维普资讯 http://www.cqvip.com



# 体外培养淋巴母细胞检测IL-2方法探讨

微生物学教研室 李 伟 朱道银 王 毅

白细胞介素-2(Interleukin-2, IL-2)能促进T, B细胞的活化增殖，是免疫应答中的重要体液调节因子。检测T细胞产生IL-2的水平对基础和临床研究均有重要意义。目前检测IL-2的方法多用PHA体外诱导淋巴细胞产生IL-2，再用依赖IL-2的细胞株(CTLL)作指示细胞进行检测。但该细胞株比较娇嫩，培养有一定难度，不易保存，而且来源受限。所以，也可选用短期培养的淋巴母细胞作为指示细胞进行检测。本文对该法的一些实验条件作了初步探讨。

## 材料与方法

### 1. IL-2的诱生

静脉采集正常人外周血，肝素抗凝。用淋巴细胞分离液分离单个核细胞，收集洗涤后用含10%小牛血清的RPMI-1640培养液配成$2\times10^6$/ml细胞浓度。加等量2%PHA-M(Difco)，置37℃5%$CO_2$温育48小时。取出后离心，收集上清液（此即IL-2粗品）冻存待用。

### 2. 指示细胞的培养

将收集上清液后的单个核细胞，加入含20%IL-2粗品的培养液至原量，置37℃5%$CO_2$连续培养，2—3天定量换液一次，用镜下细胞计数的方法每天观察生长情况。部分标本并在不同时间加入PHA-M(终浓度1%)，培养24小时后，用$^3$H-TdR掺入法观察细胞的增殖反应。

### 3. IL-2活性测定

取培养第14天的指示细胞用培养液洗涤二次后配成$5\times10^5$/ml细胞浓度备用。将冻存的IL-2粗品融化后用培养液对倍稀释1:2—1:8。在灭菌塑料板孔内加入0.1ml指示细胞和0.1ml待测IL-2粗品，每个稀释度作两份复本，同时设立相应浓度(1%～0.125%)的PHA对照，置37℃5%$CO_2$温育48h，培养终止前16h，每孔加入$^3$H-TdR1微居里。用DYQ-Ⅰ型多头细胞收集器收集培养物，用LS1801液体闪烁仪测定样品的每分钟脉冲数(cpm)，每份样品取两复本的平均cpm。以指示细胞$^3$H-TdR掺入量(cpm值)的高低反映IL-2活性。

## 结 果

### 1. 培养淋巴细胞的生长情况

12份外周血单个核细胞经PHA刺激并加入IL-2粗品培养，用细胞计数法观察见培养第3天（从采血之日计算）细胞明显减少($4\times10^5$/ml左右)，4—5天后数量开始回升，形态为典型淋巴母细胞。6—9天细胞数最多($9\times10^5$/ml左右)，以后呈下降趋势。

### 2. 培养淋巴细胞对PHA的增殖反应

观察4份标本对PHA的增殖反应，3—6天最强，cpm数3—5万。其中两份标本第6天降至细胞对照水平；另两份标本第6天反应仍强，cpm数3—4万，直至第12天才降至细胞对照水平。

### 3. IL-2活性检测

对10份IL-2粗品，用多种指示细胞作24份次检测，见浓度越高，活性越高，浓度

维普资讯 http://www.cqvip.com

表1 IL-2活性测定($\bar{X}\pm SD$)

| 稀释度 | 1:2 | 1:4 | 1:8 | 1:16 |
|---|---|---|---|---|
| cpm×$10^3$ | 17.68±16.26 | 11.35±8.42 | 6.76±4.28 | 6.20±4.91 |
| （括号内为相应浓度pHA对照） | (1.36±1.25) | (2.53±2.33) | (1.44±1.19) | (2.39±2.27) |

降低，活性下降(见表)。

用同一指示细胞检测5份IL-2粗品，见各样品活性有高有低，但其活性均随样品稀释度增高而呈下降趋势。

用6份不同指示细胞检测同一IL-2粗品，虽然IL-2活性仍随稀释度增高而呈下降趋势，但不同指示细胞检测的结果有所差异(见图)。

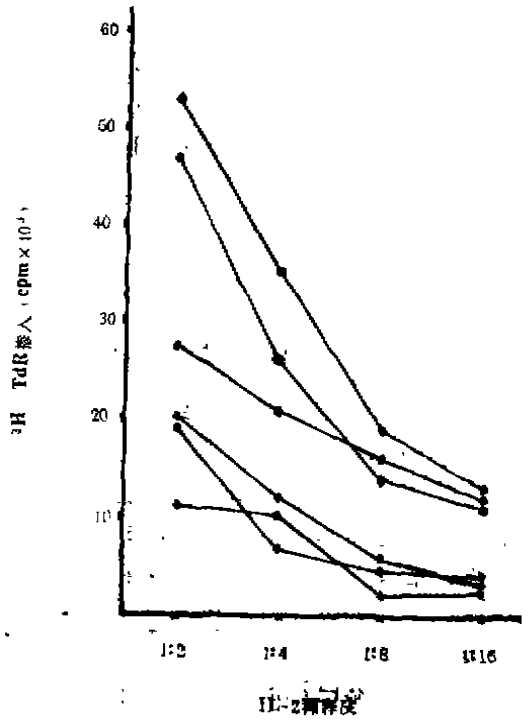



图1 不同指示细胞检测同一IL-2

## 讨 论

目前，IL-2的检测尚无统一方法，大多采用CTLL细胞作指示细胞。由于该细胞株受一些条件限制，所以早有用培养淋巴母细胞检测IL-2的报道[1]，但各实验室采用的实验方法和条件也不一致，本文主要参照吴氏[2]的方法作初步探讨。

外周血单个核细胞培养生长情况，第3日非T细胞大量死亡，所剩小淋巴细胞为受PHA刺激的T细胞，4—5天后数量回升，形态为典型淋巴母细胞。6—9天细胞长势良好，以后细胞数呈下降趋势，二周后死亡细胞增多，与吴氏报道结果相符。该淋巴母细胞若要长期培养除需IL-2外，尚需另加饲养细胞[2]。

为获得既对IL-2敏感，又对PHA增殖反应微弱的淋巴母细胞，我们连续观察培养细胞对PHA的增殖反应，$^3$H-TdR掺入量最大为3—6天，代表DNA合成高峰期，此期先于我们观察到的细胞增殖高峰(6—9天)。培养时间的观察，个体间有明显差别，短的在第6日，长的至第12日对PHA的反应才接近细胞对照，所以我们选用培养12天的淋巴母细胞作为指示细胞。由于IL-2粗品中含PHA，而培养的淋巴母细胞并未完全丧失对PHA的反应能力，所以应当设立相应浓度PHA对照，以保证所测IL-2活性的可靠性。检测中我们采用每孔$5\times10^4$个指示细胞，cpm值可达相当数量，而用1—$2\times10^4$细胞[2]cpm值太低。PHA诱导IL-2的实验条件已有不少报道[3,4]。

对10份IL-2粗品的测定结果可见IL-2浓度越高，活性越高(表1)。一般报道，高浓度IL-2对$^3$H-TdR掺入指示细胞有抑制作用，本文结果可能与我们所制备的IL-2粗品活性低，又置于普通冰箱中冻存，导致部分失活有关。

用同一指示细胞检测几份IL-2粗品的结果，见各样品活性有高有低，但量效曲线基本平行。用几份不同来源的指示细胞检测同一IL-2粗品，量效曲线仍趋平行，但出现

维普资讯 http://www.cqvip.com



# 微机医学图象预处理

物理学教研室 陈良迟 谢正祥 黄载福*

**提 要** 本文介绍微机数字图象预处理技术，包括图象信息采集、锐化、滤波，边缘检测，对比度增强等技术，为医学数字图象处理作必要的技术准备，程序用C语言编制

**关键词** 预处理；图象增强；边缘检测

目前数字图象技术已得到广泛的应用，在医学方面也不例外，供医学诊断用的几种有代表性的图象有CT图象、x射线图象、显微图象，超声图象、热象图等。[1-2]

图象预处理的目的，是提高被观察的图象的质量，使得易于提取特征和识别。通常图象预处理包括图象的变换、增强、重建、滤波等内容。

我们用C语言设计图象预处理程序，并且在图象增强方面取得较好的效果。所用主机是AST-286，摄象机是RCA公司TC-1504，图象处理板是pip-1024(256个灰度级)，显示器是1024×1024彩色显示器，整套装置如图1。

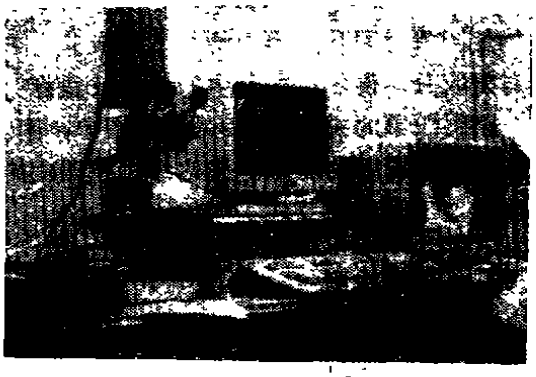


图1 全套图象处理装置

我们的预处理程序有以下功能：

## 1. 图象输入输出

包括完成图象处理板的初始化，图象的摄取、图象信息的磁盘存取，图象终端显示。

## 2. 图象的锐化和高通滤波

图象锐化的目的在于使图象的边缘轮廓鲜明化，有空域和频域方法之分，我们是用空域方法中的3×3象素正方形邻域算法处理

* 同济医大物理教研室

明显差异(见图)。这一结果提示，用不同来源指示细胞可能出现差异，最好采用同一来源的指示细胞进行检测。

用培养淋巴母细胞检测IL-2活性，具有易于培养，来源方便等优点，但方法本身的稳定性有待提高，特别是采用不同来源的指示细胞出现的差异应予克服。

## 参 考 文 献

[1] Gillis S,et al. J Immunol 1978; 120: 2027
[2] 吴易元. 中华微生物学和免疫学杂志 1984; 4(2):69
[3] 钱琴芳，等. 上海医科大学学报 1987; 14(5):321
[4] 常金丽，等. 上海免疫学杂志 1989; 9(1):9