DOI:10.16016/j.1000-5404.1989.06.006

自体移植脾组织内ANAE和ACP的显微分光光度计的测定分析

任师颜 王敖川 马宏敏（新桥医院 普外科）

提 要 本文用MPV—Ⅲ型显微分光光度计对小鼠脾组织动脉周围淋巴鞘内ANAE及脾索内ACP的相对活性进行了测定。结果表明，对照组的ANAE测量值显著高于半脾保留组和半脾移植组（$P<0.05$），但后两组差别不显著（$P>0.05$）；对照组、半脾保留组和半脾移植组ACP测量值依次显著降低（$P<0.05$），表明该测量法能反映脾脏的免疫吞噬功能。

关键词 脾；移植，自体；萘酚ASD酯酶类；酸性磷酸酶类

脾创伤后自体脾组织移植是保留脾功能的一种措施，移植脾组织对机体的影响如何尚无定论，亦无客观评价脾功能的特异措施[1]。本文用显微分光光度计对脾组织内的ANAE（α-醋酸萘酯酶）和ACP（酸性磷酸酶）进行分析，以观察移植脾组织的免疫吞噬功能状态，探索检测部分脾功能的客观指标。

材料与方法

约2月龄的杂系健康小鼠120只，平均体重22.4g，雄雌各半，随机分组，（1）假手术对照组25只；（2）半脾保留组40只；（3）半脾移植组55只。腹腔麻醉，左肋缘下切口进腹，探查切除付脾。将脾脏提至腹壁切口处，（1）组不切脾脏送回腹腔；（2）组切除远端半脾；（3）组切除全脾，将近端半脾切成0.2cm³的脾块，植入大网膜袋内。术后12周，每组取8只动物的新鲜脾组织，用Reichert-Jung型恒冷切片机切5μm厚的冷冻切片，参照资料[2]做ANAE和ACP染色，不染细胞核。

用MPV—Ⅲ型显微分光光度计（西德，Leitz公司）以镜扫描法测脾组织内ANAE和ACP的含量，2种酶的测量方法类似。测量的照明电流7A，光电倍增管电压960V，测量光栅直径0.05，照明光栅开至最大，显微镜总放大倍数160，测量范围15×15mm²，每个标本测20个互不重叠的区域，结果选入上、下限阈值均为15，结果以单位面积的阳性吸光率表示。先在可见光下找到所测区域，关闭可见光测量。在脾动脉周围淋巴鞘内选点状阳性反应区域测ANAE，在脾索区测ACP。通过预测，所得结果可复性强，每组测ANAE标本8个，测ACP标本5个。

结果

脾内动脉周围淋巴鞘单位面积ANAE阳性产物吸光率值：（1）组>（2）组（$P<0.05$），（1）组>（3）组（$P<0.05$），（2）、（3）组差别不显著（$P>0.05$）。脾组织内脾索单位面积ACP阳性产物吸光率（1）、（2）、（3）组依次显著降低，各组差别显著（$P<0.05$）（附表）。

附表 ANAE和ACP单位面积吸光率值（相对单位）

	组别	$\bar{X}\pm SD$	95%置信区间	P值
ANAE	(1)	0.260 ±0.021	0.234,0.286	P(1)、(2) <0.05
	(2)	0.218 ±0.016	0.198,0.238	P(2)、(3) >0.05
	(3)	0.210 ±0.022	0.182,0.238	P(1)、(3) <0.05
ACP	(1)	0.462 ±0.013	0.446,0.478	P(1)、(2) <0.05
	(2)	0.304 ±0.009	0.293,0.315	P(2)、(3) <0.05
	(3)	0.180 ±0.014	0.167,0.193	P(1)、(3) <0.05

讨论

资料表明[1]，小鼠脾组织移植4～6周

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

后，其结构与正常脾组织类似，12周后具有一定的免疫吞噬抗感染能力。为检测移植脾组织的免疫吞噬能力，本实验于术后12周用显微分光光度计对脾内ANAE和ACP进行测定。Grogan[3]用免疫组化技术显示脾内T细胞主要分布于动脉周围淋巴鞘，巨噬细胞主要分布于脾索。淋巴细胞内含有ACP、碱性磷酸酶及ANAE等。ANAE为一种溶酶体水解酶，其染色反应因细胞种类而异。Kulemkampff[4]指出，外周血、淋巴结中多数T细胞有点状反应，大多数胸腺淋巴细胞、B淋巴细胞反应阴性，粒细胞、单核巨噬细胞染色片状反应。细胞电泳分析表明[5]，小鼠脾脏95%以上的T淋巴细胞ANAE反应阳性，非T淋巴细胞ANAE反应阳性者不足5%。点状阳性反应是成熟T细胞的标志。本实验在动脉周围淋巴鞘内选择点状阳性反应区进行测量，可测定T细胞ANAE反应阳性区。结果表明，ANAE单位面积阳性产物吸光率，移植组显著低于对照组，但与半脾保留组无显著差异。

脾索内除部分B细胞、浆细胞外，有大量巨噬细胞，可吞噬细菌、异物等。溶酶体是细胞的重要消化器官，参与细胞的自噬与吞噬。溶酶体的代表酶为ACP。测定脾索内单位面积ACP的活性强度可间接反映脾脏吞噬细胞的吞噬功能。结果表明，单位面积ACP吸光率对照组、半脾保留组和移植组依次显著降低。

由于研究手段和技术条件的限制，目前国内外对ANAE和ACP的组化研究多局限于显微镜下的定性观察，定量分析资料尤其是对移植脾内ANAE和ACP的定量研究资料极少见。用显微分光光度计定量研究，结果较客观。精确。本实验结果为单位面积酶吸光率，反映了单位面积的酶反应强度。由于各种酶的染色条件及酶阳性产物的最大吸收波长不同，各种酶的测量值无可比性。各组间测量值差别的可能原因为：（1）单位面积的酶含量不同；（2）单位面积的酶活性不同；（3）单位面积的酶含量及酶活性均不同。各组ANAE和ACP测量值的高低表明各组脾组织内的T细胞数和Mφ数的多寡和/或T细胞、Mφ内各自酶活性的强弱，从而反映了各组动物的免疫吞噬抗感染能力。移植脾的免疫吞噬功能的测定，本法所测结果与文献报告中用其他方法所测的结果一致，即移植组的免疫吞噬功能接近或低于半脾保留组，但显著低于正常对照组[1]。用显微分光光度计测量脾组织内ANAE和ACP的活性，探讨其在机体的免疫吞噬抗感染中的意义，值得进一步研究。

参考文献

1. 任师颜，等。自体脾组织移植的研究进展。创伤杂志 1989；5（2）：114
2. Muller J, et al. Nonspecific acid esterase activity a Criterion for differentiation of T and B lymphocytes in mouse lymph nodes. Eur Immunol J 1975；5：270
3. Grogan TM, et al. Immunoarchitecture of human spleen. Lymphology 1983；16：72
4. 周镇，等。ANAE染色反应在淋巴瘤生病变中的初步观察。临床与实验病理学杂志 1985；（1）：13
5. Ranki A, et al. Identification of mouse T and B lymphocytes from cytocentrifuged cell smears. Cytochem Immun 1978；11：141

（收稿：1988.12.26；修回：1989.6.26）

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

Determination of ANAE and ACP Content in Splenic Tissue with Microspectrophotometer

Ren Shiyan, et al. (Department of General Surgery, Xinqiao Hospital, Third Military Medical College)

120 mice are divided into 3 groups: group I(n=25) shamoperated; gaoup II (n=40) hemisplenectomized; group III (n=55) hemisplenic autotransplanted. The contents of alpha-naphthol acetylate esterase (ANAE) in the periarterial lymphatic sheath of spleen and the acid phosphatase (ACP) in splenic cord are meassured with a microspectrophotometer of MPV-III. It is found that the contents of ANAE per unit square in group I (0.260 ± 0.021) is significantly higher than that in group II (0.218 ± 0.016) and group III(0.210 ± 0.022) ($P<0.05$),but the difference between group II and III is not significant ($P>0.05$), and the contents of ACP in group I, II and III are 0.462 ± 0.013, 0.304 ± 0.009, 0.180 ± 0.014 respectively ($P<0.05$). This method may be used as one to measure the immunity and phagocytosis of spleen.

Key words: Spleen/TR; Transplantation, autologous; Naphthol AS D esterase; Acid phosphatase

---

个案与短篇

慢性眶内脓肿向颅内侵入1例报告

周遂献 高伯元 张存生 (西南医院 神经外科)

我院收治1例前颅窝硬脑膜外巨大脓肿致严重突眼15年。现报告如下：

张某，女性，53岁，住院号153041。患者于1974年3月砍柴时左眼不慎被树枝刺伤，伤后左眼肿胀，疼痛，经抗炎治疗而愈。3个月后左眼突出逐渐明显，视力下降，于1989年3月7日收入我院。病程中经常有感冒、发热，均经抗炎和口服感冒片治愈。查体：生命体征正常，左眼球向前向下外高度突出，眼睑皮肤张力大，无红、肿、热。眶上缘扪及约6×5cm包块，突出眶缘外，质软，不活动，压痛。左眼球突出度$9.5>\frac{112}{}<32mm$。眼球各方向运动均受限，结膜充血水肿，角膜下部灰白。右眼正常。双眼视力：右0.5，左CF/1.5尺。余未见异常。头颅X线片：左侧眼眶呈膨胀性增大。骨壁部份破坏，额、筛窦均受累，眶后结构不清。术前诊断左眼眶内肿瘤颅内侵入。于1989年3月25日在全麻下手术。作左额弧形皮瓣，切开额部骨膜即见黄褐色粘稠脓液流出，剥离骨膜见额骨破坏约5×3cm^2，扩大成直径6×4cm^2骨窗，吸出脓液约120ml，清除脓液后，见额窦前、外侧骨板，眼眶上、外骨板均破坏。硬脑膜呈灰白色，增厚。脓腔用庆大霉素生理盐水冲洗，扩大额窦开口，放入胶管引流条自左鼻腔引出，逐层缝合。术后诊断慢性眶内脓肿向颅内侵入。术后5天拔出引流条，7天拆线，切口一期愈合，2周后突眼基本消失，痊愈出院。骨片及额窦内粘膜组织病理检查：纤维结缔组织及炎性肉芽组织，骨膜有出血及炎细胞浸润。

(下转页429)

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