

要表现的患者的胃黏膜萎缩发生中更为重要, *H pylori* 感染引起的胃黏膜广泛破坏, 加快了从浅表胃炎到萎缩性胃炎的转化过程. 因此, 对年龄较轻的胃镜下以结节样改变为主要表现的 CAG 患者更应注意 *H pylori* 感染的情况. 对 *H pylori* 阳性者予根除治疗, 有可能逆转胃黏膜的萎缩.

4 参考文献

1 叶任高. 内科学. 第五版. 北京: 人民卫生出版社, 2003:392-396

- 2 余俐, 彭杰青, 郭全会, 暴菊英. 慢性活动性胃炎的诊断标准及其与 *Hp*、G H 关系. 中国误诊学杂志 2004;4:161-163
- 2 吕宾, 王慧萍, 陈明涛, 范一宏, 孟立娜. 根除幽门螺杆菌对胃黏膜萎缩和肠化影响的随访研究. 中华内科杂志 2004;43:299-301
- 4 杨成万, 陶明珠. 不同年龄慢性萎缩性胃炎的临床病理分析. 临床医学 2003;12:730-731
- 5 张宁, 宋德勇, 孙利平, 李岩. 萎缩性胃炎的胃镜表现对黏膜组织学改变的预测. 山西医科大学学报 2003;3:239-240
- 6 Krasinskas AM, Abraham SC, Metz DC, Furth EE. Oxyntic mucosa Pseudopolyps: a presentation of atrophic autoimmune gastritis. *Am J Surg Pathol* 2003;27:236-241

编辑 徐协群 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

慢性乙型肝炎患者外周血 T 细胞标记物表达及细胞因子水平与中医分型的关系

施维群, 缪锡民, 黄茵, 陈智

施维群, 缪锡民, 浙江中医学院附属新华医院 浙江省杭州市 310005
黄茵, 陈智, 浙江大学医学院 浙江省杭州市 310009
浙江省中医药管理局基金资助课题, No. 2000C57
通讯作者: 陈智, 310009, 浙江省杭州市, 浙江大学湖滨校区, 浙江大学医学院.
电话: 0571-87217072
收稿日期: 2005-02-17 接受日期: 2005-03-16

摘要

目的: 探讨慢性乙型肝炎患者外周血 T 细胞亚群 CD28 分子的表达及血清 IL-2、IL-10、IL-12 和 IFN- γ 的含量与中医辨证分型之间的相互关系.

方法: 选择本院门诊和住院的慢性乙型肝炎患者 124 例、正常对照人群 20 例, 采用流式细胞术检测外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞的 CD28 分子表达水平;以 ELISA 方法检测患者及对照组血清中部分细胞因子 IL-2、IL-10、IL-12 和 IFN- γ 的水平, 结合中医辨证分型进行分析, 从免疫学角度探讨二者相互关系.

结果: 所观察的 CD28、CD4 和 CD4/CD8 各组中, 慢性乙型肝炎的中医辨证分型各组与正常对照组具有显著差异 ($P < 0.05$), 分型的各组总体和组间差异均具统计学意义 ($P < 0.05$ 或 0.01). 从 CD28⁺CD8⁺ 看, 湿热中阻组明显升高, 而其余三组则与正常组相似;从 CD28⁺CD4⁺ 看, 肝郁脾虚、湿热中阻两组与正常组虽无明显差异, 但其应答强弱顺序颇能说明问题, 即肝肾阴虚组 > 湿热中阻组、肝郁脾虚组 > 瘀血阻络组. 细胞因子检测结果在分型各组中总体有差异, 具体统计学比较值 ($P < 0.05$ 或 0.01). 肝肾阴虚和瘀血阻络两组中 IFN- γ 水平与其他组有显著差异 ($P < 0.05$).

结论: 慢性乙型肝炎中医分型各组的 CD28 表达水平以及部分细胞因子水平与正常相比, 有显著差异, 中医分型各组间亦有一定差异. 综合分析和评价免疫细胞的表面分子、细胞因子的检测结果与中医辨证分型之间的关系, 对阐明中医病机的实质有重要价值.

施维群, 缪锡民, 黄茵, 陈智. 慢性乙型肝炎患者外周血 T 细胞标记物表达及细胞因子水平与中医分型的关系. 世界华人消化杂志 2005;13(11):1364-1367
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1364.asp>

0 引言

Th1/Th2 细胞在慢性乙型肝炎的过程中的作用日益受到关注, 其免疫应答与乙型肝炎的关系成为近年研究的热门. 目前由于缺乏特异性较高、操作简单的标记物检测来确定 Th1/Th2 值以及代表的细胞因子含量, 故开展这方面的研究具有积极的意义. 为了阐明 Th1/Th2 细胞在慢性乙型肝炎中的作用, 探讨其在中医临床分型中的相互关系, 我们用流式细胞仪对慢性乙型肝炎患者外周血 T 细胞标记物 CD8⁺、CD4⁺ 细胞的 CD28 分子表达进行测定, 并用 ELISA 法测定血清中的 IL-2、IL-10、IL-12、IFN- γ 等的含量, 探究其与中医分型的结合点, 具有一定的临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 本院住院和门诊的慢性乙型肝炎患者 124 例, 其中男性 76 例, 女性 48 例, 年龄 16-63 岁, 平均 32.77

岁. 病程 1-3 a 的 32 例; 3-5 a 的 58 例; 5-10 a 的 21 例; 10 a 以上的 13 例, 平均病程 5.67 a. 对照组 20 例, 选自门诊健康体检者. 其中男性 13 例, 女性 7 例, 平均 35.8 岁, 均排除其他病毒性肝炎、免疫性疾病及近 3 mo 内应用影响免疫功能的药物. 两组在年龄、性别等方面无统计学差异. 诊断标准: 参照 2000-09 西安第十次全国传染病寄生虫病学术会议制定的标准^[1], 中医辨证则参照全国中医药学会内科肝病专业委员会 1991-12 月天津会议制定的中医辨证分型标准〈试行〉^[2]. 中医分型及疾病分类: 124 例患者分为湿热中阻型 25 例; 肝郁脾虚型 49 例; 肝肾阴虚型 22 例; 瘀血阻络型 26 例; 脾肾阳虚型 2 例; 由于脾肾阳虚型仅为 2 例, 在统计学中意义不大, 故予以忽略不计, 实际病例为 122 例. 将中医分型结合以慢性乙型肝炎轻、中、重的三型按顺序分类见表 1. 主要仪器设备和试剂: 美国 METERTECH 公司自动酶标检测仪, 型号为 $\Sigma 960$; 深圳晶美公司进口分装的双抗体夹心 ELISA 试剂盒. 流式细胞仪 (EPICS-XL, 美国 BECKMAN COUTER 公司生产), FITC, PE 及 cy5-PE 荧光标记单克隆抗体 (美国 EXALPHA 公司生产), 免疫学标本制备仪 (EPICS-Q-PREP, 美国 Coulter 公司生产).

表1 中医分型各组在慢性乙型肝炎轻、中、重三型中所占比例

	慢乙肝轻度(%)	慢乙肝中度(%)	慢乙肝重度(%)
肝郁脾虚	27(55.1%)	18(36.7%)	4(8.2%)
湿热中阻	10(40.0%)	9(36.0%)	6(24.0%)
肝肾阴虚	7(32.0%)	9(41.0%)	6(27.0%)
瘀血阻络	5(19.0%)	9(35.0%)	12(46.0%)
脾肾阳虚	1(50.0%)	1(50.0%)	0(0%)

表2 正常人与慢性乙肝患者的 CD28 在中医辨证分型组中的表达情况(%)

组别	n	CD28 ⁺ CD4 ⁺	CD28 ⁺ CD8 ⁺	CD4/CD8
肝郁脾虚	49	34.42 ± 8.70 ^{df}	21.62 ± 7.66	1.08 ± 0.51 ^d
湿热中阻	25	33.51 ± 9.47 ^{de}	25.39 ± 7.27 ^{bd}	1.01 ± 0.41 ^d
肝肾阴虚	22	40.83 ± 6.59 ^a	18.65 ± 7.50	1.47 ± 0.57
瘀血阻络	26	25.56 ± 12.75 ^{ad}	24.40 ± 7.00	0.81 ± 0.53 ^d
正常对照组	20	34.09 ± 4.70	19.20 ± 4.14	1.16 ± 0.28

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常对照组; ^d $P < 0.01$ vs 肝肾阴虚组; ^e $P < 0.05$, ^f $P < 0.01$ vs 瘀血阻络组.

表3 各组患者血清 IL-2、IL-10、IL-12 和 IFN- γ 水平(mean ± SD, ng/L).

组别	n	IL-2	IL-10	IL-12	IFN- γ
肝郁脾虚	49	38.44 ± 20.92 ^a	15.70 ± 8.81 ^b	38.72 ± 13.71 ^a	20.07 ± 22.06
湿热中阻	25	35.90 ± 9.13 ^a	15.19 ± 8.64 ^a	54.21 ± 13.38 ^a	21.71 ± 13.90
肝肾阴虚	22	25.79 ± 15.81	11.81 ± 4.67	28.02 ± 20.77	34.75 ± 27.71 ^b
瘀血阻络	26	24.17 ± 8.71	12.66 ± 16.10	26.34 ± 19.99	31.72 ± 29.80 ^b
正常对照	20	25.38 ± 3.80	8.43 ± 4.55	24.08 ± 15.50	16.28 ± 22.20

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 正常对照.

1.2 方法

1.2.1 流式细胞检测 100 μ L 抗凝静脉全血, 分别加入: 鼠抗人 Gcy5-PCD₄-FITC, CD₂₈-PE 和 CD₈-cy5-PE 各 10 μ L, 阴性对照管中加入鼠 IgG-FITC, IgG-PE 和 IgE 各 10 μ L. 混匀置室温 20℃ 避光孵育 20 min, 用免疫学标本制备仪进行溶血, 固定等上机前处理后, 上流式细胞仪做三色荧光流式细胞检测. 然后以不同双荧光素标记组合方式分析 CD28-CD4, CD28-CD8, CD4-CD8 的 T 细胞亚群, 每次每样本淋巴细胞计数均 $> 10^4$ 个.

1.2.2 ELISA 法检测细胞因子 抽取静脉血并于当日离心取血清, 一部分冻存于 -20℃ 备检, 另一部分做常规肝功能检查. 从 -20℃ 中取出的血清标本在室温下融化后, 严格按双抗体夹心 ELISA 试剂盒说明操作, 分别检测 IL-2, IL-10, IL-12 及 IFN- γ 水平.

统计学处理 所有数据均采用 mean ± SD 表示, 多组间比较用 Q 检验, $P < 0.05$ 为差异有显著意义.

2 结果

2.1 慢性乙型肝炎患者的 CD28⁺CD4⁺、CD28⁺CD8⁺ 及 CD4/CD8 细胞数见表 2.

2.2 慢性乙型肝炎患者血清中细胞因子的含量详见表 3. 分型各组总体有差异 $P < 0.05$. 其中肝郁脾虚与湿热中阻两组也有差异 $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$. IFN- γ 水平则肝肾阴虚和瘀血阻络与其他两组有显著差异 $P < 0.01$.

3 讨论

现代医学认为乙型肝炎慢性化与宿主免疫应答低下或形成的免疫耐受密切相关, T 细胞表面的 CD28 分子与其配体 B7 结合在诱导机体免疫应答及防止形成免疫耐受方面起

重要作用^[3]。慢性乙型肝炎病毒感染的治疗目标最终取决于免疫清除HBV,这又取决于HBV抗原诱导体液免疫产生的抗体是否清除循环和体液中的游离病毒,以及细胞免疫产生的特异性细胞毒T细胞(CTL)能否清除肝细胞内的病毒,因此免疫应答成为肝细胞损伤的主要机制。尽管目前认为HBV持续感染与机体形成对HBV的免疫耐受密切相关,但其感染慢性化的机制至今还未完全清楚。于是我们将外周血T细胞CD28表达、细胞因子水平与中医的体质观结合,探讨其与辨证分型、疾病预后及治疗的意义。

HBV的HBsAg是严格的胸腺依赖抗原(TD-Ag)^[4],只有在T细胞CD28分子和其配体B7结合的共同刺激信号作用下才能使辅助性T细胞(Th)和细胞毒性T细胞(CTL)充分活化、增殖、分泌细胞因子及产生CTL应答。若缺少B7-CD28的作用,则可能导致特异性克隆失活,形成免疫耐受^[5]。所以,CD4⁺CD28⁺T细胞和CD8⁺CD28⁺T细胞可能为形成正免疫应答的Th细胞和CTL细胞。CD28主要分布于成熟的T细胞,人外周血中95%CD4⁺T细胞和50%CD8⁺T细胞均有表达,活化的T细胞表达也会增加。中医相当重视人体的体质学,其病理过程归属于人正气与邪气的互动,这一过程与现代医学中人体的免疫功能变化有共同之处。

慢性乙型肝炎中医辨证分型各组的CD28表达水平与正常对照相比,有显著差异,各组间也有一定差异。中医辨证分型主要是通过临床症状、脉象、舌象等窗口观察结果的综合分析,如能结合肝功能变化、病变程度、症状轻重、免疫应答水平等综合考量,无疑更具有临床意义。有实验提示,CD28⁺CD8⁺的CTL的细胞毒作用参与了肝细胞损伤。HBV慢性感染者均有一定程度的肝损伤,只不过常规的肝功能不易检出而已。慢性肝炎的外周血CD28⁺CD8⁺的抑制性细胞(TS)减少,可能是CTL比例增加之故。因此CD28⁺CD8⁺细胞可能代表细胞免疫应答程度,故其升高常常表现为ALT升高,机体对HBV抗原的免疫清除也相应增强。我们从临床观察看到,表现为湿热中阻、肝肾阴虚的慢性乙型肝炎往往有明显的炎症反应。以我们过去称之为“慢性活动性肝炎”患者多见,中医证见以实证及虚实夹杂为多。表1亦提示,两型中的慢性乙型肝炎中、重度患者占60%以上,CD28⁺CD4⁺细胞被认为是有效的Th细胞,他有增强CTL细胞免疫应答水平的一面。因此本组久治不愈,ALT升高又不明显的患者,则以肝郁脾虚类型居多,即过去称之为“慢性迁延性肝炎”的患者,中医证见以虚证为多见。对于那些表现为瘀血阻络的慢性乙型肝炎更是以代偿性肝硬化居多,这是由于肝纤维化形成后其应答程度反有所降低所致。

总之,从CD28⁺CD8⁺看,以湿热中阻型的人明显为高,而其余三组则与正常组相似;从CD28⁺CD4⁺看,肝郁脾虚、湿热中阻型的与正常组虽无明显差异,但按其应答强弱顺序也能说明一些问题:即肝肾阴虚组>湿热中阻组、肝郁脾虚>瘀血阻络组。因此,慢性乙型肝炎患者的外周血

CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞CD28分子表达状况与中医辨证中的证型关系,特别是虚证和实证或虚实夹杂证的互动关系,可对临床诊断、治疗提供一定的理论和实验依据。

参与肝脏炎症反应的细胞因子从理论上讲以IL-2、IL-12和IFN- γ 等为Th1细胞的代表,其中IL-12又可诱导Th1相关的细胞因子产生。这些细胞因子在某种程度上通过调节来决定免疫应答的性质,涉及免疫和炎症的每一个环节。故Th1/Th2的平衡状态在一定程度上反映出HBV感染后机体的免疫应答状态。Th由Th0向Th1和Th2亚群进行分化,Th1通过分泌IL-2、IFN- γ 、TNF- β 等主要促进细胞免疫^[6]。IFN- γ 又可增强IL-12的产生,二者在调节Th1细胞亚群分化上具有协同作用。IL-10则是一种双抑制的反馈因子,对Th细胞增殖有双向调节作用,可防止机体细胞因子过度形成导致的不良后果,并具有抗炎作用。

本辨证分型各组,其细胞因子的水平较正常对照组有不同程度的升高,且各证型之间也有明显差异。就IL-2、IL-10、IL-12来看,肝郁脾虚和湿热中阻两型升高明显,而肝肾阴虚和瘀血阻络两型则表现为轻度升高;反之IFN- γ 则以肝肾阴虚和瘀血阻络两型升高为主。一般而言,在Th1/Th2模式细胞因子中,同一模式的各种细胞因子(如IL-2、IFN- γ 与IL-12或IL-10等的浓度)未必均表现增高或降低,但若表现为同步增高,其临床意义就值得重视。慢性乙型肝炎各证型组间细胞因子水平的差异,也比较客观地反映出不同病种、不同程度及不同症状等所反映的相应免疫水平变化。慢性乙型肝炎中以肝肾阴虚和湿热中阻两型炎症反应较重,因而其免疫应答反应相对较为剧烈,此时面临着彻底清除病毒及较为严重的免疫损伤两种选择。从各分型组中的慢性乙型肝炎轻、中、重比例变化来看,随着炎症程度的加重,持久的免疫应答过程往往导致肝纤维化的形成,此时炎症反应并非主导因素,取而代之的是缠绵不断的细胞增殖过程。慢性乙型肝炎重度以瘀血阻络组为最高,其次为肝肾阴虚组,恰恰两组的IL-2、IL-10、IL-12水平较肝郁脾虚和湿热中阻组为低,IFN- γ 水平则明显高于后两组。IL-10水平往往随着肝功能的恶化或纤维化进程而越来越低,这提示,IL-10的缺乏促进了肝纤维化的形成^[7]。IFN- γ 水平增高则提示,旷日持久的免疫应答,往往紧接着一个肝纤维化的过程。许多研究结果表明,IFN- γ 可以抑制成纤维细胞胶原的合成^[8]。因此有学者提出了“IFN- γ 在肝纤维化前期增高不显著,后期上升较明显,其对肝纤维化发展是有一定的制衡作用”的观点^[9]。从临床看,本组124例患者的病程短则1a,长则10a以上,平均5.67a,故其从慢性肝炎到肝纤维化、肝硬化的过程中,多数是存在着肝郁脾虚、湿热中阻向肝肾阴虚和瘀血阻络这些中医证型转变过程的,也就是说,病变有虚证向实证、虚实夹杂最后再到虚证的发展规律的。

总之,慢性乙型肝炎患者外周血T细胞标记物表达

及细胞因子水平的免疫学的意义与中医学理论中“邪正相争”的剧烈反应、“邪恋正虚”的轻微反应以及“久病必瘀”、“久病属虚”的相对静止期有较为相似之处。肝脏炎症反应的强弱、纤维化程度的高低,与中医的“瘀、虚”有相当的关系。综合分析和评价免疫细胞的表面分子、细胞因子的检测结果与中医辨证分型之间的关系,对阐明中医病机的实质有重要价值。

4 参考文献

- 1 中华医学会传染病与寄生虫病学分会,肝病学会.病毒性肝炎防治方案.中华肝病杂志 2000;8:324-329
- 2 乙型肝炎中医辨证分型.中医杂志 1992;33:91
- 3 Rothstein DM, Sayegh MH. T-cell costimulatory pathways in allograft rejection and tolerance. *Immunol Rev* 2003;196:85-108
- 4 Milich DR, Schodel F, Hughes JL, Jones JE, Peterson DL. The hepatitis B virus core and e antigens elicit different Th cell subsets: antigen structure can affect Th cell phenotype. *J Virol* 1997;71:2192-2201
- 5 Rothstein DM, Sayegh MH. T-cell costimulatory pathways in allograft rejection and tolerance. *Immunol Rev* 2003;196:85-108
- 6 黄茵,陈智,胡中荣,施维群,缪锡民,汤佳良,沈华江.慢性HBV感染者血清 IL-12、IFN- γ 和 IL-10 的检测及其临床意义.浙江医学 2001;23:193-194
- 7 Zhang LJ, Chen YX, Chen ZX, Huang YH, Yu JP, Wang XZ. Effect of interleukin-10 and platelet-derived growth factor on expressions of matrix metalloproteinases-2 and tissue inhibitor of metalloproteinases-1 in rat fibrotic liver and cultured hepatic stellate cells. *World J Gastroenterol* 2004;10:2574-2579
- 8 Varga J, Olsen A, Herhal J, Constantine G, Rosenbloom J, Jimenez SA. Interferon-gamma reverses the stimulation of collagen but not fibronectin gene expression by transforming growth factor-beta in normal human fibroblasts. *Eur J Clin Invest* 1990;20:487-493
- 9 汪国运,蔡为民,吴贵霞.细胞因子在实验性肝纤维化中动态变化及其意义.中华肝病杂志 1999;7:178

编辑 徐协群 审读 张海宁

ISSN 1009-3079 CN 14-1260/R 2005 年版权归世界胃肠病学杂志社

• 临床经验 •

细菌性肝脓肿致病菌及耐药性分析 138 例

万建华,赵金满,宋 建

万建华,赵金满,中国医科大学附属第一医院感染科 辽宁省沈阳市 110001
宋健,中国医科大学实验技术中心 辽宁省沈阳市 110001
通讯作者:万建华,110001,辽宁省沈阳市和平区南京北街 155 号,中国医科大学附属第一医院感染科. jinmanzhao@hotmail.com
电话:024-23256666-6213 传真:024-23263946
收稿日期:2005-02-14 接受日期:2005-03-03

摘要

目的: 总结分析细菌性肝脓肿致病菌谱的分布及其对抗菌药物的敏感性,为临床经验性选择抗菌药物治疗细菌性肝脓肿提供依据。

方法: 总结 2000-01/2004-01 间细菌性肝脓肿住院患者的临床资料,分析血标本和脓汁标本细菌培养及药敏结果。

结果: 138 例细菌性肝脓肿致病菌主要为 G⁻ 杆菌,121 例,占 87.7%,其中肺炎克雷伯菌 94 例,大肠埃希菌 16 例,阴沟肠杆菌 5 例,洛菲不动杆菌 3 例,变形杆菌 3 例;G⁺ 球菌 17 例,占 12.3%,其中肠球菌 6 例,金黄色葡萄球菌 7 例,表皮葡萄球菌 4 例。药敏结果除 2 株产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)的大肠埃希菌外,其他 G⁻ 杆菌对大多数抗菌药物均敏感,只对氨苄西林、哌拉西林、呋喃妥因高度耐药。G⁺ 球菌中有 1 株屎肠球菌为耐万古霉素菌株(VRE),1 株为耐苯唑西林金黄色葡萄球菌(MRSA);其他 G⁺ 球菌对大多数抗菌药物敏感。

结论: 细菌性肝脓肿的致病菌主要是肺炎克雷伯菌,对大多数 β -内酰胺类、氟喹诺酮类抗菌药物均敏感。

万建华,赵金满,宋建.细菌性肝脓肿致病菌及耐药性分析 138 例.世界华人消化杂志 2005;13(11):1367-1369
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/13/1367.asp>

0 引言

细菌性肝脓肿是肝组织严重的化脓性感染,是临床常见病之一,选择敏感的抗菌药物及时有效地控制感染十分必要。本文旨在分析肝脓肿致病菌及其对抗菌药物的敏感性,为临床经验性选择抗菌药物治疗肝脓肿提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料 2000-01/2004-01 临床诊断为肝脓肿住院患者的血标本及脓汁标本。细菌鉴定应用法国生物梅里埃公司 API 鉴定系统,细菌培养基使用 Oxoid 公司的 Mueller-Hinton 培养基,药敏纸片中的万古霉素、亚胺培南、头孢哌酮/舒巴坦、头孢吡肟、阿莫西林/克拉维酸、哌拉西林/他唑巴坦、头孢他啶购于 Oxoid 公司,其余药敏纸片均为中国药品生物制品检定所产品。

1.2 方法 细菌鉴定应用法国生物梅里埃 API 系统,药敏