DOI:10.16016/j.1000-5404.2003.03.006

[2] Bennett M C, Diamond D M, Stryker S L, *et al*. Cytochrome oxidase inhibition: a novel animal model of Alzheimer's disease[J]. J Geriatr Psychiatry Neurol, 1992, 5(2): 93—101.
[3] Bennett M C, Rose G M. Chronic sodium azide treatment impairs learning of the Morris water maze task[J]. Behavioral Neural Biology, 1992, 58(1): 72—75.
[4] Raghavendra V, Kulkarni S K. Possible antioxidant mechanism in melatonin reversal of aging and chronic ethanol-induced amnesia in plus-maze and passive avoidance memory tasks[J]. Free Radic Biol Med, 2001, 30(6): 595—602.
[5] Liu C, Weaver D R, Jin X, *et al*. Molecular dissection of two distinct actions of melatonin on the suprachiasmatic circadian clock[J]. Neuron, 1997, 19(1): 91—102.
[6] Benloucif S, Masana M I, Dubocovich M L. Responsiveness to melatonin and its receptor expression in the aging circadian clock of mice[J]. Am J Physiol, 1997, 273(6 Pt 2): 1855—1860.
[7] Busuttil B, Frauman A. Extrathyroidal manifestations of Graves' disease: the thyrotropin receptor is expressed in extraocular, but not cardiac, muscle tissues[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2001, 86(5): 2315—2319.
[8] Simpkins J W, Singh M. The potential role for estrogen replacement therapy in the treatment of cogenitive decline and neurodegeneration associated with Alzheimer disease[J]. Neurobiol Aging, 1994, 15(s2): 195—197.
[9] Poeggeler B, Reiter R J, Tan D X, *et al*. Melatonin, hydroxyl radical-mediated oxidative damage, and aging: a hypothesis[J]. J Pineal Res, 1993, 14(4): 151—168.
[10] Meceer P L, Rogers L. Anti-inflammatory drugs and Alzheimer's Disease[J]. Lacent, 1990, 335(11): 1037—1041.
[11] Hiura T S, Li N, Kaplan R, *et al*. The role of a mitochondrial pathway in the induction of apoptosis by chemicals extracted from diesel exhaust particles[J]. J Immunol, 2000, 165(5): 2703—2711.
[12] Benloucif S, Masana M I, Dubocovich M L. Responsiveness to melatonin and its receptor expression in the aging circadian clock of mice[J]. Am J Physiol, 1997, 273(6 Pt 2): R1855—1860.
[13] Neu J M, Niles L P. A marked diurnal rhythm of melatonin ML1A receptor mRNA expression in the suprachiasmatic nucleus[J]. Brain Res Mol Brain Res, 1997, 49(1-2): 303—306.

（编辑 汪勤俭）

个案与短篇

文章编号：1000-5404(2003)01-0196-01

免疫抑制比浊法检测糖化血红蛋白及其临床应用

HbA1c determination of the turbidimetric inhibition immunoassay and its clinical application

吴杰红，邵丽丽 （第三军医大学附属新桥医院检验科，重庆 400037）

糖尿病是一种代谢紊乱性疾病，以持续高血糖、甚至出现糖尿为特征。糖化血红蛋白(HbA1c)可反映测定前8～12周血糖的平均水平，可作为糖尿病长期控制的良好指标。测定糖化血红蛋白方法有离子交换层析法、亲和层析法、电泳法和比色法等。但因各种实验限制不适于大量的常规检测。用免疫抑制比浊法测定糖化血红蛋白，方法特异，用血量少，快速省时的优点，便于临床应用。现介绍如下。

1 材料与方法

1.1 材料

正常对照组81例，均为排除糖尿病和糖耐量减退的健康成人，男33例，女48例，年龄18～57岁，平均年龄38.5岁。糖尿病患者组77例，临床已确诊的糖尿病患者，男34例，女43例，年龄18～58岁，平均年龄48.6岁。

1.2 仪器

日立7150全自动生化分析仪，瑞士罗氏公司提供的HbA1c试剂盒。

1.3 方法

HbA1c与抗HbA1c抗体反应形成抗原抗体复合物，再加入载有数个HbA1c抗原决定簇的多簇半抗原，该分子与第一步反应中的过剩抗体反应形成不溶性免疫复合物，于340 nm测量其浊度，用生理盐水和试剂提供的4种浓度的标准液5点效标，仪器检测后自动回归计算。同时测血红蛋白(Hb)的浓度。

计算：HbA1c = HbA1c(g/L)×100/Hb(g/L)

2 结果

糖尿病患者组的HbA1c含量比较为(9.3±2.2)%，明显高于对照组的(3.9±0.9)%($P<0.01$)。

3 讨论

成人红细胞的血红蛋白主要是HbA1，占90%以上。在红细胞的生存期内，血红蛋白β链的N末端氨基酸的氨基与血中的己糖(主要为葡萄糖)经缓慢，连续非酶促反应生成的产物，为HbA1合成后化学修饰的产物，即糖化血红蛋白(HbA1c)[1]。HbA1c的含量不能反映近期的血糖水平，不能提供治疗的近期效果，可反映测定前8～12周血糖的平均水平，在估计治疗效果，监测病人对治疗的适应性方面是一个很好的参数，是糖尿

（下转200页）

作者简介：吴杰红(1967—)，男，四川省宜宾市人，主管技师，主要从事临床生化方面的研究。电话：(023)68755000-74702

收稿日期：2001-10-25；修回日期：2002-01-29

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

DMSO 的无血清培养基将扩增的神经前体细胞冻存在－80 ℃, 复苏后这些细胞仍然具备分化成神经元和胶质细胞的能力。总之, 在 ES 细胞的神经移植研究中, 无血清的途径受到广泛的采用, 并已在神经移植研究中获得初步成功。

胚体的培养是 ES 细胞分化的第一步。悬滴法中 ES 细胞在倒挂的液滴中生长, 由于重力的作用, 胚体不可能贴壁, 培养的胚体始终保持球形。采用悬滴法的缺陷是制备的胚体数量有限, 不适合大规模的培养。采用不粘附细胞的细菌培养皿培养胚体操作简单, 培养一次可以获得大量的胚体。

在胚体的贴壁方式上, 比较了将完整的胚体直接贴壁培养以及胚体用胰酶消化后再贴壁培养两种方法, 在其它培养条件相同的情况下, 前一种方法得到的神经前体细胞明显多于后者。可能在完整的胚体贴壁的 24 h 内有神经前体细胞的生长, 或者有细胞进一步向神经前体细胞分化。消化成单细胞后不利于这个过程。

Okabe 的研究表明, 在 ITSF 培养基的 4 种成分中, 转铁蛋白和纤维连接蛋白对促进细胞存活是普遍效应, 胰岛素对 Nestin 阳性细胞的存活有特异效应。在胚体贴壁前, 用纤维连接蛋白处理培养表面, 无论是采用含 ITSF 的培养基, 还是 N_2 的培养基, 纤维连接蛋白的预处理都能增加 NPC 的数量。由于 N_2 添加剂中缺少纤维连接蛋白成分, 在使用 N_2 培养时, 在培养液中补加纤维连接蛋白也能增加 NPC 的数量。

ES 细胞向 NPC 的体外分化不需要特殊的细胞因子, 这与 ES 细胞向其它类型细胞的分化不同。ES 细胞在体外向造血细胞的分化需要特殊的细胞因子 SCF 或 IL-6[7], 分化成 $Flk1^+$ 的血管祖先细胞需要血管内皮生长因子和血小板源性生长因子[8]。ITSF 和 N_2 培养基不含任何"神经诱导因子"却被作为神经前体细胞选择性生长的培养基。现在认为, 这是由于神经的发生是由外胚层的"内定"机制所引导[9,10], 这一神经发生机制被 BMP-4 所抑制, 而当 BMP-4 的作用被 noggin 或 chordin 阻断时, 神经发生则得以进行[11]。

参考文献:

[1] Evans M J, Kaufman M H. Establishment in culture of pluripotential cells from mouse embryos[J]. Nature, 1981, 292(1): 154－157.

[2] Thomson J A, Kalishman J, Golos C G, *et al*. Isolation of a primate embryonic stem cell line[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1995, 92(12): 7844－7848.

[3] Gottlieb D I, Huettner J E. An *in vitro* pathway from embryonic stem cells to neurons and glia[J]. Cells Tissues Organs, 1999, 165(1): 165－172.

[4] Okabe S, Forsberg N K, Spiro A C, *et al*. Development of neuronal precursor cells and functional postmitotic neurons from embryonic stem cells *in vitro*[J]. Mech Dev, 1996, 59(1): 89－102.

[5] Brustle O, Jones K N, Learish R D, *et al*. Embryonic stem cell-derived glial precursors: A source of myelinating transplants[J]. Science, 1999, 285(5428): 754－756.

[6] Hancock C R, Wetherington J P, Lambert N A, *et al*. Neuronal differentiation of cryopreserved neural progenitor cells derived from mouse embryonic stem cells[J]. Biochem Biophy Res Commun, 2000, 271(2): 418－421.

[7] Xu L, Qiao C P, Huang S L, *et al*. Induction of embryonic stem cells to hematopoietic cells *in vitro*[J]. Chin Sci Bull, 2000, 45(8): 815－820.

[8] Yamashita J, Itoh H, Hirashima M, *et al*. Flk1-positive cells derived from embryonic stem cells serve as vascular proginitors[J]. Nature, 2000, 408(6808): 92－96.

[9] Gratacos E, Checa N, Alberch J. Bone morphogenetic protein-2, but not bone morphogenetic protein-7, promotes dendritic growth and calbindin phenotype in cultured rat striatal neurons[J]. Neuroscience, 2001, 104(3): 783－790.

[10] Stull N D, Jung J W, Iacovitti L. Induction of a dopaminergic phenotype in cultured striatal neurons by bone morphogenetic proteins[J]. Developmental Brain Res, 2001, 130(1): 91－98.

[11] Hemmati-Brivanlou A, Melton D. Vertebrate embryonic cells will become nerve cells unless told otherwise[J]. Cell, 1997, 88(1): 13－17.

(编辑 郭建秀)

(上接 196 页)

病长期控制的良好指标[2]。

测定糖化血红蛋白方法有多种。以前常规是离子交换层析法, 该方法要严格控制标本用量和试验的温度, 试验条件要求高。电泳法能分离和定量 HbA1c, 但操作繁琐, 需用特殊设备。比色法用于自动生化学分析仪, 但要选择稳定、准确的标准液不易, 且耗时及样品用量大。最新的亲和层析法快速, 但需用特殊设备。这些方法因诸多原因, 临床使用不便, 不适用于常规检测。

免疫抑制比浊法是目前较理想的方法。原理为在第一步反应中, 样品的 HbA1c 与抗 HbA1c 抗体反应形成抗原抗体复合物, HbA1c 特异性抗原决定簇仅与β 链发生一次反应形成聚合物, 因此抗原抗体复合物只形成一次。再加入载有数个 HbA1c 抗原决定簇的多簇半抗原, 该分子与第一步反应中的过剩抗体反应形成不溶性的三维免疫复合物, 在 340 nm 测量其浊度, 如果样品中 HbA1c 浓度增高, 则不溶性的三维免疫复合物的形成减少, 浊度下降[3]。该法最大的优点为高度的特异性, 保证了结果的准确性, 且样品用量少, 快速省时, 适用于临床大量的常规检测。

随着生活水平提高, 近年来糖尿病发病率逐年增高, 如何运用有效方法监控糖尿病的治疗效果是今后医学界关注的问题。

关键词: 糖化血红蛋白; 免疫抑制; 糖尿病

中图法分类号: R446.61 文献标识码: B

参考文献:

[1] 沈克勤, 杨俊伟. 糖基化终产物与血管病变及糖尿病肾病[J]. 肾脏病与透析肾移植杂志, 1996, (6): 51.

[2] Tzamaloukas A H. The use of glycosylated hemoglobin in dialysis patients [J]. Semin Dialy, 1998, 11(3): 141.

[3] Jarausch J, Lotz J, Hafner G, *et al*. Reference values for the Tina-quant HbA1c Assay[J]. Clin Chem, 1996, 42(2): 116.

(编辑 陈聪连)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net