

排列,细胞核增大,异型性或大或小,高级别的前列腺腺癌核仁及核分裂象较常见,癌组织向周围间质浸润性生长,远处易转移至骨组织。

3. 诊断及鉴别诊断:目前诊断膀胱尿路上皮癌并不困难,膀胱镜活检即可诊断,但对伴发前列腺腺癌尤其是偶发前列腺腺癌的检出率不高。国内文献报道膀胱前列腺全切标本的前列腺腺癌检出率为13.6%^[7]。国外文献报道膀胱前列腺全切标本的前列腺腺癌检出率为12.3%。为防止漏诊,当发现膀胱尿路上皮癌时,应常规检查前列腺B超及血清PSA,对可疑患者可行穿刺活检^[8]。当发现前列腺腺癌时,也应常规做尿细胞学检查及膀胱镜检查,发现可疑病灶应取活检。有的患者是在其中一种癌的治疗过程中发现另一种癌,所以,对于前列腺腺癌或膀胱癌单发患者,也要密切随访,以便及时发现另一种癌。膀胱癌伴发前列腺腺癌需与膀胱癌浸润前列腺或前列腺腺癌累及膀胱鉴别。前者为双原发癌,病理类型不同,而后者膀胱与前列腺中的肿瘤成分病理类型相同,必要时可借助免疫组织化学鉴别。

4. 治疗及预后:根据患者年龄、肿瘤分级、分期情况,以提高患者生活质量,延长患者寿命为原则确定治疗方案^[9]。偶发性前列腺腺癌患者一般膀胱前列腺全切术后发现,应根据前列腺腺癌的Glenason评分采取治疗措施。若Glenason评分为2~4分(高分化),一般不必继续治疗前列腺腺癌,若Glenason评分为5~10分(中、低分化),应积极行前列腺根治术。如患者身体情况较差或发现盆腔淋巴结转移、骨转移,则不宜做前列腺根治术,应根据具体情况选择激素治疗、放疗、化疗和去势疗法等,膀胱前列腺共存癌

比单纯膀胱癌或前列腺腺癌5年存活率低^[7,10]。

参考文献

- Liedberg F, Chebil G, Mansson W. Urothelial carcinoma in the prostatic urethra and prostate: current controversies[J]. *Expert Rev Anticancer Ther*, 2007, 7(3): 383-390
- Tiwari P, Tripathi A, Bansal P, *et al*. Synchronous primary cancers of urinary bladder and kidney and prostate[J]. *Saudi J Kidney Dis Transpl*, 2012, 23(4): 786-789
- 赵园园, 张淑敏. 膀胱移行细胞癌伴发前列腺腺癌的临床与病理[J]. *中华泌尿外科杂志*, 2007, 28(7): 478-481
- Marcinkiewicz K, Scotland KB, Boorjian SA, *et al*. The androgen receptor and stem cell pathways in prostate and bladder cancers(review) [J]. *Int J Oncol*, 2012, 40(1): 5-12
- Mai KT, Nguyen B. Urothelial carcinoma and prostatic adenocarcinoma presenting as collision tumors[J]. *Can J Urol*, 2009, 16(5): 4850-4853
- Smith SG, Turner B, Pati J, *et al*. Psychological impairment in patients urgently referred for prostate and bladder cancer investigations: the role of trait emotional intelligence and perceived social support [J]. *Support Care Cancer*, 2012, 20(4): 699-704
- 夏同礼. 膀胱癌与前列腺癌共存三例[J]. *中华外科杂志*, 2003, 41(6): 410
- Kurahashi T, Miyake H, FuruKawa J, *et al*. Characterization of prostate cancer incidentally detected in radical cystoprostatectomy specimens from Japanese men with bladder cancer[J]. *Int Urol Nephrol*, 2010, 42(1): 73-79
- 姚海军, 蒋跃庆, 任晓敏, 等. 膀胱移行细胞癌伴前列腺腺癌的诊治与治疗(附6例报告)[J]. *老年医学与保健*, 2010, 16(4): 204-207
- 郭宗华, 孙光, 刘晓强, 等. 膀胱前列腺共存肿瘤的诊断和治疗(附14例报告)[J]. *临床泌尿外科杂志*, 2011, 26(1): 4-6

(收稿日期:2012-09-20)

(修回日期:2012-09-29)

慢性乙肝患者外周血树突状细胞亚群检测及其临床意义

杨祥康 王晔恺 陈 萍 沈忠海

摘 要 目的 探讨慢性乙肝病毒(HBV)感染患者外周血中树突状细胞(DC)亚群比例及其临床意义。**方法** 选取2011年3~11月笔者医院慢性HBV感染患者29例,分为HBeAg(-)组13例、HBeAg(+)16例,以18名健康体检者作为对照。流式细胞术检测髓样DC(mDC)和浆细胞样DC(pDC)比例,实时荧光定量PCR检测HBV-DNA。**结果** 对照组、HBeAg(-)组、HBeAg(+)组中pDC比例分别为0.35%(0.18%~0.37%)、0.19%(0.10%~0.25%)、0.06%(0.02%~0.08%),差异两两之

间均具有统计学意义($P < 0.05$)。HBV 感染者的 HBV - DNA 复制数的常用对数和外周血 pDC 存在显著负相关($r^2 = 0.448, P < 0.01$)。结论 慢性 HBV 感染患者患者外周血 pDC 的减少可能和病毒载量及 HBeAg 转换有关。

关键词 乙型肝炎病毒 树突状细胞 流式细胞术

Analysis and Clinical Significance of Dendritic Cells Subsets Detection in Peripheral Blood of Patients with HBV Chronic Infection. Yang Xiangkang, Wang Yekai, Chen Ping, Shen Zhonghai. Zhoushan Maternal and Child Health Hospital, Zhejiang 316004, China

Abstract Objective To investigate the clinical significance of dendritic cells subsets detection in peripheral blood of patients with HBV chronic infection. **Methods** 29 patients with HBV chronic infection from March 2011 to November 2011 were selected, including 13 patients with HBeAg - negative and 16 patients with HBeAg - positive. 18 healthy people were set as the normal control. The rates of myeloid DC (mDC) and plasmacytoid DC (pDC) were detected by flow cytometry. The HBV - DNA loads were detected by real - time quantitative polymerase chain reaction (RT - PCR). **Results** The rates of pDC in control group 0.35% (0.18% - 0.37%), HBeAg - Negative group 0.19% (0.10% - 0.25%) and HBeAg - positive group 0.06% (0.02% - 0.08%) were significantly different from each other ($P < 0.05$). There was a significant negative correlation between lg of HBV - DNA copies and rates of pDC ($r^2 = 0.448, P < 0.01$). **Conclusion** The reduction of pDC rates in patients with HBV chronic infection is associated with HBV - DNA load and HBeAg conversion.

Key words HBV; Dendritic cells; Flow cytometry

乙型肝炎病毒 (hepatitis B virus, HBV) 是一种嗜肝性病毒,具有很高的复制率,常引起机体慢性感染。目前有报道显示 HBV 感染人体后,由于体内的抗原递呈细胞 (antigen - presenting cell, APC) 无法正常发挥作用,尤其是树突状细胞 (dendritic cells, DC) 数量减少及功能缺陷,不能有效地将抗原信号递呈给免疫系统,使得机体不能有效地发挥免疫清除作用^[1]。本研究通过检测慢性 HBV 感染患者的外周血 DC 亚群包括髓样 DC (mDC, DC₁) 和浆细胞样 DC (pDC, DC₂),明确 DC 亚群变化在 HBV 慢性感染进程中的临床意义。

资料与方法

1. 研究对象:从 2011 年 3 ~ 11 月笔者医院住院和门诊慢性 HBV 感染患者 29 例,均未接受过抗病毒治疗。诊断符合中华医学会肝病分会的《慢性乙型肝炎诊断标准 (2010 年版)》^[2],男性 16 例,女性 13 例,年龄 31.4 ± 9.2 岁,HBeAg 阳性慢性 HBV 感染患者 (HBsAg、HBeAg、抗 HBeAg 阳性) 13 例,HBeAg 阴性慢性 HBV 感染患者 (HBsAg、抗 HBeAg、抗 HBeAg 阳性) 16 例,已排除心、脑、肾、血液、内分泌等系统疾病。同时选取健康体检者 18 名作为对照。清晨空腹抽取外周血 2ml,以枸橼酸钠抗凝送检。仪器和试剂 HBV 固相放射免疫定量试剂盒为雅培公司,HBV - DNA 扩增/试剂盒为上海申友,CD3 - FITC、CD14 - FITC、CD16 - FITC、CD19 - FITC、CD20 - FITC、CD56 - FITC、CD123 - PE、HLA - DR - PerCP、CD11c - APC 均购自美国 BD 公司,溶血剂为美国 BD FACS Lysing Solution。流式细胞仪为 BD FACSCalibur,荧光 PCR 仪为 ABI 3700,I - 2000 全自动免疫发光分析仪为美国雅培公司。

2. HBV - DNA 检测:取 50 μ l 浓缩液加入离心管,再加入 50 μ l 待测血清标本,震荡混匀后 4 $^{\circ}$ C 静置 5min,15000r/min 离心 10min,吸弃上清,加入 40 μ l 裂解液,剧烈震荡或用枪头搅

碎至无沉淀后短暂离心,沸水浴 10min,15000r/min 离心 5min,取上清液备用。取模板 4 μ l,每孔加 Taq 酶和 UNG 酶 1 μ l,PCR 反应液 (包含引物、探针、dNTPs) 20 μ l,总体积 25 μ l 进行 PCR 反应,反应条件为 42 $^{\circ}$ C 5min;94 $^{\circ}$ C 5min;94 $^{\circ}$ C 7min,60 $^{\circ}$ C 50s,45 个循环;37 $^{\circ}$ C 10min。荧光收集信号为每循环第 2 步 60 $^{\circ}$ C。反应完毕读取 Ct 值,参照标准品计算复制数。

3. HBV5 项检测检测:取 150 μ l 血清加入测试杯,置于雅培 i2000 免疫发光仪上检测 HBsAg、抗 HBsAg、HBeAg、抗 HBeAg、抗 HBeAg。

4. DC 流式检测:将同为 FITC 的 CD3、CD14、CD16、CD19、CD20、CD56 作为系列特异性标记 (Lin),以 Lin⁻ HLA - DR⁺ 设门,mDC 和 pDC 分别为 HLA - DR⁺ CD11c⁺ 和 HLA - DR⁺ CD123⁺。

5. 统计学方法:使用 SPSS 13.0 软件,所有数据均做 Kolmogorov - Smirnov 正态性检验, $P < 0.05$ 说明样本总体符合偏态分布,采用中位数 (四分位间距) [M (Q)] 形式表示;3 组偏态数据间比较先做 Kruskal - Wallis 法的非参数检验,若 $P < 0.05$,则用 Bonferroni 法校正 P 值 (校正后的检验水准为 $\alpha = 0.017$),两两间做 Wilcoxon 检验,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。对 HBV - DNA 的复制数的常用对数和外周血 pDC、mDC 比例做线性相关分析,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

1. 慢性 HBV 感染患者中 DC 亚群比较:对照组、HBeAg (-) 组、HBeAg (+) 组中 pDC 比例分别为 0.35% (0.18% ~ 0.37%)、0.19% (0.10% ~ 0.25%)、0.06% (0.02% ~ 0.08%),差异两两之间均具有统计学意义 ($P < 0.05$)。对照组、HBeAg (-) 组、HBeAg (+) 组中 mDC 比例分别为 0.29% (0.20% ~ 0.36%)、0.26% (0.18% ~ 0.29%)、0.33% (0.21% ~ 0.39%),差异两两之间均具有统计学意义 ($P < 0.05$) (图 1、图 2)。

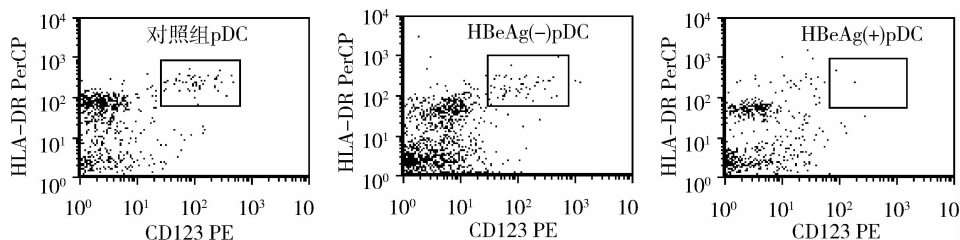


图1 3组患者间pDC(CD123⁺HLA-DR⁺)细胞流式图

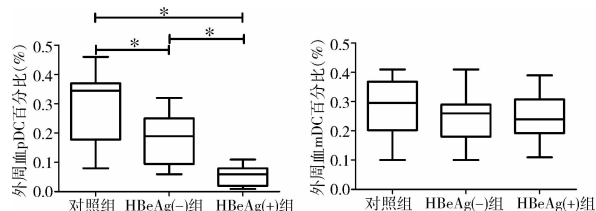


图2 3组患者间pDC、mDC比例比较

* $P < 0.017$

2. pDC、mDC 和 HBV - DNA 复制数的相关性分析: 29 例慢性 HBV 感染者的 HBV - DNA 复制数的常用对数和外周血 pDC 存在显著负相关 ($r^2 = 0.448$, $P < 0.01$), 和 mDC 无显著相关。mDC 比例做线性相关分析 ($P > 0.05$) (图 3)。

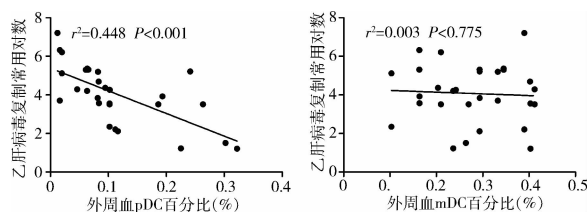


图3 29例慢性HBV感染者HBV-DNA复制数常用对数和外周血pDC、mDC相关性分析

讨 论

DC 均起源于多能造血干细胞, 可由淋巴样干细胞和骨髓髓样干细胞分化而来, 分别称作 pDC 和 mDC, 其典型表型分别为 CD14⁻CD11c⁻CD123⁺ 和 CD14⁺CD11c⁺CD1⁻ (或 CD14⁻CD11⁺CD1⁺)^[3]。DC 具有抗原递呈、激活初始 T 细胞、参与 T 细胞分化、诱导免疫耐受等功能。病毒进入体内首先遭遇未成熟 DC, 使其从组织局部向外周淋巴器官迁移, 迁移过程中, 未成熟 DC 逐渐成熟, 其抗原摄取能力下降而抗原递呈并刺激 T 细胞活化能力逐渐增强^[4]。本研究可见慢性 HBV 感染患者 pDC 存在显著下降, 尤其是 HBeAg(+) 组患者下降更为明显, 但 3 组患者间 mDC 差异不明显, 这说明 pDC 比 mDC 更易受到 HBV 的影响从而引起其增殖和数量上的异常, 和有

关报道基本相符^[5]。除了数量上的异常, 有报道还显示慢性 HBV 感染者 DC 存在功能上的异常, 主要表现为功能缺陷及表型不成熟, 可能导致 DC 不能有效递呈 HBV 抗原^[6]。如有学者将 pc-DNA3-HBV 载体转染 DC 细胞, 发现 CD80、NF- κ B 表达率和平均荧光强度都较正常降低^[7]。

此外有学者认为 HBV 感染除了引起 DC 数量和质量上的异常以外, 还通过在 DC 内复制, 成为肝外繁殖的场所, 加重感染的程度^[7]。本研究发现, 外周血 pDC 和 HBV - DNA 复制数的常用对数存在显著负相关, 但 mDC 并不明显, 和董加秀等^[8]的结果基本一致。这些结果提示临床上 pDC 比例检测有助于 HBeAg 转阴的预测, 对临床抗乙肝药物的使用也有着重要参考意义^[9]。但是和 HBV - DNA 等经典指标相比尚存在以下不足: 首先外周血 pDC 检测缺乏标准化的设门方法, 检测结果受检测仪器参数影响过大, 不如荧光定量 PCR 稳定, 其次目前公认的乙肝停药指标为 HBV - DNA 复制数 $< 10^3$, 而 pDC 对于临床乙肝药物及免疫调节剂的使用参考范围尚需做进一步大样本的观察。但是就目前来看, pDC 和 HBV - DNA 两项指标联用能比单项指标更贴切反映 HBV 复制情况, 有助于临床对体内 HBV 活跃度的判断。

参考文献

- Jan RH, Lin YL, Chen LK, *et al.* Hepatitis B virus surface antigen can activate dendritic cells and modulate T helper type immune response [J]. *Microbiol Immunol*, 2011, 55(1): 51 - 59
- 中华医学会肝病学分会, 中华医学会感染病学分会. 慢性乙型肝炎诊断标准 (2010 年版) [J]. *中西医结合肝病杂志*, 2011, 21(2): 121 - 122
- Butcher MJ, Herre M, Ley K, *et al.* Flow cytometry analysis of immune cells within murine aortas [J]. *J Vis Exp*, 2011(53): 2848
- Lubbert M, Minden M. Decitabine in acute myeloid leukemia [J]. *Semin Hematol*, 2005, 42(Suppl 2): S38 - 42
- Beckebaum S, Cicinnati VR, Dworacki G, *et al.* Reduction in the circulating pDC1/pDC2 ratio and impaired function of ex vivo-generated DC1 in chronic hepatitis B infection [J]. *Clin Immunol*, 2002, 104(2): 138 - 150

- 6 Manickam A, Sivanandham M. Mycobacterium bovis BCG and purified protein derivative - induced reduction in the CD80 expression and the antigen up - take function of dendritic cells from patients with cervical cancer[J]. Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol, 2011, 159(2): 413 - 417
- 7 高立芬, 孙汶生, 马春红, 等. pcDNA3 - HBV 瞬时转染对树突状细胞的影响[J]. 山东大学学报: 医学版, 2007, 45(4): 325 - 328
- 8 董加秀, 赵守松, 高继君, 等. 慢性乙型肝炎感染者外周血树突状细胞亚群与血清 HBVDNA 的关系研究[J]. 临床肝胆病杂志, 2009, 25(3): 167 - 170
- 9 彭建平, 孙克伟, 伍玉南. 慢性乙型肝炎患者树突状细胞诱导的 HBV 特异性细胞毒性 T 细胞 PD - 1 的表达[J]. 临床肝胆病杂志, 2012, 28(12): 926 - 929 (收稿日期: 2012 - 07 - 17) (修回日期: 2012 - 10 - 08)

计算机图像分析行肾结晶评分的可行性研究

卢 锋 张士青 谭桂梗

摘 要 **目的** 探索计算机图像软件 Image - Pro. Plus(IPP)在肾结晶评分中的可行性。**方法** 对 Olympus IX - 51 显微镜获取的 4 组 40 张 HE 染色的肾切片图像用 IPP 进行结晶物理参数测量, 筛选出最佳参数, 并与结晶的人工镜下直接评分进行稳定性和可靠性的比照。**结果** 结晶面积是 IPP 测量的最佳参数, 可实现结晶评分的无级量化, 稳定性和可靠性均优于人工分级评分法。**结论** IPP 结晶评分具有良好的精确性、可靠性及稳定性, 尤其适于批量处理。

关键词 IPP 结晶 评分 稳定性 重复性

Feasibility Calculating of the Renal Crystallization Score with Computer Image Analysis. Lu Feng, Zhang Shiqing, Tan Guigeng. Department of Urology, No. 3 people's Hospital Affiliated to Shanghai Jiaotong University School of Medicine, Shanghai 201900, China

Abstract Objective To study the feasibility of calculating the renal crystallization score with computer image analysis. **Methods** Forty HE staining slice were divided into four groups. Olympus - IX51 microscope was used to obtain these slices picture. These images were test with software IPP and the crystallization information of physical measurement parameter were obtained. The best score parameter were filter out and stability and reliability compared were with artificial direct endoscopic score of crystallization. **Results** Area of crystallization was the best parameter in the measurement of software IPP. IPP crystallization score could obtain the parameter information of crystallization full quantitatively and its stability and reliability were much better than artificial grading score. **Conclusion** IPP crystallization score has good accuracy, reliability and stability, which is especially suitable for the crystallization of the score batch processing.

Key words IPP; Crystallization; Score; Stability; Repeatability

目前在肾结石的动物实验研究中, 肾结石形成程度的量化评估, 是由研究者在光学显微镜下观察肾脏 HE 染色切片中的结晶情况, 并按评分标准作出评分。国内外研究者采用的评分标准各不相同, 但都属于半定量的分级评分法, 其特点是定量精度差, 分级时评分者的主观性较大, 对同一批切片, 不同评分者评分的一致性、同一评分者不同时间评分的一致性均较差, 因此, 可靠性和稳定性均不理想^[1-4]。要提高结晶评分的可靠性和稳定性, 就必须在评分时避免人为主观因素的介入。采用计算机图像分析软件进行结晶情况的客观测量可能是实现评分的精确化、客观

化和全量化的理想方向。为此, 我们采用计算机图像分析软件 Image - Pro. Plus, 对肾草酸钙结石模型大鼠的肾脏 HE 染色切片进行数据分析处理, 研究其对结晶情况进行精确、客观、定量测评的可行性、可靠性和稳定性。

材料与方法

1. 材料: (1) 计算机图像分析软件: Image - Pro. Plus (简称 IPP) 6.0, 购自 Media Cybernetics 公司。(2) 分析图像: 40 张 Wistar 大鼠肾 HE 染色切片, 其中有空白对照组、单纯 1% 乙二醇诱石组、诱石 + 干预剂 A 组、诱石 + 干预剂 B 组各 10 张, 每组 5 只大鼠。由研究人员在放大 200 倍的 Olympus IX - 51 光学显微镜下逐一观察, 在每一张切片中, 选择 1 个结晶分布最集中、数量最多的视野作为代表性视野, 摄取数码照片, 共 40 张。

2. 方法: (1) 结晶的人工评分: 按盲法要求, 对 40 张切片照片进行随机编号, 由本课题组的 2 位研究人员分别观察每

作者单位: 201900 上海交通大学医学院附属第三人民医院泌尿外科

通讯作者: 张士青, 硕士生导师, 电子信箱: uclazsq@163.com