

世界华人消化杂志®

**WORLD CHINESE
JOURNAL OF DIGESTOLOGY**

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

2003年8月15日 第11卷 第8期

(Volume 11 Number 8)



8/2003

ISSN 1009-3079



名誉总编辑

潘伯荣

总编辑

马连生

World Journal of Gastroenterology® 被 SCI® -E, Research Alert®, Current Contents® /Clinical Medicine, Journal Citation Reports® Index Medicus, MEDLINE, Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica 收录. 2002 年 JCR® 报告 WJG 影响因子 2.532. 世界华人消化杂志® 被 Chemical Abstracts, EMBASE/ Excerpta Medica 收录. 2001 年中国科技期刊引证报告: 世界华人消化杂志® 影响因子 3.733, WJG 影响因子 2.920.

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

● 目 次 ●

2003 年 8 月 15 日 第 11 卷 第 8 期 (总第 112 期)

述 评

- 1073 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的新认识 成军, 董菁
1081 重视溃疡性结肠炎的诊断和个体化规范化治疗 江学良

病毒性肝炎

- 1083 乙型肝炎病毒中国流行株全基因的克隆与序列分析 成军, 董菁, 洪源, 钟彦伟, 刘妍, 王刚, 王琳
1091 乙型肝炎病毒基因组中前-S 区编码基因的界定 董菁, 成军
1097 乙型肝炎病毒基因组中前-X 编码基因的界定 董菁, 成军
1102 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活基因 1 的克隆化研究 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克
1107 乙型肝炎病毒 X 蛋白激活基因 1 的克隆化与序列分析 刘妍, 成军, 王琳, 王建军, 陆荫英, 李克
1114 乙型肝炎病毒前-S2 蛋白结合蛋白基因 S2-29 的克隆化研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 李克, 张健, 邵清, 张玲霞
1118 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒 e 抗原结合蛋白 E-19 的研究 陆荫英, 邵清, 成军, 陈天艳, 王琳, 梁耀东, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞
1122 酵母双杂交技术筛选鉴定乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白新基因 C-12 的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 邵清, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 李克, 张玲霞
1126 乙型肝炎病毒 X 蛋白与去唾液酸糖蛋白受体 2 突变体相互作用的研究 陆荫英, 陈天艳, 成军, 梁耀东, 王琳, 刘妍, 张健, 邵清, 李克, 张玲霞
1131 羧肽酶 N 调节乙型肝炎病毒核心启动子表达活性的研究 张忠东, 成军, 钟彦伟, 杨倩, 王业东, 董菁, 杨艳杰, 张树林
1135 丙型肝炎病毒 NS5A 基因变异与干扰素疗效的关系 张琳, 赵桂珍, 石理兰, 曹丽
1139 汉族人 IL-12b 和 IL-10 启动子区基因多态性与 HBV 感染的相关性 李永纲, 刘明旭, 王福生, 金磊, 洪卫国

基础 研 究

- 1144 肝外胆管癌组织 BAG-1 与 BAD 表达与凋亡调控的原位定量研究 闫庆国, 师建国, 黄高昇, 张传山, 李青, 胡沛臻, 王文亮
1148 牛磺酸脱氧胆酸损伤线粒体诱导 HepG2 细胞凋亡 李光明, 谢青, 周霞秋, 俞红, 郭清, 廖丹, 李定国
1152 肝硬化大鼠肝部分切除后肝细胞生长周期的调控 陈平, 李昆, 董家鸿, 韩本立
1156 苦参碱对大鼠原位肝移植冷缺血再灌注中肝窦内皮细胞损伤的影响 仇毓东, 朱新华, 史敏科, 丁义涛
1160 犬肝动脉输注阿霉素联合血液灌流的研究 张志友, 张文怡, 钱绍诚
1164 中国人金属基质蛋白酶组织抑制因子-1 基因的克隆与表达 刘双虎, 谭德明, 侯珏, 胡国龄
1168 卡托普利对肝纤维化模型鼠 MMP-2, 3 TIMP-2, 3 表达的影响 李乾, 张桂英, 李新华, 徐美华
1172 垂体后叶素和特利加压素降低门胆汁性肝硬化大鼠门静脉高压对肝组织氧分压的影响 祝建波, 邓利群, 王思元
1175 电泳法检测肝和血清中醇脱氢酶同工酶 宓庆梅, 曹鲁宁, 高春芳
1178 肝细胞生成素核受体的确定及特性 王阁, 陈东风, 胡铭, 王军, 樊丽琳, 张晓荣
1182 PD98059 对乙醛刺激的大鼠肝星状细胞增生的影响 马洪德, 蒋明德, 钟显飞, 解方为, 曾维政
1185 雌二醇对肝纤维化大鼠 I, III 型胶原及 TGF β_1 表达的影响 许君望, 龚均, 冯新利, 茆新明, 罗金燕, 董蕾, 贾皓, 徐贵平
1189 大鼠急性酒精性脂肪肝造模方法的改进 冯志强, 沈志祥, 谭诗云, 罗和生, 漆楚波, 郭洁, 李海霞
1193 丁酸钠联合穿琥宁对人大肠癌细胞 HCT-8 增生的影响 布立民, 纪欣, 韩英, 陈刚, 王志红, 孙淑红
1197 大肠癌组织胸苷磷酸化酶 / 血小板衍生内皮细胞生长因子的表达及意义 余细球, 邓长生, 朱尤庆, 程芳洲
1200 多粘菌素 B 及其模拟肽体外抗内毒素的实验研究 万志红, 王宇明, 刘国栋
1203 肥大细胞在胃嗜酸性肉芽肿发病中的作用 高振军, 罗和生, 操寄望, 余保平, 宋刘来

临床研究	1207 鱼腥草治疗初发型溃疡性结肠炎的临床研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1211 奥沙拉秦钠治疗慢性反复发作型溃疡性结肠炎随机对照研究 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1214 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎 江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤 1219 胃癌前病变演变过程中凋亡相关蛋白和PCNA的表达意义 伍银桥, 王孟薇, 吴本俨, 尤纬缔, 祝庆孚 1223 汉防己甲素抑制肝癌细胞增生的作用 荆绪斌, 李涛, 杨绮华, 郭光华, 胡辉, 陈素钻 1227 美蓝染色放大电子结肠镜观察结肠息肉与组织病理学的关系 苏鲁, 潘洪珍, 翁敬飏, 徐艺华, 陈芳, 洪梅燕 1230 肝硬化患者血浆胃动素、胆囊收缩素、生长抑素及其胃电的改变 张蓉, 闻勤生, 黄裕新, 赵海峰, 田力 1234 肠易激综合征 402 例发病时间分布及症状特征 许小幸, 李定国, 宋光辉, 周惠清, 刘清华
焦点论坛	1237 乙型肝炎病毒基因组结构与功能复杂性的研究进展 成军 1238 准种是乙型肝炎病毒存在的基本方式 成军, 董菁, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1240 乙型肝炎病毒 X 基因启动子结构及调节研究 邵清, 成军, 白雪帆 1242 乙型肝炎病毒核心蛋白结合蛋白的研究 梁耀东, 成军, 陆荫英, 吴君, 程明亮 1245 羧基末端截短型乙型肝炎病毒表面抗原中蛋白反式激活作用的研究 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1248 乙型肝炎病毒 X 蛋白反式激活作用的研究 杨倩, 刘妍, 成军, 王建军, 洪源, 张树林 1250 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对于细胞周期素 A 的调节研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚 1255 乙型和丙型肝炎病毒对细胞周期素及细胞周期素依赖性蛋白激酶的调节 成军, 刘妍, 洪源, 王建军, 杨倩 1258 乙型和丙型肝炎病毒对 MAPKK 信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1261 乙型和丙型肝炎病毒蛋白对蛋白酪氨酸激酶信号转导的影响 张忠东, 成军, 钟彦伟, 张树林 1264 RNA 干扰与抗肝炎病毒治疗前景的研究 成军, 刘妍, 王琳, 钟彦伟, 王刚
临床经验	1222 一氧化碳中毒伴筋膜间隙综合征的综合治疗 邹淑杭, 马丽萍, 金镇勋, 贺红, 王一玲, 李冰 1267 胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤 21 例 樊丽琳, 陈东风
病例报告	1143 成人不典型郎格罕组织细胞增生症 1 例 王巍峰, 黄启阳, 王志强, 杨云生 1147 慢性酒精性肝损伤致 Gilbert 综合征样改变 1 例 张文瑾, 王晓峰, 赵景民 1192 小肠血管结构不良 2 例 冯瑞娥, 赵大春, 陈杰
消 息	1080 欢迎订阅 2003 年度世界华人消化杂志 1090 欢迎订阅 2003 年度 World Journal of Gastroenterology® 1130 世界华人消化杂志获得 2001 年度百种中国杰出学术期刊 1155 世界胃肠病学杂志英文版获得 2003-2004 年国家自然科学基金重点学术期刊专项基金资助 1226 WJG 搭建我国消化学基础和临床研究惟一国际交流的平台
封面故事	1138 溃疡性结肠炎的基础和临床研究

世界华人消化杂志

Shijie Huaren Xiaohua Zazhi

吴阶平 题写封面刊名
陈可冀 题写版权刊名
(月刊)

创刊 1993-01-15
改刊 1998-01-25
出版 2003-08-15
原刊名 新消化病学杂志

总顾问 陈可冀
黄象谦
黄志强
黎介寿
刘耕陶
裘法祖
汤钊猷
王宝恩
危北海
吴孟超
吴咸中

张金哲
张学庸
赵东海
周殿元
社长总编辑 马连生
中文编辑 潘伯荣
王瑾晖
英文编辑 朱丽虹
排版 李少华
校对 李天华

编辑 世界华人消化杂志编辑委员会
030001, 山西省太原市双塔西街 77 号
E-mail:wcjd@wjgnet.com

出版 世界胃肠病学杂志社
100023, 北京市 2345 信箱
E-mail: wcjd @ wjgnet.com
http://www.wjgnet.com
电话 (010)85381892
传真 (010)85381893

印刷 北京科信印刷厂

发行 国内 北京报刊发行局
国外 中国国际图书贸易总公司
(100044, 北京 399 信箱)

订购 全国各地邮电局

邮购 世界胃肠病学杂志社发行部
(100023, 北京市 2345 信箱)
电话:(010)85381892
传真:(010)85381893
2003 年版权归世界胃肠病学杂志社所有

本刊已被国内外
检索系统收录

美国《化学文摘(CA)》
荷兰《医学文摘库/医学文摘(EM)》
俄罗斯《文摘杂志(PJ)》
中国科技论文统计与分析
中国学术期刊文摘
中国中医药信息服务网
中国生物医学文献光盘数据库
《中文科技资料目录(医药卫生)》
中国生物医学期刊目次数据库
中国医学文摘外科学分册(英文版)
中国医学文摘内科学分册(英文版)

特别声明

本刊刊出的所有文章不代表世界胃肠病学杂志社和本刊编委会的观点, 除非特别声明. 本刊如有印装质量问题, 请向本刊编辑部调换.

ISSN 1009-3079
CN 14-1260/R

邮发代号 82-262

国外代号 M 4481

国内定价 每期 24.00 元 全年 288.00 元

广告经营 14010040

50

www.wjgnet.com

抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎

江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐 风

江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐风, 中国人民解放军济南军区总医院消化科 山东省济南市 250031

江学良, 男, 1967-08-26 生, 山东省安丘市人, 汉族, 医学博士, 科技部科技期刊评审专家, 中英国际炎症性肠病研究中心及济南军区总医院消化内镜中心负责人. 世界华人消化大会共同秘书长, 《Inflammatory Bowel Disease》, 《世界华人消化杂志》, 《中华腹部疾病杂志》等 8 家杂志常务编委和编委. 编著《溃疡性结肠炎的现代诊疗与进展》等专著 2 部. 在《World Journal of Gastroenterology》等杂志发表论文 50 篇, 5 篇被美国 SCI 收录. 主要研究方向为溃疡性结肠炎, 获军队及省部级科技成果奖 6 项. 应邀在世界消化大会、世界华人消化大会等作《中国溃疡性结肠炎研究》的大会报告.

山东省卫生厅青年基金项目, No.2001CA2EFB2

项目负责人: 江学良, 250031, 山东省济南市师范路 25 号, 中国人民解放军济南军区总医院消化科. chfjxl@jn-public.sd.cninfo.net

电话: 0531-8381896

收稿日期: 2003-04-15 接受日期: 2003-06-02

Treatment of refractory ulcerative colitis with Kangshuangling

Xue-Liang Jiang, Qi-Zhen Quan, Zi-Qin Sun, Yao-Jun Wang, Rui-Lian Shang, Feng Qi

Xue-Liang Jiang, Qi-Zhen Quan, Zi-Qin Sun, Yao-Jun Wang, Rui-Lian Shang, Feng Qi, Department of Gastroenterology, Chinese PLA General Hospital of Jinan Command Area, Jinan 250031, Shandong Province, China
Supported by Youth Research Foundation of the Bureau of Health of Shandong Province, No. 2001CA2EFB2

Correspondence to: Dr. Xue-Liang Jiang, Department of Gastroenterology, Chinese PLA General Hospital of Jinan Command Area, 25 Shifanlu, Jinan 250031, Shandong Province, China. chfjxl@jn-public.sd.cninfo.net
Received: 2003-04-15 Accepted: 2003-06-02

Abstract

AIM: To study the therapeutic effects and mechanism of Kangshuanling in patients with refractory ulcerative colitis (UC).

METHODS: Eighteen patients (8 males, 10 females) with refractory UC unresponsive to high-dose prednisolone and sulfasalazine therapy for more than one month were treated with Kangshuanling (7 200 U/d). Prednisolone was gradually stopped and sulfasalazine maintained. Stool frequency, rectal bleeding, colonoscopy and histology, as well as general well-being were observed and CD62p, CD63, CD54, Pgp-170 (flow cytometry), TXA2 (RIA), blood platelet aggregation rate and thrombosis length *in vitro* were assessed.

RESULTS: After more than 4 weeks of combined Kangshuanling and sulfasalazine therapy, sixteen patients achieved clinical remission, with a highly significant statistical difference ($P < 0.01$) between pre- and post-treatment mean scores for all disease parameters: stool frequency (8.2/d vs 1.6/d), rectal bleeding (2.7 vs 0.3), colonoscopy (2.6 vs 1.1), histology (12.0 vs 5.0), general well being (4.0 vs 0.6). And CD62p (8.0 ± 3.1 % vs 4.1 ± 1.8 %), CD63 (6.3 ± 2.1 % vs 3.2 ± 1.6 %), TXA2 (548 ± 85 ng/L vs 390 ± 67 ng/L), platelet aggregation rate

(43.2 ± 10.7 % vs 34.8 ± 8.1 %), thrombosis length *in vitro* (2.3 ± 0.6 cm vs 1.8 ± 0.3 cm), CD54 in blood (26.9 ± 6.9 % vs 14.4 ± 5.1 %), CD54 in tissues (51.1 ± 6.2 % vs 23.1 ± 4.1 %), Pgp-170 in blood (10.4 ± 2.7 % vs 18.9 ± 3.9 %), Pgp-170 in tissues (10.2 ± 2.3 % vs 16.5 ± 3.2 %) decreased significantly ($P < 0.01$ or 0.05).

CONCLUSION: Kangshuanling may be effective in treating refractory UC, the mechanism is partly related to inhibition of platelet activation, hypercoagulable state, MDR expression and anti-inflammatory effects.

Jiang XL, Quan QZ, Sun ZQ, Wang YJ, Shang RL, Qi F. Treatment of refractory ulcerative colitis with Kangshuanling. Shijie Huaren Xiaohua Zazhi 2003;11(8):1214-1218

摘要

目的: 研究抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎(UC)的疗效和机制.

方法: 常规应用激素和/或柳氮磺吡啶(SASP)治疗 1 mo 以上无效或恶化的 UC 患者 18 例 (男 8 例, 女 10 例, 平均年龄 32.4 岁), 加用抗栓灵含片, 2 片 (相当于 2 400 U 低分子肝素钠) 含化, 2 次/d, 观察大便次数、便血情况、自觉症状、肠黏膜肠镜下和组织病理学改变, 并在治疗前和治疗后 4 wk 用流式细胞仪测定血液中黏附分子 P 选择素 (CD62p), 溶酶体膜糖蛋白 (CD63), 血液和组织中细胞间黏附分子 (CD54), 多药耐药基因 (MDR) 产物 P-糖蛋白 170 (Pgp-170), 用放射免疫法测定血栓素 A2 代谢产物 TXB2 含量, 用血小板黏附仪测定血小板黏附率.

结果: 应用抗栓灵含片治疗后, 与治疗前相比, 大便次数 (1.6 vs 8.2 次/d)、便血情况 (范围 0-3, 0.3 vs 2.7 分)、肠镜下情况 (范围 0-3, 1.1 vs 2.6 分)、病理组织学观察 (范围 0-15, 5.0 vs 12.0 分)、自觉症状 (范围 0-5, 0.7 vs 3.9 分) 均明显改善或缓解 ($P < 0.05$). CD62p (4.1 ± 1.8 % vs 8.0 ± 3.1 %), CD63 (3.2 ± 1.6 % vs 6.3 ± 2.1 %), TXA2 (390 ± 67 ng/L vs 548 ± 85 ng/L), 血小板黏附率 (34.8 ± 8.1 % vs 43.2 ± 10.7 %), 体外血栓形成长度 (1.8 ± 0.3 cm vs 2.3 ± 0.6 cm), 血液中 CD54 (14.4 ± 5.1 % vs 26.9 ± 6.9 %), 组织中 CD54 (23.1 ± 4.1 % vs 51.1 ± 6.2 %), 血液中多药抗性基因 (MDR) 产物 P-糖蛋白 170 (Pgp-170) (10.4 ± 2.7 % vs 18.9 ± 3.9 %), 组织中 Pgp-170 (10.2 ± 2.3 % vs 16.5 ± 3.2 %) 明显下降 ($P < 0.01$ 或 0.05).

结论: 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎有效, 可抑制血小板活化和高凝状态, 减轻炎症, 抑

制多药耐药基因表达.

江学良, 权启镇, 孙自勤, 王要军, 尚瑞莲, 齐凤. 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎. 世界华人消化杂志 2003;11(8):1214-1218
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/1214.asp>

0 引言

溃疡性结肠炎(UC)病因和发病机制尚不完全清楚, 应用激素和柳氮磺吡啶(SASP)进行非特异性抗炎治疗可使许多患者得到缓解, 但对激素治疗无效甚至恶化的部分顽固性复发性或重症患者目前还没有理想的治疗方法^[1]. 由于这些患者存在高凝状态^[2-4], 有学者应用抗凝药物肝素治疗, 取得了一定疗效^[5-7], 但普通肝素半衰期短, 注射给药很不方便, 限制了其临床应用. 我们应用低分子肝素口服制剂^[8,9]治疗激素抵抗型UC取得了较好效果^[10], 克服了普通肝素的缺点, 除具有抗凝抗血栓作用外, 还有一定的抗炎作用^[11,12], 但口服制剂常无法避免肝脏首过效应, 为此, 我们应用抗栓灵含片(低分子量肝素钠)治疗伴有血小板活化的难治性溃疡性结肠炎, 观察其临床疗效并探讨作用机制^[13].

1 材料和方法

1.1 材料 常规应用激素和/或柳氮磺吡啶(SASP)治疗1 mo以上无效或恶化的UC患者18例, 男8例, 女10例, 平均年龄32.4岁, 均符合1993年太原全国慢性非感染性肠道疾病学术研讨会制订的溃疡性结肠炎诊断标准^[14]. 其中重度10例, 中度8例, 病程7 mo-10 a, 平均4.3 a, 临床表现为便血、腹泻、黏液脓血便及腹痛症状. 3例患者伴有相关的血栓性疾病. 舌下含服抗栓灵含片(低分子肝素钠, 山东淄博松龄制药厂生产, 鲁卫药准字1996-072523)2片(相当于低分子肝素钠2 400 U), 3次/d, 15d后改为1片/次, 继续同时维持SASA现用量, 逐渐减少激素用量. 正常人对照组20例, 平均年龄30.6岁, 均为健康查体者.

1.2 方法

1.2.1 临床指数评价^[7] 分别在治疗前和治疗后对下列临床指数进行量化, 以评价治疗效果: (1)大便次数(过去1wk每天的大便次数); (2)便血(0分: 无; 1分: 偶尔有少许血便; 2分: 经常有明显的血便; 3分: 全部为血便); (3)肠镜下表现根据改良的Baron评分标准分为0分: 正常黏膜图像; 1分: 轻度病变(血管纹理模糊, 黏膜充血但无出血); 2分: 中度病变(黏膜呈颗粒样变化); 3分: 重度病变(黏膜溃疡并自发性出血); (4)组织学分级: 将UC的5项组织学特征(炎性细胞浸润, 隐窝炎, 隐窝脓肿形成, 杯状细胞不成熟, 黏膜上皮增生)每项分为4级(0分: 无; 1分: 轻度; 2分: 中度; 3分: 重度), 总分小于5分为轻度病变, 5-10分为中度病变, 10-15分为重度病变; (5)全身健康(0=很好, 1=好, 2=较差, 3=差, 4=很差, 5=极差).

1.2.2 血小板活化的检测^[2,4] 血小板活化的膜标志物可溶性黏附分子P选择素(CD62p)及GP53(CD63)采用流式

细胞仪(FACScan型, 美国Becton Dickinson)测定. 主要试剂: 异硫氰酸荧光素(FITC), 标记的鼠抗人P选择素(CD62p-FITC), 鼠抗人GP53(CD63-FITC), 同种荧光素标记的阴性对照羊抗鼠IgG1-FITC, 均为法国Immunotech产品. 取静脉血2 mL, 20 g/L EDTA抗凝, 1 500 r/min离心5 min, 取上清液, 以80 g/L多聚甲醛室温固定15 min, 用PBS漂洗3次, 2 000 r/min, 离心5 min, 调整血小板浓度为 $300 \times 10^9/L$, 将20 μL CD62p-FITC, CD63-FITC及IgG1-FITC分别加入上述富含血小板血浆100 μL 中, 混匀室温避光30 min, 用PBS洗一遍, 弃上清, 上机. 上机前先以标准微球调整仪器, 使变异系数在2%以内, 上机后收集20 000-50 000个细胞, 荧光强度以对数放大, 光散射数据存软盘, 结果采用Macintosh 650型计算机及Cell Quest Plot软件进行数据分析, 以阳性细胞百分数表示. TXA2稳定的代谢产物TXB2(药盒由苏州医学院提供)采用放免法测定, 按操作说明进行. 血小板黏附率(PAR)采用XSNR II血栓形成、血小板黏附两用仪(无锡电子仪器二厂)测定.

1.2.3 血液和组织中CD54^[15], Pgp-170^[16,17]检测 试剂来源: 异硫氰酸荧光素(FITC)标记的鼠抗人CD54(CD54-FITC), Pgp-170(Pgp-170-FITC), 同种荧光素标记的阴性对照羊抗鼠IgG1-FITC均由法国国际免疫公司生产; 淋巴细胞分离液由中国医学科学院血液研究所生产. 血液样本Pgp-170, CD54的制备: 分别取肝素抗凝血2 mL, 重层于淋巴细胞分离液上, 1 500 r/min, 离心15 min, 提取其中淋巴细胞层, 再以PBS 3 mL洗2次, 弃上清后用700 mL/L乙醇固定, 4℃备用. 将制备的细胞悬液分3管, 每管100 μL , 一管加入20 μL Pgp-170-FITC单抗溶液, 一管加入20 μL CD54-FITC, 另一管为阴性对照, 加20 μL 羊抗鼠IgG1-FITC, 室温避光反应5 min, PBS洗1次, 弃上清液, 以除去未结合的抗荧光抗体. 组织样品处理: UC患者肠镜检查时用活检钳钳取结肠溃疡边缘新鲜组织约0.2 g, 正常人在乙状结肠处取新鲜组织约0.2 g, 置于重叠的100目铜网及260目尼龙网上, 用眼科剪剪成 $1 \times 1 \times 1$ mm碎块, 然后用眼科剪轻搓, 边搓边用磷酸缓冲液(PBS)冲洗入小烧瓶中, 直至组织搓净. 1 500 r/min离心5 min, 再用PBS洗2次, 1 000 r/min, 离心2 min, 重层于淋巴细胞分离液上, 再以PBS 3 mL洗2次, 弃上清后用700 mL/L乙醇固定, 4℃备用. 免疫反应: 反应前调整细胞数至 $10^{12}/L$, 分取100 μL 放入3支试管内, 试管内分别加20 μL CD54-FITC, Pgp-170-FITC和IgG1-FITC, 室温避光反应30 min, 上机. 流式细胞检测: 流式细胞仪为FACScan型, 美国Becton Dickinson生产. 上机前先以标准荧光微球调整仪器变异系数在2.0%以内, 上机后收集10 000个细胞, 荧光强度以对数放大, 测定光散射数据, 结果采用Macintosh 650型计算机及Cell Quest Plot软件进行数据分析, 以阳性细

胞百分数表示.

统计学处理 采用两样本均数的 t 检验和等级资料的 Riddit 分析.

2 结果

2.1 临床疗效 UC 患者 16 例在加用抗栓灵含片治疗后获得临床缓解,大便次数正常,2 例患者仅表现为便血减少,症状显著改善的平均时间为 3 (1-5) wk,临床缓解的平均时间为 6 (1-12) wk,4 例患者便血在 1-2 wk 停止,其余患者 2-6 wk 停止(表 1).

表 1 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性 UC 的临床疗效

分组	大便次数	便血(分)	内镜下表现(分)	组织学(分)	全身症状(分)
治疗前	8.2	2.7	2.6	12.0	3.9
治疗后	1.6 ^b	0.3 ^b	1.1 ^b	5.0 ^b	0.7 ^b

^b $P < 0.01$ vs 治疗前.

2.2 CD_{62p}, CD₆₃, TXA₂, PAR 和体外血栓长度(TL)变化 与正常人(图 1)相比,难治性 UC 患者血小板活化的膜标志物 P 选择素(图 2),GP53,血小板活化的衍生物TXB₂及血小板活化后聚集反应血小板黏附率均明显升高($P < 0.01$,表 2),应用抗栓灵含片治疗后较治疗前显著下降($P < 0.05$,表 2),但 CD_{62p}, CD₆₃ 仍明显高于正常人($P < 0.05$,表 2).

表 2 抗栓灵含片对 CD_{62p}, CD₆₃, TXA₂, PAR 和体外血栓长度 (TL) ($\bar{x} \pm s$) 影响

分组	CD _{62p} (%)	CD ₆₃ (%)	TXA ₂ (ng/L)	PAR (%)	TL (cm)
UC 治疗前	8.0 \pm 3.1 ^b	6.3 \pm 2.1 ^b	548 \pm 85 ^b	43.2 \pm 10.1 ^b	2.3 \pm 0.6 ^b
UC 治疗后	4.1 \pm 1.8 ^{a,d}	3.2 \pm 1.6 ^{a,d}	390 \pm 67 ^d	34.8 \pm 8.1 ^d	1.8 \pm 0.3 ^d
正常人	1.9 \pm 0.4	1.6 \pm 0.8	340 \pm 40	34.1 \pm 9.1	1.7 \pm 0.4

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常人; ^d $P < 0.01$ vs 治疗前.

表 3 抗栓灵含片对血液和组织中 CD₅₄, Pgp-170 ($\bar{x} \pm s$, %) 影响

组别	血液中 CD ₅₄	组织中 CD ₅₄	血液中 Pgp-170	组织中 Pgp-170
UC 患者				
治疗前	26.9 \pm 6.9 ^b	51.1 \pm 6.2 ^b	18.9 \pm 3.9 ^b	16.5 \pm 3.2 ^b
治疗后	14.4 \pm 5.1 ^{a,d}	23.1 \pm 4.1 ^{a,d}	10.4 \pm 2.7 ^{a,c}	10.2 \pm 2.3 ^{a,c}
正常人	6.2 \pm 3.7	8.8 \pm 3.2	6.2 \pm 2.2	6.8 \pm 3.1

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常人; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 治疗前.

2.3 血液和组织中 CD₅₄, MDR 产物 Pgp-170 变化 与正常人(图 3)相比,难治性 UC 患者血液中 CD₅₄ 明显升高,尤以组织中升高更为明显(图 4,表 3),应用抗栓灵含片治疗后较治疗前显著下降($P < 0.05$,表 3),但仍明显高于正常人($P < 0.05$).与正常人(图 5)相比,血液中 MDR 产物 Pgp-170 明显升高(图 6,表 3),血液和组织中无显著性差异,应用抗栓灵含片治疗后较治疗前显著下降($P < 0.05$,表 3),但仍明显高于正常人($P < 0.05$).

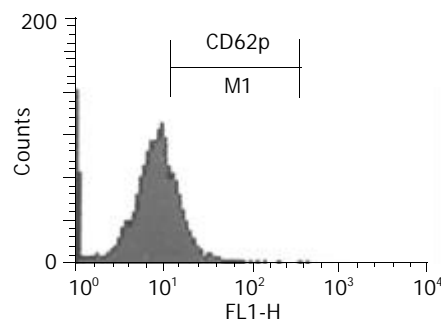


图 1 正常人外周血 CD_{62p} 含量.

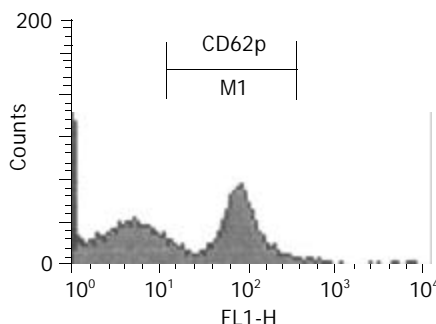


图 2 活动期 UC 患者外周血 CD_{62p} 含量明显升高.

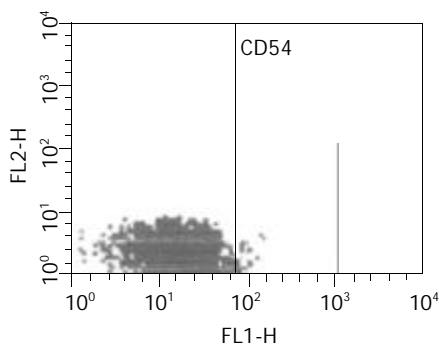


图 3 正常人组织中 CD₅₄ 含量.

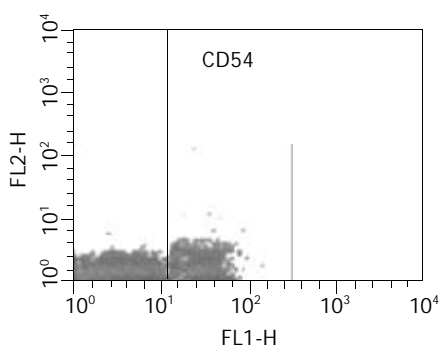


图 4 活动期 UC 组织中 CD₅₄ 含量明显升高.

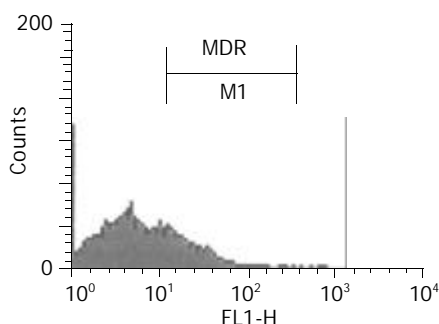


图 5 正常人血液中 MDR 含量.

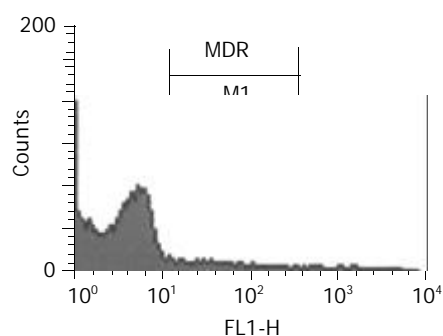


图6 激素治疗无效的UC患者血液中MDR明显升高。

3 讨论

抗栓灵含片是以低分子量肝素类物质(M_r 5 000-15 000, 峰值5 000-8 000)为主要成分的舌下含服制剂, 为白色或类白色, 每片相当于1 200 IU的低分子肝素钠, 所含肝素经特殊加工, M_r 小, 舌下黏膜吸收, 既避免了口服制剂的首过效应^[10], 生物利用度高, 又避免了注射给药的不便, 出血副作用少。肝素除具有抗凝、抗血栓、抗过敏、抗内毒素血症和免疫活性外, 还有较强的抗炎作用^[18], 低分子肝素含有大量8-16单糖单位的糖链, 具有抗血栓作用强, 出血倾向小, 安全性高, 半衰期长和生物利用度高等优点^[8,9]。肝素类药物治疗顽固性UC有肯定疗效的报道^[10]启发我们应用抗栓灵含片是否更为方便和有效, 结果显示, 18例伴血小板活化的顽固性UC患者有16例获得临床缓解, 症状消失。同传统的观点认为应用肝素类药物有可能加重出血倾向相反, 应用抗栓灵含片治疗后, 便血消失往往是治疗有效的最早反应, 这同其他应用肝素类药物治疗的结果类似。

研究抗栓灵含片的作用机制可能对阐明UC的部分发病机制具有一定作用。UC患者易合并血栓形成^[19], 发生率可高达45.2%, 并认为这与UC患者伴发高凝状态有关。由于血小板不仅参与止血和血栓形成, 而且是一种炎症递质, 其在UC发病机制中的作用开始引起人们的重视^[3,4]。P选择素属黏附分子选择素家族的组分之一, 由活化血小板和内皮细胞分泌表达, 并可作为这些细胞活化的标志, 介导中性粒细胞和单核细胞对活化血小板和内皮细胞的黏附。CD63抗原为53 ku的溶酶体膜粘蛋白, 在血小板激活跨位于浆膜, 主要见于单核细胞和巨噬细胞, 可用于活化血小板的检测。我们发现, 难治性UC患者P选择素及GP53较正常人明显升高, 表明血小板处于高活化状态^[3,4], 其可能机制: (1)肠系膜血管系统内皮细胞损伤暴露于血小板极敏感的基底膜胶原, 并激发血小板活化。炎症性肠病患者血清中vonWillebrand因子(内皮细胞损伤的一种标志)增多与这一可能性相符; (2)内毒素和其他吸收的细菌产物激活的单核细胞和中性粒细胞也可激活血小板; (3)血小板和活化的中性粒细胞在肠道病变部位将TXA₂和PAF释放至肠系膜循环, 可加速和促进血小板活化, 本研究中

TXA₂明显升高与这一可能性相符。血小板活化在UC发病机制中可能的作用: (1)活化的血小板通过局部释放炎症递质, 化学趋化物(如PF₄, PAF)及激活其他炎症细胞参与和增强肠黏膜炎症过程。P选择素在中性粒细胞黏附分子中起关键作用, 血小板表达此种抗原使中性粒细胞更易在炎症部位聚集; (2)血小板活化及其衍生的TXA₂易使血小板聚集阻塞肠黏膜微循环, 加重肠黏膜缺氧和损伤, 本研究也证实血小板黏附率升高。另外, TXA₂通过引发局部血管收缩可加重缺血; (3)血小板衍生因子(成纤维细胞和单核细胞的化学诱导剂)从活化的血小板释放出来, 在组织损伤后的修复机制中起重要作用^[3,4]。我们还发现, 应用抗栓灵含片治疗后, 难治性UC患者P选择素、GP53、TXB₂及血小板黏附率较活动期有所下降, 说明抗栓灵含片可抑制血小板活化, 改善高凝状态, 从而减轻临床症状, 但P选择素、GP53仍明显高于正常人, 提示部分难治性UC患者仍存在血小板激活状态, 是否对疾病复发或预后预测意义尚待进一步探讨。

CD54抗原也称细胞间黏附分子-1(ICAM-1), 表达于内皮细胞、上皮细胞、成纤维细胞、白细胞和多种类型的肿瘤细胞^[15]。1991年Sethetal用免疫印迹方法首次证实人血清中存在可溶性CD54, 并具有以下特征: (1)含有膜表面CD54分子的大部分细胞外功能区; (2)具有与其配体淋巴细胞功能相关抗原(LFA-1)结合的能力; (3)与白细胞表面的LFA-1配体结合能阻止白细胞与组织固有细胞之间的黏附。我们采用流式细胞免疫学方法检测UC患者循环中可溶性CD54及组织中CD54, 较正常人明显升高, 尤以组织中升高更为明显, 由于CD54主要介导细胞与细胞间的黏附作用, 在组织炎症的产生过程中, 随着浸润的炎症细胞及组织固有细胞的活化, CD54的表达被上调, 高表达的CD54又可进一步促进炎症细胞的浸润, 引起并加重组织损伤, 因此CD54与UC活动和转归有一定关系。应用抗栓灵含片后, CD54显著下降, 表明难治性UC患者炎症反应明显减轻, 由于这些患者均为长期(>4 wk)应用激素和/或SASP治疗无效, 因此炎症减轻与加用抗栓灵含片有关, 其他学者也报道肝素类药物可抑制UC患者C-反应蛋白、TNF和L选择素, 确切机制还需进一步探讨。

P-糖蛋白是170 ku的多药抗性基因(MDR)产物(Pgp-170), 被看作具有广谱底物特异性的ATP-依赖性药物排出的作用^[16,17]。MDR在肠上皮细胞和淋巴细胞均有表达。我们发现, 与正常人相比, 难治性UC患者血液中Pgp-170明显升高, 由于糖皮质激素是Pgp-170的底物, 药物治疗无效的UC患者与MDR表达有关。血液和组织中无显著性差异, 提示外周血MDR表达稳定, 不受疾病活动或激素治疗影响, 且与结肠上皮细胞表达呈正相关。应用抗栓灵含片治疗后较治疗前显著下降($P < 0.05$), 说明抗栓灵含片对多药抗性有一定的抑制作用, 但Pgp-170仍明显高于正常人($P < 0.05$)。因此

MDR 在 UC 患者对激素治疗的反应中可能起重要作用.

总之, 抗栓灵含片治疗伴有血小板活化的难治性 UC 有肯定的疗效, 其机制可能与部分抑制血小板活化和高凝状态、减轻炎症、抑制多药耐药基因表达有关. 结合我国 UC 发病特点, 探讨适合不同类型的 UC 治疗方法, 仍是当前研究的重点和难点^[20].

4 参考文献

- 1 Jiang XL, Quan QZ, Sun ZQ, Wang YJ, Qi F. Effect of glucocorticoid on lymphocyte adhesion molecule phenotype expression in patients with ulcerative colitis. *Zhongguo Weizhongbing Jijiu Yixue* 1998;10:366-368
- 2 Collins CE, Cahill MR, Newland AC, Rampton DS. Platelets circulate in an activated state in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology* 1994;106:840-845
- 3 Jiang XL, Quan QZ, Liu TT, Wang YJ, Sun ZQ, Qi F, Ren HB, Zhang WL, Zhang L. Detection of platelet activity in ulcerative colitis patients. *Xin Xiaohuabingxue Zazhi* 1997;5:736
- 4 Jiang XL, Quan QZ, Sun ZQ, Wang YJ, Qi F. Relationship between syndrome-typing of ulcerative colitis and activation of platelet. *Zhongyi Zazhi* 1997;38:730-731
- 5 Folwaczny C, Frike H, Endres S, Hartmann G, Jochum M, Loeschke K. Anti-inflammatory properties of unfractionated heparin in patients with highly active ulcerative colitis: a pilot study. *Am J Gastroenterol* 1997;92:911-912
- 6 Evans RC, Wong VS, Morris AI, Rhodes JM. Treatment of corticosteroid-resistant ulcerative colitis with heparin: a report of 16 cases. *Aliment Pharmacol Ther* 1997;11:1037-1040
- 7 Gaffney PR, Doyle CT, Gaffney A, Hogen J, Hayes DP, Annis P. Paradoxical response to heparin in 10 patients with ulcerative colitis. *Am J Gastroenterol* 1995;90:220-223
- 8 Cui HF, Zhang TM. Studies of oral preparation of low molecular weight heparin. *Zhongguo Yaoxue Zazhi* 1995;4:51-52
- 9 Cui HF, Zhang TM. Studies of oral preparation of low molecular weight heparin from low anticoagulant activity heparin. *Zhongguo Shenghua Yaowu Zazhi* 1993;4:10-15
- 10 Cui HF, Jiang XL. Treatment of corticosteroid resistant ulcerative colitis with oral low molecular weight heparin. *World J Gastroenterol* 1999;5:448-450
- 11 Jiang XL, Cui HF, Wang YJ, Quan QZ, Sun ZQ. Effects of oral low molecular weight heparin on hemorrheology of rabbit liver damaged by D-galactosamine. *Xin Xiaohuabingxue Zazhi* 1997;5:355-356
- 12 Jiang XL, Zhang JZ, Cui HF, Dong ZL, Wang JY. Treatment on acute hepatitis with oral low molecular weight heparin. *Xin Xiaohuabingxue Zazhi* 1997;5(Suppl 6):296
- 13 Jiang XL, Wang ZK, Qin CY. Current research and strategy on ulcerative colitis in China. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:610-613
- 14 Jiang XL. Diagnosis and treatment of ulcerative colitis. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2000;8:332
- 15 Jiang XL, Quan QZ, Chen GY, Yin GP, Sun ZQ, Wang YJ. Expression of adhesion molecules on tissues and peripheral lymphocytes in patients with ulcerative colitis. *Zhonghua Xiaohua Neijing Zazhi* 1998;15:292-294
- 16 Farrell RJ, Murphy A, Long A, Donnelly S, Cherikuri A, O'Toole D, Mahumd N, Keeling PW, Weir DG, Kelleher D. High multidrug resistance(P-glycoprotein 170) expression in inflammatory bowel disease patients who fail medical therapy. *Gastroenterology* 2000;118:279-288
- 17 Yacyshyn B, Maksymowych W, Bowen-Yacyshyn MB. Differences in P-glycoprotein -170 expression and activity between Crohn's disease and ulcerative colitis. *Hum Immunol* 1999;60:677-687
- 18 Tyrrell DJ, Kilfeather S, Page CP. Therapeutic uses of heparin beyond its traditional role as an anticoagulant. *Tips* 1995;16:198-204
- 19 Koenigs KP, Mcphedran P, Spiro HM. Thrombosis in inflammatory bowel disease. *J Clin Gastroenterol* 1987;9:627-631
- 20 Jiang XL, Cui HF. An analysis of 10218 ulcerative colitis cases in China. *World J Gastroenterol* 2002;8:158-161



Published by **Baishideng Publishing Group Inc**
7901 Stoneridge Drive, Suite 501, Pleasanton,
CA 94588, USA
Fax: +1-925-223-8242
Telephone: +1-925-223-8243
E-mail: bpgoffice@wjgnet.com
<http://www.wjgnet.com>



ISSN 1009-3079

