

精液/斑的 PGM₁ 亚型分型研究*

伍新尧 郭云荣 陈丽娟 郭景元 蔡珊元**

(法医学系)

PGM (phosphoglucosomutase, 葡萄糖磷酸变位酶) 能催化葡萄糖-1-磷酸与葡萄糖-6-磷酸之间磷酸基的转移, 是动物体内糖代谢中起重要作用的一种酶, 广泛存在于哺乳动物的各种组织, 肝、肾、心、子宫、脑、皮肤、胎盘等组织及血液和精液中都有此酶。

Spencer 等^[1]首先用淀粉凝胶电泳分离 PGM 同工酶, 可将人群分为三型 (PGM₁, PGM₂₋₁, PGM₂)。此后, 不少学者对人群 PGM 分型作了大量的调查研究。现已发现 PGM 有三组同工酶, PGM₁, PGM₂, PGM₃ 分别由不同位座的基因控制^[2]。

Bark 等^[3]于1976年应用等电聚焦电泳技术将 PGM₁ 分为10种表现型, 大大提高了 PGM₁ 分型的个体识别力。国外近年来已有有用此法检测精斑中 PGM₁ 亚型的报道^[4,5]。本文报道用等电聚焦电泳技术作精液/斑 PGM₁ 亚型分型的结果。

材料和方法

一、材料 精液标本来源于本校附属第一医院计划生育门诊部检查的标本及本室工作人员, 共109例。其中55例的精液标本摇匀后, 将其一半滴在干净滤纸上, 室内自然干燥, 置信封内室温下保存。

二、方法

1. 等电聚焦电泳甲聚丙烯酰胺凝胶厚 0.5mm, 其配方按 Turowska 等^[6]介绍的作适当修改 (29.1% 丙烯酰胺 2.5ml, 0.9% 亚甲双丙烯酰胺 2.5ml, 双蒸水 8.75ml, 蔗糖 1.5g, 四甲基乙二胺 (TEMED) 10ml, Ampholine pH5-7 (LKB 公司产) 0.95ml, 1% 过硫酸铵 0.3ml)。室温下 0.5 至 1 小时左右聚胶。

2. 聚丙烯酰胺凝胶板在 LKB Multiphor (2117) 上作等电聚焦电泳。电极液阳极用 1% 醋酸, 阴极用 0.1M 氢氧化钠。循环冷水 4℃。先 800V 电压预聚焦 40 分钟, 取 2μl 精液滴在 3 × 5 mm 大的滤纸片上或剪取同样大小的精斑用双蒸水 3ml 湿透, 置于凝胶板离阳极 2cm 处。800V 电聚焦 1 小时后, 1,000V 2 小时, 再 1100V 电聚焦 1 小时后结束电泳。

3. 酶谱显示, 按 Spencer 等^[1]介绍的方法适当改良: 1% 琼脂凝胶 (60℃ 左右) 10ml 内加入反应混合物 (葡萄糖-1-磷酸 20mg, 葡萄糖-1, 6-二磷酸 0.5mg, 吩嗪二甲酯硫酸盐 (PMS) 1.2mg, 噻唑蓝 (MTT) 1.2mg, 0.1M Tris (pH8.0) 3ml, 0.1M MgCl₂ 3ml), 混匀后再加入葡萄糖-6-磷酸脱氢酶 (G-6PD) 5μ, 摇匀后迅速倾倒在电泳后的凝胶板上。置 37℃ 孵育 45 分钟观察酶谱带。

实验结果

一、109例精液 PGM₁ 亚型测定结果 (表 1)表 1 109 例精液 PGM₁ 亚型测定结果

例数	PGM ₁ 亚型									合计	
	1 ⁺	1 ⁺ 1 ⁻	1 ⁻	1 ⁺ 2 ⁺	1 ⁺ 2 ⁻	1 ⁻ 2 ⁺	1 ⁻ 2 ⁻	2 ⁺	2 ⁺ 2 ⁻		2 ⁻
	29	12	2	23	27	0	3	5	4	2	107*

* 另有 2 例分别为 1⁺8 和 2⁺8 型

在实验中, 除了常见的 PGM₁ 四条酶谱带 (1⁺, 1⁻, 2⁺, 2⁻) 外, 尚发现一条位置变异的谱带, 处于 1⁻带与阴极之间, 此谱带的位置与 Dale 等^[7]报道的 PGM₁⁸ 带相似。在本组标本中有 2 例出现此带, 其

中一例同时具有 1⁺带, 另一例具有 2⁺带, 因此分别定名为 PGM₁¹⁺⁸ 型和 PGM₁²⁺⁸ 型。此两例的血

*为国家自然科学基金资助项目

**第一附属医院计划生育咨询门诊

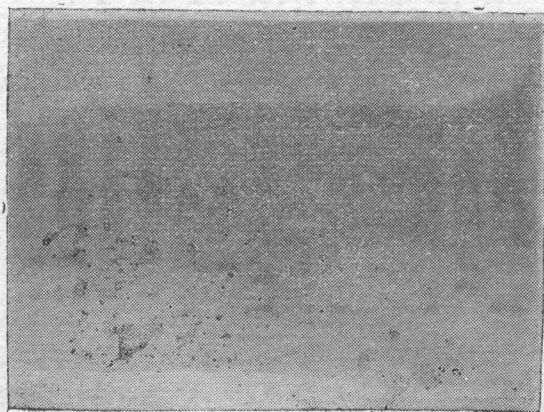


图1 血液PGM₁亚型图谱

液标本检查亦发现同样位置的8带。

二、精浆与精液沉渣部分 PGM₁ 酶活性的比较

将精液标本4,000rpm 离心10分钟,分离上清和沉渣部分,再将沉渣的细胞成分冻融,测各部分 PGM₁ 亚型。结果发现精浆和精液的沉渣部分同样显示 PGM₁ 酶谱,但精浆部分的谱带显色明显淡薄于沉渣部分。

三、55例精斑 PGM₁ 亚型分型的结果(表2)

其中一例1⁺2⁻型精斑在室温下保存100天仍可正确分型。

表2 55例精斑PGM₁亚型分型结果

PGM ₁ 亚型	检测数	保存时间				
		4周内	5周	6周	8周	10周
1 ⁺	14	14	14	12	9	5
1 ⁺ 1 ⁻	4	4	3	3	1	0
1 ⁺ 2 ⁺	9	9	8	7	4	2
1 ⁺ 2 ⁻	18	18	18	17	12	10
1 ⁻ 2 ⁻	3	3	3	2	0	0
2 ⁺	4	4	4	3	1	0
2 ⁺ 2 ⁻	3	3	3	2	1	0

讨论

一、1970年, Renninger 等^[8]首先证明精液中的 PGM₁ 可以分型。1979年 Scutton^[4]应用等电聚焦电泳技术作精液 PGM₁ 亚型测定大大提高了这一检验的个体识别力。

本实验结果证明,用等电聚焦电泳技术可以检测微量(2ml)精液的 PGM₁ 亚型。这正是法医物证检案要求的。实验中还发现两例的 PGM₁ 亚型酶谱具

有一条少见的变异带。与 Dale 等称为的“8”带位置相似,其酶活性强度与其他谱带相近。有关其遗传特性有待进一步研究。但此带的发现,无疑对增加本法检验的个体识别力有帮助。

实验中发现,精浆和精液的沉渣部分都能显示 PGM₁ 酶活性,但精浆部分此酶的活性明显低于沉渣部分。因本组标本都是有精子的精液标本。无精子的精液 PGM₁ 酶活性尚待进一步研究。

二、精斑检验在法医学检验中占有重要地位。用等电聚焦电泳技术能将 PGM₁ 分为10个常见的亚型,明显提高了精斑检验的实用价值。本实验结果证明,精斑中 PGM₁ 酶活性能维持相当长的时间。一般情况下,4周内的精斑都能正确分型。随着保存时间的延长,PGM₁ 亚型的正确检出率逐渐下降。但有些精斑保存时间长达100天的仍可正确分型。

我们将此技术应用于实际检案,取得了良好的效果。例如,我们曾成功的检测出一例在室温下保存39天的阴道拭子,协助了侦破案件。另外,一例长达6个月的阴道拭子,作等电聚焦电泳后,仍然能清楚地显示其 PGM₁ 亚型的酶谱。

但是,据 Blake^[9]的报道,PGM 也存在于某些细菌之中,因而对一些高度可疑有大量细菌或霉菌污染可能性的检材,要特别注意避免造成错误结论。

参 考 文 献

[1] Spencer N, et al. phosphoglucomutase polymorphism in man. Nature 1964;204:742.
 [2] Harris H and Hopkinson, D A. Handbook of Electrophoresis in Human Genetics. North Holland, Amsterdam(1976).
 [3] Bark J E, et al. Typing of the common phosphoglucomutase variants using isoelectric focusing-- a new interpretation of the phosphoglucomutase system. J Forens Sci Soc 1976;16:115.
 [4] Sutton, J G. Further alleles of phosphoglucomutase in human semen detected by isoelectric focusing. J Forens Sci 1979;24:189.
 [5] 大矢正, 算等. Medico-legal Investigation of Sexual Assault Material by Phosphoglucomutase 1 Subtypes. 日本法医学杂志 1983;37:783.
 [6] Turowska B, et al. PGM₁ subtyping in a south Polish population. Forensic Sci Int 1987;34:103.

手术加美康唑注射治疗鼻孢子菌病

鄂树兰 邓世南

(第一附属医院耳鼻喉科)

林汉良

(病理解剖学教研室)

鼻孢子菌病人 (Rhinosporidiosis) 是由希伯氏鼻孢子菌 (Rhinosporidium Seeberi) 感染引起的一种慢性肉芽肿性真菌病, 世界各地均有零星报道。1979年本院李新章报道国内首例鼻孢子菌病的真菌学检查, 现将该例的临床表现、治疗经过及经9年追踪的结果报道如下:

病 例 报 告

患者陈××, 男, 27岁, 广东高鹤县农民, 1977年2月来诊。主诉反复鼻塞6~7年, 流血性鼻涕, 无臭。在当地作为“鼻息肉”曾行两次鼻息肉摘除术, 术后均很快复发而来诊。经检查见双鼻腔填满红色肉芽样肿物, 质脆, 表面布满针尖大小的黄色小颗粒。用棉枝揩擦即可脱落, 并有少许出血。基底位于左鼻腔侧壁及底壁, 右鼻腔肿物基底位于鼻中隔。

经鼻分泌物涂片及活组织检查诊断为鼻孢子菌病, 于1977年4月在2% Dicain表麻下经前鼻孔行肿物局部切除术。术后给予液氮冷冻治疗, 半年后复发, 78年4月复诊时见左鼻孔塌陷, 右鼻翼缘有小缺损, 鼻中隔左侧中段及后缘各有一2×1.5×0.1cm及0.5×0.5×0.1cm肿物, 右鼻腔为肿物填满, 基底位于下甲、鼻底。于78年5月表麻下切除右下甲及鼻底粘膜, 鼻中隔左侧中段粘膜, 切除后电凝固基底, 并用2%碘甘油涂擦, 约4月后有复发迹象。因患者不愿再接受手术, 继续用碘甘油治疗。于81年6月因鼻塞严重于外院全麻下经鼻进路切除鼻咽顶、鼻腔底部分侧

壁粘膜、肿物。术后放疗2,000r, 术后一年又复发, 85年4月再次到我院治疗, 检查见双鼻腔均充满肿物, 侵犯鼻咽顶, 再经鼻咽垂入口咽, 象赘子一样与悬雍垂平行挂在口咽部活检证实已经复发。于85年5月表麻下切除肿物。术后用美康唑基底浸润注射, 每三日一次, 每次30mg, 另70mg粘膜涂布, 约20次, 至今一年多无复发。

讨 论

1. 流行病学 Karunaratne 收集世界文献报道的1,240例, 亚洲有1,119例, 占90%以上。除澳洲及新西兰外, 世界各国几乎都有报道, 印度和斯里兰卡有地区性流行, 发病年龄4~48岁, 最多在20~30岁之间, 男性比女性多4倍^[1]。患者多生活在卫生条件较差的地区。多有在池塘中工作或洗澡等接触污水的历史^[2]。国内尚未见报道。

2. 传播方式 此菌至今尚未能人工培养, 动物接种也未成功。因此其传染源, 传播方式尚未清楚。一般认为在池塘污水中洗澡、作业的人感染机会较多。亦有人认为可因吸入空气中带有致病菌的灰尘致感染^[2]。

3. 临床类型 鼻孢子菌可侵犯全身各器官: 鼻^[3,4]、眼^[5,6]、喉^[7]、腮腺导管^[8]、悬雍垂、阴道、肛门、甚至肺, 腹水中也可发现有本菌^[9]。根据真菌感染的部位, 可将本病分为鼻型、眼型、喉型、皮肤型及其它型。也可直接命名为“鼻孢子菌病”, “眼

[7] Dale DD, et al. Routine phenotyping of phosphoglucomutase (PGM₁) by Thin-layer focusing; Isoelectric points of 14 different variants. Electrophoresis 1982;3:165.

[8] Renninger w and Sina D. Isoenzymmuster der Phosphoglukomutase der menschlichen Spermien (Sp-PGM₁). Humangenetik 1970;10:

85.

[9] Blake E T. "Comparative Stability of Semen Proteins and Other Genetic Markers." Forensic Science Symposium On the Analysis of Sexual Assault Evidence. FBI Academy Quantico VA July 1983.