DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.01.012



技术与方法

# LSPBⅡ在$^3$H-TdR掺入淋巴细胞转化闪烁测量中的应用

李天星 李碧清 杨沛

(野战外科研究所)

**提 要** $^3$H-TdR掺入法反映淋巴细胞受PHA刺激后的DNA合成和代谢，掺入$^3$H-TdR在细胞内的量，客观反映了淋巴细胞的转化程度。测量$^3$H的低能β射线需要液闪，液态闪烁体LSPBⅡ就是本工作研制应用的新型号闪烁液，初用它作为$^3$H-TdR掺入淋转的闪烁测定剂，在实验中交叉设计，与目前国内外常用的闪烁液相比较，对仪器工作条件作适应调整后，LSPBⅡ可以代替LS二甲苯。两种闪烁液能相关地测试临床标本。

用$^3$H-TdR（氚化胸腺嘧啶核苷）掺入淋巴细胞内的量反映了淋巴细胞转化程度，比形态学方法结果较为客观，敏感度高，且可定量。而测定必须用闪烁法。国内外常用的闪烁液是二甲苯、甲苯为溶剂（简称LS二甲苯），这种闪烁液效率虽高，但挥发性毒性大，且含致致癌物质[1]，为了克服这些缺点，本工作试用了一种命名为LSPBⅡ的有机液态闪烁液，经正交Lq(3$^4$)优选，与LS二甲苯交叉试验，找到了LSPBⅡ的较佳工作点，并同时测检临床病例组，二者结果一致性较好。现将我们的工作报道如下：

## 仪器和试剂

1. FJ-2101双道液体闪烁计数器 西安二六二厂
2. $^3$H-TdR 上海原子能研究所
3. 49型玻璃纤维滤纸 上海
4. 细胞培养液：德国进口1640

## LSPBⅡ和LS二甲苯的仪器工作点选择

用滴在国产49型玻璃纤维滤纸（直径28mm）圆片上，烤干后分别放入[$^3$H-TdR应用液为$^3$H的β源两种闪烁液（LSPBⅡ、LS二甲苯）内，进行闪烁测定仪工作条件试验，工作点为阈值0.45，△E 2，高压（KV）：LSPBⅡ为1.20，LS二甲苯为1.16，如图1。

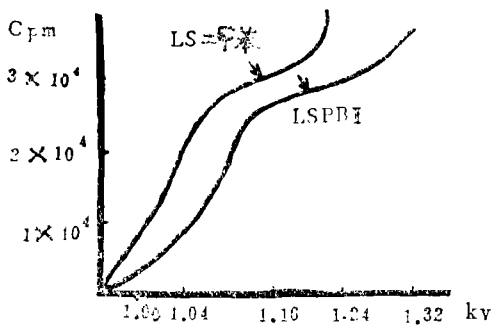



图1 LSPBⅡ闪点的选择

在LSPBⅡ工作点测得$^3$H、$^{14}$C的β能谱完整图2。

## LSPBⅡ、LS二甲苯交叉设计结果分析

进行比较的两种闪烁液，在对$^3$H-TdR的$^3$H

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

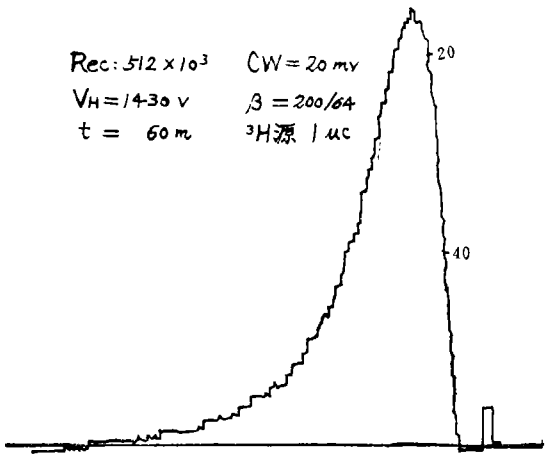



图 2　LSPB Ⅰ测得 $^3H\beta$ 能谱

β射线测量时各有最佳工作点。我们选择10例受试者作交叉设计试验，结果 LSPB Ⅰ与 LS 二甲苯间 $P>0.05$，试验阶段(A·B) $P>0.05$差异均不显著，且受试者间 $P<0.01$，个体差异有显著性。附表1和2。

LSPB Ⅰ对 $^3H$-TdR掺入淋转临床应用

受试对象已为本院临床确诊：肿瘤病（结肠癌、肺癌）、脑血管病（出血性脑血管病、缺血性脑血管病），癫痫（大发作时）。正常人对照组为献血员。附表3。

表1　LSPB Ⅰ、LS二甲苯试验结果的交叉设计数据

| 编号 | 第一个阶(KV1.20) | | 第二个阶段(KV1.16) | | 合计 |
|---|---|---|---|---|---|
| | LSPB Ⅰ | cpm | LS二甲苯 | cpm | |
| 1 | A | 12424 | B | 12175 | 24599 |
| 2 | B | 13342 | A | 12674 | 26016 |
| 3 | A | 15981 | B | 13862 | 29843 |
| 4 | B | 17608 | A | 18136 | 35744 |
| 5 | A | 19825 | B | 19455 | 39280 |
| 6 | B | 21848 | A | 19763 | 41611 |
| 7 | A | 21952 | B | 21632 | 43584 |
| 8 | B | 21997 | A | 22436 | 44433 |
| 9 | A | 25785 | B | 25011 | 50796 |
| 10 | B | 28487 | A | 26617 | 55104 |
| 合计 | A195593 | 199246 | B195417 | 191716 | 391010 |

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

表2 LSPB$_{\text{Ⅱ}}$、LS二甲苯交叉设计结果分析

| 变异来源 | n′ | SS | MS | F | P |
|---|---|---|---|---|---|
| 总变异 | 19 | 470193161 | | | |
| 试验者间 | 9 | 443116965 | 49235218.33 | 16.22 | <0.05 |
| 试验阶段 | 1 | 2801261.25 | 2801261.25 | 0.92 | >0.05 |
| LSP$_{\text{Ⅱ}}$、LS_甲苯 | 1 | 1548.8 | 1548.8 | 0.01 | >0.05 |
| 误　　差 | 8 | 24273396.9 | 3034174.62 | | |

表3 LSPB$_{\text{Ⅱ}}$对$^{3}$H-TdR掺入淋转闪烁测量结果分析

| | n | X±SD (指数) | 对照组均数与处理组均数差的绝对值 | d′ | P |
|---|---|---|---|---|---|
| 正常人对照组 | 30 | 91±26 | | | |
| 脑血管病 | 30 | 52±12 | 39 | >0.05 | <0.05 |
| 癫　　痫 | 12 | 40±11 | 51 | >0.05 | <0.05 |
| 结　肠　癌 | 15 | 60±20 | 31 | >0.05 | <0.05 |
| 肺　　癌 | 10 | 68±31 | 23 | >0.05 | <0.05 |

## 讨　论

由于放射医学与免疫学的迅速发展，对液态闪烁体的需求日益提高。以前常用PHA（植物血凝素）刺激淋巴细胞，出现形态上不成熟的母细胞，或蛋白质与核酸合成增加，即为淋巴细胞转化现象。这种方法是用人工计数分类法工作的，受多种因素影响。由于$^{3}$H-TdR掺入法的应用，液闪分析日趋受到欢迎。但常用闪烁液LS二甲苯等毒性较大，对工作人员健康有影响。为了寻求克服的方法，曾经有学者报导了对液态闪烁体LSP的研究和初用[2]，为了进一步探求适宜的闪烁液替之LS二甲苯，我们对LSPB$_{\text{Ⅱ}}$进行了研究应用。经初用结果，主要闪烁性能、发光强度、发光衰减时间、发射光谱、吸收光谱、以及它可以测$^{3}$H、$^{14}$C的β完整的能谱，其效率近似于LS二甲苯。且优点毒性小些，挥发性低，比较经济。

我们用此闪烁液对$^{3}$H-TdR掺入淋转作了部份临床应用，初步见到病人组与正常人组呈显著性差别，对有些病类更为明显。因例数不够多，规律性的探索尚需继续工作。就LSPB$_{\text{Ⅱ}}$的上述初用观察，能相关地与LS二甲苯同用于临床测定的闪烁试验，结果的一致性较好，且毒性却优于LS二甲苯。它的闪烁工作点所需仪器高压略高于LS二甲苯，所以在应用时应相对地优选仪器工作条件，其效果是可以替换LS二甲苯的。

## 参考文献

1. 工业毒理学编写组：《工业毒理学下册》，431页，上海人民出版社，1977
2. 杨学恒等：关于液态闪烁体的研究。核仪器与方法。1981；1（3）

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