DOI:10.16016/j.1000-5404.1992.06.030

性率范围在 48%～62%。HPV 阳性者，透射电镜观察可见核内病毒颗粒，从而证实免疫组化检查的特异性[2,5]。但许多凹空细胞，用电镜和免疫组化观察均未发现病原体[5]。

Lack[4] 报道牛乳头瘤病毒(BPV-1)抗血清可同人、牛、狗、兔、鹿和马的皮肤疣和粘膜乳头瘤发生反应。Kurman[3] 用 BPV-1 检测 40 例尖锐湿疣，阳性率为 50%。

本文尖锐湿疣阳性率与前述 HPV 及 BPV-1 检测的结果一致，BPV 染色阳性者，即乳头瘤病毒抗原均在表皮浅层凹空细胞的核中，呈灶性分布。但很多凹空细胞中未发现抗原；而且 BPV 染色阳性与阴性的凹空细胞，外观并无明显差异。部份角化不全的胞核亦为阳性。表皮下层均未见阳性的细胞。

Zhao(赵永鉴)[6] 观察 89 例脂溢性角化，4 例光镜及电镜证实有 HPV 感染。本文 11 例脂溢性角化，BPV-1 抗血清染色均为阴性。

本文 16 例寻常疣 BPV 阳性率 68.8%，所用组织均为保存多年的蜡块，阳性显色情况与尖锐湿疣相似，说明长期保存的蜡块，乳头瘤病毒的抗原性并未受影响，因此可进行回顾性研究。

从上述结果说明 BPV-1 抗血清，对尖锐湿疣、寻常疣等病原学方面的研究是有用的。

关键词 尖锐湿症；牛乳头状瘤病病毒；血清

参考文献

1. Jenson AB, Rosenthal JD, Olson C, et al. Immunologic relatedness of papillomaviruses from different species. JNCI, 1980; 64: 495
2. Meisels A, Roy M, Fortier M, et al. Human papillomavirus infection of the cervix. The atypical condyloma. Acta Cytol, 1981; 25: 7
3. Kurman RJ, Shan KH, Lancaster WD, et al. Immunoperoxidase localization of papillomavirus antigens in cervical dysplasia and vulvar condylomas. Am J Obstet Gynecol, 1981; 140: 931
4. Lack EE, Vawter GF, Smith HG, et al. Immunohistochemical localization of human papillomavirus in squamous papillomas of the larynx. Lancet, 1980; September 13
5. Ferenczy A, Braun L, Shah KV, et al. Human papillomaviurs (HPV) in condylomatous lesions of the cervix. Am J Surg Pathol, 1981; 5: 661
6. Zhao YK, Lin YX, Luo RY, et al. Human papillomavirus (HPV) infection in seborrheic keratosis. Am J Dermatopathol, 1989; 11: 209

(收稿：1992-04-23；修回：1992-07-04)

胎儿脑组织中单胺类递质及其代谢产物的高效液相色谱分析

朱 珠 (第三军医大学训练部中心实验室) 630038

单胺类递质是调节生理功能的重要物质基础，单胺类递质及其代谢产物在体内浓度和代谢的异常，往往会出现精神性的功能紊乱和其它疾病，因此这类化合物的测定对疾病的诊断、治疗和药物研究都有重要意义[1,2]。目前在国内外有关文献报道中，大多是关于动物脑组织生物样本中生物胺及其代谢产物含量测定的报道[3,4]，而有关胎儿脑组织中生物胺及其代谢产物含量的测定还未曾见过报道。为此本文采用近几年兴起的高效液相色谱—电化学分析法(HPLC-ED)，以辛烷磺酸钠为离子对试剂，生物样本处理简单，较好的测定了这类化合物，为医学研究提供了有价值的参考数据。

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

1 材料与方法

1.1 仪器

美国 Waters 公司 810 系列高效液相色谱仪，460 电化学检测器(Waters 公司)。

1.2 试剂

去甲肾上腺素(NA)、肾上腺素(A)、3,4-二羟基苯乙酸(DOPAC)、多巴胺(DA)、5-羟吲哚乙酸(5-HIAA)、5-羟色胺(5-HT)均购自 Sigma 公司，甲醇、乙腈为色谱纯，KH_2PO_4、Na_2-EDTA 为分析纯，实验用水为超纯水。

1.3 色谱条件

色谱柱：Waters Bondpark C_{18} 柱(30cm × 3.9 mm)，流动相：称取 KH_2PO_4 6.8g、Na_2-EDTA 446mg、辛烷磺酸钠 216mg，加适量超纯水溶解后，再加入甲醇 76ml、乙腈 44ml，用纯水稀释成 1000ml，浓磷酸调 pH 为 3.5 左右。流速：1.6ml/min。工作电压：+0.70V，检测灵敏度：10nAFS。进样体积：100μl。

1.4 样本采集

正常引产胎儿(胎龄 6～7 月)，引产后迅速取出脑组织，放入低温冰箱冷却，待脑组织固化后，解剖取出大脑皮层，加 0.1mol/L 高氯酸冰浴中磨成匀浆(1mg 组织加 20μl 左右)，然后在 18 000rpm/min、4℃离心 40min，取上清液作色谱分析。

2 实验结果

2.1 实验色谱图

图 1 和图 2 分别为标样和胎儿脑组织样本中生物胺及其代谢产物分离的谱图。

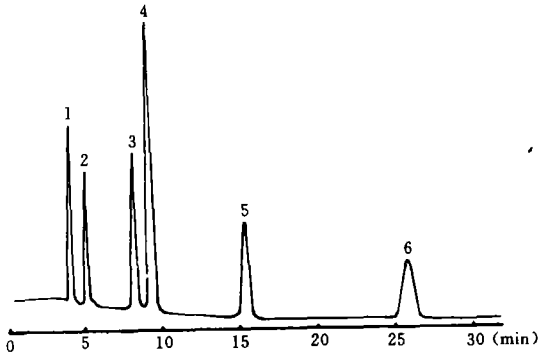


图 1 单胺递质及其代谢产物标准溶液色谱图
1. NA；2. A；3. DOPAC；4. DA；5. 5-HIAA；6. 5-HT

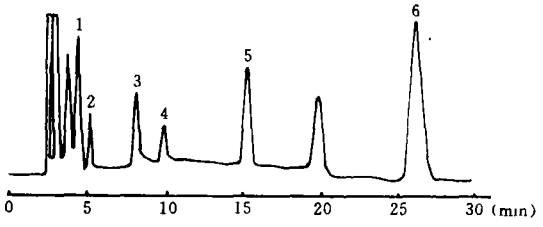


图 2 胎儿皮层单胺递质及其代谢产物色谱图
1. NA；2. A；3. DOPAC；4. DA；5. 5-HIAA；6. 5-HT

2.2 线性关系及回收率测定

用不同浓度的标准品混合进样，观察它与峰面积之间的关系。结果表明在 100pg～20ng 范围内，6 种物质的线性关系良好，相关系数为 0.998±0.001($\bar{x} \pm s$)。

取不同量的标准品加入到组织中，按样品处理方法提取，实验后计算得脑样本中加入的各化合物的回收率为 88%～95%($n=3$)。

2.3 正常胎儿大脑皮层单胺类递质及其代谢产物含量的测定

在本文实验条件下测定了 10 例正常胎儿大脑皮层中单胺类递质及其代谢产物的含量，结果见附表。

附表 正常胎儿大脑皮层单胺类递质及其代谢产物含量 (ng/g)

NA	A	DOPAC	DA	5-HIAA	5-HT
18.24±0.25	14.42±0.13	10.93±1.03	6.03±0.82	56.40±2.56	39.20±1.04

$\bar{x} \pm s$，$n=10$

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

3 讨论

流动相中离子对试剂与甲醇的浓度对单胺类物质的保留时间影响很大。在本色谱分析条件下(1 mmol/L 离子对试剂、7.6% 甲醇、4.4%乙腈),6 种生物胺及其代谢产物得到很好分离,各物质的保留时间与国内外报道的数据很相近[3,4]。如果增加流动相中甲醇的浓度,减少乙腈的浓度,则各化合物的保留时间都有不同程度的减少,而增加流动相中离子对试剂浓度,各化合物的保留时间则有所增加,但这些改变不影响各化合物的出峰顺序。

本实验中采用磷酸调 pH,避免了使用过酸(如 HCl)或过碱(如 NaOH)物质来调 pH,这有利于系统及柱的保护。

关键词 单胺类递质;脑/分析;胎儿;反相离子对色谱;

参考文献

1. 张仁斌 徐修容.高效液相色谱—在医药研究中的应用。上海:上海科学技术出版社,1983:119
2. Tusell JM, Sunol C, Artigus F, et al. Neurochemical studies on catecholamines and indoleamines by high-performance liquid chromatograghy with electrochemical detection. Chromatographia, 1982; 20 (16):112
3. 阮金秀 杨晓敏.双柱双泵高压液相色谱电化学检测器测定大鼠脑中生物胺及其代谢产物。中国药理与毒理学杂志,1990;4(1):4
4. 叶惟冷。用高效液相色谱—电化学检测法快速灵敏分析生物样本中的单胺类递质及其代谢产物。生理学报,1987;39(4):412

(收稿:1992-03-28;修回:1992-06-19)

应用冷冻蚀刻方法的几点体会

刘 平 施同舟 (第三军医大学训练部电镜室) 630038
陈正堂 毛宝龄 (第三军医大学新桥医院呼吸中心) 630037

呼吸窘迫综合征(RDS)肺脏常规病理观察,已有不少文献报道,但对肺泡上皮和毛细血管内皮细胞连接改变的研究报道尚少,我们将电镜冷冻蚀刻方法应用于该研究中,取得了较为满意的结果,并从中总结出几点体会。

1 材料与方法

健康成年家兔 16 只,经麻醉后,随机分为 2 组:(1)改良的兔骨髓型 RDS 致伤组($n=10$);(2)生理盐水对照组($n=6$)。伤后 6 h 放血活杀,取大小约 5mm×10mm×2mm 的一块肺组织,放入 2.5%戊二醛固定液(0.2mol/L 二甲胂酸钠缓冲液配制),迅速修成约 1mm×1mm×3mm 的组织条,真空泵抽气,使肺组织块下沉。置 4℃冰箱过夜。经 0.2mol/L 二甲胂酸钠缓冲液清洗 3~5 次后,放入 30%甘油生理盐水中浸泡 8~24 h,以增强样品的防冻性能。再经修整,放入样品杯内,在液氮中快速冷冻,用日本 EIKO 技术公司制造的 FD-3 型真空冷冻制样装置进行冷冻断裂、蚀刻和镀膜。将带有铂-碳复型膜的样品取出,放入 40%铬酸腐蚀液中,30min 左右样品与复型膜完全分离,用双蒸水仔细清洗复型膜 3~4 次,捞取复型膜于不加支持膜的 200 目铜网上,待干燥后,在日立 H-300 型电镜下观察肺泡上皮和肺泡毛细血管内皮细胞的紧密连接(TJ)。

2 结果

电镜观察可见盐水组的肺泡上皮细胞连接紧密,PF 面(胞浆面)的索条丰富,粗细均匀,连续性好,相互交织成网(图 1)。肺泡毛细血管内皮的 TJ 多由两排大小均匀、排列规则的连续颗粒组成。致伤组肺泡

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