

患者再发卒中的风险性优于 ABCD2 评分法,且可以改善 ABCD2 评分法预测的准确性^[11]。笔者既往研究提示,脑出血患者血浆和肽素水平亦显著升高,其浓度与脑出血患者 1 周内死亡显著相关,且有较高的预测价值^[4]。在颅脑损伤的相关研究中,血浆和肽素可反映颅脑损伤的严重程度^[5]。笔者既往研究亦发现,血浆和肽素水平与脑外伤后 1 个月内的死亡显著相关^[6]。但血浆和肽素与脑外伤的长期预后缺乏相关性研究。本研究进一步分析发现,血浆和肽素浓度在脑外伤后早期(6h 内)显著升高,与脑外伤患者入院时 GCS 评分显著负相关,是脑外伤患者 6 个月神经功能预后不良和死亡的独立危险因素。ROC 曲线分析结果表明,血浆和肽素浓度预测脑外伤后 6 个月神经功能预后不良和死亡有显著预测价值,且有高的敏感度和特异性。因此,血浆和肽素可用于反映脑外伤的严重程度,为脑外伤预后的早期预测提供实验室依据。

参考文献

- 1 Darzy KH, Dixit KC, Shalet SM, *et al.* Circadian secretion pattern of copeptin, the C-terminal vasopressin precursor fragment [J]. Clin Chem, 2010,56(7):1190-1191
- 2 Katan M, Fluri F, Morgenthaler NG, *et al.* Copeptin: a novel, independent prognostic marker in patients with ischemic stroke [J]. Ann Neurol, 2009,66(6):799-808
- 3 Urwyler SA, Schuetz P, Fluri F, *et al.* Prognostic value of copeptin: one-year outcome in patients with acute stroke [J]. Stroke, 2010,41(7):1564-1567
- 4 Dong XQ, Huang M, Yu WH, *et al.* Change in plasma copeptin level after acute spontaneous basal ganglia hemorrhage [J]. Peptides, 2011,32(2):253-257
- 5 Kleindienst A, Brabant G, Morgenthaler NG, *et al.* Following brain trauma, copeptin, a stable peptide derived from the AVP precursor, does not reflect osmoregulation but correlates with injury severity [J]. Acta Neurochir Suppl, 2010,106(2):221-224
- 6 Dong XQ, Huang M, Yang SB, *et al.* Copeptin is associated with mortality in patients with traumatic brain injury [J]. J Trauma, 2011,71(5):1194-1198
- 7 Jochberger S, Morgenthaler NG, Mayr VD, *et al.* Copeptin and arginine vasopressin concentrations in critically ill patients [J]. J Clin Endocrinol Metab, 2006,91(11):4381-4386
- 8 Wenzel V, Raab H, Dünser MW. Role of arginine vasopressin in the setting of cardiopulmonary resuscitation [J]. Best Pract Res Clin Anaesthesiol, 2008,22(2):287-297
- 9 黄素素,张云云,丁新生. 和肽素——一种新的、独立的缺血性卒中的预后标记 [J]. 中华神经科杂志, 2011,44(11):782-784
- 10 Morgenthaler NG. Copeptin: a biomarker of cardiovascular and renal function [J]. Congest Heart Fail, 2010,16(Suppl 1):S37-44
- 11 Katan M, Nigro N, Fluri F, *et al.* Stress hormones predict cerebrovascular re-events after transient ischemic attacks [J]. Neurolog, 2011,76(6):563-566 (收稿日期:2012-07-04)
(修回日期:2012-09-07)

正常人黑素细胞 MITF 对酪氨酸酶 相关蛋白的转录调控研究

黎 钊 王 平 洪为松 郑俊惠

摘 要 **目的** 研究正常人黑素细胞小眼畸形相关转录因子(MITF)对与黑素生成密切相关的酪氨酸酶相关蛋白(TRPs)家族的转录调控。**方法** 应用小 RNA 干扰技术(慢病毒感染),对培养的原代正常人黑素细胞进行 MITF 基因沉默,然后应用实时定量 PCR 和免疫印迹方法,分别检测 MITF 基因沉默前后,MITF、酪氨酸酶(TYR)、酪氨酸酶相关蛋白 1(TYRP1)和酪氨酸酶相关蛋白 2(TYRP2)的基因与蛋白表达水平。**结果** 正常人黑素细胞具有显著表达的 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2;MITF 基因沉默后,MITF、TYR 和 TYRP1 的基因表达水平分别下降 2 倍($P=0.001$)、1.5 倍($P=0.05$)和 5 倍($P=0.005$),TYRP2 的表达水平上调 3 倍($P=0.004$);而 MITF 基因沉默后的 MITF、TYR、TYRP1 的蛋白表达也显著下降,TYRP2 蛋白显著升高。**结论** 黑素细胞 TRPs 家族与 MITF 转录调控密切相关,TYRP2 可能在不依赖于 MITF 的转录调控。

关键词 黑素细胞 MITF TYR TYRP1 TYRP2

基金项目:浙江省自然科学基金资助项目(Y2080112);杭州市医学重点专科专病基金资助项目(20100733Q08)

作者单位:310009 杭州,浙江中医药大学附属杭州第三医院(黎钊);杭州市第三人民医院皮肤科(王平、洪为松、郑俊惠)

通讯作者:王平,电子邮箱:dermwang@yahoo.com.cn

Effect of MITF Transcriptional Control on Family of Tyrosinase – related Proteins in Normal Human Melanocytes. Li Zhao, Wang Ping, Hong Weisong, Zheng Junhui. Zhejiang Chinese Medical University, Zhejiang 310009, China

Abstract Objective To analyze the transcriptional control of microphthalmia transcription factor (MITF) on the tyrosinase related proteins which is closely related to melanogenesis in normal human melanocytes. **Methods** Normal human melanocytes from healthy children’s circumcision were cultured in melanocyte Hu16 selective medium. MITF was knocked down by using MITF siRNA interference. Real time quantitative PCR and Western blot were used to investigate the gene and proteins expression of MITF, tyrosinase (TYR), tyrosinase related protein 1 (TYRP1) and tyrosinase related protein 2 (TYRP2). **Results** The MITF, TYR, TYRP1 and TYRP2 were significant expressed in normal human melanocytes. After MITF was knocked down, we found that the expression of TYR and TYRP1 were dramatically decreased and the expression of TYRP2 was increased both in mRNA and protein expression. The mRNA expression of MITF, TYR and TYRP1 were decreased about 2 folds ($P=0.001$), 1.5 folds ($P=0.05$) and 5 folds ($P=0.005$) respectively, while TYRP2 was increased dramatically 3 folds ($P=0.004$). **Conclusion** The tyrosinase related protein (TRPs) was closely related to transcriptional control of MITF. TYRP2 may be regulated by MITF through different pathway compared to TYR and TYRP1.

Key words Melanocytes; MITF; TYR; TYRP1; TYRP2

人体黑素细胞中黑素的合成及分泌是一项复杂、精确的调控过程,有多种信号分子的参与并相互关联。酪氨酸酶相关蛋白 (TRPs) 家族作为最重要分子参与该调控,其中,酪氨酸酶 (TYR) 为黑素生成的核心调节酶,酪氨酸酶相关蛋白 1 (TYRP1) 和酪氨酸酶相关蛋白 2 (TYRP2) 主要参与优黑素生成,为优黑素生成的速度调节器。黑素细胞最重要的转录因子——小眼畸形相关转录因子 (MITF),可调控 TRPs 家族的表达,参与黑素的生成^[1]。TRPs 家族和 MITF 的功能异常与多种色素性疾病相关,我们前期研究发现,不同类型白癜风患者中 MITF 对 TYR、TYRP1 和 TYRP2 的转录调控各不相同^[2]。为进一步了解其调控机制,本研究对正常人黑素细胞 MITF 基因沉默前后 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2 的基因与蛋白表达水平进行分析,探索正常人黑素细胞 MITF 对黑素生成密切相关的 TRPs 家族的转录调控机制。

材料与方法

1. 材料:(1)标本:笔者医院门诊手术室包皮环切术切取健康儿童包皮皮片。本研究获得医院伦理委员会批准,并征得所有患者同意并签署知情同意书。(2)试剂:①细胞培养试剂:F12 基础培养基、胎牛血清、谷胺酰氨、庆大霉素、0.25% 胰酶、0.02% 乙二胺四乙酸 (EDTA)、0.05% 胰酶-EDTA、D-Hank’s 液、基因素均购自美国 GIBCO 公司,霍乱毒素 (CT)、IBMX、二甲基亚酚 (DMSO) 均购自美国 Sigma 公司,人重组碱性成纤维细胞生长因子 (bFGF) 购自美国 Pepro-Tech 公司;②Lentivirus-GFP 包装试剂:Lipofectamine 2000 试剂盒 (美国 Invitrogen 公司);③抗体:MITF (ab12039)、TYR (Ab52493)、TYRP1 (Ab3312) 和 TYRP2 (Ab74073) 均为 abcom 公司产品;GAPDH、层粘连蛋白和Ⅳ型胶原抗体为 Santa Cruz 公司产品;④引物:采用软件 Beacon designer 2 设计,序列信息见表 1,由上海吉凯基因合成。Trizol (美国 Invitrogen 公司),反转录试

剂盒 (美国 Promega 公司)。

表 1 PCR 引物对及序列

靶基因	引物名称	序列	产物长度 (bp)
MITF	MITF/F	5'-ATAATGAGGAAATCTTGGGCTTG-3'	131
	MITF/R	5'-GGACTTGCTGATGCTGAGG-3'	
TYR	TYR/F	5'-CTGGAAGGATTGCTAGTCCAC-3'	106
	TYR/R	5'-CCTGTACCTGGGACATTGTTTC-3'	
TYRP1	TYRP1/F	5'-TGATGAATGGCTGAGGAGATAC-3'	316
	TYRP1/R	5'-AGTGAGGAGAGGCTGGTTAG-3'	
TYRP2	TYRP2/F	5'-GACCTGCATTGTACCTGGC-3'	112
	TYRP2/R	5'-CCAGTGGCAAAGTTCCAGTAG-3'	

2. 方法:(1)细胞培养:将获取的包皮浸入碘伏中消毒后,PBS 反复冲洗干净。用眼科剪刀尽量修除皮下组织并剪成 2~3mm 的皮片,浸于 2% dispase 酶中,4℃ 冰箱消化 18~24h。分离表皮片,浸入无菌 D-Hank’s 液中并漂洗 2 次,分别以 0.25% 胰蛋白酶和 0.02% EDTA 于 37℃ 孵育 10min,将细胞悬液加入 10% 含血清的 F12 培养基吹打 5 次,1000r/min 离心 5min,用黑素细胞 Hu16 选择性培养基 (F12 基础培养基,含 TPA、CT、ET-1、Na3Vo4 和胎牛血清)吹打成细胞悬液,调整细胞浓度为 5×10^5 /ml 接种于培养瓶中 37℃、5% CO₂ 培养箱内培养,3 天后加入基因素以去除角质形成细胞和成纤维细胞,每隔一天换液 1 次,经 2~5 次传代后黑素细胞融合达 80% 时,以 0.05% 胰酶-EDTA 消化黑素细胞,离心收集于 F12 培养基中备用。(2)慢病毒 RNA 的感染:将样本分为基因沉默组 (KD) (含有目的基因沉默序列的病毒),阴性对照组 (NC) (不含有目的基因沉默序列的病毒) 和空白对照组 (CON) (不加入目的基因沉默序列和病毒)。针对人 MITF 全长基因 (Gen Bank 登录号:NM_000248.2) 的核苷酸序列 (大

小为 4490bp) 及 RNA 干扰序列设计原则,设计多个 RNA 干扰靶点序列,选择具有最佳动力学参数的 MITF 基因沉默靶序列 (GGTGAATCGGATCATCAAG),并进行人工合成,合成后的核苷酸序列克隆至载体 pGCSIL - GFP,将重组质粒转入大肠杆菌感受态细胞中,筛选重组转化子并再次转入大肠杆菌表达菌株中,对长出的克隆先进行 PCR 鉴定,在进行测序比对后,鉴定阳性的克隆即为构建成功的目的基因 RNA 干扰慢病毒载体。将制备好的重组病毒质粒及其两种辅助包装原件载体质粒分别进行高纯度无内毒素抽提,按 Invitrogen 公司 Lipofectamine 2000 试剂盒使用说明进行共转染 293T 细胞,利用孔稀释法和实时定量 PCR 测定并标定病毒效价。对培养生长状态良好的目的细胞,病毒感染前 1 天将目的细胞分入 6 - well 培养板培养,待细胞达到 70% ~ 80% 的融合时进行 RNAi 慢病毒颗粒转染。感染 3 天后荧光显微镜下观察 GFP 表达情况,感染 7 天后收集细胞,采用 Western blot 的方法检测目的基因的表达情况,进而判断靶点的干扰效果。(3) Real - time PCR:根据 Invitrogen 公司的 Trizol 操作说明书进行总 RNA 抽提,然后利用 Promega 公司的反转录试剂盒操作说明书进行 RNA 反转录获取 cDNA。设定程序为两步法 Real - Time 定量,并制作溶解曲线,读取吸光值。(4) Western blot:将常规提取的蛋白进行 10% SDS - PAGE 电泳后转印到 PVDF 膜上。用含 5% 脱脂牛奶的 TBST 封闭液室温封闭 PVDF 膜。分别加入鼠抗 MITF、兔抗 TYR、兔抗 TYRP1 兔抗 TYRP2 和鼠抗 GAPDH 单克隆抗体孵育;再运用 TBST 封闭液洗膜后与二抗进行反应。免疫反应条带采用 Amersham 公司 ECL + plusTM Western blot system 试剂盒进行显检测,实验结果曝光到 X 线胶片上。用 Quantity one - 4.3.0 软件读取蛋白条带的灰度值,以目的片段和内参照 GAPDH 的比值做蛋白相对表达水平。

3. 统计学方法:常规进行方差齐性检验、正态性检验。计量资料实验数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。单变量两组资料之间的比较采用 *t* 检验,多组资料之间的比较采用单因素方差分析,以 $P < 0.05$ 为差别有统计学意义。采用 Microsoft excel 2003 和 SPSS 10.0 统计处理软件分析。

结 果

1. 黑素细胞 Lentivirus - GFP 转染情况:结果显示,3 组光镜下可见正常黑素细胞 (图 1①);荧光显微镜下,针对黑素细胞 MITF 基因靶点的 RNAi 慢病毒转染正常,且基因沉默达到实验设计要求 (图 1②)。

2. RT - PCR 分析结果:运用实时定量 PCR 检测 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2 在 KD 组,NC 组,CON 组的表达。NC 组中 MITF 的表达约是 KD 组的 2 倍 ($P = 0.001$,图 2A);NC 组与 CON 组中 MITF 的表达无统计学差异 ($P = 0.12$)。NC 组中 TYR 的表达约为 KD 组的 1.5 倍 ($P = 0.05$,图 2B);NC 组与 CON

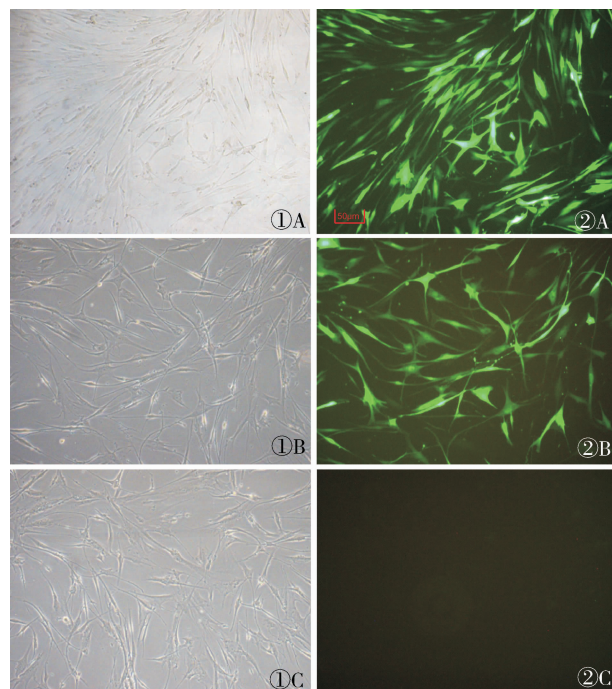


图 1 黑素细胞 Lentivirus - GFP 转染

①白光照片 (100);②荧光照片 (100);A. 基因沉默组 (KD);B. 阴性对照组 (NC);C. 空白对照组 (CON)

组中 TYR 的表达无统计学差异 ($P = 0.26$)。NC 组中 TYRP1 的表达约是 KD 组的 5 倍 ($P = 0.005$,图 2C);NC 组与 CON 组中 TYRP1 的表达无统计学差异 ($P = 0.83$)。值得注意的是 KD 组中 TYRP2 的表达约是 NC 组的 3 倍 ($P = 0.004$,图 2D);NC 组与 CON 组中 TYRP2 的表达无统计学差异 ($P = 0.29$)。

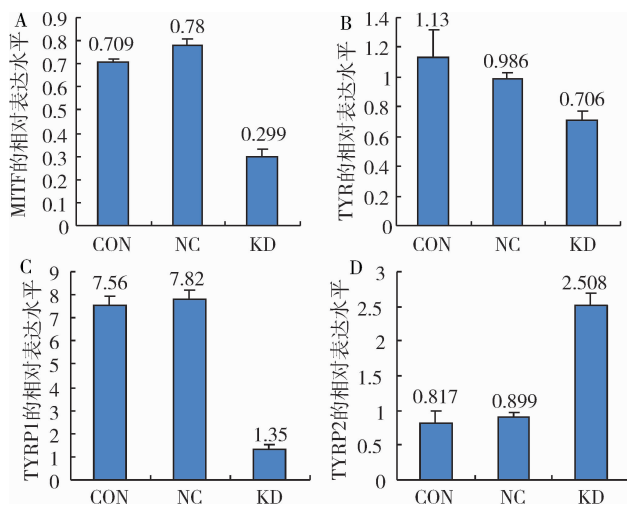


图 2 Real - time PCR 检测 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2 在 3 组中的基因表达水平

A. MITF 在 3 组中的基因表达;B. TYR 在 3 组中的基因表达;C. TYRP1 在 3 组中的基因表达;D. TYRP2 在 3 组中的基因表达

3. Western blot 检测结果:免疫印迹用于检测 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2 的蛋白表达。KD 组 MITF、TYR 及 TYRP1 蛋白的表达与 NC 组相比,显著下降(图 3A~C)。而 KD 组 TYRP2 的表达相比 NC 组,显著升高(图 3D)。

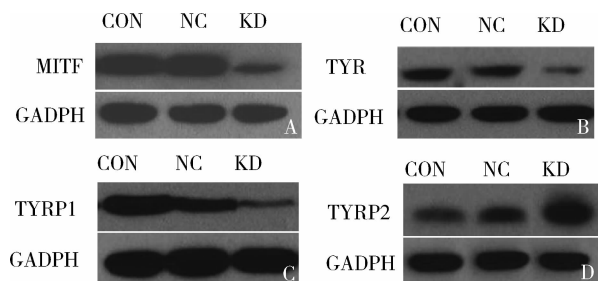


图 3 Western blot 检测 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2 的蛋白表达水平

A. MITF 蛋白的表达;B. TYR 蛋白的表达;C. TYRP1 蛋白的表达;D. TYRP2 蛋白的表达

讨 论

人类皮肤黑素生成受超过 90 余个位点、150 余个等位基因、200 多种分子的复杂调控,这些分子包括蛋白酶、结构蛋白、转录因子、受体、生长因子等,共同组成了有序的、立体的网络与位点。而最为重要的分子为黑素体特异性蛋白如酪氨酸相关蛋白 (TRPs) 家族,包括酪氨酸酶 (TYR)、酪氨酸酶相关蛋白 1 (TYRP1) 和酪氨酸酶相关蛋白 2 (TYRP2) 等,其中, TYR 的表达和活性决定着黑素生成的速度和产量,为黑素生成的核心调节酶;TYRP1 和 TYRP2 主要参与优黑素生成,为优黑素生成的速度调节器。作为黑素细胞最重要的转录因子——小眼畸形相关转录因子 (MITF),在皮肤黑素生成过程中,MITF 作为分子开关 (molecular switchboard),转录调控 TYR、TYRP1 和 TYRP2 等重要分子^[1]。

MITF 构筑的转录调控网络在黑素细胞的发育、分化和功能等方面发挥着重要的作用,该调控异常主要与色素障碍性疾病关系密切^[2]。我们前期研究发现:寻常型白癜风黑素细胞 MITF 表达下调与 TYR、TYRP1、TYRP2 的表达下调一致,提示寻常型白癜风黑素生成抑制与 MITF 的转录调控密切相关;而节段型白癜风黑素细胞尽管存在显著的 MITF 表达下调,但 TYR 和 TYRP1 均正常表达,提示节段型白癜风的黑素生成不依赖于 MITF 的转录调控;另外,节段型白癜风较寻常型白癜风的 MITF 表达显著减少,而寻常型白癜风较节段型白癜风的 TYRP2 表达显著减

少,推测在节段型白癜风中可能存在另一种信号分子参与 TYRP2 的调控^[3]。近来有研究也发现,MITF 能够调节控制较多细胞过程,但同时又受许多不同的细胞信号途径和转录因子的影响^[4]。

既往对色素性疾病尤其是白癜风中 MITF 的研究发现,白癜风黑素细胞消失和黑素合成功能减退与 SCF/KIT 和 MITF 功能减退有关^[5];Kingo 等^[6]利用 QRT-PCR 进一步检测白癜风患者与健康对照皮肤的 MITF 等 8 种 mRNA 表达,发现白癜风患者的 MITF mRNA 表达比健康对照低,指出 MITF 的减少可能是白癜风的发病机制之一;随后有研究通过脂质活化的 p38 信号通路激活 MITF 启动活化,从信号通路的交互作用证实了 MITF 功能状态在白癜风发病中的核心作用^[7]。另有研究应用 4-叔丁基苯酚 (4-TBP) 诱导黑素细胞的氧化应激反应,可引起 MITF 及其下游分子 TYRP1 的表达下降,推测白癜风的发病机制可能与 MITF 转录调控阻滞有关^[8,9]。

本研究显示,正常人黑素细胞具有显著表达的 MITF、TYR、TYRP1 和 TYRP2;在 MITF 基因沉默后,其转录调控分子 TYR 和 TYRP1 下调,提示 MITF 对 TYR 和 TYRP1 具有正向调节作用;而 TYRP2 表达显著上调,推测 MITF 不是唯一参与 TYRP2 的主要信号分子,即 TYRP2 可能存在不依赖于 MITF 的转录调控机制,或者 MITF 对 TYRP2 是一种负调控作用。国外也有研究发现,TYRP2 除了作为多巴胺色素互变异构酶参与黑素合成外,还可降低黑素瘤对化疗药物、X 线及紫外线辐射的敏感性,这一作用不依赖于 TYR 和 TYRP1 的表达及黑素的含量,TYRP2 调节药物反应的途径似乎不仅局限于黑素细胞,至少有时是完全独立于黑素合成途径之外的,但其发挥作用的具体机制仍不清楚^[10]。因此,进一步研究有必要针对 TYRP2 的调控机制,寻找影响 TYRP2 表达的特异性操纵基因结合位点,从而为研究黑素细胞生物学功能及白癜风发病机制等方面,提供更多参考。

参考文献

- Steingrímsson E, Copeland NG, Jenkins NA. Melanocytes and the microphthalmia transcription factor network [J]. Annu Rev Genet, 2004, 38:365-411
- Moore KJ. Insight into the microphthalmia gene [J]. Trends Genet, 1995, 11(11):442-448
- 王平,洪为松,章莉,等. 白癜风黑素细胞超微结构及小眼畸形相关转录因子转录调控研究 [J]. 中华皮肤科杂志, 2010, 43(7):37-40
- Wan P, Hu Y, He L. Regulation of melanocyte pivotal transcription factor MITF by some other transcription factors [J]. Mol Cell Bio-

- chem, 2011, 354(1-2):241-246
- 5 Kitamura R, Tsukamoto K, Harada K, *et al.* Mechanisms underlying the dysfunction of melanocytes in vitiligo epidermis: role of SCF/KIT protein interactions and the downstream effector, MITF - M [J]. J Pathol, 2004, 202(4):463-475
- 6 Kingo K, Aunin E, Karelson M, *et al.* Expressional changes in the intracellular melanogenesis pathways and their possible role in the pathogenesis of vitiligo [J]. J Dermatol Sci, 2008, 52:39-46
- 7 Saha B, Singh SK, Sarkar C, *et al.* Activation of the Mitf promoter by lipid-stimulated activation of p38 - stress signalling to CREB [J]. Pigment Cell Res, 2006, 19(6):595-605
- 8 Manga P, Sheyn D, Yang F, Sarangarajan R, *et al.* A role for tyrosinase-related protein 1 in 4-tert-butylphenol-induced toxicity in melanocytes: implications for vitiligo [J]. Am J Pathol, 2006, 169:1652-1662
- 9 Liu F, Fu Y, Meyskens FL Jr. Mitf regulates cellular response to reactive oxygen species through transcriptional regulation of APE-1/Ref-1 [J]. J Invest Dermatol, 2009, 129:422-431
- 10 Quentin M, Stephane C, Jean-Philippe B, *et al.* TRP-2 specifically decreases WM35 cell sensitivity to oxidative stress [J]. Free Radic Biol Med, 2008, 44(6):1023-1031

(收稿日期:2012-07-18)

(修回日期:2012-09-12)

非酒精性脂肪性肝炎患者肿瘤坏死因子- α 的变化及祛湿化痰方干预作用

李红山 冯 琴 应 豪 朱德东 李德周 傅琪琳

摘 要 **目的** 研究血清肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor - α , TNF - α) 在非酒精性脂肪性肝炎患者中的意义及祛湿化痰方的干预作用。**方法** 选择非酒精性脂肪性肝炎患者 164 例, 随机分为两组, 其中祛湿化痰方组 82 例, 西药对照组 (多烯磷脂酰胆碱胶囊组) 82 例, 疗程均为 24 周, 并以 30 例健康体检者作为对照。观察祛湿化痰方组和西药对照组患者治疗前血清 TNF - α 含量较之正常对照组的变化, 并动态观察两组患者治疗前后血清 TNF - α 含量的变化, 通过血清 TNF - α 含量与 ALT、AST 活性及部分患者肝/脾 CT 值的相关分析探讨血清 TNF - α 在非酒精性脂肪性肝炎患者中的价值和意义。**结果** 祛湿化痰方组和西药对照组患者治疗前血清 TNF - α 含量较正常对照组均明显升高 ($P < 0.01$)。祛湿化痰方组治疗第 12 周时血清 TNF - α 含量即较治疗前明显降低 ($P < 0.01$), 第 24 周时进一步降低 ($P < 0.01$), 呈现一定的时间依赖性。西药对照组治疗第 12 周时血清 TNF - α 含量较治疗前无明显变化 ($P > 0.05$), 第 24 周时明显降低 ($P < 0.01$)。祛湿化痰方组治疗第 12 周和 24 周时血清 TNF - α 含量均明显低于西药对照组 ($P < 0.01$)。血清 TNF - α 含量与血清 ALT、AST 活性呈显著正相关, 而与肝/脾 CT 值则无明显相关性。**结论** ①非酒精性脂肪性肝炎患者血清 TNF - α 含量明显升高, 在非酒精性脂肪性肝炎发病中具有重要意义; ②祛湿化痰方能明显降低非酒精性脂肪性肝炎患者血清 TNF - α 含量, 且呈现一定的时间依赖性。

关键词 非酒精性脂肪性肝炎 肿瘤坏死因子- α 动态变化 祛湿化痰方

Changes of Tumor Necrosis Factor - α in Patients with Non - alcoholic Steatohepatitis and Its Intervention by Qushi Huayu Decoction. Li Hongshan, Feng Qin, Ying Hao, Zhu Dedong, Li Dezhou, Fu Qilin. Ningbo Number 2 Hospital, Zhejiang 315000, China

Abstract Objective To investigate the significance of tumor necrosis factor - α (TNF - α) in patients with non - alcoholic steatohepatitis and its intervention by Qushi Huayu Decoction. **Methods** Totally 184 patients with non - alcoholic steatohepatitis were randomized into Qushi Huayu Decoction group (82 cases) and comparison group (Polyene phosphatidyl choline group, 82 cases). The course of treatment was 24 weeks. And 30 healthy persons were used as controls. The changes of serum tumor necrosis factor - α content in the Qushi Huayu Decoction and comparison group patients before treatment were observed and compared to the normal control group. And changes in serum TNF - α content of the two groups patients before and after treatment were dynamic observed. The value and significance of serum TNF - α in patients with non - alcoholic steatohepatitis was studied through correlation analysis of serum TNF - α content, serum ALT, AST activity and liver/spleen CT value. **Results** Serum TNF - α content of patients in the Qushi Huayu Decoction group and comparison group before treatment were significantly increased compared to the normal control group ($P < 0.01$). The serum TNF - α content

基金项目:浙江省中医药科技计划项目(2009YA019)

作者单位:315000 浙江省宁波市第二医院肝炎科(李红山、应豪、朱德东、李德周);201203 上海中医药大学肝病研究所(冯琴、傅琪琳)