

95例正常成人外周血粒细胞电泳

孙玲 许华林 徐迎辉

(北京铁路总医院免疫室)

提 要

本文对95例正常成人外周血粒细胞(共9720个细胞)电泳泳动率测量得到其均值为 $0.71\mu\text{m}\cdot\text{cm}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 。标准差为 ± 0.082 ,其直方图为单峰形,基本呈常态分布。它的稳定性表明在疾病时对它的测定具有参考意义。分离所得粒细胞的纯度和存活率可影响其泳动率。纯度愈纯,存活率愈高泳动率值愈可靠。双层分离法所获粒细胞较纯,并同时可获纯化淋巴细胞供其它实验用。

对外周血粒细胞的研究是造血系统和其他各种全身和局部疾病诊断治疗中的一个重要方面。常规形态、细胞化学、和超微结构等方法为主要手段,近年来开始从生物物理的角度对它进行探索^[1]。细胞电泳技术可利用细胞表面电荷变化、反映细胞的结构和功能,区别类型和分化程度等,本文对95例正常成人外周血粒细胞的电泳泳动率进行测定,并对其直方图作分析,为研究疾病状态下的粒细胞及异常粒细胞提供正常对照。

材 料 和 方 法

1. 材料

- (1) 粒细胞取自正常成人供血者。
- (2) Ficoll-Isoaque 密度梯度分层液(1.077)。
- (3) Ficoll-Isoaque 密度梯度分层液(1.090)。
- (4) 无钙镁的 Hank 氏液(pH7.2)。
- (5) PARMOQUANT II型细胞电泳自动测量显微镜。测量条件和泳动率计算公式详见有关文献[2]。

2. 方法

抽取健康成人静脉血2毫升,肝素抗凝、加

等量 Hank 氏液稀释。试管底部先加入1.5毫升比重为1.090的 Ficoll-Isoaque 密度梯度分层液,再缓缓倒入1.5毫升比重为1.077的 Ficoll-Isoaque,铺在1.099分层液上。将抗凝静脉血徐徐倒在1.077分层液之上。上述两步操作时均要注意不冲破液层间界面。离心1800转/分,30分钟。吸取血浆弃去,再吸取血浆与1.077分层液界面的单核细胞层,备研究淋巴细胞用。最后吸取不同比重分层液界面处的粒细胞层^[3,4]。用 Hank 氏液洗二遍。加入0.83%氯化铵溶液3—5毫升,放置五分钟以破坏红细胞。再洗三次,最后一次用 pH7.2、0.15mol/L 的氯化钠取代 Hank 氏液。作涂片瑞氏染色观察粒细胞纯度,用0.2%台盼蓝染色观察细胞存活率。纯度和存活率均达95%以上者即可配成 $2\times 10^6/\text{ml}$ 的细胞悬液,作粒细胞电泳测量。每份样品测量100个细胞。每次检测以正常人红细胞(电泳率 1.00 ± 0.054)作为标准进行校正。

结 果 与 讨 论

95例正常人的9720个粒细胞的电泳泳动率值为0.792至0.628。均值为 $0.71\mu\text{m}\cdot\text{cm}\cdot\text{V}^{-1}\cdot\text{s}^{-1}$ 。标准差为 ± 0.082 。标准差小,均值

稳定。粒细胞泳动率明显低于红细胞 (1.00 ± 0.054)^[1], 说明两者的膜电荷不同(图 1)。

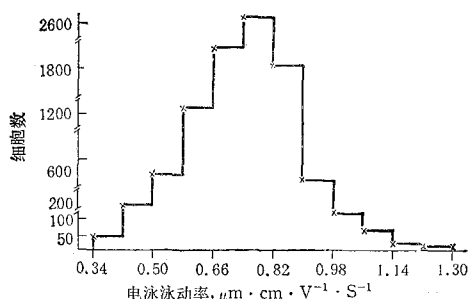


图 1 正常人 9720 个粒细胞电泳泳动率的直方图

95 例中 35 例在作细胞电泳的同时取粒细胞层作涂片瑞氏染色分类计数。发现几乎都含有 1—2% 的嗜酸性粒细胞、嗜碱性粒细胞和杆状细胞。因此, 粒细胞泳动率的直方图与红细胞相比较为分散这可能与粒细胞层中除中性粒细胞外还含有嗜酸、嗜碱性粒细胞和成熟程度不等的粒细胞有关。

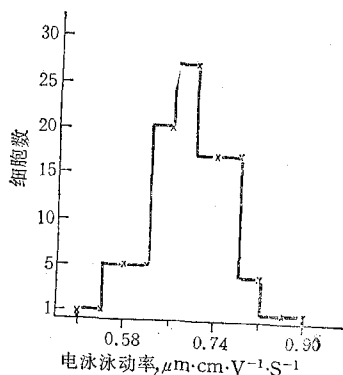


图 2 外周血 101 个粒细胞电泳泳动率直方图

正常人外周血粒细胞电泳泳动率值的稳定性提示在疾病状态下对它的测定有一定的参考价值, 可能成为诊断治疗中的一个有意义的参数^[6,7]。至于嗜酸、嗜碱性粒细胞和杆状细胞的泳动率以及与嗜中性粒细胞的异同点, 因它们在正常外周血中含量过低, 目前无法分离, 有待今后探索。

分离所得的粒细胞愈纯、存活率愈高, 电泳率的均值和直方图越可靠。举例如下:

例一 分离所得粒细胞纯度 99%, 存活率 100%, 电泳直方图呈典型的常态分布, 泳动率

值为 0.5—0.86, 均值为 0.70 (图 2)。

例二 分离所得粒细胞纯度 87% (其中含有 13% 红细胞), 存活率 100%。均值为 0.80, 峰体小泳动率较高者为其中的红细胞部分 (图 3)。

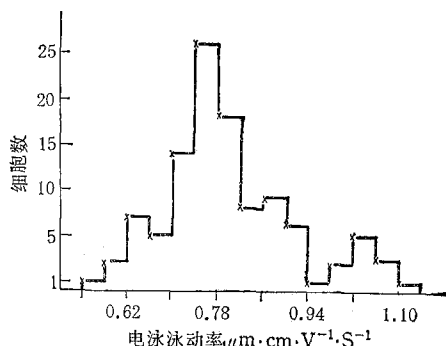


图 3 108 个粒细胞电泳率测定直方图

因其中含 13% 红细胞故可见两个峰体, 电泳率较高, 峰体较小者为红细胞部分

例三 将例一粒细胞保存于 4℃24 小时后 (存活率为 5%) 再测泳动率值为 0.72, 直方图虽仍为单峰, 但甚分散, 分布范围从 0.38 至 1.06 (图 4)。

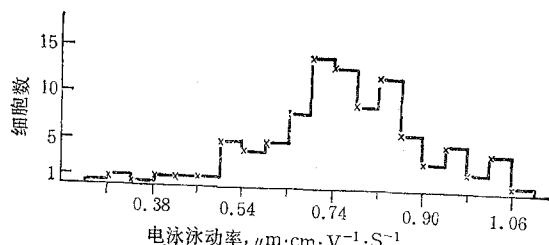


图 4 例三分离所得粒细胞置 4℃24 小时后再测所获泳动率直方图

本文中提取粒细胞的双层分离法所得的粒细胞层, 基本不含有单核细胞和血小板, 但因红细胞的比重与粒细胞接近故含有一定数量的红细胞。用 0.83% 氯化铵破坏红细胞后, 粒细胞纯度可达 95% 以上, 而其活性不受影响。本法在获得粒细胞的同时可得到纯化的淋巴细胞供其他实验用, 方法简易, 节省时间值得推广。

参 考 文 献

- [1] 孙玲: 《生物化学与生物物理进展》, 1985, (1), 68.
- [2] 孙玲: 《生物化学与生物物理进展》, 1986, (5), 45.

(下转第 72 页)

到准确的结果，至少在目前对大多数实验室更 适用。

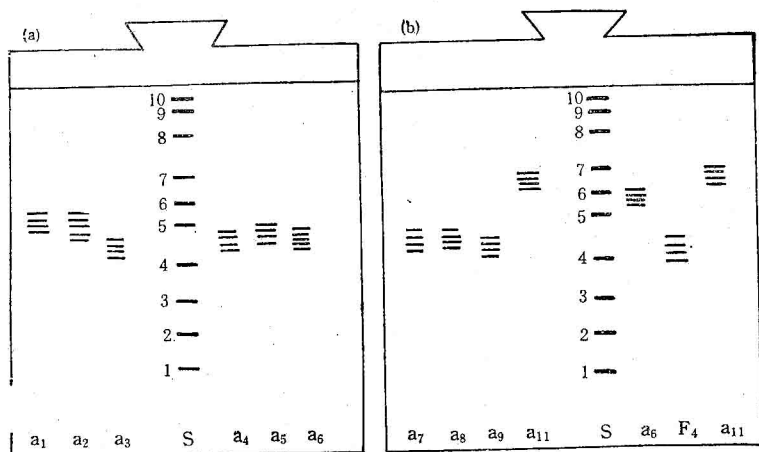


图3 HBsAg McAb IgG 的 Phast System 等电聚焦

a: a₁, a₂, a₃, a₄, a₅, a₆, 为 HBsAg McAb IgG, S 为已知 pI 标志物, 见图 4
b: a₇, a₈, a₉, a₁₁, F₄, S-6 为 HBsAg McAb IgG, S 同 A。

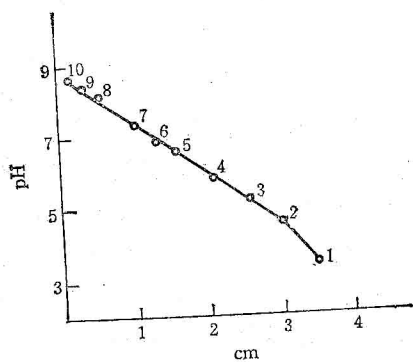


图4 Phast Gel IEFpH3-9 胶片的 pH 梯度曲线

1. 淀粉糖苷酶 pI 3.50
2. 豆腐酶抑制剂 pI 4.55。
3. β-乳球蛋白 A pI 5.20
4. 牛碳酸酐酶 B pI 5.85
5. 人碳酸酐酶 B pI 6.55
6. 马肌红蛋白酸性带 pI 6.85
7. 马肌红蛋白碱性带 pI 7.35
8. 扁豆血凝素酸性带 pI 8.15
9. 扁豆血凝素中间带 pI 8.45
10. 扁豆血凝素碱性带 pI 8.65

参 考 文 献

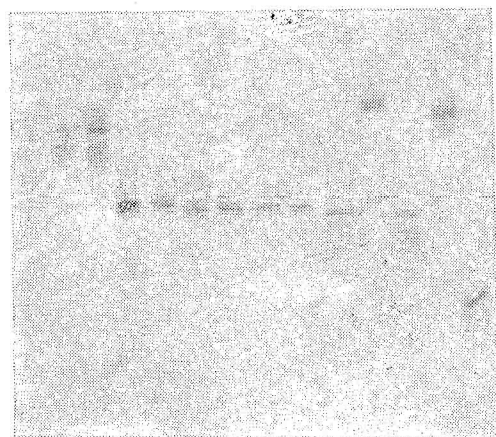


图5 国产两性电解质对 HBsAg McAb IgG 的等电聚焦

图中标号即 HBsAg McAb IgG 的编号

- [2] Leammli, U. K.: *Nature* (London) 1970, 227, 680.
- [3] Awdeh, Z. L. et al.: *Nature* 1968, 219, 66.
- [4] Leaback, D. H. et al.: *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 1979, 32, 467.
- [5] Fredriksson, S.: *J. Chromatography*, 1978 151, 347.

[1] Sweden LKB: *Application Note*, 317.

[本文于 1987 年 12 月 31 日收到]

(上接第 68 页)

- [3] Giudicelli, J. et al.: *J. Immunol. Methods*, 1982, 54, 43.
- [4] Rychly, J. et al.: *Neoplasma*, 1984, 31, 57.
- [5] 孙玲等: «生理学报», 1985, 5(2), 120.
- [6] Smith, B. A. et al.: *J. Immunol.*, 1978, 120, 921.
- [7] Rychly, J. et al.: *Cell Electrophoresis*, Walter de Gruyter, Inc., Berlin, New York, 1985, 479-481.

[本文于 1987 年 10 月 24 日收到]