
$\bar{x}\pm s$ (%)	53.5 ±16.1	55.3 ±8.6	46.0 ±12.3	60.3 ±14.8	53.2 ±15.4	51.5 ±15.2	56.9 ±13.8	53.5 ±13.6	50.1 ±17.2
P值	>0.05		>0.05			>0.05		>0.05	

讨论

ANAE法可以作为T淋巴细胞标记的方法已由许多学者证实[2,3,4]，该法不但可以反映T淋巴细胞数量，而且能反映T淋巴细胞功能[6,15]，ANAE阳性率与E花结形成率相平行[6]，且较E花结试验更为敏感。因为T淋巴细胞生长发育过程中先出现羊红细胞受体，到接近成熟或到外周血中完全成熟时才获得ANAE活性，故ANAE确为成熟T淋巴细胞的标志[6,15]；而且ANAE法操作简便，易于保存和复查，无需昂贵仪器和试剂，较之操作繁复的E花结试验、甚至比影响因素较多的淋巴细胞转化试验（待另文发表）都更具有临床实用性。

国内外关于ANAE法的临床应用已有不少报道，如在肿瘤方面[13,14]、抗衰老方面[3]、何杰金氏病[8]、动脉粥样硬化[9]、白血病[11]、龋病[30]等疾病方面，通过对ANAE活性的检测，了解机体细胞免疫功能，对疾病的诊断、辅助诊断、病情估计、发病机理研究、疗效观察和预后判断都具有重要的参考价值。本文通过对40例肺结核病人和57例正常人ANAE活性的检测，建立了本实验室ANAE

维普资讯 http://www.cqvip.com

阳性率的正常值为74.9±9.5(%)，与国内外报道的参考值接近，如Pangalis(1978年)报道的为71±6(%)，Gorin(1982)年报道的为70.0±7.0(%)，施秀琴等(1987年)报道的为71.9±6.03(%)，王继祥(1991年)报道的63(%)。不同实验室所作出的正常值有一些差异，与实验条件、方法不同有关。本文在严格控制实验条件和掌握判断标准的情况下所进行的肺结核病人和正常人ANAE检测，其结果是能反映这两组人群细胞免疫水平的。与正常参考值比较，肺结核病人ANAE阳性细胞百分率(53.5±14.5)明显低于正常值($P<0.01$)，与施秀琴报道相符[7]，进一步证实了肺结核患者T淋巴细胞水平明显降低，细胞免疫功能显著低于正常人；但肺结核病人的ANAE活性与性别、年龄、痰菌结果无关，而且与疾病分期亦无明确相关性，对此，需待收集更多的标本进行进一步探讨。同时，对肺结核病人的临床治疗疗效及预后判断尚需进一步作ANAE活性的动态观察。总之，通过本文研究，不但进一步显示了肺结核病人细胞免疫功能低下的状况，而且反过来进一步证实了ANAE法用于检测机体细胞免疫功能的可行性及应用于临床检验的重要价值。

参考文献

1. Mueller J. et al. Eur J Immunol. 1975;5:270
2. Yang JJ. et al. Immunol. 1979;38:85
3. 王葛英，等. 老年学杂志；1990；10(5)：287
4. 林台城. 中华医学检验杂志；1981，4(2)：121
5. 武建国. 实用临床免疫学检验江苏科学技术出版社，157
6. 刘剑雄，等. 湖北医学院学报 1985，6：4
7. 施秀琴，等. 中华结核和呼吸系统疾病杂志；1988；11(6)：358
8. Lenrert K. et al. Academic Pr. 1982:13
9. Ranki A. et al. J Histochem Cytochem 1980;28(7):704
10. 王继祥. 中华口腔医学杂志 1991；26(2)：120
11. Pieters B. et al. Leuk Res. 1987;11(11):995
12. 冯一中，等. 临床实验与病理学杂志 1990；1：11
13. 吕苏城. 中国免疫学杂志 1991；6：358
14. 肖彭年，等. 徐州医学院学报 1989；2：97
15. 吴文漪，等. 江苏医药 1991；5：245

(收稿日期 1994－01－20)

PRELIMINARY OBSERVATION OF ACID ESTERASE ACTIVITY ON LYMPHOCYTES IN PATIENTS WITH TUBERCULOSIS OF LUNGS

Chen Fang. et al

Dept. of Clinical Microbiology and Immunology

This paper makes a preliminary analysis on ANAE reaction between 57 cases of normal people and 40 cases of patients with tuberculosis of lungs. The rate of ANAE (+) are: 74.9±9.5 and 53.5±14.5 respectively, and it shows that the ANAE reaction in patients with tuberculosis of lungs is much lower than that of normal people. but did not show masked statistical significance in different sex, age, the stage of disease and the result of sputum bacteriodiagnosis

Key Words Lymphocyte: α－acidnaphthyl acetate esterase (ANAE); Tuberculosis of lungs