DOI:10.16016/j.1000-5404.2001.06.011
第23卷第6期 第三军医大学学报 Vol. 23, No. 6
2001年6月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Jun. 2001

降,提示细胞增殖活跃期在第3~7天,甲胎蛋白是反映肝细胞增殖良好指标之一,在细胞增殖分化期甲胎蛋白合成量多,而在细胞分化成熟期合成量少,这一特点与人的肝细胞相一致。上述结果提示体外培养的肝细胞具有良好增殖分化功能,培养时间长达3周左右,能够满足肝炎病毒体外研究的需要,也为我们研究肝炎病毒体外细胞感染模型提供了良好的实验依据。探讨肝炎病毒复制机制、筛选抗肝炎病毒新药以及疫苗的研制奠定基础。

参考文献:

[1] 郝光荣.常用动物种类介绍[A].见:魏 泓 主编.医学实验动物学[M].成都:四川科学技术出版社,1998.216-218.
[2] 王海平,周永兴,姚志强,等.成年Tupaia实验感染丙型肝炎病毒的初步研究[J].第四军医大学学报,1997,18(4):375-376.
[3] 李奇芬,丁明权,王 洪,等.Tupaia感染丁型肝炎病毒的实验研究[J].中华医学杂志,1995,75(5):611-613.
[4] Xie Z C, Riezu-Bo J I, Lasartet J, *et al*. Transmission of hepatitis C virus infection to Tree Shrews[J]. Viroloy, 1998, 244(1): 513-520.
[5] Walter E, Kiederost B, Niederost B, *et al*. Hepatitis B virus infection of *Tupaia* hepatocytes *in vitro*[J]. Hepatology, 1996, 24(1): 1-5.
[6] 王宇明,陈国政,董家鸿,等.分离肝细胞的一种体外灌流法[J].中华消化杂志,1994,14(2):175-178.
[7] 王英杰,王宇明,李梦东.培养人胎肝细胞的形态与功能研究[J].新消化病杂志,1997,5(5):291-292.

(编辑 潘式文)

文章编号:1000-5404(2001)06-0649-01

个案与短篇

布依族Messmann角膜营养不良一家系

Report of a family tree of messmann corena malnutrition in Buyi nationality

马云霞,张 红 (贵阳市第一人民医院眼科,贵阳 550002)

家庭性Messmann角膜营养不良,是一种较为少见的常染色体显性遗传性角膜疾病。国内曾有报告,但布依族家系尚未见报告,我的所见布依族Messmann角膜营养不良家系4代,7例,现报告如下。

1 临床资料

家族系图,见图1。

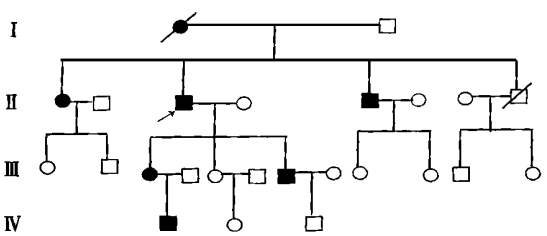


图1 布依族**Messmann**角膜营养不良家系图

●:女性患者;○:女性正常人;□:男性正常人;■:男性患者;◐:已死亡女性患者;◪:已死亡男性正常人

临床病例:先证者,罗××,男,65岁,因双眼间歇性畏光流泪,异物感伴视力下降10余年,于1999年10月就诊。检查:双眼视力均为0.1,矫正视力0.15,双眼裂隙灯显微镜下见角膜上皮粗糙,上皮层内有对称密集灰白色点状混浊,以脸裂部明显,形成小斑块状云翳,裂隙灯后照法可见少许小囊泡,角膜基质层透明,KP(-),眼内检查正常。全身常规体检无异常。

次证者,罗××(先证之女),女,36岁,有近视史20余年,度数不断加深,常更换镜片。双眼阅读时间长或休息差时有畏光,疼痛。视力右眼0.2,矫正0.6。左眼0.25,矫正0.6。裂隙灯显微镜下见:双眼上皮层灰色小点状混浊及散在小泡,基质层透明,KP(-),内眼正常。

再证者,罗×(先证之子),男,30岁,双眼5年前患"角膜炎"而退役。视力逐渐下降,常因劳累、饮酒后双眼畏光不适,点"润舒眼药水"可改善症状。视力右0.5,矫正视力1.0,左0.4,矫正视力0.8。裂隙灯显微镜下见角膜中央散在灰白色小点状及囊泡样病变,点状混浊与囊泡间上皮透明。内眼无异常。

再证者,卢×(先证之外孙),男,13岁,自幼视力差,看电视及做作业时间久后双眼疼痛,畏光流泪。视力双眼0.4,矫正视力均为1.2。裂隙灯显微镜下可见脸裂部角膜上皮内散在点状白色混浊,角膜基质透明,KP(-),内眼正常。

家族史:追问患者家族史,先证者母亲及姐姐弟弟均有畏光流泪,视力差病史。其母亲去世前是双目失明。姐、弟在家乡务农,视力均差。患者的身体健康,否认其它病史,据先证本人所诉家人症状及否认近亲婚配史。故分析均患有此症。

2 讨论

Messmann角膜营养不良,又名青年遗传性上皮性角膜营养

(下转651页)

作者简介:马云霞(1957-),女,回族,陕西省岐山县人,主治医师,主要从事眼外伤及眼病遗传学方面的研究。电话:(0851)5977306

收稿日期:2000-11-25;修回日期:2001-01-05

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

1.5 min, 35 个循环后 5 min 延伸, 扩增产物用含有 EB(0.5 μg/ml)的 2% 的琼脂糖凝胶电泳, 紫外灯下观察拍照[3]。

2　结果

分别以 3 条引物对 5 个不同品系的小鼠基因组 DNA 进行 AFLP—PCR。结果, 只有引物 3 在 5 个品系中呈现多态性, 表现为一个品系小鼠的扩增图谱比其它 4 个品系小鼠的扩增图谱少 1 条带, 见图 1。其它 2 条引物的扩增图谱在 5 个品系小鼠间无差异, 无品系间多态性。

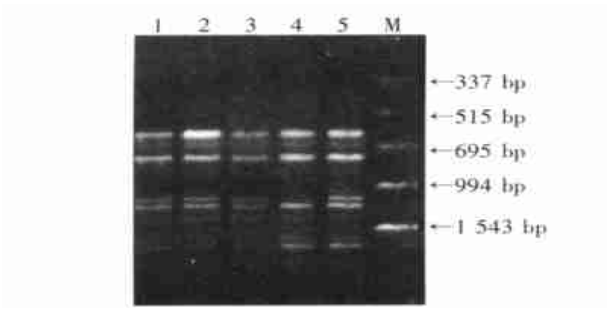


图 1　引物 3 扩增 5 个品系小鼠的结果

Fig 1　Results of amplification amplified by primer 3 in 5 strains of mouse

1: 615; 2: T739; 3: TA1; 4: DBA/2; 5: BALB/c; M: Marker

3　讨论

各品系小鼠 AFLP 谱带的差异, 反应了其遗传背景的差异, 虽然各品系小鼠遗传背景的差异远低于动物种属间的差异, 但是通过其基因组 DNA 的 AFLP-PCR, 各品系小鼠基因组间的微小差异仍可被反应出来, 这表明 AFLP 技术适宜于小鼠的遗传检测。

目前常用的对实验用动物进行遗传检测的方法, 都是进行的表型检测不能反应遗传物质本身的差异[4]。随着分子生物学技术的发展, 分子生物学方法已逐渐运用到实验用动物的遗传检测中, 如 RFLP、RAPD 等。特别是 RAPD, 它和 AFLP 一样也能运用于实验用动物的遗传检测, 但是 RAPD 使用的是随机引物, 很多因素影响其扩增结果, 存在着重复性差, 结果不稳定等缺点[5], RFLP 技术需要先制备相应的探针进行杂交, 操作繁琐。而 AFLP 技术克服了上述两种方法的不足, 既具有 RFLP 技术稳定、可靠、重复性好的优点又有 RAPD 技术灵敏、方便、多态性强的特点[6,7]。AFLP 和 RFLP 的根本差异在于 RFLP 是由限制性内切酶位点不同而显示多态性, 而 AFLP 则是由内切酶位点附近的选择性碱基来决定其多态性。RAPD 技术是在高 Mg^{2+} 浓度, 低复性温度, 短引物序列, 允许引物与模板错配等不严格条件下进行的扩增, 而 AFLP 技术, 引物与模板严格配对的碱基数达 19 个之多, 又是在 56 ℃退火温度下进行, 其结果的可靠性高于 RAPD。用与接头对应的 3′-末端变化 3 个碱基的选择性引物扩增酶切后的基因组 DNA 获得多态性结果, 更有利的是可根据研究的需要, 增减 3′-末端变化碱基数目, 以获取更多的引物, 使相关研究更方便, 更具效力。

研究中我们仅使用了 3 个 3′-末端变化 3 个碱基的引物就筛选了 1 条多态性引物, 表明了 AFLP 具有高效的多态检出率, 但是真正把 AFLP 技术应用到小鼠遗传检测中, 目前的研究结果还不成熟, 还要进行大量引物的筛选。但是本研究为小鼠从 DNA 水平上的遗传检测提供了一种新的技术手段, 将对小鼠的遗传检测研究起到推动作用。

参考文献:

[1] 陈　洪, 朱立煜. 致病性念珠菌 DNA 的 AFLP 指纹图[J]. 科学通报, 1996, 41(10): 935—938.

[2] J. 萨姆布鲁克, E. F 弗里奇, T. 曼尼阿蒂斯 著. 分子克隆实验指南[M]. 北京: 科学技术出版社, 1989. 436—466.

[3] 李传友, 伏健民. AFLP 分析中多态性扩增片段的回收、克隆及鉴定[J]. 遗传快报, 1998, 20(4): 52—55.

[4] 魏　泓 主编. 医学实验动物学[J]. 成都: 四川科学技术出版社, 1998. 52—55.

[5] Williams J G, Kubelik A R, Livak K J, *et al*. DNA polymorphises amplified by arbitrary primers and useful genetic markers[J]. Nucleic Acids Res, 1990, 18(22): 6 531—6 535.

[6] Vos P, Hogers R, Blecker M, *et al*. AFLP: a new technique for DNA finger printing[J]. Nucl Acid Res, 1995, 23(4): 4 407—4 414.

[7] 翁曼丽, 谢纬武. 新一代的分子标记技术-AFLP[J]. 应用与环境生物学报, 1996, 2(4): 424—429.

(编辑　王　红)

(上接 649 页)

不良[1], 是一种家簇性慢性进行性常染色体显性遗传性双眼角膜上皮疾病。病理改变为角膜上皮层内细胞肿胀, 有大小不等囊泡而囊腔内有退变细胞碎屑及固缩胞核[2]。临床主要表现为角膜上皮点状, 囊泡状混浊。角膜上皮的病变造成视力下降, 屈光改变。反复发作则形成角膜斑翳, 严重危害视力, 可行角膜移植术, 但病变可复发于植片中。目前尚无最佳治疗方法, 只能对症治疗, 减少反复发作。

Messmann 角膜营养不良是一种家族性角膜疾病, 各年龄组均可见到, 最小年龄可见于 6 个月婴儿[1], 因而对家族视力危害较大, 随着年龄的增长, 反复发作机率增多, 视力受损加重。建议患者应尽量避免角膜的炎症, 以减少发作机率。

本组家系为布依族, 无近亲结婚, 代代发病, 男女性皆有患者, 遗传与性别无关, 符合常染色体显性遗传病的特征。

关键词: 角膜营养不良; 遗传性疾病; 家系

中图法分类号: R772.2　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 李美玉. 现代眼科诊疗手册[M]. 北京: 北京医科大学、中国协和医科大学联合出版社, 1994. 49.

[2] 孙秉基, 徐锦堂. 角膜病的理论基础与临床[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 1994. 42.

(编辑　陈聪连)

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