DOI:10.16016/j.1000-5404.1994.04.025

压状态可能起着重要作用。

3.4 为术前选择手术方案提供客观依据

临床考虑对某门静脉高压症患者施行分流性手术时,可以行APVG,如发现为逆肝血流,则应放弃选择门体静脉分流术;只有存在门静脉向肝血流,才考虑选择门体静脉分流术,肠系膜上静脉外科干太细或太短,应放弃肠腔静脉分流术;对行选择性分流术如远端脾肾静脉分流术,行APVG后,在术中可以减少探查性损伤;如发现冠状静脉显影,对选择冠腔静脉分流术有重要价值。如有右肝动脉变异者,应以选择非分流性手术为佳,如脾切除加门奇静脉断流术。因此术前行APVG,了解门静脉系统各血管解剖位置和走行,为选择手术方案提供了较为客观的依据。

3.5 术后肝动脉扩张—判断预后的指标

本组结果表明术前CHAD大小不能作为判断预后的指标。近年来术后肝动脉血流量增多与预后的关系逐渐被注意。我们观察了3例接受远端脾腔静脉分流术治疗患者,术后腹腔动脉造影发现CHAD较术前有不同程度的扩张,并维持门静脉向肝血流。此3例术后恢复顺利,肝功能稳定或改善,随访3～5年,未发现再出血和脑病。这可能与肝总动脉代偿性扩张肝动脉血流量增多有关,与Burchell等[9]报告相似。因此,用术后肝动脉扩张作为判断预后的指标是很有希望的。

关键词 高血压;门脉/放射造影术;血管造影术

中图法分类号 R816.5

参考文献

1 中华医学会外科分会.中华医学会外科学会门静脉高压症肝功能分级试行标准(1983,武汉).1983,21:434

2 Seldinger SI. Catheter replacement of the needle in percutaneous arteriography: a new technique. Acta Radiol,1953,39:368

3 Lunderquist A. Arterial segmental supply of the liver: An angiographic study. Acta Radiol,(Suppl)1976,272:27

4 Lafortune M, Marleau D, Breton G, et al. Portal venous system measurements in portal hypertension. Radiology,1984,151:27

5 Nordlinger BM, Nordling DF, Fluenwider JT, et al. Angiography in portal hypertension: Clinical significance in surgery. Ann Surg,1980,139:132

6 Moriyasu F, Nishida O, Ban N, et al. Measurement of portal vascular resistance in patients with portal hypertension. Gastroenterology,1986,90:10

7 Witte CL, Witte MH. Splanchnic circulatory and tissue fluid dynamics in portal hypertension. Fed Proc,1983,42:1685

8 Sato S, Ohnishi K, Sugita S, et al. Splenic artery and superior mesenteric artery blood flow: Nonsurgical Doppler US measurement in health subjects and patients with chronic liver disease. Radiology,1987,164:347

9 Burchell AR, Moreno AH, Panke WF, et al. Hepatic artery flow improvement after portal caval shunt: A single hemodynamic clinical corelate. Ann Surg,1976,184:289

(收稿:1993-12-29;修回:1994-05-28)

流式细胞术检测重组痘苗乙型脑炎病毒抗原的表达*

Detection of Japanese encophalitis virus antigens enpressed on the BHK-21-15 cells infected with recombinant virus by flow cytometry

娄元梅 刘启富 朱德钟 寒 锐 (第三军医大学基础部微生物学教研室) 630038

近年来流行性乙型脑炎(乙脑)在东南亚和西太平洋地区等的发病率和死亡率均有增加,流行规模明显扩大[1],其控制措施主要依赖于疫苗。本实验利用重组病毒J_3感染幼龄地鼠肾细胞(Baby hamster kidney cells,BHK－21－15 cell),应用流式细胞仪(Flow cytometric,FCM)检测其细胞中日本脑炎病毒抗原(Japanese encephalitis virus antigens,JEV Ag)的表达,取得了较好的结果,现报道如下。

* 校青年科研经费资助课题

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

1　材料与方法

1.1　材料

(1)BHK－21－15细胞(美国陆军传染病研究所惠赠)；(2)1640培养液(含10%小牛血清、青霉素和链霉素各200 μg/ml)；(3)1640维持液(含2%小牛血清、青霉素和链霉素各200 μg/ml)；(4)JEV 中山株(Nakayama Strain)和痘苗病毒天坛株(VV)(均购于卫生部药品生物制品检定所)；(5)乙脑病毒重组痘苗 J_3(本室构建，含 JEV 中山株的 PrM、E、NS1和 NS2A 基因)；(6)乙脑病毒豚鼠免疫血清和兔抗豚 IgG 荧光抗体(本室制备)。

1.2方法

1.2.1　重组痘苗病毒在 BHK－21－15细胞中的抗原表达：BHK－21－15细胞用1640培养液培养成单层细胞后，接种重组痘苗病毒 J_3，于感染后不同时间收获，经800～1 000 rpm/min 离心5 min，洗涤2次，以除去细胞碎片，再用500目尼龙网过滤除去重叠细胞，制成5×10^5个细胞/ml 悬液，并设阳性对照(JEV 中山株感染细胞)和阴性对照(痘苗病毒感染细胞)。

1.2.2　表达产物的鉴定

1.2.2.1　流式细胞术[2]：取上述病毒感染细胞悬液离心，弃去上清，沉淀细胞加1∶100稀释的乙脑病毒豚鼠免疫血清(用 pH7.4 0.01 mol/L PBS 稀释)，轻轻吹打均匀，置4℃反应45 min，用冷 PBS(含1%BSA)洗涤2次，再加用 PBS 稀释的1∶32的兔抗豚 IgG 荧光抗体，置4℃反应30 min，用冷 PBS 800～1 000 rpm/min 洗2次，沉淀细胞重悬于0.5 ml 的 PBS 中，用 FACTARPLUS 流式细胞仪(美国 BD 公司产品)检测。

1.2.2.2　免疫荧光测定(IFA)：重组痘苗病毒 J3和乙脑病毒中山株接种于 BHK－21－15细胞，感染30 h 和48 h 后，弃去培养液，加入0.5%BSA PBS，制成细胞悬液，滴加于镀膜玻片上，干燥后用冷丙酮固定10 min，用 PBS 洗去丙酮，加入乙脑豚鼠免疫血清，置37℃反应30 min，用 PBS 洗3次，再加入兔抗豚 IgG 荧光抗体37℃反应30 min，如上法洗3次，待干燥后封片，置 OLYMPUS 显微镜下检测。同时设立正常豚鼠血清和正常细胞以及痘苗病毒对照。

2　结果

2.1　FCM 检测重组痘苗病毒 J_3感染 BHK－21－15细胞中 JEV Ag 的表达

结果与阴性对照痘苗病毒相比，用重组痘苗病毒 J_3感染 BHK 细胞2 h 后的相对膜荧光强度即增强(峰右移)，且随感染时间延长而逐渐增强(峰进一步右移)。另外，阳性细胞的百分率也增高，阳性对照 JEV 中山株感染 BHK 细胞18 h 后相对荧光强度与阳性细胞百分率均较高(见附表和图1)。这一试验与 Yasuda 所得结果相似[3]。

附表　重组痘菌病毒 J_3表达 JEV 抗原的荧光强度

感染病毒	感染时间(h)	JEV Ag		
		IFA*	感染百分率(FCM)	荧光强度(FCM)
J_3	2	＜1∶10	60.52	332.28
	6	1∶20	68.30	420.32
	18	1∶160	76.53	558.06
Nakayama	18	1∶320	83.98	705.30
VV	18	＜1∶10	0	4.94

※：以++为阳性荧光反应的豚抗 JEV 血清稀释度

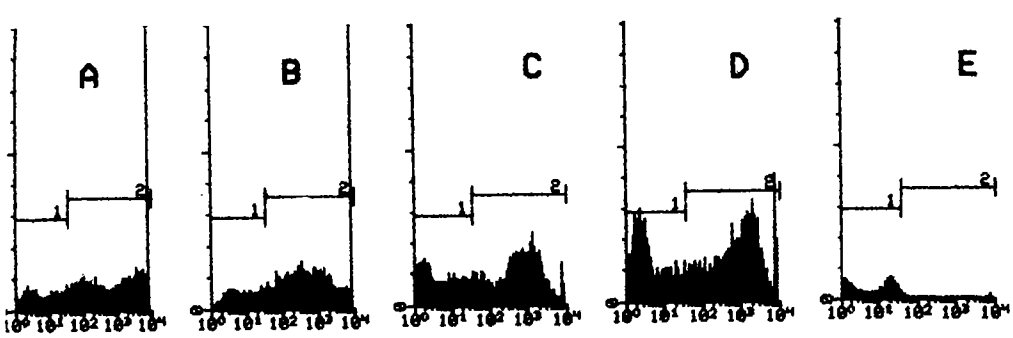


图1　相对荧光强度

2.2　IFA 检测重组痘苗病毒 J_3感染细胞中 JEV Ag 的表达

重组痘苗病毒 J_3接种 BHK 细胞6 h 后可见感染细胞膜上出现细颗粒状荧光，18 h 后，荧光增强，与阳性对照 JEV 中山株感染细胞膜荧光相似，而阴性对照痘苗病毒感染的细胞则无明显可见的细胞荧光(见图2)。

图1重组病毒 J_3感染细胞中表达 JEV Ag 的 FCM 分析 BHK 细胞用 J_3感染(A. 为2 h、B. 为6 h、C. 为18 h)；D. 为 JEV 感染18 h；E. 为痘苗病毒感染18 h。

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



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