DOI:10.16016/j.1000-5404.1986.04.012

技术与方法

$L_9(3^4)$正交优选LSPB II闪烁条件和在淋转测定中的临床应用研究

李天星 李碧清 陈曼娥* 谭 锋

(野战外科研究所)

我们应用一种新研制的液态闪烁体LSPB Ⅱ测定^{3}H低能β射线[1][2]，用规定的正交表L9(3^4)优选最适宜试验条件，对^{3}H-TdR掺入淋巴细胞转化程度进行液态闪烁测定分析，替换淋转形态人工分类计数法。这种闪烁计数测量法所用仪器精密，操作规范，数据客观。LSPB Ⅱ比通常用的LS二甲苯毒性小。我们应用于临床测定，结果较为满意。

材料和方法

1．液体闪烁计数器：西安262厂。

2．标记放射原：^{3}H-TdR，放射性浓度1 mCi/1 ml。工作浓度：10 μmi/ml，20μCi/ml，30μCi/ml待用。上海原子能研究所供给。

3．49型玻璃纤维滤纸：自作直径为28mm的圆片，上海红光造纸厂提供。

4．PHA：用生理盐水稀释成每毫升含25μg，50μg，100μg待用，广洲医工院提供。

5．液态闪烁体LSPB Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ待用。自备。

6．组织培养液1640，德国进口。

实验设计和结果分析

选用〔L9(3^4)〕正交考核PHA，LSPB，^{3}H-TdR，加样量 四因素三水平，见表1。

按正交设计表进行试验和测定，方法和结果见表2。

试验的因素水平结果：LSPB 2＞3＞1，PHA3＞2＞1，应用浓度为次适浓度，^{3}H-TdR 1＞3＞2，试验血量2＞3＞1。

表1 ^{3}H-TdR掺入试验的因素水平

因素	水平 1	水平 2	水平 3
A. LSPB Ⅰ、Ⅱ、Ⅲ	Ⅰ	Ⅱ	Ⅲ
B. PHA (μg/ml)	25	50	100
C. ^{3}H-TdR(μCi/ml)	30	20	15
D. 加样血量 (ml)	0.1	0.2	0.3

组合适宜的因素水平为LSPBⅡ、PHA_{50}、^{3}H-TdR_{30}加样量0.2。血液用无菌法静脉抽血1ml，肝素抗凝，1640培养液3 ml（内含PHA的量），37℃孵育24小时左右再加^{3}H-TdR的量，37℃继续培养24小时，终止时加5 ml蒸馏水低渗破坏红细胞，49型玻璃纤维滤纸膜片过滤，用生理盐水、7%三氯醋酸各5 ml洗涤，再用无水乙醇脱水，80℃烘20分钟，将固相膜片置闪烁瓶，用LSPBⅡ作闪烁剂，进液闪仪测定。

临床应用结果

受试者分别是健康人组和病员组（出血性、缺血性脑血管病），各组30人。健康人组淋转掺入^{3}H-TdR（指数）$\overline{X}98\pm33$，病人组淋巴细胞转化掺入^{3}H-TdR(指数)$\overline{X}49\pm25$，两组均数比较，$P<0.01$，差异非常显著。

讨 论

^{3}H是一种低能β射线，^{3}H-TdR掺入细

*神经内科系

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

表2 ^{3}H-TdR掺入闪烁测定 [$L_9(3^4)$] 结果分析

试验号	A	B	C	D	结果 (SI)
1	1	1	1	1	64.3
2	1	2	2	2	51.4
3	1	3	3	3	64.8
4	2	1	2	3	61.3
5	2	2	3	1	71.2
6	2	3	1	2	101.3
7	3	1	3	2	44.3
8	3	2	1	3	61.9
9	3	3	2	1	59.0
I	180.5	169.9	226.6	194.5	
II	233.8	183.6	171.7	197	
III	164.3	225.1	180.3	187.1	
R (极差)	69.5	55.2	54.9	9.9	

胞内的量为淋巴细胞发生转化程度的客观标志，这个测量方法需要在液体闪烁的条件下进行，以前通常使用LS二甲苯，毒性大，污染环境，影响工作开展。本试验采用新制液态闪烁体LSPBⅡ，毒性小，且闪烁性能却与LS二甲苯相似。我们探索了它的用法，并且对总体进行了〔L9(3⁴)〕四因素三水平综合考核，组合了对^{3}H-TdR掺入淋巴细胞内的量的液态闪烁测量法，对照了适宜条件，经应用证明，这种液态闪烁体对^{3}H的β能谱反应，对^{3}H-TdR掺入量的测量数据客观，可比性好。

TdR是DAN合成的特殊前体，淋巴细胞受PHA非特异性刺激后，^{3}H-TdR掺入细胞内的能量，表达了细胞DAN合成和新陈代谢的水平。本方法应用于临床，发现脑血管病人的^{3}H-TdR掺入均数明显低于正常人水平，是否与细胞免疫低下有关有待进一步探讨。关于人体对PHA刺激的低反应性，国内外有资料认为，有可能由辅助细胞调节功能的异常（此处为抑制性单核细胞过度表达）所引起[2]。因此为了进一步探索这些疾病的发生、发展以及转归与细胞免疫的关系，作进一步的探索和研究是有意义的。

参考文献

1. 李天星，等。LSPBⅡ在^{3}H-TdR掺入淋巴细胞转化闪烁测量中的应用。第三军医大学学报 1986；8(1)：62～61

2. 杨学恒，等。关于液态闪烁体的研究。核仪器与方法 1981；1(3)：48～64

3. 周光炎，等。抑制性单核细胞及其因子引起体外PHA淋转低下的实验证据。上海免疫学杂志 1983；3(2)：71～76

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