

# Tregs在幽门螺杆菌感染中的作用

袁小刚, 黄艳娟, 胡红松

## ■背景资料

CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞(Treg)可抑制病原微生物感染后机体产生的强烈促炎免疫反应, 从而减轻组织的免疫损伤, 但与此同时也保护了病原微生物, 造成病原微生物的慢性持续感染。

袁小刚, 胡红松, 深圳市龙岗区人民医院消化内科 广东省深圳市 518172

黄艳娟, 深圳市龙岗区人民医院妇产科 广东省深圳市 518172  
袁小刚, 主治医师, 主要从事幽门螺杆菌的基础与临床研究。

深圳市龙岗区科技计划基金资助项目, No. YS2013011

作者贡献分布: 此课题由袁小刚与胡红松设计; 研究过程由袁小刚、黄艳娟及胡红松操作完成; 数据采集分析由袁小刚与黄艳娟完成; 本论文撰写由袁小刚与黄艳娟完成。

通讯作者: 胡红松, 副主任医师, 518172, 广东省深圳市龙岗区中心城爱心路53号, 深圳市龙岗区人民医院消化内科。

hongsong-hu@hotmail.com

电话: 0755-28932833 传真: 0755-28932321

收稿日期: 2014-06-30 修回日期: 2014-09-10

接受日期: 2014-09-21 在线出版日期: 2014-10-28

## Role of Tregs in *Helicobacter pylori* infection

Xiao-Gang Yuan, Yan-Juan Huang, Hong-Song Hu

Xiao-Gang Yuan, Hong-Song Hu, Department of Gastroenterology, Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518172, Guangdong Province, China  
Yan-Juan Huang, Department of Obstetrics and Gynecology, Longgang District People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen 518172, Guangdong Province, China

Supported by: the Science and Technology Foundation of Longgang District, Shenzhen, No. YS2013011

Correspondence to: Hong-Song Hu, Associate Chief Physician, Department of Gastroenterology, Longgang District People's Hospital of Shenzhen, 53 Aixin Road, Longgang District, Shenzhen 518172, Guangdong Province, China. hongsong-hu@hotmail.com

Received: 2014-06-30 Revised: 2014-09-10

Accepted: 2014-09-21 Published online: 2014-10-28

## Abstract

**AIM:** To investigate the role of Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells (Tregs) in *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection.

**METHODS:** By using biopsies from 89 *H. pylori*-positive patients, 60 of whom underwent treatment for eradication of *H. pylori*, and 79 *H. pylori*-negative adults, immunohistochemistry was performed to semi-quantify the number of Tregs in the gastric mucosa.

**RESULTS:** The proportion of Tregs was 2.4% in *H. pylori*-negative individuals, and 8.9% in *H. pylori*-positive patients ( $P < 0.01$ ). After eradication of *H. pylori*, the proportion of Tregs signifi-

cantly declined (3.0%,  $P < 0.01$ ).

**CONCLUSION:** Tregs actively participate in the immune response to *H. pylori* infection. *H. pylori* chronically colonizes the stomach and increases the frequency of Tregs in the gastric mucosa, thereby suppressing the immune response and contributing to the persistence of *H. pylori* infection. Tregs decrease in the gastric mucosa after eradication of *H. pylori*, and mucosal immune balance is then restored.

© 2014 Baishideng Publishing Group Inc. All rights reserved.

**Key Words:** Foxp3 positive regulatory T cells; *Helicobacter pylori*; Chronic infection, Immune clearance; Immunohistochemistry

Yuan XG, Huang YJ, Hu HS. Role of Tregs in *Helicobacter pylori* infection. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2014; 22(30): 4714-4718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wcjd.v22.i30.4714>

## 摘要

**目的:** 探讨Tregs在人幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)感染中的作用。

**方法:** 168例胃窦黏膜标本中*H. pylori*阳性89例, *H. pylori*阴性79例; 60例*H. pylori*根除治疗前后患者的胃窦黏膜标本, 均采用免疫组织化学的方法检测病理标本中Foxp3阳性细胞浸润情况。

**结果:** *H. pylori*阳性组胃窦黏膜标本中Tregs浸润程度显著高于*H. pylori*阴性组(8.9% vs 2.4%,  $P < 0.01$ ); *H. pylori*根除治疗前胃窦黏膜标本中Tregs浸润程度显著高于根除治疗后(9.1% vs 3.0%,  $P < 0.01$ )。

**结论:** Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答, *H. pylori*感染致胃黏膜Tregs浸润数量显著增加, 抑制黏膜局部免疫反应, 减轻免疫损伤的同时导致*H. pylori*逃逸机体的免疫清除, 造成*H. pylori*持续慢性感染及黏膜慢性炎症; 根除

■同行评议者  
李瑜元, 教授, 广州市第一人民医院内科

*H. pylori*后, 胃黏膜Tregs浸润数量显著减少, 黏膜可重新恢复免疫平衡状态。

© 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有。

**关键词:** Foxp3阳性调节性T细胞; 幽门螺杆菌; 慢性感染; 免疫清除; 免疫组织化学

**核心提示:** 本研究显示幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)阳性的胃窦黏膜Treg浸润显著高于*H. pylori*阴性者; 根除*H. pylori*后, Treg细胞浸润密度显著降低。结果提示Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答, 造成*H. pylori*持续慢性感染, 根除*H. pylori*后, 胃黏膜可重新恢复免疫平衡状态, 从而减轻炎症。

袁小刚, 黄艳娟, 胡红松. Tregs在幽门螺杆菌感染中的作用. 世界华人消化杂志 2014; 22(30): 4714-4718 URL: <http://www.wjgnet.com/1009-3079/22/4714.asp> DOI: <http://dx.doi.org/10.11569/wjcd.v22.i30.4714>

## 0 引言

幽门螺杆菌(*Helicobacter pylori*, *H. pylori*)慢性持续感染是慢性胃炎、消化性溃疡及胃黏膜相关淋巴组织淋巴瘤(mucosa associated lymphadenoma, MALT)及胃癌的主要病因<sup>[1]</sup>。*H. pylori*感染机体后, 可产生一系列的促炎免疫应答反应, 包括宿主固有免疫应答和获得性*H. pylori*特异性T细胞及B细胞相关的免疫应答, 但这些免疫应答却难以清除体内感染的*H. pylori*, 从而导致*H. pylori*持续慢性感染, 甚至持续终生<sup>[2]</sup>。

1995年, Sakaguchi等<sup>[3]</sup>首先报道CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性T细胞(Treg)亚群具有免疫调节作用, Treg可抑制自身免疫性疾病的发生。Treg可通过细胞直接接触及分泌抑制性细胞因子等作用方式发挥其免疫调节作用, 维持自身免疫耐受及免疫平衡。叉状头/翅膀状螺旋转录因子(Foxp3)mRNA及其编码的Scurfy蛋白特异性表达于Treg细胞, 目前认为Foxp3是Treg最具特异性的分子标志, 是Treg获得免疫调节特性的关键转录因子<sup>[4]</sup>。

目前普遍认为Treg可抑制病原微生物感染后机体产生的强烈促炎免疫反应, 从而减轻组织的免疫损伤, 但与此同时也保护了病原微生物, 造成病原微生物的慢性持续感染。这提示Treg可能与*H. pylori*持续慢性感染而不被机体免疫清除及*H. pylori*感染导致的胃黏膜慢性炎症有关。国外有研究<sup>[5]</sup>发现Treg能调节小鼠*H.*

*pylori*感染后的胃黏膜炎症, 抑制小鼠对*H. pylori*的免疫清除, 导致*H. pylori*慢性持续感染。同时也有研究<sup>[6]</sup>发现*H. pylori*阳性的胃炎、胃溃疡及胃癌组织中Treg细胞浸润显著增加。但也有与此相反的研究结果, Satoh等<sup>[7]</sup>研究发现: *H. pylori*阳性及阴性的患者外周血T细胞无显著差异。至今鲜有报道, 在*H. pylori*根除治疗前后, 人的胃黏膜Treg浸润情况是否会发生变化。故本研究以人体胃窦黏膜标本作为研究对象, 采用免疫组织化学的方法, 比较*H. pylori*阳性和阴性及*H. pylori*根除治疗前后的胃窦黏膜标本中Treg浸润差异, 旨在进一步探讨Tregs在人*H. pylori*感染中的作用。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 168例胃窦黏膜标本均取自因上消化道症状而就诊的患者, 其内镜及病理诊断为慢性浅表性胃炎或胃溃疡, 在患者行胃镜检查时于幽门前2-3 cm胃窦小弯侧活检胃窦黏膜2-3块, 行改良Gimesa染色, 患者胃镜检查前行<sup>14</sup>C呼气试验检查, 以上两项检查均阳性者判断为*H. pylori*阳性, 以上两项检查均阴性者判断为*H. pylori*阴性; 共纳入*H. pylori*阳性组89例, *H. pylori*阴性组79例; 其中60例*H. pylori*阳性患者在根除*H. pylori*治疗结束, 停药4 wk以上时复查胃镜, 复查胃镜前常规复查<sup>14</sup>C呼气试验检查, 阴性者在复查胃镜时, 再次活检胃窦黏膜2-3块, 同样采用改良Gimesa染色判断*H. pylori*感染情况, 以上两项检查均阴性者确定为*H. pylori*根除治疗成功。试剂: 浓缩型鼠抗人Foxp3单克隆抗体(ab22510, 美国Abcam公司), 工作浓度均为1:300(体积比); PV-9000第二代通用型二步法免疫组织化学染色试剂盒及浓缩型DAB试剂盒(614864A; 3 mL)(北京中杉金桥生物技术有限公司)。

### 1.2 方法

**1.2.1 *H. pylori*检测:** 胃窦黏膜石蜡标本行4 μm厚连续切片, 行病理常规HE染色, 采用改良Gimesa染色方法检测*H. pylori*。Giemsa染液配制: 2 g Giemsa染料, 加入蒸馏水10 mL, 过滤。染色主要步骤: (1)石蜡切片常规脱蜡、水化; (2)蒸馏水洗3遍, 滴染Giemsa染液, 25 min后自来水稍洗, 950 mL/L乙醇分化3次, 无水乙醇分化2次, 自然晾干、封片。

**1.2.2 Treg检测:** 采用免疫组织化学二步法, 其主

### ■研发前沿

Rad等研究发现Treg能调节小鼠*H. pylori*感染后的胃黏膜炎症, 抑制小鼠对*H. pylori*的免疫清除, 导致*H. pylori*慢性持续感染。

### ■相关报道

Cho等研究发现*H. pylori*相关性胃炎组织中, *H. pylori*定植密度与Treg浸润密度及胃炎严重程度成正比。

## ■创新盘点

鲜有报道在*H. pylori*根除治疗前后, 人的胃黏膜组织中Treg浸润情况是否会发生变化。

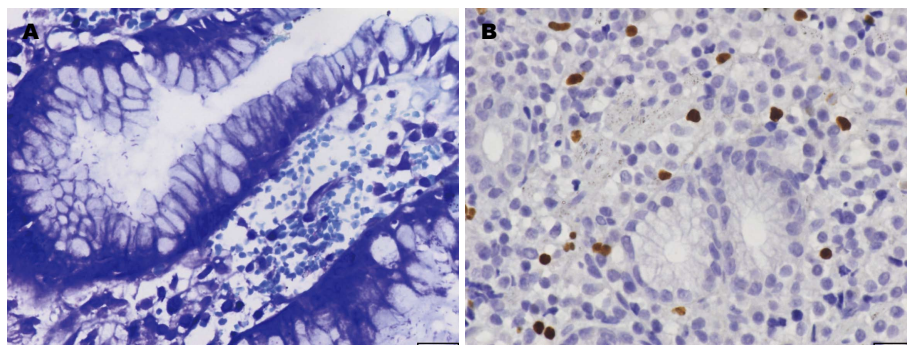


图1 组织标本病理学检测. A: 改良Gimesa染色, 显示*H. pylori*; B: 免疫组织化学, 棕黄色细胞为Treg. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; Treg: T细胞.

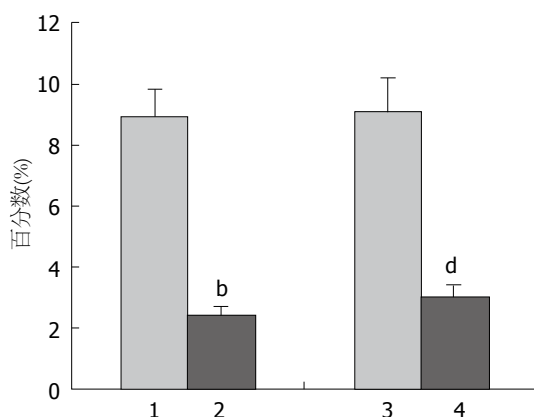


图2 *H. pylori*阳性与阴性组胃黏膜Tregs浸润程度及*H. pylori*根除治疗前后胃黏膜Tregs浸润程度比较. <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs *H. pylori*阳性组; <sup>d</sup> $P < 0.01$  vs *H. pylori*根除治疗前. 1: *H. pylori*阳性; 2: *H. pylori*阴性; 3: *H. pylori*根除治疗前; 4: *H. pylori*根除治疗后. *H. pylori*: 幽门螺杆菌; Treg: T细胞.

要步骤: (1)石蜡切片常规脱蜡、水化; (2)3%过氧化氢浸泡8 min, 以阻断内源性过氧化物酶; (3)切片置于0.01 mol/L柠檬酸盐缓冲液中, 微波炉热修复抗原15 min; (4)滴加新鲜配制的鼠抗人Foxp3单克隆抗体, 4 °C冰箱恒温过夜; (5)滴加聚合酶辅助剂(Polymer Helper), 37 °C恒温培养箱内孵育30 min; (6)滴加辣根酶标记羊抗兔/小鼠IgG多聚体, 37 °C恒温孵育30 min; (7)DAB显色、苏木素复染、脱水、透明、封片. 对照: 淋巴结组织作为阳性对照, 以PBS代替一抗作为阴性对照.

结果判断: Foxp3蛋白以细胞核染成棕黄色为阳性细胞; 每张切片随机观察10个高倍视野, 每个视野分别计数阳性细胞及所有炎症细胞, 以阳性细胞除以总炎症细胞得出Tregs浸润比率, 以该比率的平均值作为Tregs浸润程度.

**统计学处理** 采用SPSS17.0软件进行数据处理, 计量资料以mean ± SD表示, 组间比较采用 $t$

检验,  $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义.

## 2 结果

在普通光学显微镜下, 改良Gimesa染色后*H. pylori*呈弯曲杆状或弧状(图1A), 主要位于胃黏膜黏液层表面. 免疫组织化学研究结果显示*H. pylori*阳性组胃黏膜Treg浸润程度( $8.9\% \pm 0.9\%$ )显著高于*H. pylori*阴性组( $2.4\% \pm 0.3\%$ ), 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ ); 根除治疗前( $9.1\% \pm 1.1\%$ )显著高于根除治疗后( $3.0\% \pm 0.4\%$ ), 差异具有统计学意义( $P < 0.01$ )(图2).

## 3 讨论

流行病学研究<sup>[8]</sup>显示, 随着年龄的增长, 儿童*H. pylori*感染率逐渐升高, 故可以推测多数成人*H. pylori*相关性疾病的患者是儿童期即感染了*H. pylori*, 只是机体免疫系统很难将其完全清除. 即使目前有许多*H. pylori*根除治疗方案, 但因*H. pylori*耐药以及机体免疫等因素导致现有的治疗方案均难以100%将其根除, 如何防治*H. pylori*感染以及提高防治疗效, 这是摆在广大临床医师面前的一大难题. *H. pylori*是通过什么机制逃逸宿主免疫清除的呢? 通过某种方式适当改变宿主的免疫状态, 是否可提高*H. pylori*根除率呢? 为此, 本研究从免疫作用机制的角度, 以Treg细胞入手, 探讨*H. pylori*慢性持续感染及其致病的作用机制.

研究<sup>[9]</sup>显示*H. pylori*染宿主后定植于胃黏液层及胃黏膜上皮细胞, 激活宿主抗原提呈细胞, 并导致中性粒细胞、单核细胞及巨噬细胞等浸润至胃黏膜层, 诱导以Th1型免疫应答为主的特异性T细胞免疫反应, 与此同时Th2型免疫应答受到抑制, 导致B细胞分泌的IgA减少, 不足以清除*H. pylori*, 导致*H. pylori*持续慢性感染, 甚至终

生存在。Th1型免疫应答反应释放了大量的细胞因子如白介素(interleukin, IL)-12、IL-18、肿瘤坏死因子- $\alpha$ (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、干扰素(interferon, IFN)-1等作用于B淋巴细胞、自然杀伤(natural killer, NK)细胞、巨噬细胞,使其在胃黏膜局部增殖、分化、激活,产生特异性和非特异性免疫反应,从而损伤局部胃黏膜组织;同时进一步激活T淋巴细胞,协同促进Th1反应,加重Th1介导的胃黏膜损伤,最终引起胃黏膜不同程度的损伤,导致不同胃十二指肠疾病<sup>[10,11]</sup>。本研究显示*H. pylori*阳性的胃窦黏膜Treg浸润显著高于*H. pylori*阴性者。这与Lundgren等<sup>[12]</sup>研究结论吻合,Lundgren等<sup>[12]</sup>研究表明胃溃疡、十二指肠球部溃疡患者胃黏膜上和外周血中均高表达相同表型的Treg。且有研究<sup>[13]</sup>发现在十二指肠球部溃疡患者中,十二指肠球部胃黏膜化生处Treg细胞浸润数量也显著增加。Cho等<sup>[14]</sup>研究发现*H. pylori*相关性胃炎组织中,*H. pylori*定植密度与Treg浸润密度及胃炎严重程度成正比。*H. pylori*感染后,胃窦黏膜Treg浸润密度显著升高可能是机体的一种保护机制,机体为了维持免疫稳态,避免Th1型免疫反应过度造成组织损伤,故通过Treg细胞接触或分泌抑制性细胞因子抑制功能性T细胞,从而抑制Th1型免疫反应,增强Th2型免疫反应。但这也同时导致*H. pylori*难以被机体的免疫功能所清除,造成*H. pylori*慢性持续感染。但当这种免疫稳态再次失衡时,就可能导致*H. pylori*相关性疾病,如消化性溃疡等<sup>[15]</sup>。

本研究还显示根除*H. pylori*后,胃窦黏膜Treg细胞浸润密度显著降低,胃黏膜炎症程度减轻,提示根除*H. pylori*后黏膜可重新恢复Th1/Th2的免疫平衡状态。这也进一步提示*H. pylori*感染后可直接增加胃黏膜组织中Treg细胞的浸润,从而导致胃黏膜免疫功能失衡。

总之,本研究结果提示Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答,*H. pylori*感染致胃黏膜Tregs浸润数量显著增加,抑制黏膜局部免疫反应,减轻胃黏膜免疫损伤的同时也导致了*H. pylori*逃逸机体的免疫清除作用,造成*H. pylori*持续慢性感染及黏膜慢性炎症,根除*H. pylori*后,胃黏膜可重新恢复一种免疫平衡状态,从而炎症可减轻。

#### 4 参考文献

1 Calvet X, Ramírez Lázaro MJ, Lehours P, Mégraud F. Diagnosis and epidemiology of *Helicobacter pylori*

- infection. *Helicobacter* 2013; 18 Suppl 1: 5-11 [PMID: 24011238 DOI: 10.1111/hel.12071]
- 2 Peek RM, Fiske C, Wilson KT. Role of innate immunity in *Helicobacter pylori*-induced gastric malignancy. *Physiol Rev* 2010; 90: 831-858 [PMID: 20664074 DOI: 10.1152/physrev.00039.2009]
- 3 Sakaguchi S, Sakaguchi N, Asano M, Itoh M, Toda M. Immunologic self-tolerance maintained by activated T cells expressing IL-2 receptor  $\alpha$ -chains (CD25). Breakdown of a single mechanism of self-tolerance causes various autoimmune diseases. *J Immunol* 1995; 155: 1151-1164 [PMID: 7636184]
- 4 van Loosdregt J, Coffey PJ. Post-translational modification networks regulating FOXP3 function. *Trends Immunol* 2014; 35: 368-378 [PMID: 25047417 DOI: 10.1016/j.it.2014.06.005]
- 5 Rad R, Brenner L, Bauer S, Schwendy S, Layland L, da Costa CP, Reindl W, Dossumbekova A, Friedrich M, Saur D, Wagner H, Schmid RM, Prinz C. CD25<sup>+</sup>/Foxp3<sup>+</sup> T cells regulate gastric inflammation and *Helicobacter pylori* colonization in vivo. *Gastroenterology* 2006; 131: 525-537 [PMID: 16890606]
- 6 Cheng HH, Tseng GY, Yang HB, Wang HJ, Lin HJ, Wang WC. Increased numbers of Foxp3-positive regulatory T cells in gastritis, peptic ulcer and gastric adenocarcinoma. *World J Gastroenterol* 2012; 18: 34-43 [PMID: 22228968 DOI: 10.3748/wjg.v18.i1.34]
- 7 Satoh Y, Ogawara H, Kawamura O, Kusano M, Murakami H. Clinical Significance of Peripheral Blood T Lymphocyte Subsets in *Helicobacter pylori*-Infected Patients. *Gastroenterol Res Pract* 2012; 2012: 819842 [PMID: 22536220 DOI: 10.1155/2012/819842]
- 8 Serrano C, Wright SW, Bimczok D, Shaffer CL, Cover TL, Venegas A, Salazar MG, Smythies LE, Harris PR, Smith PD. Downregulated Th17 responses are associated with reduced gastritis in *Helicobacter pylori*-infected children. *Mucosal Immunol* 2013; 6: 950-959 [PMID: 23299619 DOI: 10.1038/mi.2012.133]
- 9 Koch M, Meyer TF, Moss SF. Inflammation, immunity, vaccines for *Helicobacter pylori* infection. *Helicobacter* 2013; 18 Suppl 1: 18-23 [PMID: 24011240 DOI: 10.1111/hel.12073]
- 10 Bhuiyan TR, Islam MM, Uddin T, Chowdhury MI, Janzon A, Adamsson J, Lundin SB, Qadri F, Lundgren A. Th1 and Th17 responses to *Helicobacter pylori* in Bangladeshi infants, children and adults. *PLoS One* 2014; 9: e93943 [PMID: 24714675 DOI: 10.1371/journal.pone.0093943]
- 11 Moyat M, Velin D. Immune responses to *Helicobacter pylori* infection. *World J Gastroenterol* 2014; 20: 5583-5593 [PMID: 24914318 DOI: 10.3748/wjg.v20.i19.5583]
- 12 Lundgren A, Strömberg E, Sjöling A, Lindholm C, Enarsson K, Edebo A, Johnsson E, Suri-Payer E, Larsson P, Rudin A, Svennerholm AM, Lundin BS. Mucosal FOXP3-expressing CD4<sup>+</sup> CD25<sup>high</sup> regulatory T cells in *Helicobacter pylori*-infected patients. *Infect Immun* 2005; 73: 523-531 [PMID: 15618192]
- 13 Kindlund B, Sjöling A, Hansson M, Edebo A, Hansson LE, Sjövall H, Svennerholm AM, Lundin BS. FOXP3-expressing CD4<sup>+</sup> T-cell numbers increase in areas of duodenal gastric metaplasia and are associated to CD4<sup>+</sup> T-cell aggregates in the duodenum of *Helicobacter pylori*-infected duodenal ulcer patients. *Helicobacter* 2009; 14: 192-201 [PMID: 19702849 DOI: 10.1111/j.1523-5378]

#### ■应用要点

Tregs参与了*H. pylori*感染的免疫应答,导致*H. pylori*逃逸机体的免疫清除;当根除*H. pylori*后,胃黏膜Tregs浸润数量显著减少,黏膜可重新恢复免疫平衡状态。

■同行评价  
本文具有一定指  
导意义。

- 14 Cho KY, Cho MS, Seo JW. FOXP3+ regulatory T cells in children with helicobacter pylori infection. *Pediatr Dev Pathol* 2012; 15: 118-126 [PMID: 22260624 DOI: 10.2350/11-06-1046-OA.1]
- 15 Robinson K, Kenefeck R, Pidgeon EL, Shakib S,

Patel S, Polson RJ, Zaitoun AM, Atherton JC. Helicobacter pylori-induced peptic ulcer disease is associated with inadequate regulatory T cell responses. *Gut* 2008; 57: 1375-1385 [PMID: 18467372 DOI: 10.1136/gut.2007.137539]

编辑 田滢 电编 闫晋利



ISSN 1009-3079 (print) ISSN 2219-2859 (online) DOI: 10.11569 2014年版权归百世登出版集团有限公司所有

• 消息 •

## 《世界华人消化杂志》正文要求

**本刊讯** 本刊正文标题层次为 0 引言; 1 材料和方法, 1.1 材料, 1.2 方法; 2 结果; 3 讨论; 4 参考文献。序号一律左顶格写, 后空 1 格写标题; 2 级标题后空 1 格接正文。以下逐条陈述: (1) 引言 应包括该研究的目的和该研究与其他相关研究的关系。(2) 材料和方法 应尽量简短, 但应让其他有经验的研究者能够重复该实验。对新的方法应该详细描述, 以前发表过的方法引用参考文献即可, 有关文献中或试剂手册中的方法的改进仅描述改进之处即可。(3) 结果 实验结果应合理采用图表和文字表示, 在结果中应避免讨论。(4) 讨论 要简明, 应集中对所得的结果做出解释而不是重复叙述, 也不应是大量文献的回顾。图表的数量要精选。表应有表序和表题, 并有足够具有自明性的信息, 使读者不查阅正文即可理解该表的内容。表内每一栏均应有表头, 表内非公知通用缩写应在表注中说明, 表格一律使用三线表(不用竖线), 在正文中该出现的地方应注出。图应有图序、图题和图注, 以使其容易被读者理解, 所有的图应在正文中该出现的地方注出。同一个主题内容的彩色图、黑白图、线条图, 统一用一个注解分别叙述。如: 图 1 萎缩性胃炎治疗前后病理变化。A: ...; B: ...; C: ...; D: ...; E: ...; F: ...; G: ...。曲线图可按●、○、■、□、▲、△顺序使用标准的符号。统计学显著性用: <sup>a</sup> $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  ( $P > 0.05$  不注)。如同一表中另有一套  $P$  值, 则<sup>c</sup> $P < 0.05$ , <sup>d</sup> $P < 0.01$ ; 第 3 套为<sup>e</sup> $P < 0.05$ , <sup>f</sup> $P < 0.01$ 。 $P$  值后注明何种检验及其具体数字, 如 $P < 0.01$ ,  $t = 4.56$  vs 对照组等, 注在表的左下方。表内采用阿拉伯数字, 共同的计量单位符号应注在表的右上方, 表内个位数、小数点、±、- 应上下对齐。“空白”表示无此项或未测, “-”代表阴性未发现, 不能用同左、同上等。表图勿与正文内容重复。表图的标目尽量用  $t/\text{min}$ ,  $c/(\text{mol/L})$ ,  $p/\text{kPa}$ ,  $V/\text{mL}$ ,  $t/^\circ\text{C}$  表达。黑白图请附黑白照片, 并拷入光盘内; 彩色图请提供冲洗的彩色照片, 请不要提供计算机打印的照片。彩色图片大小  $7.5\text{ cm} \times 4.5\text{ cm}$ , 必须使用双面胶条粘贴在正文内, 不能使用浆糊粘贴。(5) 志谢 后加冒号, 排在讨论后及参考文献前, 左齐。