遗传 HEREDITAS (Beijing) 9 (4): 31—32 1987

实验技术与方法

人类外周血淋巴细胞微核测定方法的改进

祝庆蕃　傅淑莉
(河南医科大学病理解剖学教研室，郑州)

微核试验是70年代由 Schmid 建立起来的一种检测体内染色体畸变的方法。此法简便、迅速、也较敏感。现广泛用于筛选化学致突变剂和辐射损伤的研究。微核试验一般多以小鼠骨髓为试验材料，但也可以检测人类外周血淋巴细胞的微核。

关于人体外周血淋巴细胞微核测定的方法，国内外报道多自静脉取血，用明胶浓集细胞法，甲基纤维素法或细胞培养方法[1,5]。由于上述诸方法操作复杂，而且费时，给测定带来不便。为此，我们改进了采血和制片方法。经多年应用效果较好。鉴于尚未见文献报道，现介绍如下，并将食管癌病人外周血淋巴细胞微核测定结果作初步评价。

材料和方法

(一) 实验对象

1. 食管癌病人34名，年龄30—75岁，男性27名，女性7名。均经本教研室细胞学检查确诊为食管癌的初诊患者，未经放疗、化疗或免疫抑制剂治疗。

2. 健康成人34名为对照组，年龄30—73岁，男性24名，女性10名。最近均未接触过放射线或免疫抑制剂等。

(二) 实验方法

取耳垂血2—3滴加入盛有1.5 ml Tris-NH_4Cl 缓冲液[1)] (pH7.2) 小试管内混匀。置于

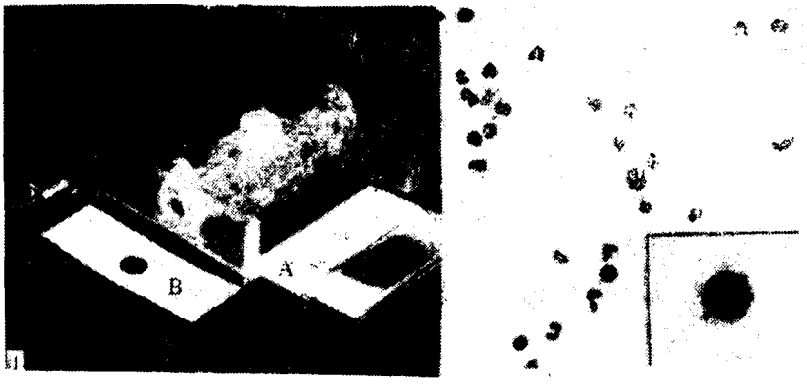

图1　细胞离心涂片器及其涂片

1. 细胞离心涂片器：A. 涂片器所制涂片及常规涂片；B. 滤纸及接头。2. 红细胞完全破坏消失，涂片背景清晰，白细胞结构保存良好，右下角为淋巴细胞微核。

Zhu Qingfan et al.: An Improved Method for the Detection of the Micronuclei in Human Peripheral Blood Lymphocytes

本文于1985年10月19日收到。

1) Tris-氯化铵缓冲液：0.17*M* 三羟甲基氨基甲烷 (Tris) 20.60克/升；0.16*M* NH_4Cl 8.30克/升。
配制：将10毫升0.17 *M* Tris 加至90毫升0.16 *M* NH_4Cl，调节 pH 至7.2。

37℃ 水浴 10 分钟左右，使红细胞溶解，而呈红色透明液体。将此细胞悬液滴入我们研制的细胞涂片离心机(郑州医疗器械厂生产)或简易离心涂片器[6] (图 1)。此器系借滤纸的毛细管作用将细胞悬液中液体吸收。过多的液体借离心作用而抛出。细胞成份集中并呈单层平铺于载玻片中央直径 1cm 的范围内。涂片用甲醇固定，以 1:9 的 Giemsa 液与磷酸缓冲液 (pH6.4) 染色 10 分钟左右，自来水冲洗干净，干后在油镜下计数 1,000 个有完整胞浆的淋巴细胞，观察其微核出现率。微核是游离于淋巴细胞胞浆中圆形或椭圆形小体，与主核不相连，其大小不超过主核的 1/3，染色性与主核一致。

结果与讨论

健康人外周血淋巴细胞出现微核的范围一般为 0—2‰[1]，亦可高达 3‰ 以上[2,3]。本实验健康人微核范围为 0—3‰，说明我们采用的方法与自静脉抽血，用明胶浓集细胞等方法所获得的结果相同。我们用自己研制的细胞涂片离心机或简易离心涂片器制备涂片，使离心和涂片两个步骤一次完成，而且细胞集中，呈单层平铺于载玻片中央直径 1cm 范围内，有利于阅片。由于红细胞完全破坏而消失，涂片背景清晰，白细胞结构保存良好，虽片中除淋巴细胞外还有其他类型白细胞，但易于区分。本方法仅从耳垂取微量血液，避免了静脉抽血，受检者易于接受。经多年应用，我们认为此法简捷，而且稳定可靠。

关于食管癌病人平均微核出现率，各家报道不一，如 0.22‰[4]和 10.29‰。我们的材料为 2.88‰，与健康对照组 (0.82‰) 相比，有显著的统计学差异 ($P < 0.001$，表 1)。我们认为作为食管癌人群淋巴细胞微核出现率高于健康人群，这有一定的意义。但对食管癌的诊断则无明显的特异性。因为，健康人微核分布 95% 在 2‰ 以下，食管癌组分布范围虽较前者为大 (0—9‰)，但有半数也在 2‰ 以下，与健康人重叠。

表 1 食管癌组与对照组淋巴细胞微核出现率比较

组别	例数	淋巴细胞微核		
		观察细胞数	微核细胞数(个)	微核平均出现率(‰)
食管癌组	34	34,000	98	2.88
对照组	34	34,000	28	0.82

$t = 4.8$ $P<0.001$

参考文献

[1] 杨家宽：1981。辐射防护，1(2)：78—79。
[2] 汤德平等：1983。工业卫生与职业病，9(2)：107—108。
[3] 王宗全等：1981。中华预防医学杂志，15(3)：151—152。
[4] 云南动物所等：1978。遗传学报，5(2)：142—146。
[5] Iskandar O.: 1979. *Stain Technology*, 54(4):221—223.
[6] Zhu Qingfan: 1986. *Journal of Tongji Medical University*, 6(4): 256—261.

恙螨染色体制备方法的探讨

王灵岚　　王敦清

(福建医学院寄生虫学教研室，福州)

近年来蜱螨细胞遗传学的研究发展较快，已有数百种蜱螨的染色体及其遗传特性见于文献资料。但是恙螨染色体的研究却非常罕见，迄今仅见 Shirai 等[5]简要地报道了 3 种纤恙螨的染色体组型，这与恙螨的饲养和取材比较困难有很大关系。我们在恙螨染色体研究方面获得了初步成功，现将我们研究的方法和经验略

Wang Linglan et al. Inquiry of Method for Chromosome Preparation of Chiggers

本文于 1986 年 3 月 20 日收到。