

2006, 6(12):1237-1239

- 2 李晓阳,赵正元,蔡凯平,等. 2006 年湖南省血吸虫病疫情监测结果分析[J]. 热带病与寄生虫学, 2007, 5(4):201-204, 224
- 3 周晓农,姜庆五,孙乐平,等. 我国血吸虫病防治与监测[J]. 中国血吸虫病防治杂志, 2005, 17(3):161-165
- 4 何家昶. 血吸虫病流行与社会经济的关系[J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2005, 18(1):71-74
- 5 许发森,席金玉,辜学广,等. 敌百虫杀灭血吸虫卵及钉螺的实验观察[J]. 寄生虫病与感染性疾病, 2003, 1(1):28-30
- 6 肖健民,石蕊,谭济才,等. 农药使用技术手册[M]. 长沙:湖南科学技术出版社, 1999:26
- 7 王文梁,刘凤春,邵银官,等. 农用化肥碳酸氢铵杀灭钉螺研究

[J]. 湖北预防医学杂志, 1997, 8(1):40-41

- 8 余金明,袁鸿昌,陈启明,等. 日本血吸虫卵计量变异的模型建立与参数估计[J]. 中华预防医学杂志, 1998, 33(1):37-39
- 9 李雍龙. 人体寄生虫学[M]. 7 版. 北京:人民卫生出版社, 2009:106-118
- 10 王陇德. 血吸虫病控制新策略的研究[J]. 中国工程科学, 2009, 11(5):37-43
- 11 郑江. 关于我国血吸虫病防治的策略问题[J]. 热带医学杂志, 2006, 12:1237-1239

(收稿:2010-11-12)

(修回:2011-01-20)

β -防御素-2、IFN- γ 和 NF- κ B p65 在寻常型银屑病皮损中表达的研究

曹彦明 甄 莉

摘 要 目的 研究 β -防御素-2 (HBD-2)、IFN- γ 、NF- κ B p65 在寻常型银屑病患者皮损中的表达及其与银屑病严重程度的关系。**方法** 采用 SP 免疫组化法检测 45 例银屑病患者皮损组织、45 例银屑病患者非皮损组织及 15 例正常皮肤组织石蜡标本中 HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 的表达,对其在皮损中的表达进行相关性分析,并将结果与 PASI 评分进行相关性分析。**结果** 与正常人皮肤组织和银屑病患者非皮损区相比,银屑病患者皮损区中 HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 的表达明显上调,而非皮损区 HBD-2、IFN- γ 的表达也高于正常人皮肤组织,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。银屑病患者皮损区 HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 的表达水平与 PASI 评分之间均存在正相关 ($P < 0.05$)。银屑病患者皮损区 HBD-2 与 IFN- γ 、IFN- γ 与 NF- κ B p65、HBD-2 与 NF- κ B p65 表达水平之间均存在正相关 ($P < 0.05$)。**结论** HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 在寻常型银屑病皮损中的表达水平均升高,可能共同参与了银屑病的发病过程。

关键词 银屑病 β -防御素-2 IFN- γ NF- κ B

Study on the Expression of β -defensin-2, Interferon- γ and Nuclear- κ B p65 in the Lesions of Psoriasis Vulgaris. Cao Yanming, Zhen Li. Department of Dermatology, The First Hospital of Shanxi Medical University, Shanxi 030001, China

Abstract Objective To investigate the expressions of β -defensin-2 (HBD-2), interferon- γ (IFN- γ), and nuclear- κ B p65 (NF- κ Bp65) in the epidermis of psoriasis vulgaris and study their correlation with disease severity in psoriatic patients. **Methods** Forty-five samples of lesional psoriatic skin, forty-five samples of nonlesional psoriatic skin and fifteen samples of normal skin were analyzed by Elivision immunohistochemical technique for the expressions of HBD-2, IFN- γ and NF- κ B p65. Correlation analysis was performed among the expressions of the three factors as well as between the expressions and disease severity. **Results** Compared with those of normal epidermis and nonlesional psoriatic epidermis, HBD-2, IFN- γ and NF- κ B p65 were more highly expressed in lesional epidermis from patients with psoriasis (all $P < 0.05$). In nonlesional psoriatic epidermis, HBD-2, IFN- γ expression was also upregulated compared with that of normal epidermis ($P < 0.05$). The expressions of HBD-2, IFN- γ and NF- κ Bp65 in lesional epidermis positively correlated individually with the psoriasis area and severity index (PASI) scores in patients (all $P < 0.05$). Positive correlation was also found between the expressions of any two factors (HBD-2, IFN- γ or NF- κ B p65) in lesional epidermis

基金项目:山西医科大学科技创新基金资助项目(01200815)

作者单位:030001 太原,山西医科大学第一医院皮肤科

通讯作者:甄莉,电子信箱:zhenli0351@163.com

(*all P* < 0.05). **Conclusion** The upregulation of HBD-2, IFN- γ and NF- κ B p65 expressions in psoriatic lesions may be involved in the pathogenesis of psoriasis.

Key words Psoriasis; β -defensin-2; Interferon- γ ; NF- κ B

银屑病(psoriasis)俗称牛皮癣,是一种慢性良性增殖性皮肤病,主要病理改变为表皮角质形成细胞过度增殖、分化异常、真皮乳头毛细血管增生扩张和炎症细胞浸润。银屑病发病机制不清,近来研究表明,T细胞介导的免疫紊乱是银屑病发生发展的基础, β -防御素家族是重要的天然免疫效应分子, β 防御素除了具有抗微生物活性以外,还具有免疫调节作用,在银屑病中HBD-2与IFN- γ 的相关性研究尚少。本研究通过采用免疫组织化学法对寻常型银屑病患者皮损组织、寻常型银屑病患者非皮损组织及正常人皮肤组织中HBD-2、IFN- γ 和NF- κ B p65的表达进行检测并探讨其意义。

资料与方法

1. 标本来源:笔者医院皮肤科2009年5月~2010年5月门诊及住院病人45例,男性25例,女性20例。年龄在18~65岁,平均年龄31.8岁。所有患者均具有典型的临床和病理特征,排除标准不伴有合并系统性疾病,近3个月内未系统使用过免疫抑制剂、糖皮质激素、免疫增强剂的病人。上述入选标准的患者详细记录病史资料,进行PASI评分,45例患者PASI评分为6.9~55.2,0~24为轻度组,24~48为中度组,48~72为重度组(轻度25例,中度12例,重度8例)。皮损标本均取自躯干或四肢的典型皮损,其中45例患者在距离皮损至少1cm处切取外观正常的皮肤作为非皮损区。15例正常皮肤组织(正常对照组)均来自笔者医院整形外科的健康人中收集。其中男性9例,女性6例,年龄16~56岁,平均年龄34.5岁。

2. 主要试剂:兔抗人HBD-2多克隆抗体购自武汉博士德公司,兔抗人IFN- γ 多克隆抗体,兔抗人NF- κ B p65多克隆抗体,三步法SP0023免疫组织化学染色试剂盒均购自北京博奥森生物技术有限公司。

3. 实验方法:患者的石蜡标本连续切片4 μ m厚,将石蜡标本脱蜡至水,加3% H₂O₂灭活内源性过氧化物酶,高压锅抗原修复;滴加正常山羊血清封闭液,加入一抗(IFN- γ 工作浓度为1:100,HBD-2工作浓度为1:100,NF- κ B p65工作

浓度为1:100),4℃过夜;次日晨滴加二抗工作液,DAB显色、苏木素复染、脱水、封片。以PBS液代替一抗作阴性对照。

4. 结果判定:染色阳性标准:HBD-2、IFN- γ 以胞质出现棕黄色颗粒为阳性。NF- κ B p65以胞质、胞核出现棕黄色颗粒为阳性,阴性结果为不着色。每张切片于光学显微镜下随机选取5个高倍镜视野($\times$ 400)。利用MIAS22000图像分析系统测定阳性区域平均光密度值,以平均光密度值代表阳性产物表达的多少。

5. 统计学处理:采用SPSS 16.0统计软件进行统计分析,所有数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间采用LSD-*t*检验进行比较,指标间相关性分析采用Pearson相关分析。*P* < 0.05表示有差异有统计学意义。

结 果

1. HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65在寻常型银屑病患者皮损区、非皮损区、正常皮肤表皮中的表达:正常人表皮中HBD-2呈阴性表达;在银屑病非皮损区表皮中有不同程度的表达,主要在基底层细胞表达;皮损区表皮全层均可见棕黄色颗粒,HBD-2呈强阳性表达。HBD-2表达在皮损区与非皮损区、皮损区与正常皮肤、非皮损区与正常皮肤之间相比差异均有统计学意义(表1)。IFN- γ 在正常人表皮中呈阴性表达;在银屑病非皮损区表皮中,IFN- γ 的表达明显增加,主要分布于基底层细胞中;皮损区IFN- γ 在表皮上层表达显著增强在有些重度皮损中累及表皮全层。IFN- γ 在皮损区与非皮损区、皮损区与正常皮肤、非皮损区与正常皮肤之间相比差异均有统计学意义(表1)。NF- κ B p65在正常人表皮中呈阴性表达;在银屑病非皮损区表皮中NF- κ B p65表达略增加,主要集中于基底层细胞中;皮损区NF- κ B p65在表皮上层都显著表达,胞核可见棕黄色颗粒表达较深。NF- κ B p65在皮损区的表达相对于非皮损区、正常表皮显著表达,有统计学意义,非皮损区与正常表皮相比差异无统计学意义(表1)。

表1 HBD-2,IFN- γ ,NF- κ B p65在正常皮肤、银屑病非皮损区和皮损区表皮中的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	HBD-2	IFN- γ	NF- κ B p65
正常皮肤组	15	0.173 $\pm$ 0.013	0.157 $\pm$ 0.005	0.176 $\pm$ 0.009
银屑病非皮损组	45	0.210 $\pm$ 0.011 ^a	0.181 $\pm$ 0.011 ^a	0.173 $\pm$ 0.010
银屑病皮损组	45	0.243 $\pm$ 0.051 ^{ab}	0.298 $\pm$ 0.042 ^{ab}	0.227 $\pm$ 0.020 ^{ab}

与正常皮肤组比较,^a*P* < 0.05,与银屑病非皮损组比较,^b*P* < 0.05

2. HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 在寻常型银屑病患者皮损区的表达:HBD-2、IFN- γ 在银屑病皮损区表皮中细胞胞质呈阳性表达,在轻度组与中度组、轻度组与重度组、中度组与重度组之间相比差异均有统计学意义(表2);NF- κ B p65 在寻常型银屑病皮损中细胞胞质、胞核都有表达,胞核表达较深,在轻度组与中度组、轻度组与重度组、中度组与重度组之间相比差异均有统计学意义(表2)。

表2 HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 在银屑病皮损区表皮中的表达($\bar{x} \pm s$)

组别	n	HBD-2	IFN- γ	NF- κ B p65
轻度组	25	0.208 $\pm$ 0.017 ^a	0.268 $\pm$ 0.015 ^a	0.213 $\pm$ 0.012 ^a
中度组	12	0.255 $\pm$ 0.018 ^a	0.307 $\pm$ 0.014 ^a	0.235 $\pm$ 0.007 ^a
重度组	8	0.333 $\pm$ 0.029 ^a	0.375 $\pm$ 0.011 ^a	0.259 $\pm$ 0.010 ^a
对照组	15	0.173 $\pm$ 0.013	0.157 $\pm$ 0.005	0.176 $\pm$ 0.009

与对照组比较,^a $P < 0.05$

3. 银屑病患者皮损区 HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 的表达与 PASI 评分的关系:HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 的表达均与 PASI 评分呈正相关, r 值分别为 0.867、0.872、0.821, P 均 < 0.05 。

4. 相关性分析:在正常皮肤、寻常型银屑病非皮损区和银屑病皮损区之间 HBD-2、IFN- γ 的表达水平呈正相关($r = 0.755$);HBD-2、NF- κ B p65 的表达水平呈正相关($r = 0.665$);IFN- γ 、NF- κ B p65 的表达水平呈正相关($r = 0.811$)。在银屑病皮损区 IFN- γ 、NF- κ B p65 的表达水平呈正相关($r = 0.761$);HBD-2、NF- κ B p65 的表达水平呈正相关($r = 0.740$);HBD-2、IFN- γ 的表达水平呈正相关($r = 0.851$)。

讨 论

银屑病是一种常见的慢性复发性炎症性皮肤病,银屑病的确切病因尚未清楚。目前实验研究表明 T 细胞介导的免疫紊乱是银屑病发生发展的基础,其中 Th1 型细胞因子干扰素 γ (IFN- γ) 发挥着重要的作用^[1]。Chen 等^[2] 研究发现 IFN- γ 在角质形成细胞的增殖中发挥关键作用,当 IFN- γ 的作用被阻断时,角质形成细胞的增殖减慢,由角质形成细胞分泌的细胞因子也相应减少。Fierlbeck 等^[3] 研究发现将 IFN- γ 注射于银屑病患者皮下组织后发现银屑病患者非皮损区出现银屑病样损害,而原有的皮损则有加重趋势。本研究结果显示 IFN- γ 在银屑病皮损区表皮中表达显著加强,并与 PASI 评分呈现正相关,再

次证实了 IFN- γ 与银屑病银屑病皮损中 KC 异常增生和炎细胞浸润有密切关系,IFN- γ 的水平可反映银屑病病情的变化。

防御素是一类阳离子抗菌肽,具有天然的抗菌活性。德国 Harder J 等^[4] 于 1997 年首先发现 HBD-2 在牛皮癣病人皮肤中,主要由上皮细胞合成和分泌。HBD-2 是第一个在人体中被发现的可诱导性防御素,它不仅可通过直接杀菌作用抵御入侵机体的病原微生物,还在介导获得性免疫反应、调节机体的免疫炎症反应和创伤修复过程中起着重要作用^[5]。目前的研究表明,HBD-2 的诱导表达可能是通过多信号途径实现的,其中 NF- κ B 的作用较明确和重要。本研究结果表明在寻常型银屑病皮损区表皮中 HBD-2 表达水平显著增强,分布部位不仅为基底层,表皮全层均可见棕黄色染色,且在银屑病皮损区 HBD-2 表达水平与 PASI 评分之间呈正相关,提示 HBD-2 与银屑病密切相关。我们研究发现 HBD-2 在炎症愈重的皮损中表达愈明显,这与 IFN- γ 的表达特点是一致的,HBD-2 与 IFN- γ 的表达水平间呈正相关。在 45 例银屑病患者非皮损区表皮中 HBD-2 表达也有上调,高于正常人但较皮损区表达低;HBD-2 在正常皮肤、银屑病非皮损区以及皮损区的表达呈逐渐增加的趋势,这种不同的表达水平除了和抗微生物活性相关以外,可能与其在银屑病病中的免疫调节有关。提示 HBD-2 参与了银屑病的发病过程,与该病有密切关系。

NF- κ B 是一种作用广泛的转录因子,调控众多的细胞因子和炎症介质的基因表达,调节免疫反应,参与细胞内信号传递,从而参与调节组织细胞的生理、病理反应。异常的角质形成细胞释放许多 IFN- γ ,它能诱导银屑病角质形成细胞增殖。McKenzie 等由此假设银屑病患者的角质形成细胞存在反常信号转导途径,使它们在暴露于炎症介质的刺激时,更易于表现过高损伤修复活性反应。Tsutsumi Y 等用 LPS 刺激鼠巨噬细胞证实了被激活的 NF- κ B 参与了 HBD-2 的表达,同时发现激活的 NF- κ B 类型是异型二聚体 p65~p50。本研究结果银屑病皮损区 NF- κ B p65 在表皮上层显著表达,胞核可见棕褐色颗粒表达较深。均比正常皮肤、银屑病非皮损区高,并与 PASI 评分之间呈正相关,提示 NF- κ B p65 的异常表达与银屑病的发生、发展过程密切相关。

综上所述,本实验结果显示 HBD-2、IFN- γ 、NF- κ B p65 在寻常型银屑病皮损中的表达均升高,

且三者之间均存在正相关,我们推测三者之间存在相互作用共同参与了银屑病的发生过程。然而在银屑病发病过程中是否存在三者之间这样的相互作用加重银屑病的炎症反应值得进一步深入研究。

参考文献

- 1 Lew W, Bowcock AM, Krueger J G. Psoriasis vulgaris: cutaneous lymphoid tissue supports T - cell activation and 'type 1' inflammatory gene expression. Trends Immunol, 2004, 25(6): 295 - 305
- 2 Chen SH, Arany I, Apisarnthanarax N, et al. Response of keratinocytes from normal and psoriatic epidermis to interferon - gamma differs in the expression of zinc - alpha (2) - glycoprotein and cathepsin D.

FASEB J, 2000, 14(3): 565 - 571

- 3 Fierlbeck G, Rassner G, Muller C. Psoriasis induced at the injection site of recombinant interferon gamma. Results of immunohistologic investigations [J]. Arch Dermatol, 1990, 126(3): 351 - 355
- 4 Harder J, Bartels J, Christophers E, et al. A peptide antibiotic from human skin [J]. Nature, 1997, 387(6636): 861
- 5 雷娜, 陈献伟, 王会, 等. β - 防御素 2 的生物学作用. 现代生物学进展, 2009, 9(9): 1761 - 1763

(收稿: 2010 - 11 - 01)

(修回: 2011 - 03 - 26)

原发性胆汁性肝硬化 74 例中医辨证规律的研究

董振华 徐慧媛 齐贺彬

摘要 **目的** 观察 74 例原发性胆汁性肝硬化(PBC)患者的中医证型和辨证规律。**方法** 采用气血津液结合脏腑辨证的方法,将 74 例 PBC 患者分为肝郁脾虚证、脾胃气虚证、湿热瘀血证和肝肾阴虚证 4 类,探讨其与肝功能及免疫球蛋白检测指标的关系。**结果** 74 例的病情程度以肝郁脾虚证和脾胃气虚证较轻,多见于疾病早期或稳定阶段;湿热瘀血证和肝肾阴虚证较重,部分已处于失代偿期。湿热瘀血证的肝功能损害最为明显,反映出肝内胆小管炎症处于活动和进展状态。部分 PBC 的中医证型证候有动态变化的特点。**结论** PBC 的中医证型与病情程度和肝功能损害有一定相关性。

关键词 原发性胆汁性肝硬化 辨证论治 中医证型

Study on the Law of Syndrome Differentiation of Primary Biliary Cirrhosis by Traditional Chinese Medicine: A 74 - case Report Dong Zhenhua, Xu Huiyuan, Qi Hebin. Department of Traditional Chinese Medicine, Peking Union Medical College Hospital, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China

Abstract **Objective** To observe the patterns of syndrome and the law of syndrome differentiation in primary biliary cirrhosis (PBC) patients. **Methods** With the method of syndrome differentiation of qi - blood - body fluid combined with viscera, a total of 74 PBC patients were divided into four categories: syndrome of liver - depression and spleen - deficiency, qi - deficiency of the spleen and stomach, dampness - heat and blood stasis, and yin - deficiency of liver and kidney, and their relationship between liver function and immunoglobulin was also investigated. **Results** As for the degree of pathogenetic condition, syndromes of liver - depression and spleen - deficiency and qi - deficiency of the spleen and stomach were mild, often in early course or stable stage, while syndromes of dampness - heat and blood stasis and yin - deficiency of liver and kidney were severe, and part of them were in discompensation stage. The lesion of liver function was most obvious in syndrome of dampness - heat and blood stasis, which reflected the intrahepatic cholangiolitic hepatitis was in active or progressing stage. Some of TCM patterns of syndrome of PBC had the feature of dynastic variation. **Conclusion** The TCM patterns of syndrome of PBC were correlated to the degree of pathogenetic condition and lesion of liver function.

Key words Primary biliary cirrhosis; Treatment based on syndrome differentiation; TCM syndromes

原发性胆汁性肝硬化(primary biliary cirrhosis, PBC)是一种原因不明的慢性胆汁淤积性肝病,多见

于中年女性,以肝内小胆管进行性破坏及门静脉炎症,最终导致纤维化和肝硬化为其特点。近年来随着对该病的认识和诊断水平的提高,其发病率呈上升趋势,而在中国也并非罕见。本研究拟通过对近 8 年诊治过的 74 例 PBC 患者,从中医辨证的角度进行分析,旨在探讨其发病特点和辨证规律。

作者单位:100730 中国医学科学院/北京协和医学院北京协和医院中医科

通讯作者:董振华,电子信箱:pumedzh@yahoo.com.cn