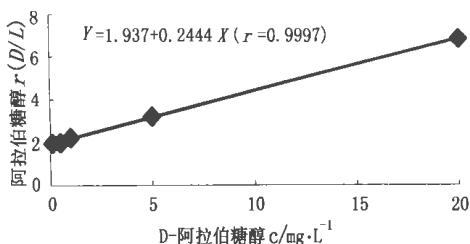


图4 正常人尿样本处理后的分离总离子流图

时间分别定为 7 min, 10 min, 分析结果表明两者无显著性差异; 其余 3 份的衍生化试剂用量分别为 150, 200, 300 μL , 分析结果表明用量各为 150 μL 时, 检测不到 $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准样品, 提示衍生化反应不完全; 衍生化试剂各为 300 μL 时, 检测结果与 200 μL 时无显著性差异, 且常因反应产生的压力大而使反应瓶口裂开而导致反应失败。故选用 200 μL 试剂, 同时节省了实验费用。

2.4 线性关系与检测限

$0.1 \sim 20 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 系列质量浓度的标准尿样经处理后进行样分析, 其质量浓度 (X) 与 D/L 比率 (Y) 间的标准曲线回归方程为 $Y = 1.937 + 0.2444X$ ($r = 0.9997$, $n = 5$)。D-阿拉伯糖醇与 L-阿拉伯糖醇的最低检测限均为 2.86 ng, 即 $20 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 标准液 ($S/N = 3$), 见图 5。

图5 测定人尿中阿拉伯糖醇 D/L 比率的标准曲线 ($n = 5$)

2.5 精密度

对 0.5, 5.0, 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个质量浓度共 5 批 D-阿拉伯糖醇标准尿样本进行日内变异系数测定的结果见表 1。

2.6 稳定性

对 0.5, 5.0, 20 $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 3 个质量浓度共 3 批 D-阿拉伯糖醇标准尿样本进行稳定性评价, 结果见表 2。结果表明, 尿样本在 $-20 \text{ }^\circ\text{C}$ 冰箱放置 33 d 后对测定结果无显著性差异。

表1 精密度 (D/L 峰面积比率, $n = 5$)

$\rho(D\text{-阿拉伯糖醇}) / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	阿拉伯糖醇 D/L 比率		
	mean	SD	RSD (%)
0.5	2.03	0.04	2.02
5.0	2.96	0.29	9.87
20.0	6.92	0.50	7.20

表2 稳定性 (D/L 峰面积比率, $n = 3$)

$\rho(D\text{-阿拉伯糖醇}) / (\text{mg} \cdot \text{L}^{-1})$	阿拉伯糖醇 D/L 比率		
	mean	SD	RSD (%)
0.5	2.15	0.23	10.81
5.0	3.02	0.26	8.64
20.0	6.99	0.68	9.83

2.7 方法的应用

用本方法检测了 6 个正常人空白尿样, 其阿拉伯糖醇 D/L 比率为 2.10 ± 0.62 , 本方法快速、准确, 样本处理、分析整个过程只需要 1 d, 而现用系统性念珠菌诊断方法需要 14 d, 因此本方法为其疾病的诊断提供了一个很好的前景。

参考文献:

- [1] Roboz J. Diagnosis and monitoring of disseminated candidiasis based on serum/urine d/l -arabinitol ratios[J]. Chirality, 1994, 6(2): 51.
- [2] Christensson B, Wiebe T, Pehrson C, et al. Diagnosis of invasive candidiasis in neutropenic children with cancer by determination of d -arabinitol/ l -arabinitol ratios in urine[J]. Clin Microbiology, 1997, 35(3): 636.
- [3] Larsson L, Pehrson C, Wiebe T, et al. Gas chromatographic determination of d -arabinitol/ l -arabinitol ratios in urine: a potential method for diagnosis of disseminated candidiasis[J]. Clin Microbiology, 1994, 32(8): 1855.

(编辑 黄小廷)

腺病毒携带人内皮抑素基因在舌癌细胞和血管内皮细胞中的表达

陈宇¹, 丁学强¹, 李立², 黄嘉凌², 刘然义², 冼励坚², 赖坤³, 吴秀菊³, 柯妙拉³, 曾益新², 黄文林²

(1. 中山大学附属第一医院口腔科, 广东广州 510080; 2. 中山大学肿瘤防治中心, 广东广州 510060; 3. 广州达博生物制品有限公司, 广东广州 510050)

摘要:【目的】以腺病毒携带的人内皮抑素基因-Endostatin 基因(Ad/hEnd)感染舌癌细胞株 Tea8113 和人脐静脉内皮细胞株 ECV304, 观察其在舌癌细胞和静脉内皮细胞株中的表达。【方法】用 293 细胞扩增 Ad/hEnd, 并抽提、纯化。以 10 MOI 的 Ad/GFP 感染 ECV 细胞, 观察细胞中表达绿色荧光蛋白的细胞所占的比例。采用免疫组化法检测 Endostatin 蛋白在感染了 Ad/hEnd 的 Tea 细胞和 ECV 细胞中的表达。

收稿日期: 2002-07-15

基金项目: 国家 863 基金资助项目(2001A A217081); 广东省科技攻关基金资助项目(2KM04404S)

作者简介: 陈宇(1970-), 男, 广西南宁人, 临床医学硕士, 主治医师; 丁学强, 硕士生导师。

Ad/hEnd 感染 Tca 细胞后收集细胞培养液上清, ELISA 检测上清中 Endostatin 蛋白含量。Western-blot 检测 Endostatin 蛋白在 Tca 和 ECV 细胞中的表达。【结果】扩增的 Ad/hEnd 通过空斑形成试验准确测定其滴度可达 $1 \times 10^{10} \sim 8 \times 10^{10}$ PFU/mL。表达绿色荧光蛋白的细胞所占的比例为 31%。实验显示感染 Ad/hEnd 后, 在 Tca 细胞和 ECV 细胞胞浆内有 Endostatin 蛋白合成。细胞培养液上清中 Endostatin 蛋白表达浓度呈时间剂量依赖关系, 最高达到 $597 \mu\text{g/L}$ 。Western-blot 检测显示 Endostatin 蛋白可在两种细胞中高效表达, 相对分子质量与自然 Endostatin 蛋白一致, 无杂合蛋白, 呈剂量依赖关系, 且持续到第 7 天仍呈明显的 Endostatin 蛋白质条带。【结论】本实验制备的重组腺病毒 Ad/hEnd 能在舌癌细胞和血管内皮细胞中有效表达 Endostatin 蛋白, 可用于抗肿瘤血管生成的 Endostatin 基因治疗的实验研究。

关键词: 口腔肿瘤; 癌; 鳞状细胞; 腺病毒; 血管内皮抑素; 基因治疗

中图分类号: Q75 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2002)5S-0005-03

舌癌是口腔恶性肿瘤中发病率最高的一种, 目前常规采用以手术为主结合放疗化疗的综合治疗, 疗效并不令人满意, 总体的 5 年生存率只有 50% 左右^[1]。国内外学者不断探索新的治疗方法。近几年, Folkman 等人报告^[2~4]血管内皮抑素(Endostatin)的动物实验和临床观察, 证实 Endostatin 能抑制肿瘤生长, 且有惊人的效果。因此, 以 Endostatin 抗肿瘤血管生成治疗的研究倍受关注。本研究以腺病毒携带的人 Endostatin 基因感染舌癌细胞, 观察 Endostatin 蛋白在舌癌细胞及血管内皮细胞中的表达, 以探索抗肿瘤血管生成的 Endostatin 基因治疗技术, 并研究采用这一技术治疗舌癌的可能性。

1 材料和方法

1.1 实验用细胞株、主要试剂及仪器

Ad/hEnd, 携带人血管内皮抑素基因的重组腺病毒, 由普林斯顿大学黄文林教授构建并提供。293 细胞, 为经导入人腺病毒 E1 区基因并具有永生化特性的人胚肾细胞, 由黄文林教授提供。ECV-304, 人脐静脉内皮细胞株(endothelial cell of vein, ECV), 由黄文林教授提供。Tca8113 舌癌细胞株, 由何荣根教授提供。兔抗人 Endostatin 蛋白多克隆抗体: 购自 Chemicom 公司。Human Endostatin EIA KIT: 购自 ONCOGENE 公司。HRP 偶联的抗鼠二抗、抗兔二抗、抗生物素二抗、化学发光剂 A、B、分子 Marker: 购自 New England BioLabs 公司。PI(溴化丙锭)染色液: 购自美国 Coulter 公司。FACSot FCM 流式细胞仪: 购自美国 BD 公司。Beckman DU 640 型紫外分光光度计: 购自美国 Beckman 公司。

1.2 实验方法

1.2.1 病毒的制备 ① Ad/hEnd 的增殖: 在 75 cm^2 一次性塑料培养瓶内传代、扩增 293 细胞。当细胞处于对数生长期、80%~90% 汇合时加入适量 Ad/hEnd, 24~48 h 后, 大多数细胞出现圆胀、聚集成葡萄串状并开始脱落等病理改变时, 小心收集细胞, 离心, 倾去上清, 细胞放 -80°C 冰箱冻存。② Ad/hEnd 的抽提、纯化及保存: 将收集冻存的细胞置于 37°C 恒温水浴箱内, 再置于 -80°C 冰箱, 反复冻融 3 次使细胞充分裂解。然后离心, 收集上清, 以 1.25 kg/L 和 1.4 kg/L 的 CsCl 进行密度梯度超速离心。小心收集病毒带, 置于透析袋内密封, 浸透析液中 4°C 透析过夜, 中途换透析液 3 次。次日将透析的病毒与等量的 $2 \times$ 病毒保存液混匀, 取样做细菌培养, 然后分装、冻存于 -80°C 备用。③ Ad/hEnd 滴度的测定: 空斑法(Plaque Forming Assay): 采用空斑形成单位(plaque forming unit, PFU)准确测定病毒滴度。将 293 细胞接种于 24 孔培养板中, 待细胞密度达到 80%~90% 汇

合的细胞单层时, 加入 $10^5 \sim 10^{12}$ 稀释的 Ad/hEnd 悬液, 每个稀释度及空白对照设 3 个重复孔。2 h 后弃去病毒液每孔加入 0.8 mL 的 8 g/L 琼脂糖营养液均匀覆盖在单层细胞上, 置孵箱中培养, 每 4 天加 8 g/L 的琼脂糖营养液一次。连续观察 2 周, 计数空斑形成情况, 计算可形成空斑的最高稀释度的空斑均数, 求出 Ad/hEnd 的感染滴度(空斑均数 \times 病毒稀释度的倒数/每孔接种病毒量, PFU/mL)。

1.2.2 Ad/GFP 对血管内皮细胞株感染效率的测定 将 ECV 细胞按 1×10^5 /孔接种于 24 孔培养板中, 20 h 后用 10 感染复数(multiplicity of infection, MOI)的 Ad/GFP 感染细胞(病毒用无血清 1640 稀成 $200 \mu\text{L}$ /孔), 设 3 个复孔。2 h 后吸弃病毒悬液, 加入细胞培养液 1 mL , 置 37°C 、体积分数为 5% 的 CO_2 温箱中培养。24 h 后, 用荧光显微镜观察细胞中表达绿色荧光蛋白的细胞所占的比例, 即为 Ad/GFP 的感染率。

1.2.3 免疫组化法检测 Endostatin 蛋白在 Tca 细胞和 ECV 细胞中的表达 将 Tca 细胞和 ECV 细胞按 2×10^6 /瓶接种于 25 mL 培养瓶中, 24 h 后用 0、10 MOI 的 Ad/hEnd 感染细胞, 2 h 后吸弃病毒悬液, 加入含 10% 小牛血清的 1640 细胞培养液 2 mL , 置温箱中培养。对照组加入 1640 液。24 h 后, 消化收集细胞, 用 PBS 缓冲液重悬, 涂于玻片上固定, 加一抗(兔抗人 Endostatin)和二抗, 于光镜下观测 Endostatin 蛋白在细胞内的表达。

1.2.4 ELISA 检测 Tca8113 感染 Ad/hEnd 后 Endostatin 蛋白的分泌表达 用 0、10、100 MOI 的 Ad/hEnd 感染 Tca8113 细胞, 分别于 24、36、48、72 h 收集细胞培养液上清, 按 Human Endostatin EIA(ONCOGENE)KIT 的操作规程, 检测并计算上清中 Endostatin 蛋白含量。

1.2.5 Western-blot 检测 Endostatin 蛋白在 Tca8113 和内皮细胞的表达 用 10、50、100 MOI 的 Ad/hEnd 感染 Tca8113 和内皮细胞, 分别于 24、48、72 h 收集细胞。另外以 30 MOI 的 Ad/hEnd 感染舌癌细胞和内皮细胞, 分别于 1 周内每天收集细胞。两批标本进行 Western-blot 检测。

2 结果

实验生产的 Ad/hEnd 感染滴度可达 $(1 \sim 8) \times 10^{10}$ PFU/mL。用 10 MOI 的 Ad/GFP 感染内皮细胞后, 表达绿色荧光蛋白的细胞所占的比例为 31%。实验组感染 Ad/hEnd 的舌癌细胞胞浆染棕色, 约占 25%, 感染 Ad/hEnd 的 ECV 细胞染棕色者约占 28%, 对照组无深染细胞, 显示感染 Ad/hEnd 后 Tca 细胞和 ECV 细胞胞浆内合成 Endostatin 蛋白。ELISA 检测上清 Endostatin 蛋白浓度显示 Endostatin 在感染

后的第 1 天即可表达, 表达浓度呈时间剂量依赖关系, 在 100 MOI 的病毒感染后第 3 天表达最强, 平均达到 597 $\mu\text{g/L}$ 。结果如表 1。Western-blot 显示: 舌癌和内皮细胞感染 Ad/hEnd 后第 1 天始, 目的基因 Endostatin 的产物可在细胞中高效表达, 相对分子量与自然 Endostatin 蛋白一致, 无杂合蛋白, 且呈剂量依赖关系。10 MOI 的病毒感染细胞后, 24 h 可检测到明显的 Endostatin 蛋白条带。30 MOI 的病毒感染 Tca 细胞后, 持续到第 7 天仍呈明显的 Endostatin 蛋白条带。

表 1 ELISA 检测 Tca8113 感染 Ad/hEnd 后细胞培养液上清 Endostatin 蛋白的含量 ($\bar{x} \pm s$, $\mu\text{g/L}$)

MOI	24 h	36 h	48 h	72 h
10	8.62 \pm 5.12	30.12 \pm 10.26 ²⁾	72.35 \pm 16.69 ²⁾	126.7 \pm 13.25 ²⁾
100	37.28 \pm 7.36 ¹⁾	241.48 \pm 31.28 ²⁾	287.08 \pm 28.74 ²⁾	597.54 \pm 38.47 ²⁾
0	5.24 \pm 2.53	3.0 \pm 1.28	4.7 \pm 2.33	2.67 \pm 1.31

注: 10 MOI 组和 100 MOI 组分别与 0 MOI 组比较, 1) $P < 0.05$; 2) $P < 0.01$

3 讨论

3.1 Endostatin 抗肿瘤血管生成治疗的研究进展

近年来 Hanahan^[5] 等研究表明, 血管生成是受促血管生成因子和抑制血管生成因子的调控, 当发生肿瘤时, 就会出现病理性血管生成, 肿瘤细胞可迅速产生血管内皮细胞生长因子(vascular endothelial growth factor, VEGF)等刺激新生血管生成的多肽分子, 同时 VEGF 可使血管通透性增强, 以提高肿瘤组织营养的交流, 也可促进肿瘤细胞的血源性转移。当肿瘤体积达到 2 mm³ 时, 必需依靠新生血管来获取营养及氧份、维持肿瘤的迅速生长, 因而通过抑制肿瘤血管生成, 切断肿瘤的血液供养, 可以阻止肿瘤迅速生长和转移。这就是抗肿瘤血管生成治疗。

Endostatin 从发现到临床应用发展迅速。1997 年, O'Reilly^[3] 和其同事首次报道内皮抑素(Endostatin)的发现。在随后的动物实验中^[2, 4, 6], Endostatin 显示的抑瘤效果最强, 具有显著抑制内皮细胞生长和血管生成的作用, 被认为是目前活性最强的血管形成抑制剂。美国于 1999 年底开始批准 Endostatin 的临床试验。

3.2 Endostatin 的基因治疗研究

由于 Endostatin 蛋白质结构不稳定, 生产技术工艺复杂, 难以大批量制备, 而且每天需要多次重复给药, 疗程长, 患者须承受巨大的经济负担, 这些问题使 Endostatin 无法在临床上推广。采取基因治疗的方法是解决以上问题的最佳途径^[7]。这种方法具有明显的优点, 首先它可以产生很高活性的内源蛋白; 另外, 一次治疗就可以获得较长时间的稳定表达, 成本降低, 并且治疗过程简单, 病人容易接受; 同时基因治疗能使体内的 Endostatin 蛋白保持在一个相对稳定的水平, 其药物动力学更加合理。

目前国内外以腺病毒携带的人 Endostatin 基因进行抗肿瘤血管生成的报道和以 Endostatin 基因抗舌癌的研究资料较少见。为了提高舌癌疗效, 减少肿瘤的复发和转移, 提高舌癌患者的生存质量, 我们对此进行初步的研究, 以探索

采用 Endostatin 基因对舌癌进行抗肿瘤血管生成治疗的新技术。

腺病毒载体是临床基因治疗研究中应用最为广泛的载体之一^[8, 9], 具有易于制备和操作, 基因转移效率高, 无插入突变危险, 稳定性好等优点。本实验采用腺病毒作载体, 以腺病毒携带人的 Endostatin 基因(Ad/hEnd), 实验结果证实腺病毒载体对 Tca 细胞和 ECV 细胞有较高的感染率, 使目的基因能在 Tca 细胞和 ECV 细胞中有效表达。同时实验生产的 Ad/hEnd 感染滴度可达 $(1 \sim 8) \times 10^{10}$ PFU/mL, 为进一步的研究打下良好基础。

3.3 Endostatin 蛋白在 Tca 细胞和 ECV 细胞中的表达

研究表明, Endostatin 是内源性多肽, 相对分子质量为 20, 其氨基酸序列为胶原蛋白 X VIII C 末端片段。Endostatin 对肝素有很高的亲和力, 是因为其含有的很多碱性氨基酸, 特别是精氨酸。精氨酸分布在蛋白表面, 对肝素的结合起重要作用。Endostatin 有一个锌离子结合位点, 由氨基末端的组氨酸和天冬氨酸组成, 可能参与了其酶解过程。Endostatin 通过被内皮细胞内吞, 形成一种具有酪氨酸激酶活性的复合物引起内皮细胞 G1 期阻滞和凋亡。

重组腺病毒对不同的细胞的转染率不同, 所携带的目的基因能否表达和表达的程度受到诸多因素的限制。Ad/hEnd 感染 Tca 细胞和 ECV 细胞后的 Endostatin 蛋白在细胞浆内的表达以及在细胞培养液上清的分泌性表达功能是 Ad/hEnd 构建成功与否的关键。同时, Endostatin 蛋白在不感染 Ad/hEnd 的 Tca 细胞和 ECV 细胞的自然表达状态少见报道。

本实验结果显示, Ad/hEnd 感染 Tca 细胞和 ECV 细胞后 24 h 开始, 在细胞内用免疫组化法可检测到 Endostatin 蛋白在细胞浆内的表达, 而不感染 Ad/hEnd 的 Tca 细胞和 ECV 细胞内无表达。Western-blot 检查显示, Ad/hEnd 感染 Tca 细胞和 ECV 细胞后出现明显 Endostatin 蛋白条带, 分子量与自然 Endostatin 蛋白一致, 无杂合蛋白, 而不感染 Ad/hEnd 的 Tca 细胞和 ECV 细胞无 Endostatin 蛋白条带。ELISA 亦检测到感染 Ad/hEnd 的 Tca 细胞和 ECV 细胞培养液上清的 Endostatin 蛋白, 含量是空白组的 100 多倍, 说明 Ad/hEnd 能在 Tca 细胞和 ECV 细胞中快速高效表达, 并持续表达至第 7 天仍然可用 Western-blot 检测到。这些结果证明 Ad/hEnd 能在 ECV 和 TCA 细胞中高效持久地表达 Endostatin 蛋白, 达到了我们设计的要求。

本实验结果显示 Ad/hEnd 能在 Ecv 和 Tca8113 细胞中有效表达 Endostatin 蛋白, 为应用 Ad/hEnd 进行舌癌的抗肿瘤血管生成的 Endostatin 基因治疗实验研究开辟了广阔前景。

参考文献:

- [1] 黄洪章. 现代口腔颌面外科学[M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2001. 280.
- [2] Chen C T, Lin J, Li Q, *et al*. Antiangiogenic gene therapy for cancer via systemic administration of adenoviral vectors expressing secreted endostatin[J]. Hum Gene Ther, 2000, 11(14): 1983.
- [3] O'Reilly, M S, Boelm T, Shing Y, *et al*. Endostatin; an endogenous inhibitor of angiogenesis and tumor growth[J]. Cell, 1997,

88(2): 277.

[4] Boehm T, Folkman J, Broower T, *et al.* Antiangiogenic therapy of experimental cancer does not induce acquired drug resistance[J]. *Nature*, 1997, 390(6658): 404.

[5] Hanahan D, Folkman J. Patterns and emerging mechanism of the angiogenic switch during tumorigenesis[J]. *Cell*, 1996, 86(3): 353.

[6] Folkman J. Angiogenesis in cancer, vascular rheumatoid and other

diseases[J]. *Nat Med* 1995, 1(1): 27.

[7] Crystal R G. The body as a manufacturer of endostatin [J]. *Nat Biotechnol*, 1999, 17(4): 336.

[8] 黄文林主编. 分子病毒学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 538.

[9] 张世能, 袁世珍. 腺病毒介导的 CD 基因在人胰腺癌细胞中的靶向性表达[J]. *中山医科大学学报*, 2000, 21(3): 176.

(编辑 刘清海)

碳酸基团(CO₃)在牙磷灰石中的定性、定量分析

赵 玮¹, 凌均¹, 于世风²

(1. 中山大学附属口腔医院牙体牙髓科, 广东广州 510055; 2. 北京大学附属口腔医院病理科, 北京 100080)

摘要:【目的】探讨牙磷灰石中碳酸基团(CO₃)的存在方式及其对牙磷灰石理化特性的影响。【方法】应用红外光谱技术(IR)对四颗正常乳牙、年轻恒牙牙釉质和牙本质中的 CO₃ 进行定性和定量分析。【结果】所有标本中均存在 CO₃ 和 PO₄ 特征性吸收峰, CO₃ 含量的质量百分比依次为: 恒牙牙釉质(6.9) < 乳牙牙釉质(7.8) < 恒牙牙本质(8.9) < 乳牙牙本质(9.3)。红外吸收峰的峰形显示乳、恒牙牙釉质的结晶性较牙本质高。【结论】CO₃ 主要以取代 PO₄ 的方式(B型取代)存在于牙磷灰石结构中; 恒牙牙釉质和牙本质结晶性的不同可部分归因于不同组织中 CO₃ 的含量差异。

关键词: 碳酸基团; 牙磷灰石

中图分类号: R781.3 文献标识码: A 文章编号: 1000-257X(2002)5S-0007-02

早期的研究多用羟基磷灰石(HA)作为研究牙体组织矿化的模型。但有学者指出,生物磷灰石(包括牙釉质、牙本质和骨组织等)不是纯 HA,而是含有多种微量成份的碳酸盐磷灰石(carbonate hydroxyapatite),分子式可以表达为(Ca, Mg, Na, X)₁₀(PO₄, HPO₄, CO₃)₆(OH, CL)₂^[1,2]。迄今,碳酸基团 CO₃ 在牙磷灰石结构中可能存在的方式及其对牙磷灰石结晶性、溶解性等特性的影响尚无定论。本实验应用红外光谱技术对乳、恒牙牙釉质和牙本质中的碳酸基团(CO₃)进行了定性、定量的对比分析。

1 材料和方法

1.1 标本收集

选取因正畸或换牙拔除的正常乳牙、恒牙各四颗。牙齿拔除后去除软垢、牙石和软组织,用蒸馏水洗净,置于 100 g/L 甲醛固定 24~48 h。蒸馏水冲洗,自然干燥备用。

1.2 样品制备

用慢速牙科手机(7 000 r/min)及锥形金刚砂钻,将牙釉质、牙本质分别制成粉末,并将位于釉牙本质界处的牙体组织(此处牙釉质、牙本质不易分开)弃之不用。各标本取 1 mg 粉末与 300 mg 溴化钾混匀,压片法制样。

1.3 红外光谱检测(IR)

在 BIO-RAD 公司产傅立叶变换红外光谱仪上进行,测定波数范围为 400~4 000 cm⁻¹ 的红外吸收峰,根据一定波数范围的特征性吸收峰的出现及其强度,对样品中的 CO₃ 进行定性及定量分析。

2 结果

乳、恒牙牙釉质和牙本质的红外光谱图(见图 1)显示,所有标本除具有 OH(O-H)吸收峰外,均出现了 CO₃(C-O)、PO₄(P-O)的特征性吸收峰。计算 CO₃(C-O)与 PO₄(P-O)峰形的强度比值,根据 leGeros 的方法^[1],CO₃ 含量与其吸收峰的强度成正比,测得恒牙牙釉质 CO₃ 含量质量百分比为 6.9,恒牙牙本质为 8.9,乳牙牙釉质为 7.8,乳牙牙本质为 9.3。比较乳、恒牙牙釉质和牙本质红外吸收峰的峰形,表明乳、恒牙牙釉质中 PO₄ 的吸收峰分辨率(resolution)较其牙本质高,提示乳、恒牙牙釉质的结晶性高于其自身牙本质。

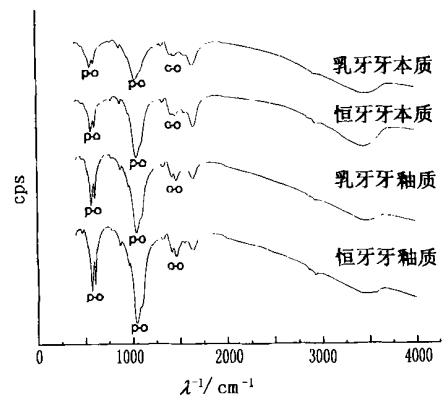


图 1 乳、恒牙牙釉质和牙本质的红外光谱(IR)图谱

收稿日期: 2002-07-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(39830430)

作者简介: 赵 玮(1971-),女,湖北武汉人,医学博士,讲师