

3 讨论

组织黏合剂 Histoacryl(德国产)化名学 N- 丁基 -2- 氰丙烯酸盐, 是一种水样固化物, 与血液接触数秒钟后即产生聚合固化. 经内镜注射入曲张静脉, 可有效地闭塞血管和控制曲张静脉出血. 吴云林 et al 曾对 10 例食管或胃静脉曲张出血三腔管压迫无效者, 行紧急洗胃后注射 Histoacryl 均获成功止血, 且无严重并发症^[2]. 本组治疗 22 例, 急诊止血率为 100 % (22/22), 与国外文献^[3]报道相仿. 止血时间平均 3.8 h, 止血迅速, 减少了失血量; 再出血率低 4.5 % (1/22), 从而大大降低了手术率及死亡率. 本组 Histoacryl 注射治疗后有 3 例患者诉胸骨后或剑突下疼痛, 但可耐受, 无需特殊处理; 1 例注射止血后腹水较前明显增多, 原因不明; 1 例出现低热, 2 d 后消失; 由于 Histoacryl 快速固化, 未发生类似硬化剂注射治疗后针孔渗血不止现象. 文献报道, Histoacryl 联用碘化油注射后曾即时产生脑动脉卒中以及其他并发症^[3]. 本组治疗未出现类似的严重并发症, 可能采用改良的“三明治”法^[2]及注意排除注射导管中的空气有助于减少栓

塞并发症. 彻底洗胃并保持视野清晰、准确穿刺出血静脉是治疗成功的关键. 操作者与助手的配合也很重要, 这可以减少或避免并发症和不必要的器械损坏.

本研究表明, 内镜下 Histoacryl 注射治疗 GV 出血止血迅速、急诊止血率高、再出血率低、疗效确切、安全性高且患者耐受性好. 目前认为, 组织胶注射为胃底静脉曲张活动性出血治疗的首选方法, 而且是唯一可选择的有效治疗方法^[4]. 他以最小的创伤取得了明显的止血效果, 值得临床推广使用.

4 参考文献

- 1 中华消化内镜学会. 食管胃底静脉曲张内镜下诊断和治疗规范试行方案. 中华消化内镜杂志 2000;17:198-199
- 2 吴云林, 钟捷, 孙蕴伟, 马天乐, 蒋伟. 组织黏合剂 Histoacryl 治疗消化道急性出血. 中华消化内镜杂志 1998;15:90-91
- 3 Yamamoto M, Suzuki H. Endoscopic treatment for esophago-gastric varices current status in Japan. *Hepato Gastroenterol* 1997;44:637-648
- 4 李兆申, 许国铭. 食管静脉曲张出血介入的治疗. 新消化病学杂志 1996;4:573-574

肝病患者血清肿瘤坏死因子 α 水平变化

徐学刚, 张美稀, 董惠芳, 杨协珍, 金树根, 陈建杰, 王灵台

徐学刚, 启东市人民医院 江苏省启东市 226200
 张美稀, 平阳县中医院 浙江省平阳县 325400
 董惠芳, 杨协珍, 金树根, 陈建杰, 王灵台, 上海中医药大学附属曙光医院 上海市 200021
 项目负责人: 徐学刚, 226200, 江苏省启东市人民医院.
 电话: 0513-3315686
 收稿日期: 2002-11-14 接受日期: 2002-12-07

结论: 血清 TNF α 在肝病的诊治应用意义有限, 主要反映受内毒素等毒素刺激网状内皮系统致其激活的程度, 不宜应用于肝损伤程度和治疗效果的评定.

徐学刚, 张美稀, 董惠芳, 杨协珍, 金树根, 陈建杰, 王灵台. 肝病患者血清肿瘤坏死因子 α 水平变化. 世界华人消化杂志 2003;11(6):856-858
<http://www.wjgnet.com/1009-3079/11/856.asp>

摘要

目的: 通过观察肝病患者血清肿瘤坏死因子 α 变化来分析其在肝脏损伤诊治应用中的临床意义

方法: 采用 ELISA 法来检测肝病患者血清肿瘤坏死因子 α 水平.

结果: 肝病患者血清 TNF α 水平上升, 而以伴细菌感染的失代偿期肝硬化患者上升最为显著. 相关分析发现, 血清 TNF α 上升与急性肝损伤 (ALT、AST、AKP、GGT) 指标无明显相关性, 与免疫细胞激活和慢性炎症指标 (PBMC 活化、γ 球蛋白、IgG、IgA、CIC) 和肝纤维化 (HA) 及肝再生 (AFP) 正相关, 而与肝合成指标 (白蛋白、前白蛋白、总胆固醇、甘油三酯、载脂蛋白 E) 和血象 (粒细胞、红细胞、血小板) 和免疫应激 / 消耗指标 (淋巴细胞 CD4+CD28+、α 2 球蛋白、β 球蛋白、补体 C3) 负相关.

0 引言

肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α, TNF α) 最早认为是单核巨噬细胞产生的一炎性细胞因子, 因与肿瘤患者消瘦密切相关, 以前曾被作为恶液质 (cachexia) 因子. TNF α 通过其胞膜受体 TNF α R I 和 TNF α R II 发挥其生物学效应. 既往大量临床和实验研究表明, 肝炎等肝脏疾病患者肝内有大量 TNF α 产生并参与肝损伤的病理发生发展, 与肝炎和肝硬化及肝癌发生发展密切相关^[1-6]. 为明确 TNF α 在不同类型肝脏疾病中的病理作用, 为防治与 TNF α 密切相关肝损伤的治疗策略的制订提供合适的诊断和治疗效果评判用指标, 我们采用 ELISA 法检测了 50 例肝病患者外周血浆肿瘤坏死因子 α 水平, 兹报告如下并就此临床意义予以评价.

1 材料和方法

1.1 材料 本院肝科门诊和住院肝病患者 48 例, 男 35 例, 女 13 例, 年龄 27-73(37 ± 22)岁, 其中急性肝炎 8 例, 慢性乙型肝炎活动期 12 例, 慢性乙型肝炎静止/缓解期 11 例, 肝炎后肝硬化活动期 11 例, 恶性肿瘤 6 例(原发性肝癌 3 例, 胃肠肿瘤肝转移 3 例); 对照组 8 例, 男 5 例, 女 3 例, 年龄 25-54(36 ± 19)岁, 系来院门诊体检并排除心、肝、肾等重大疾患的正常健康人。

1.2 方法 (1)常规肝科检测项目:包括血常规、肝功能、免疫球蛋白、补体、血脂、透明质酸(HA)和 TNF α 等, 其中 TNF α 采用 ELISA 法, 试剂盒采用博力公司提供的(美国 RND SYSTEMS)进口分装试剂盒; (2)血液外周血单个核细胞胞膜 CDs 的流式细胞仪检测: 包括 CD4

(FITC)、CD8(FITC)、CD28(PE)、CD25(FITC)、CD45RA(FITC)、CD45RO(FITC)单染法测定, 采用美国 COULTER 公司的流式细胞仪(EPICS-XL 型)和专供荧光标记小鼠抗人 CDs 流式仪检测试剂(其中检测 CD3、CD4、CD8、CD25、CD28、CD45RA、CD45RO 小鼠单抗克隆号分别是 UCHT1、13B8.2、B9.11、B1.49.9、CD28.8、ALB11、UCH1), 由专人进行外周血单个核细胞胞膜 CDs 检测。

统计学处理 数据采用微机全部输入 SPSS 数据库, 计量资料齐性检验后进行方差分析和两两比较及相关性分析。

2 结果

2.1 肝病患者血清 TNF α 水平变化 见表 1

表 1 肝病患者血清 TNF α 水平变化($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

	急性肝炎	活动期慢乙肝	静止期慢乙肝	活动期肝硬化	原发性肝癌	对照组
TNF α	9.7 ± 5.66 ^a	19.3 ± 21.02 ^a	12.2 ± 1.15 ^a	393.3 ± 319.52	17.4 ± 14.76 ^a	6.2 ± 3.21 ^a

^aP < 0.01 vs 活动期肝硬化, 其中活动性肝硬化组中伴明显细菌感染者其血清 TNF α 均 > 500 pg/ml。

2.2 活动期肝硬化血清 TNF α 水平变化的特异性分析 见表 2。

表 2 活动期肝硬化血清 TNF α 水平变化的特异性分析

组别与项目	活动期肝硬化特异性
血清 TNF α =>50 pg/ml	87.5 %
血清 TNF α =>100 pg/ml	100 %

2.3 与血清 TNF α 水平变化与正相关的有关指标 包括 γ 球蛋白(γ-gobulin R = 0.700, P < 0.01)、淋巴细胞 CD4+(R = 0.250, P < 0.05)、单核细胞 CD4+(R = 0.490, P < 0.01)、单核细胞 CD8+(R = 0.534, P < 0.01)、粒细胞 CD8+(R = 0.443, P < 0.02)、淋巴细胞 CD45RA(R = 0.247, P < 0.05)、单核细胞 CD45RA+(R = 0.549, P < 0.01)、单核细胞 CD45RO+(R = 0.517, P < 0.01)、粒细胞 CD25+(R = 0.319, P < 0.05)、CD45Ra/CD45RO(R = 0.251, P < 0.05)、淋巴细胞(R = 0.401, P < 0.01)、IgG(R = 0.469, P < 0.01)、IgA(R = 0.441, P < 0.01)、CIC(R = 0.407, P = 0.05)、透明质酸(HA, R = 0.343, P < 0.05)、甲胎蛋白(AFP, R = 0.798, P < 0.01)等。

2.4 与血清 TNF α 水平变化负相关的有关指标 包括白蛋白(Albumin, R = -0.574, P < 0.01)、前白蛋白(PA, R = -0.237, P < 0.05)、α 2 球蛋白(α 2-gobulin, R = -0.459, P < 0.05)、β 球蛋白(β-gobulin, R = -0.341, P > 0.05)、淋巴细胞 CD4+CD28+(R = -0.553, P < 0.01)、粒细胞(G, R = -0.385, P < 0.01)、红细胞(RBC, R = -0.655, P < 0.01)、血小板(PLT, R = -0.651, P < 0.01)、补体 C3(C3, R = -0.451, P < 0.01)、总胆固醇(T chol, R = -0.356, P > 0.05)、

甘油三酯(TG, R = -0.348, P > 0.05)、载脂蛋白 E(APOE, R = -0.544, P < 0.01)等。

3 讨论

我们采用 ELISA 法检测血清 TNF α, 发现肝病患者血清 TNF α 水平上升, 而以伴细菌感染的失代偿期肝硬化患者上升最为显著。相关分析发现, 血清 TNF α 上升与急性肝损伤(ALT、AST、AKP、GGT)指标无明显相关性, 与免疫细胞激活和慢性炎症指标(PBMC 活化、γ 球蛋白、IgG、IgA、CIC)和肝纤维化(HA)及肝再生(AFP)正相关, 而与肝合成指标(白蛋白、前白蛋白、总胆固醇、甘油三酯、载脂蛋白 E)和血象(粒细胞、红细胞、血小板)和免疫应激/消耗指标(淋巴细胞 CD4+CD28+、α 2 球蛋白、β 球蛋白、补体 C3)负相关。

既往大量研究结果表明, 肝脏疾病时多伴有外周血液中 TNF α 水平的升高, 与肝脏炎症活动尤其内毒素血症密切相关^[7]。虽然最近有研究发现 T 淋巴细胞如 CD4+ 和 CD8+CTL 及 HBx 蛋白诱导的肝细胞均亦产生 TNF α, 我们的检测结果发现只有伴有细菌感染的失代偿期肝硬化患者上升最为显著, 说明内毒素刺激单核巨噬细胞致 TNF α 大量释放入血是血清 TNF α 上升的主要原因^[8,9]。

血清 TNF α 变化与急性肝损伤指标无明显相关性的原因, 我们认为与可溶性(soluble)TNF α (sTNF α)相比, 膜型 TNF α (membrane-type TNF α, mtTNF α)或与 TNF 家族成员中其他成分如 FAS、CD40-L、TRAIL 等与肝损伤关系更密切^[10], 此一现象在动物实验中免疫性肝损伤的治疗干预中肝损伤改善时而血清 TNF α 不显改善所证实^[11], 而阻止 mtTNF α 向 sTNF α 转化的金属蛋白

酶抑制剂在有效降低血清 TNF α 水平同时却加重肝损伤^[12], 更说明肝内 mtTNF α 增加才是肝损伤的主要原因, 而 TNF α 拮抗剂对急性移植物抗宿主病防治效果不如其对慢性移植物抗宿主病的防治效果^[13,14], TNF α 对实验性肿瘤的促进作用等现象均进一步表明 TNF α 在慢性组织病变尤其是癌变过程中有促进作用^[15-18], 更进一步证实血清 TNF α 不是一个良好的反映肝损伤指标. 虽然阻抑 mtTNF α 向 sTNF α 转化的药物干预不利于肝损伤, 但阻抑 mtTNF α 表达的治疗方法能有效地防治重症肝衰竭而降低其死亡率^[19-21].

血清 TNF α 与慢性炎症中的纤维化及再生等有关指标的良好相关性, 说明 TNF α 参与慢性炎症中纤维化和再生事件过程, 因而阻抑 mtTNF α 表达或 TNFR 表达(即拮抗 TNF α 效应)的药物如酞胺哌啶酮(沙利度胺, thalidomide)、糖皮质激素(glucocorticoids)、己酮可可碱(pentoxifylline, PTX)、秋水仙碱(colchicine)、 β 受体阻滞剂(β receptor blocker)、山莨菪碱(654-2)、腺苷(adenosine)及各种天然和合成抗氧化剂(antioxidants)等均有助于肝脏等慢性组织病变如肝纤维化、门脉高压、肝硬化、肝癌的防治, 目前已有大量实验研究证实阻抑 TNF α 表达或拮抗 TNF α 效应能有效防治肝纤维化和门脉高压及肝癌^[21-24], 而免疫治疗肝纤维化病变致血清 TNF α 升高, 再次说明血清 TNF α 不是一个良好的反映肝损伤指标^[25]. 因此我们认为血清 TNF α 在肝病的诊治应用意义有限, 主要反映网状内皮系统受内毒素(及外毒素?)等刺激, 用于肝损伤程度和治疗效果的评定似欠妥当.

4 参考文献

- 1 杨镇, 刘能银, 李大鹏, 裘法祖. 四氯化碳、血吸虫病和肝炎病毒所致的肝细胞死亡的模式. 同济医科大学学报 1999;28:313-316
- 2 杨镇, 刘仁则, 杨裕光, 蔡红娇. 肿瘤坏死因子 α 在急性血吸虫病小鼠肝脏表达的免疫组化观察. 中华实验外科杂志 1996;13:131-132
- 3 王新, 陈岳祥, 许才斌, 赵国宁, 黄裕新, 王庆莉. 肿瘤坏死因子 α 与人肝纤维化关系的研究. 华人消化杂志 1998;6:106-108
- 4 唐望先, 杜荔青, 张文英, 陈春莲. 大部分肝切除后肝再生中 TNF α 、IL-6 作用的研究. 中国组织化学与细胞化学杂志 1998;7:306-309
- 5 太光平, 汪仕良, 王裴, 陈渝, 刘昕, 王桂珍, 章波, 黎鳌. IL-10 基因转染对小鼠炎症递质产生的抑制作用. 中华创伤杂志 1999;15:271-274
- 6 王立赞, 高继发, 王保生, 朱凡河, 叶健, 毛庆波, 王旭. 内毒素休克肝脏肿瘤坏死因子 α 表达的免疫组织化学研究. 济宁医学院学报 1998;21:1-4
- 7 孔庆胜, 孔令斌, 刘祖华. 不同临床类型乙型肝炎血清 TNF 活性比较. 世界华人消化杂志 1999;7:625-626
- 8 Matsumura S, Yamamoto K, Shimada N, Okano N, Okamoto R, Suzuki T, Hakoda T, Mizuno M, Higashi T, Tsuji T. High frequency of circulating HBeAg-specific CD8 T cells in hepatitis B infection: a flow cytometric analysis. *Clin Exp Immunol* 2001;124:435-444
- 9 Lara-Pezzi E, Majano PL, Gomez-Gonzalo M, Garcia-Monzon C, Moreno-Otero R, Levrero M, Lopez-Cabrera M. The hepatitis B virus X protein up-regulates tumor necrosis factor alpha gene expression in hepatocytes. *Hepatology* 1998;28:1013-1021
- 10 Kusters S, Tiegs G, Alexopoulou L, Pasparakis M, Douni E, Kunstle G, Bluethmann H, Wendel A, Pfizenmaier K, Kollias G, Grell M. In vivo evidence for a functional role of both Tumor necrosis factor(TNF) receptors and transmembrane TNF in experimental hepatitis. *Eur J Immunol* 1997;27:2870-2875
- 11 Schumann J, Wolf D, Pahl A, Brune K, Papadopoulos T, van Rooijen N, Tiegs G. Importance of Kupffer cells for T-cell-dependent liver injury in mice. *Am J Pathol* 2000;157:1671-1683
- 12 Solorzano CC, Ksontini R, Pruitt JH, Hess PJ, Edwards PD, Kaibara A, Abouhamze A, Auffenberg T, Galardy RE, Vauthey JN, Copeland EM 3rd, Edwards CK 3rd, Lauwers GY, Clares-Salzler M, MacKay SL, Moldawer LL, Lazarus DD. Involvement of 26-kDa cell-associated TNF-alpha in experimental hepatitis and exacerbation of liver injury with a matrix metalloproteinase inhibitor. *J Immunol* 1997;158:414-419
- 13 McCarthy DM, Kanfer EJ, Barrett AJ. Thalidomide for the therapy of graft-versus-host disease following allogeneic bone marrow transplantation. *Biomed Pharmacother* 1989;43:693-697
- 14 Mehta P, Kedar A, Graham-Pole J, Skoda-Smith S, Wingard JR. Thalidomide in children undergoing bone marrow transplantation: series at a single institution and review of the literature. *Pediatrics* 1999;103:e44
- 15 Huang C, Li J, Ma WY, Dong Z. JNK activation is required for JB6 cell transformation induced by tumor necrosis factor-alpha but not by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate. *J Biol Chem* 1999;274:29672-29676
- 16 Takada Y, Hachiya M, Osawa Y, Hasegawa Y, Ando K, Kobayashi Y, Akashi M. 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate-induced apoptosis is mediated by tumor necrosis factor alpha in human monocytic U937 cells. *J Biol Chem* 1999;274:28286-28292
- 17 Suganuma M, Okabe S, Marino MW, Sakai A, Sueoka E, Fujiki H. Essential role of tumor necrosis factor alpha (TNF-alpha) in tumor promotion as revealed by TNF-alpha-deficient mice. *Cancer Res* 1999;59:4516-4518
- 18 Moore RJ, Owens DM, Stamp G, Arnott C, Burke F, East N, Holdsworth H, Turner L, Rollins B, Pasparakis M, Kollias G, Balkwill F. Mice deficient in tumor necrosis factor-alpha are resistant to skin carcinogenesis. *Nat Med* 1999;5:828-831
- 19 王立赞, 王保生, 高继发, 毛庆波, 朱凡河, 叶健. 地塞米松、噻庚啶和山莨菪碱对 LPS 诱导大鼠肝脏 TNF α 表达的影响. 中国组织化学与细胞化学杂志 1999;8:452-455
- 20 刘树人, 郑茉莉, 李灼亮, 余宙耀, 陆汉明. 反应停对急性肝衰竭的预防作用. 胃肠病学和肝病学杂志 2000;9:39-41
- 21 刘树人, 郑茉莉, 李灼亮, 余宙耀, 陆汉明. 反应停对大鼠急性肝功能衰竭的保护作用. 中华内科杂志 1999;38:688-690
- 22 贺永文, 朱传武, 曾令兰, 高勇, 罗端德. TNF- α 及其拮抗剂对血吸虫病小鼠的 TGF- β 1 和 III 型胶原的影响. 中国寄生虫病防治杂志 2000;13:48-51
- 23 王建华, 蔡同年, 范跃祖, 高萍, 楼丽广, 冉瑞琼. 酞胺哌啶酮对大鼠门脉高压血流动力学影响. 上海铁道大学学报 1999;20:15-17
- 24 龙爱华, 苏立稳, 聂广. 蚤莲合剂对大鼠肝癌前病变的影响. 中国实验方剂学杂志 1999;5:18-20
- 25 贾乐文, 张大成, 李春梅, 牟希亚. 绿脓杆菌 MSHA 菌苗对肝纤维化大鼠血清 TNF 的影响. 胃肠病学和肝病学杂志 2000;9:22-23