DOI:10.16016/j.1000-5404.1987.04.016



# 氨基酸分析技术在结缔组织疾病研究中的应用

周成贵 孙 玮（中心实验室） 张书元（第一附属医院 皮肤科）

现在临床上许许多多的疾病除了采用传统的临床诊断外，还需利用仪器分析作为临床上的辅助诊断。为了临床分析治疗的需要，我们以美国贝克曼（Beckman）公司生产的121MB型氨基酸分析仪应用于结缔组织疾病的氨基酸分析测定。通过建立这种疾病的血浆氨基酸模型，一方面为临床上的辅助诊断提供了先进的分析手段和依据，另一方面可根据病人氨基酸含量情况，适当考虑氨基酸的补给。通过实验证明此种疾病与氨基酸代谢的关系，从而找到它的变化规律，至于其它疾病的氨基酸代谢变化情况有待进一步探讨和研究。

## 材料和方法

一、1. 系统性红斑狼疮（简称SLE），女性，15人，病程1.5～12年，年龄16～49岁。根据美国风湿病学诊断标准，经临床确诊的活动期患者。

2. 皮肌炎（简称DM），9人（男2女7），年龄27～67岁。根据世界卫生组织诊断标准，经临床确诊的活动期患者。

3. 正常对照组10人，男3人，女7人，年龄分别为18～45岁。分别由我校附属一院经体检无肝肾和其它疾病的正常人。

二、采集晨空腹静脉血 3ml，（肝素抗凝），离心转速为3000r/min，离心 15min，取血浆0.6ml＋10%磺基水杨酸 0.4ml，沉降蛋白质。再以15000 r/min离心15 min，取上清液上机分析。

三、采用Beckman 121 MB 氨基酸分析仪按单锂柱生理体液法进行血浆游离氨基酸的分析测定。

分析条件：

柱面积：28×300mm

树脂型号：AA-10型树脂（Beckman专例）

柱床高度：200mm

缓冲液流速：10ml/h

茚三酮流速：5ml/h

第一缓冲液：pH2.83 Li 0.20N

第二缓冲液：pH3.70 Li 0.20N

第三缓冲液：pH3.75 Li 1.40N

再生溶液： LiOH 0.3 N

柱温度变化范围：40～67℃

比色波长范围：440～570nm

四、统计学处理：

1. 将SLE、DM各为一组，正常人为对照组，三组之间进行显著性检验。

2. 对10例SLE患者进行了治疗前后（1.5～2.5个月）病情明显好转和稳定期的氨基酸含量与正常人的氨基酸含量作了对照比较。

3. 统计方法采用方差齐性分析。

## 结果和讨论

表1示SLE 15例、DM 9例和正常人10例对照。SLE、DM 结缔组织疾病患者治疗前血浆游离氨基酸中的必需氨基酸除色氨酸未作统计外，6种必需氨基酸：苏氨酸、缬氨酸、蛋氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、苯丙氨酸值显著低于正常水平（$P<0.05$）。其中赖氨酸值接近正常人水平。

SLE结缔组织疾病患者治疗前的非必需氨基酸，如磷酸丝氨酸、牛磺酸、门冬氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、瓜氨酸、酪氨酸、组氨酸等9种氨基酸显著低于正常人水平（$P<0.05$）。谷氨酸、半胱氨酸、精氨酸、鸟氨酸等值接近正常人水平，谷氨酰胺1.5倍高于正常人水平。氨分别以9.6、9.3倍高于正常人。

DM 结缔组织疾病患者治疗前的非必需氨基酸，如牛磺酸、门冬氨酸、丝氨酸、甘氨酸、丙氨酸、瓜氨酸、半胱氨酸、酪氨

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

表1 结缔组织疾病治疗前血浆游离氨基酸及正常人值(μmol/L，$\bar{X}\pm SD$)

| | 氨基酸名称 | 正常人对照组(n=10) | SLE(n=15) | DM(n=9) | 统计学P |
|---|---|---|---|---|---|
| 必需氨基酸 | 苏氨酸* | 203.8±35.8 | 80.1±38.9 | 70.7±35.8 | <0.05 |
| | 缬氨酸* | 352.5±39.9 | 142.9±44.9 | 155.7±36.4 | <0.05 |
| | 蛋氨酸* | 38.3±10.9 | 18.7±6.8 | 14.5±4.2 | <0.05 |
| | 异亮氨酸* | 105.5±31.6 | 40.9±13.1 | 36.3±10.3 | <0.05 |
| | 苯-丙氨酸* | 100.9±19.4 | 43.6±11.3 | 46.8±11.7 | <0.05 |
| | 亮氨酸* | 181.9±23.5 | 73.6±20.8 | 61.6±20.7 | <0.05 |
| | 赖氨酸Δ | 137.2±65.9 | 176.2±57.8 | 120.1±44.9 | >0.05 |
| 非必需氨基酸 | 门冬氨酸* | 33.5±6.6 | 10.2±3.9 | 18.8±8.2 | <0.05 |
| | 丝氨酸* | 203.9±33.9 | 82.6±27.6 | 79.7±22.3 | <0.05 |
| | 谷氨酸Δ | 79.2±26.5 | 73.3±27.3 | 131.3±15.1 | >0.05 |
| | 甘氨酸* | 361.8±71.5 | 171.9±40.7 | 146.4±33.9 | <0.05 |
| | 丙氨酸* | 503.7±103.9 | 300.9±66.5 | 162.3±14.5 | <0.05 |
| | 瓜氨酸* | 76.9±26.9 | 5.8±2.7 | 4.7±1.9 | <0.05 |
| | 半胱氨酸° | 120.0±26.8 | 115.7±28.6 | 77.6±21.2 | <0.05 |
| | 酪氨酸* | 80.6±27.8 | 47.7±14.1 | 44.1±18.3 | <0.05 |
| | 鸟氨酸Δ | 106.9±27.7 | 115.8±22.5 | 106.7±47.2 | >0.05 |
| | 组氨酸* | 122.4±50.4 | 72.2±25.8 | 212.2±56.9 | <0.05 |
| | 精氨酸° | 90.6±32.7 | 71.9±19.9 | 48.0±17.0 | <0.05 |
| | 磷酸丝氨酸* | 8.6±2.4 | 6.7±1.8 | 15.4±2.2 | <0.05 |
| | 牛磺〃* | 68.5±19.1 | 43.4±15.8 | 35.4±12.6 | <0.05 |
| | 谷氨酰胺* | 559.9±62.6 | 864.6±406.7 | 552.2±284.2 | <0.05 |
| | 氨* | 121.9±49.2 | 1169.1±192.2 | 1128.1±413.6 | <0.05 |

注：表中“*”示SLE、DM，P<0.05；“Δ”示SLE、DM，P>0.05；“°”示SLE，P>0.05
“*”DM，P>0.05

酸、精氨酸等9种氨基酸显著低于正常人水平（P<0.05）。其余鸟氨酸、谷氨酰胺接近正常人水平，磷酸丝氨酸、组氨酸、谷氨酸1.7倍高于正常人。

表2示：SLE10例结缔组织疾病患者经治疗(1.5～2.5个月)后，牛磺酸、苏氨酸、丝氨酸、丙氨酸、甘氨酸、半胱氨酸、瓜氨酸、缬氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、酪氨酸、苯丙氨酸、组氨酸、精氨酸等14种氨基酸均低于正常人水平。磷酸丝氨酸、赖氨酸经治疗后高于正常人水平，谷氨酰胺活动期和好转期高于正常人。谷氨酸、蛋氨酸经治疗后有所下降，好转期接近正常人水平。

另外还对氨基酸的代谢产物氨也做了治疗前后的比较，治疗后氨虽有所降低，但仍高于正常人水平。

血浆游离氨基酸在临床研究方面报道很多，如先天性氨基酸代谢缺陷、肝病、肝性脑病、烧伤等[1-4]。氨基酸分析技术在结缔组织疾病研究中的应用的有关文献较少。

随着医学等领域发展的需要，许多经典的化学或生化的分析方法被仪器分析所取代，氨基酸分析技术应用于结缔组织疾病的研究，通过血浆游离氨基酸的测定分析，从而找出血浆游离氨基酸的变化规律。通过测定分析，结缔组织疾病血浆游离氨基酸值的

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

表 2　血浆游离氨基酸治疗前后均值对照(μmol/L)

| 氨基酸名称 | SLE (n = 10) 活动期 | SLE (n = 10) 好转期 | 正常人对照组 (n = 10) |
|---|---|---|---|
| 磷酸丝氨酸 | 5.75 | 9.47 | 8.6 |
| 牛磺酸 | 34.07 | 76.37 | 68.5 |
| 门冬氨酸 | 10.07 | 17.79 | 33.5 |
| 苏氨酸 | 64.35 | 110.83 | 203.8 |
| 丝氨酸 | 92.06 | 117.42 | 203.9 |
| 谷氨酸 | 96.70 | 68.80 | 79.2 |
| 谷氨酰胺 | 678.21 | 1892.72 | 559.9 |
| 丙氨酸 | 186.75 | 338.68 | 503.7 |
| 甘氨酸 | 131.87 | 192.85 | 361.8 |
| 半胱氨酸 | 61.55 | 92.64 | 120.0 |
| 瓜氨酸 | 4.38 | 7.54 | 76.9 |
| 缬氨酸 | 144.18 | 164.25 | 352.5 |
| 蛋氨酸 | 80.27 | 33.34 | 38.3 |
| 异亮氨酸 | 28.60 | 60.20 | 105.5 |
| 亮氨酸 | 57.09 | 85.51 | 181.9 |
| 酪氨酸 | 36.00 | 43.07 | 80.6 |
| 苯丙氨酸 | 28.02 | 47.02 | 100.9 |
| 氨 | 554.78 | 421.62 | 121.9 |
| 鸟氨酸 | 88.31 | 154.36 | 106.9 |
| 赖氨酸 | 129.49 | 248.49 | 137.2 |
| 组氨酸 | 83.20 | 55.07 | 122.4 |
| 精氨酸 | 41.73 | 71.11 | 90.6 |

变化基本上与病人的病情相一致。部分氨基酸好转期和恢复期接近正常人水平。但经治疗后大多数氨基酸仍低于正常人水平。由于氨基酸分析技术广泛应用于临床辅助诊断，为临床辅助诊断提供了依据，病人在氨基酸比值较低的情况下，可适当考虑氨基酸的补给。我们着重地分析了结缔组织疾病的氨基酸含量，也是初步对结缔组织疾病氨基酸分析的探讨，至于其它疾病与氨基酸代谢的关系有待进一步研究。

(本文承蒙生物化学教研室董燕麟教授及防原教研室陈宗荣教授审阅，在此表示衷心感谢！)

## 参考文献

1. Bell GH, et al. Textbook of Physiology and Biochmistry. 9th ed, Edinburgh, Livingstone 1976:229
2. Brunner G, et al. Artificial liver. Suppert, New York. Spring-Verlag 1981:176
3. Groves AC, et al. Arterial Plasma Amino Acid in Patients with Severe trauma. Surgery 1978; 83:138
4. Aulick LH. Increased Peripheral Amino Acid release following burn injury. Surgery 1979; 85:560

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