

凋亡相关基因 Bcl-2 在溃疡性结肠炎中的表达及意义

卢燕¹ 芦丽² 都芳娟³

(1 山东省聊城市人民医院 聊城 252000; 2 山东省聊城国际和平医院 聊城 252000;

3 山东省聊城市第二人民医院 聊城 252000)

摘要:目的:探讨凋亡相关基因 Bcl-2 在溃疡性结肠炎中的表达及意义。方法:选取 75 例溃疡性结肠炎患者为观察组,其中活动期 50 例,缓解期 25 例。另选取 50 例健康者为对照组,对比分析两组中性粒细胞凋亡和 Bcl-2 基因表达情况。结果:观察组患者活动期中性粒细胞凋亡率明显低于缓解期和对照组,差异具有统计学意义($P<0.05$);观察组患者活动期 Bcl-2 基因表达明显高于缓解期和对照组,差异具有统计学意义($P<0.01$);观察组活动期不同病情患者的中性粒细胞凋亡率和 Bcl-2 基因表达之间差异均具有统计学意义($P<0.05$)。结论:活动期溃疡性结肠炎患者的周围血中性粒细胞凋亡延迟,且直接影响患者的病情;Bcl-2 基因表达上调可能会引起中性粒细胞凋亡延迟。

关键词: 溃疡性结肠炎;凋亡相关基因 Bcl-2;表达

中图分类号:R574.6

文献标识码:B

doi:10.3969/j.issn.1671-4040.2013.07.058

本研究回顾性分析我院 2011 年 4 月~2013 年 2 月收治的 75 例溃疡性结肠炎患者临床资料,探讨凋亡相关基因 Bcl-2 在溃疡性结肠炎中的表达及意义。现报告如下:

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取我院 2011 年 4 月~2013 年 2 月收治的 75 例溃疡性结肠炎患者为观察组,所有患者均符合 1993 年太原《溃疡性结肠炎的诊断及

泻”,属脾肾阳虚,采用加减温脾益肾汤治疗。方药:生姜 10 g、酸枣仁 10 g、炒白术 15 g、桂圆肉 10 g、山萸肉 15 g、浮小麦 30 g、炒麦芽 15 g、神曲 10 g、大枣 10 g、柏子仁 15 g、炙黄芪 30 g、五味子 6 g、炙甘草 6 g、党参 20 g、木香 6 g、补骨脂 10 g、远志 6 g、夜交藤 10 g、茯苓 15 g、莱菔子 15 g、当归 15 g,共 7 剂,水煎服,每天 1 剂,服用 45 d 后,患者痊愈。随访 6 个月无复发。

3.2 病例 2 患者,女,43 岁,初次诊断时间 2010 年 11 月 18 日。主诉:胃脘隐痛伴嗳气 9 年,加重 9 d。9 年前发现此病症,无腹胀症状。曾间断性使用中药治疗,症状得到一定程度的缓解。9 d 前症状加重,且腹泻,肠镜检查无异常。口服西药,无明显治疗效果。患者目前身体形态偏瘦,胃脘痛,时呕吐、口干,面色偏黄,旋覆代赭汤加减治疗。方药:甘草 6 g、陈皮 10 g、法半夏 15 g、柴胡 10 g、党参 20 g、白芍 10 g、代赭石 10 g、旋覆花 10 g、枳壳 10 g、白术 15 g、茯苓 15 g、香附 10 g,水煎服,每天 1 剂,患者持续服药 1 个月,症状基本痊愈,随访 6 个月无复发。

3.3 病例 3 患者,女,22 岁,初次就诊时间为 2012 年 3 月 18 日。主诉:腹泻并胃脘胀痛 2 年。曾行胃镜检查提示胃炎。面色偏黄,脉细速。诊断:胃脘痛,脾胃虚弱,加减六君子汤主之。方药:神曲 10

疗效标准》^[4]。其中男性 49 例,女性 26 例;年龄 23~62 岁,平均(40.2±3.5)岁;病程 3 个月~14 年,平均病程(6.8±4.1)年;活动期 50 例,其中轻度 17 例,中度 23 例,重度 10 例;缓解期 25 例。另选取同期来我院进行健康体检的 50 例健康者作为对照组,其中男性 27 例,女性 23 例;年龄 21~65 岁,平均(43.2±3.6)岁。两组一般情况比较无显著性差异($P>0.05$),具有可比性。

g、白术 15 g、法半夏 15 g、陈皮 10 g、茯苓 15 g、甘草 6 g、炒麦芽 15 g、莱菔子 15 g、郁金 15 g、党参 30 g、大腹皮 10 g、厚朴 10 g,水煎服,每天 1 剂。患者持续服用 1 个月以后,症状减轻,服药 30 d 后痊愈。

4 讨论

本文主要从脾胃虚实、气机以及温寒调理三个方面出发,对赵文鼎医师治疗脾胃病临床经验进行整理和总结。赵文鼎医师调治脾胃的方法主要有温中止泻、行气降逆、健脾和胃、缓急止痛等,临床治疗效果比较理想。综上所述,诸多因素均可引发脾胃病,除上述原因外,阴阳失调等因素也引发脾胃病。赵文鼎副主任医师有丰富的治疗脾胃病的临床经验,临床医生应对脾胃病进行深入而细致地研究,在临床诊治中仔细辨证,有针对性地用药,不断提高诊断和治疗水平。

参考文献

[1]王婧,王永宁,张艳明,等.刘小北教授治疗脾胃病 4 则[J].北京中医药大学学报(中医临床版),2009,16(6):31-32
[2]崔永霞,王彩霞.从《脾胃论》的学术思想看李东垣论脾胃病的理法方药特点[J].实用中医内科杂志,2012,26(1):21-22
[3]李学军,刘礼梅,陈亮亮,等.健脾培元方合针灸治疗脾胃虚弱型 HP 相关性慢性胃炎 50 例[J].黑龙江中医药,2013,42(2):44-45
[4]黄天生,尚莹莹,肖定洪,等.健脾固本和胃方治疗糖尿病胃轻瘫脾胃虚弱型临床观察[J].辽宁中医杂志,2011,36(8):1 581-1 582
[5]黄天生,朱生樑,马淑颖,等.急性胰腺炎中医证型与疾病轻重类型相关性研究[J].江苏中医药,2011,43(8):32-33

(收稿日期:2013-07-23)

1.2.1 仪器和试剂 Epics-profile II型流式细胞仪和 FITC 标记鼠抗人 Bcl-2 单抗:Beckman Coulter 公司生产;RPMI-1640 培养基:Gibco 公司生产;超级胎牛血清:杭州四季青生物工程材料研究所提供;淋巴细胞分离液:帮定公司生产。

1.2.2 标本收集和中性粒细胞分离 患者入院时和治疗缓解后分别行静脉采血,抗凝时运用肝素,参阅文献方法对中性粒细胞立即进行分离。混匀肝素抗凝血 +1/4 体积的 6%的分子量为 200 KD 的 Dextran 后,将其斜置 0.5 h 以上,使红细胞下沉。按 1:1 体积比取上层向淋巴细胞分离液上叠加,以 500 r/min 的速度进行 0.5 h 的离心,用 0.83%的 NH₄CL 溶液破除沉淀中的红细胞。用 Hank's 液对细胞进行 3 次清洗,然后对细胞浓度进行计数和调整。用涂片对细胞进行染色分类,直到中性粒细胞的纯度超过 93%,台盼蓝染色活细胞比超过 96%。在含 10%的胎牛血清的 RPMI1640 培养液中悬浮分离的中性粒细胞,直到细胞浓度达到 2× 10⁶/mL。然后将其放置在 5%二氧化碳及 37℃的培养箱中培养。1 d 后将细胞取出,对中性粒细胞凋亡和 Bcl-2 的表达进行检测^[2]。

1.2.3 中性粒细胞的凋亡和 Bcl-2 表达的检测运用流式细胞术,将培养后的中性粒细胞取出,用 pH 值为 7.4 的胎牛血清洗涤 2 次,将细胞浓度调整到 2× 10⁶/mL。将 FITC 标记的鼠抗人 Bcl-2 单抗加入其中,并将阴性对照设为用 FITC 标记的鼠 LgG,将其放置在 37℃的环境中 0.5 h,将 PI(碘化丙啶)加入其中,放置在室温没有光线的环境中 0.5 h,在分析 DNA 的凋亡和对 Bcl-2 基因表达进行检测时运用上流式细胞仪^[3-4]。

1.3 统计学处理 运用 SPSS20.0 统计学软件对本研究中的所有数据进行处理。计量资料采用 t 检验,以均数± 标准差($\bar{X} \pm S$)表示。 $P < 0.05$ 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 两组患者中性粒细胞凋亡和 Bcl-2 基因表达比较 观察组中活动期患者中性粒细胞凋亡率明显低于缓解期患者和对照组,Bcl-2 基因表达明显高于缓解期患者和对照组人员,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);观察组中缓解期患者 Bcl-2 基因表达明显高于对照组,二者差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);中性粒细胞凋亡率比较,观察组中缓解期患者与对照组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 两组患者中性粒细胞凋亡和 Bcl-2 基因表达比较 ($\bar{X} \pm S$) %

组别	n	中性粒细胞凋亡率	Bcl-2 基因表达
观察组	活动期	50	46.77± 13.22
	缓解期	25	63.13± 7.85
对照组	50	65.39± 6.36	9.21± 1.54

2.2 观察组中不同病情患者中性粒细胞凋亡和 Bcl-2 基因表达比较 观察组中活动期不同病情的患者的中性粒细胞凋亡率和 Bcl-2 基因表达之间均有统计学差异 ($P < 0.05$);活动期中度和重度患者的中性粒细胞凋亡率明显低于缓解期患者,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$);活动期各程度患者的 Bcl-2 基因表达均高于缓解期患者,差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 观察组中不同病情患者中性粒细胞凋亡和 Bcl-2 基因表达比较 ($\bar{X} \pm S$) %

组别	n	中性粒细胞凋亡率	Bcl-2 基因表达
活动期	轻度	17	58.36± 11.84
	中度	23	46.09± 6.62
	重度	10	28.63± 5.56
缓解期	25	63.13± 7.85	14.39± 1.54

3 讨论

中性粒细胞的内容物的主要为具有组织活性及酶解基质蛋白等,可产生多种炎性介质,因此在炎症过程中,中性粒细胞极易损伤组织。有关医学研究表明,活动性溃疡性结肠炎的重要标志之一就是中性粒细胞浸润,中性粒细胞在溃疡性结肠炎炎症性损伤中具有极为重要的作用。中性粒细胞凋亡能够帮助消退炎症反应,主要是因为巨噬细胞吞噬了凋亡的中性粒细胞,因此炎症反应或细胞毒性作用不会发生。在病理状态下,中性粒细胞的凋亡抑制会延长其在炎症部位的作用,并增强细胞毒性作用。本研究结果表明,观察组中活动期患者的中性粒细胞凋亡率明显低于缓解期患者和对照组,Bcl-2 基因表达明显高于缓解期患者和对照组 ($P < 0.05$);观察组中活动期不同病情患者的中性粒细胞凋亡率和 Bcl-2 基因表达之间差异均具有统计学差异 ($P < 0.05$),由此说明活动期溃疡性结肠炎患者的周围血中性粒细胞凋亡延迟,直接影响着患者的病情;Bcl-2 基因表达上调可能会引起中性粒细胞凋亡延迟。

参考文献

[1]全国慢性非感染性肠道疾病学术研讨会.溃疡性结肠炎的诊断及疗效标准[J].中华消化杂志,1993,13(6):354
[2]朱立平,陈学清.免疫学常用实验方法[M].北京:人民军医出版社,2010.165
[3]管增伟,李勇.白细胞介素 6 与血小板活化因子对中性粒细胞凋亡的抑制作用[J].卫生研究,2000,29(3):131-133
[4]Gou X,Wang WP,Ko JK,et al. Involvement of neutrophils and free radicals in the potentiating effects of passive cigarette smoking on inflammatory bowel diseases in rats [J].Gastroenterology,2009,117:884