DOI: 10.16016/j.1000-5404.1997.03.046

关键词 非气管内插管;呼吸道管理
中图法分类号 R614.24

参考文献

1 杨 晖.一岁以内小儿先天性唇裂修复术80例麻醉体会.中华麻醉学杂志,1995;15(4):167
2 单 闯.小儿全麻术后低氧血症的监测与氧治疗.中华麻醉学杂志,1995;15(4):188
3 韦月桂.小儿腭裂修复术气管内麻醉的并发症.临床麻醉学杂志,1994;10(5):303

(收稿:1996-08-15;修回:1997-02-05)
(编辑 刘 鹏)

个案与短篇

鼠肝组织中 AFB_1-DNA加合物的免疫组化染色

Immunohistochemical staining of AFB_1-DNA addition in the liver tissues of Wistar rats

汪荣泉* 周子成 肖文华** 张新立*** (第三军医大学附属西南医院消化内科)重庆,630038

目前黄曲霉菌毒素 B_1(AFB_1)致动物肝癌已成定论,并可能是一种潜在的致人肝细胞癌(HCC)的化学因素。尽管对AFB_1的代谢及其生物学作用已有较多了解,且借助 ELISA和RIA法可调查食物与环境中 AFB_1的存在及人和动物的血清和尿中 AFB_1及其代谢物的含量,但为进一步阐明 AFB_1的致癌机理,从病理学角度调查 AFB_1的存在情况及其分布特点尤为必要。为此,我们采用免疫组织化学 SP法和抗 AFB_1的多克隆抗体对4例喂饲 AFB_1大鼠肝组织中 AFB_1的存在情况进行了研究。

1 材料与方法

1.1 标本

4例用 AFB_1诱发 Wistar大鼠肝细胞癌前病变组织由本校病理教研室提供。肝组织均经4%多聚甲醛固定,石蜡包埋,切片厚5μm。

1.2 实验试剂

胰蛋白酶购自 Merk公司,抗 AFB_1的兔多克隆抗体由伊朗 Tarbiat Modarres大学医学院生化系 Rasaee教授惠赠,该抗体系以 AFB_1耦联小牛血清白蛋白免疫兔后制备;免疫组织化学 SP试剂盒、DAB显色试剂盒均购自福州迈新公司(美国 Maxim公司进口分装,即用型)。

1.3 免疫组织化学染色

切片常规脱蜡,水化后,用含0.05 mol/L NaOH的40%乙醇处理组织切片10 min使肝细胞的 DNA变性后 AFB_1充分暴露,尽可能多地与特异性的抗体结合。经蒸馏水、PBS依次冲洗后,以1%胰蛋白酶消化组织切片5 min~10 min,经内源性过氧化物酶阻断剂和正常羊血清室温孵育30 min以消除非特异性染色后,加 AFB_1的多克隆抗体(1∶500)4℃孵育12 h,生物素标记的二抗及链菌素亲生物蛋白过氧化物酶室温孵育30 min,DAB显色3 min~5 min,分别以苏木素、甲基绿两种方法对比衬染,常规脱水、透明和中性树胶封片。

对照试验采用正常鼠肝组织、抗 c-erb B-2多克隆抗体和PBS液代替一抗作为阴性对照。

2 结果

2.1 组织学改变

正常鼠肝细胞排列规整,核大小一致,分布均匀。喂饲AFB_1大鼠肝细胞排列仍较整齐,但核大小不一,有巨形核存在,分布不均匀,未见片状坏死区、肝细胞增生灶及肝细胞癌。

2.2 AFB_1的免疫组织化学染色

4例实验大鼠肝组织中均可检测到 AFB_1的存在,AFB_1主要集中在肝细胞核内,而少数肝细胞膜及胞浆内亦有少量的存在;在肝胆管上皮细胞及其它单核浸润细胞内则无 AFB_1的存在。阳性染色肝细胞核呈不均质状棕黄色,阳性染色肝细胞占15%~85%,多以弥漫状为主。阳性肝细胞核的形态学无一定的规律,阳性物质既可出现在较为正常的肝细胞核内,亦可出

* 汪荣泉,男,29岁,住院医师,博士研究生
** 西南医院肿瘤科 重庆,630038
*** 基础部病理学教研室 重庆,630038

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

现在巨形核中。AFB_1的存在与病理形态学变化无关，AFB_1存在区并不出现坏死、增生灶。正常鼠肝组织经同样染色无 AFB_1的存在，用抗 c-erb B-2多抗和 PBS液代替一抗则在喂饲 AFB_1大鼠肝组织中不出现阳性染色。应用苏木素或甲基绿衬染均可显示肝细胞核内的 AFB_1。

3 讨论

关于 AFB_1致动物肝癌的作用早为大量研究所证实。但长期以来，由于缺乏检测人体暴露于 AFB_1的有效手段，使 AFB_1与人 HCC的关系难以从人体中找到直接的证据。虽然近年已建立检测 AFB_1、AFP_1、AFM_1及 AF-N^7-鸟嘌呤加合物的 ELISA、RIA和单克隆抗体亲和层析柱结合高效液相色谱法，可以间接测定动物和人的血清和尿中的 AFB_1及其代谢物的存在，但仍缺乏组织学的依据。钱耕荪等测定 50例 HCC及 267名对照尿液中 AFB_1及其代谢物，发现肝癌病人尿液中含一种或一种以上 AF标志物的检出率高于对照组[1]。但这仍为一种流行病学的间接依据，难以得出 AF与人 HCC因果关系的结论。

我们应用 AFB_1的多抗经免疫组织化学成功地在喂饲 AFB_1大鼠肝组织中建立了 AFB_1的定位方法。结果显示 AFB_1主要集中在肝细胞核内，与 DNA形成加合物，而少数肝细胞膜及胞浆出现 AFB_1可能是因为进入实验动物肝细胞的 AFB_1未能及时地进入核内而滞留于胞膜和胞浆内，其意义可能不大；染色阳性肝细胞为 15%～85%；AFB_1的存在与病理形态学改变无关。本研究 4例大鼠肝组织中均检测到 AFB_1的存在，而正常鼠肝组织经同样染色和用抗 c-erb B-2多抗(兔源性)和 PBS液代替一抗在喂饲 AFB_1大鼠肝组织内均未出现 AFB_1，提示本方法具有较好的特异性。该结论与 Wild的发现类似[2]。

定位于核内的 AFB_1与其中的 DNA形成加合物可能是 AFB_1诱发动物肝癌的始动因素。目前关于 AFB_1与人 HCC关系看法不一，钱耕荪等经系列研究揭示 AFB_1与人 HCC关系密切[1,3]；但 Campbell对中国 65个县进行 AFB_1与 HCC相关性研究后则认为 AFB_1与人 HCC的发生无关[4]。应用本方法如能在人 HCC中检出 AFB_1的存在，将为阐明 AFB_1与人 HCC发生的关系提供更有力的依据。

关键词 AFB_1-DNA加合物；免疫组织化学

中图法分类号 R735.7-3

参考文献

1 钱耕荪，袁剑敏，屠基陶等.尿液中黄曲霉毒素-DNA加合物与肝癌关系的前瞻性研究.肿瘤，1995；15(1)：63

2 Wild C P, Montesano R, Van Benthem J *et al*. Intercellular variation in levels of adducts of aflatoxin B1 and G1 in DNA from rat tissues: a quantitative immunocytochemical study. J Cancer Res Clin Oncol, 1990; 116(2): 134

3 袁剑敏，Ross RK，钱耕荪等.黄曲霉毒素与乙型肝炎病毒对肝癌发生协同作用的前瞻性研究.肿瘤，1992；12(2)：193

4 Campbell T C. Nonassociation of aflatoxin with primary liver cancer in a cross-sectional ecological survey in the People's Republic of China. Cancer Res, 1990; 50(4): 6882

(收稿：1996-05-03；修回：1996-11-10)

(编辑 仇玉福)

105例流感嗜血杆菌菌型鉴定及药敏

The type identification and its sensitivity test of Haemophilus influenzae in 105 cases

杨 辛* (第三军医大学附属西南医院检验科) 重庆，630038

流感嗜血杆菌是一群(革兰氏阴性)无动力、无芽胞的球杆菌，归为嗜血杆菌属。对儿童和成年人造成发病率较高，有必要对临床结果的鉴定、药敏方法进一步研究，现将 105株流感嗜血杆菌菌型生化鉴定及药敏试验，结果报道如下。

1 材料与方法

标本来源：我院收集患者的痰、脓及鼻咽部分泌物标本。

分离培养：按文献[1]介绍的方法进行分离培养。然后作如下初步鉴定：革兰氏染色为阴性，呈双球形或球杆形排列，克氏双糖、葡萄糖产酸不产气，对麦芽糖、蔗糖不稳定，不分解乳糖和露醇，能手还原硝酸盐。最后按兰州卫生学校生物制剂厂提供的制剂合及方法进行菌型鉴定。药敏纸片由北京天坛制剂药厂提供，采用 K-B纸片扩散法(在巧克力平皿培养)。

2 结果

2.1 两年共检获流感嗜血杆菌 105株，经系统化生及型菌鉴定，6型均检出，其分布见表 1。

从表可见，b型菌株最多见，占 44.76%。

* 杨 辛 男，33岁，技师

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