(2): 71—78.
[5] Sebring R J, Lehnert B E. Morphometric comparisons of rat alveolar macrophages, pulmonary interstitial macrophages, and blood monocytes[J]. Exp Lung Res, 1992, 18(4): 479—496.
[6] McCarter M D, Mack V E, Daly J M, *et al*. Trauma-induced alterations in macrophage function[J]. Surgery, 1998, 123(1): 96—101.
[7] 李 磊, 王正国, 胡承香, 等. 创伤血清异常蛋白对巨噬细胞功能作用的研究[J]. 中国危重病急救医学, 1998, 10(8)492—494.
[8] Kapinsky M, Torzewski M, Buchler C, *et al*. Enzymatically degraded LDL preferentially binds to CD14(high) CD16(+) monocytes and induces foam cell formation mediated only in part by the class B scavenger-receptor CD36 [J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2001, 21(6): 1004—1010.
[9] Henry F, Bretaudeau L, Barbieux I, *et al*. Induction of antigen presentation by macrophages after phagocytosis of tumour apoptotic cells[J]. Res Immunol, 1998, 149(7-8): 673—679.
[10] Ayala A, Perrin M M, Chaudry I H. Defective macrophage antigen presentation following haemorrhage is associated with the loss of MHC class II (Ia) antigens[J]. Immunology, 1990, 70(1): 33—39.
[11] Hashimoto S, Suzuki T, Dong H Y, *et al*. Serial analysis of gene expression in human monocytes and macrophages[J]. Blood, 1999, 94(3): 837—844.
[12] Kelly C J, Gallagher H, Wolf B A, *et al*. Alterations in macrophage signal transduction pathways mediate post-traumatic changes in macrophage function[J]. J Surg Res, 1994, 57(1): 221—226.
[13] Skrzeczynska J, Kobylarz K, Hartwich Z, *et al*. $CD14^+CD16^+$ monocytes in the course of sepsis in neonates and small children: monitoring and functional studies[J]. Scand J Immunol, 2002, 55(6): 629—638.

(编辑 栾 嘉)

文章编号: 1000-5404(2004)05-0381-01

个案与短篇

血清乙型肝炎病毒核酸定量与肝损伤及干扰素应答的关系

Relationship of hepatitis B virus DNA level with liver damage and the response to interferon

和振坤 (河南大学淮河医院感染科, 洛阳 475000)

作者应用干扰素治疗慢性乙型肝炎44例, 并于治疗前后采用聚合酶联免疫实验方法, 检测HBV-DNA 拷贝数, 探讨血清乙型肝炎病毒核酸定量与肝损伤及干扰素应答的关系, 现报告如下。

1 对象与方法

1.1 对象

44例均HBV-DNA阳性, 丙氨酸转氨酶(alanine amnotransferase, ALT)升高, 病史6个月以上, 排除其他已知原因的慢性肝病患者, 其中男32例, 女12例, 年龄18~50岁。按照1995年第5次全国传染病和寄生虫病会议修订的诊断标准。

1.2 方法

①HBV-DNA 定量检测: 血清样本提取核酸模板, 然后以定量PCR检测HBV-DNA 拷贝数。②治疗方法: 给予干扰素α-2b(安达芬)300万U肌肉注射, 每周3次, 治疗6个月为1个疗程。停药后随访6个月。③应答反应: 生化应答, 血清ALT恢复到正常水平; 病毒应答, 血清HBV-DNA 滴度$< 1\times 10^4$ 拷贝/ml; 完全应答, 同时表现为生化和病毒应答。

1.3 统计学方法

采用χ^2 检验、t 检验。

2 结果

44例患者治疗前后HBV-DNA 含量检测结果见表1。

表1 44例患者治疗前后 **HBV-DNA** 含量的变化

	HBV-DNA 含量(拷贝/ml)				
	$<1\times 10^5$	$\geqslant 1\times 10^6$	$\geqslant 1\times 10^7$	1×10^8	均值(1×10^5)
治疗前	0	15	20	9	88.42±12.34
治疗后	23	11	6	4	5.40±1.59

治疗后血清HBV-DNA 水平与干扰素应答的关系见表2。

表2 血清 **HBV-DNA** 水平与干扰素应答的关系

病毒含量(拷贝/ml)	例数	治疗前6个月			治疗后6个月		
		生化应答 n (%)	病毒应答 n (%)	完全应答 n (%)	生化应答 n (%)	病毒应答 n (%)	完全应答 n (%)
$<1\times 10^5$	23	23(100.0)	18(78.2)	18(78.2	18(78.2)	14(60.8)	14(60.8)
$>1\times 10^5$	21	16(76.2)	14(66.2)	13(61.9)	12(59.6)$^\Delta$	8(38.1)$^\Delta$	7(33.3)$^\Delta$
合计	44	39(88.6)	32(72.7)	31(70.4)	30(68.2)	22(50.0)	21(47.7)

Δ: 与治疗前6个月比较, $P<0.01$

作者简介: 和振坤(1964—), 男, 河南省开封市人, 副主任医师, 发表论文16篇。电话: (0378)3154860

收稿日期: 2004-01-09; 修回日期: 2004-02-20

(下转385页)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

血栓形成和出血等[4]。③由于肿瘤细胞缺乏特异性抗原等原因, 免疫毒素对肿瘤的特异性相对较差。如何使 DT 等生物毒素基因在肿瘤细胞特异、高效地表达是生物毒素靶向基因治疗的关键。一些恶性肿瘤特征性的染色体易位形成的融合基因, 为开展生物毒素靶向基因治疗提供了重要线索[10]。

本研究中, 我们在 DTA 基因上游插入尤文肉瘤 EWS-FLI-1 的特异结合序列, 构建了一个新的 DTA 表达载体, 酶切和基因测序结果证实该载体构建与试验设计一致。脂质体是一种人工制备的携有双层包膜的磷脂质小囊, 可作为各类治疗药剂的人工膜和赋形剂, 目前广泛用于细胞的转染。无论对悬浮还是贴壁细胞, 脂质体的转染效率都是比较高的, 据记载较其他方法高 10 倍以上[11]。脂质体法转染还具有重复性好、不含其他离子和操作方便以及可以通过多种途径给药(静脉注射、肌肉注射、腹腔注射及靶区注射)的优点。用脂质体把 pS2-DTA 转入细胞后发现, 尤文肉瘤细胞的 EWS-FLI-1 特异性地识别了结合序列, 并促进下游 DTA 高表达。

免疫组化染色可见: ①阳性部位胞浆染棕色, 以近胞核处更显著, 说明白喉毒素 A 链蛋白表达在胞浆, 这与它在核糖体内发生作用的特点一致。②尤文肉瘤细胞的染色细胞数量多, 染色强度深, 说明, 转染 pS2-DTA 后 DTA 在尤文肉瘤细胞中高表达。DTA 高表达, 引起细胞死亡, 从而抑制生长。原位调亡检测结果表明, 在尤文肉瘤细胞中发生调亡的细胞数量显著高于对照细胞。台盼蓝拒染试验显示, 尤文肉瘤细胞存活率显著低于对照细胞($P<0.01$)。这两个结果相互印证, 共同说明 pS2-DTA 对尤文肉瘤细胞的杀伤作用显著强于对照细胞。细胞生长曲线进一步说明, 尤文肉瘤细胞的生长受到抑制, 直到第 6 天还没有进入对数生长期。我们认为 pS2-DTA 之所以选择性杀伤尤文肉瘤细胞, 可能是由于尤文肉瘤特异性的染色体易位形成 EWS-FLI-1 融合基因, 它产生的融合蛋白识别 DTA 基因上游的结合序列, 然后利用自身强大的转录活性使白喉毒素 A 链基因高表达。

参考文献:

[1] Panchal R G. Novel therapeutic strategies to selectively kill cancer cells [J]. Biochem Pharmacol, 1998, 55(3): 247—252.

[2] Mao X H, Miesfeldt S, Yang H, *et al*. The FLI-1 and chimeric EWS-FLI-1 oncoprotein display similar DNA binding specificities[J]. J Biol Chem, 1994, 269(27): 18216—18222.

[3] Wawzrynczak E J. Systemic immunotoxin therapy of cancer: advances and prospects[J]. Br J Cancer, 1991, 64(5): 624—630.

[4] Yu D, Chen D, Chiu C, *et al*. Prostate-specific targeting using PSA promoter-based lentiviral vectors[J]. Cancer Gene Ther, 2001, 8(9): 628—635.

[5] Lin P P, Brody R I, Hame Lin A C, *et al*. Differential transactivation by alternative EWS-FLI1 fusion proteins correlates with clinical heterogeneity in Ewing's sarcoma[J]. Cancer Res, 1999, 59(7): 1428—1432.

[6] Folpe A L, Hill C E, Parham D M, *et al*. Immunohistochemical detection of FLI-1 protein expression: a study of 132 round cell tumors with emphasis on CD99-positive mimics of Ewing's sarcoma/primitive neuroectodermal tumor[J]. Am J Surg Pathol, 2000, 24(12): 1657—1662.

[7] May W A, Lessnic S L, Braun B S, *et al*. The Ewing's sarcoma EWS-FLI-1 fusion gene encodes a more potent transcriptional activator and is a more powerful transforming gene than FLI-1[J]. Mol Cell Biol, 1993, 13(12): 7393—7398.

[8] Kreitman R J. Immunotoxins in cancer therapy[J]. Curr Opin Immunol, 1999, 11(5): 570—578.

[9] Keppler H A, Brinkmann V, Pastan I. Role of caspases in immunotoxin-induced apoptosis of cancer cells[J]. Biochemistry, 1998, 37(48): 16934—16942.

[10] Hagihara N, Walbridge S, Olson A W, *et al*. Vascular protection by chloroquine during brain tumor therapy with Tf-CRM107[J]. Cancer Res, 2000, 60(2): 230—234.

[11] 萨姆布鲁克 J, 弗里奇 E F, 曼尼阿蒂斯 T. 分子克隆实验指南[M]. 北京: 科学出版社, 1999. 82.

(编辑　张大春)

(上接 381 页)

3　讨论

慢性乙型肝炎病程长, 探讨治疗过程中病毒量的变化与干扰素的临床关系, 对深入研究乙型肝炎的临床过程和指导治疗有着重要意义。大多数患者(82.1%)血清 HBV-DNA 与 ALT 有关, 而仅少数患者血清 HBV-DNA 与 ALT 无关。即在 ALT 波动过程中, HBV-DNA 始终处于相对稳定水平[1]。有关干扰素应答和病毒含量相关的问题。国外学者认为两者密切相关[2]。本研究中, 治疗前病毒含量, 经治疗后显著下降, 且大多数患者在停药 6 个月仍能维持疗效。血清病毒含量与干扰素应答的关系显示: 病毒含量教低者, 其对干扰素的生化和病毒应答率均较高。研究结果支持干扰素应答和病毒含量相关的观点。

关键词: HBV-DNA; PCR; 干扰素; 肝损伤
中图法分类号: R393.21; R977.6　　文献标识码: B

参考文献:

[1] 杨　湛, 黄　海, 冼　超. 血清乙型肝炎病毒核酸定量检测与临床的关系[J]. 中华传染病杂志, 1999, 17(1): 52.

[2] Yamada G, Takatunt M, Kishi F, *et al*. Efficacy of interferon alfa therapy in chronic hepatitis C patients depends primarily on hepatiis C virus RNA level[J]. Hepatology, 1995, 22(5): 1351—1354.

(编辑　张大春)

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net