DOI:10.16016/j.1000-5404.1983.03.020

综 述

慢性萎缩性胃炎疗效判定的新方法

刘芷章

（第二附属医院 内科）

慢性萎缩性胃炎（简称萎胃）利用胃粘膜活检观察粘膜病变是否改善作为判定萎胃疗效进步或退步的方法或标准还存在着困难，因治疗前后胃粘膜活检不能做到精确无误地在同一部位取材，而萎胃并非全部胃窦部都呈一致性萎缩改变，常呈局灶性及跳跃式分布，邻近粘膜可无萎缩性改变。加之粘膜活检很局限，仅代表局部胃粘膜的情况，不能代表全胃粘膜的损害，更不能说明病变的范围，因此亟需设计一个比较全面的观察方案。现介绍国外采用的几种判定萎胃疗效的新方法，作一综合报道。

根据细胞动力学的一些参数，萎胃的特征性表现有以下三点[1]：

一、细胞丢失速率快[2]：胃粘膜上皮细胞从萎缩的粘膜表面加速丧失，脱落增多，上皮细胞的生命周期缩短[3]；

二、标记指数（即放射性标记细胞数占整个细胞数的百分比）增加[3][4]；

三、有一个特殊型的DNA分布曲线[5]。

根据上述特点，国外对萎胃治疗后疗效的判定有以下几种新方法：

一、流动细胞计数法（Flow Cytometry简称FC）；

二、放射自显影术或称组织自家摄影术（Histoautoradiography）；

三、测定胃内DNA的丢失作为胃上皮细胞脱落的指标及测量N-乙酰神经氨酸（N-acetyl-Neuraminic acid简称NANA）作为胃粘液分泌的指标。

一、流动细胞计数法[1]

方法：治疗前及治疗后第2、4、12、24周各进行一次胃镜检查并取胃粘膜活检。将活检标本加以处理，即将未固定的细胞混悬液用溴乙啡啶（ethidium bromide）及光辉霉素（mithramycin）混合液进行荧光染色[6]。在加光辉霉素前先加二滴核酶体酶（RNase）（1毫克/毫升）。在溴乙啡啶染色后立即加二滴二甲亚砜（dimethyl Sulfoxide），加核酶体酶前先加二滴0.1%三硝基甲苯X-100（TritonX 100），然后用ICP″/Phywe型号的检查器械进行测量[7]。

分治疗组与对照组。治疗组（A组）口服生胃酮150毫克/天共六个月。对照组（B组）接受安慰剂。

结果：治疗前后DNA分布曲线图形无差异。

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

表1 A组与B组胃粘膜细胞周期各阶段分布，细胞处于G_1, S, G_2+M不同时期的百分比（从DNA分布曲线中计算所得，平均值±SEM）

治疗时间（周）	A 组 生 胃 酮			B 组 安 慰 剂		
	G_1	S	G_2+M	G_1	S	G_2+M
0	88±1.0	7±0.7 n=17	5±0.5	89±0.9	6±0.6 n=15	5±0.5
2	87±1.1	8±0.9 n=13	5±0.4	89±0.7	5±0.5 n=13	6±0.5
4	88±1.0	7±0.8 n=18	5±0.4	88±1.0	7±0.7 n=12	5±0.5
12	88±0.8	6±0.8 n=11	6±0.4	88±1.0	6±0.8 n=14	6±0.5
24	86±1.1	7±0.9 n=11	7±0.5	89±1.0	6±0.7 n=12	5±0.6

治疗前后两组无差异。

FC法可分析计算出胃粘膜上皮细胞在细胞周期中处于DNA合成期的细胞数与整个细胞数的比例。正常的胃粘膜不断更新，上皮细胞处于生长、移行和脱落的动的状态，粘膜上皮的迅速更新，其增殖细胞体系是以S期（DNA合成期）及G_2+M期（丝状分裂前期与丝状分裂期）的相对高数量为特征。如某一药物对萎胃的胃粘膜有增生作用，与对照组相比，用FC法测定胃粘膜细胞的DNA分布曲线图形，可显示出显著的差异，细胞周期各阶段分布显示G_1期（DNA合成前期）细胞数比例减少，S期及G_2+M期细胞数比例增多。

二、放射自显影术[1] 活检取出的胃粘膜立即放在Eagle's培养基及放射性同位素胸腺嘧啶脱氧核苷-6-3H（thymidine-6-3H，2μCi/毫升，Specific activity 20Ci/mM）的混合液内，置于37℃保温箱内60分钟，不另加氧气[8]。自家摄影照片上，在胃粘膜小凹的颈部显示出放射性标记细胞，然后测定标记指数（即标记细胞占整个细胞数的百分比），并记录标记细胞的放射性强度。

表2 萎胃胃粘膜放射自显影照片中放射性标记细胞的百分比（平均数±SEM）

治 疗 时 间（周）	A 组 生 胃 酮	B 组 安 慰 剂
0	27.1±0.6 n=21	26.9±0.7 n=18
2	25.3±0.7 n=17	27.5±0.6 n=9
4	27.6±0.7 n=15	27.3±0.7 n=13
12	27.6±0.2 n=16	28.1±0.5 n=13
24	28.9±0.3 n=9	29.2±0.4 n=9

从表2看出通过胃粘膜组织自家摄影照片也未见有生胃酮的治疗反应，标记指数在整个观察期间非常稳定。单个细胞的平均放射性强度也同样稳定。

放射自显影法能显示出在一个明确的形态学上限定的区域内即胃小凹下部和腺体颈部处

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

于DNA合成期的细胞数（即放射性标记的细胞数）。萎胃的胃粘膜上皮细胞在加速丧失的同时，粘膜腺体中有很强的DNA合成活性。但由于成熟障碍，尽管这些腺体增殖活性很强，而粘膜上皮细胞的数量仍减少，壁细胞和主细胞消失，粘膜萎缩。DNA合成仅发生于胃小凹下部和腺体颈部的未分化细胞，故用放射自显影术，萎胃的标记指数增加，标记细胞的放射性强度也增大。

以上两种方法即FC法和放射自显影法在某种程度上能够表明某种组织的细胞动力学变化，用某一疗法治疗萎胃，如有明确疗效，就会在这两种方法上反映出来。FC法显示DNA分布曲线由一种特殊的萎胃型向正常胃粘膜型转化。胃粘膜上皮细胞的细胞周期各阶段分布显示S期及G_2+M期的细胞数相对增多，G_1期细胞数相对减少。放射自显影法显示胃小凹下部及腺体颈部区域内标记指数减低伴放射性标记的胃小凹颈部增生区域缩小，标记细胞的放射性强度也减弱。

Weiss用生胃酮150mg/天共六个月治疗萎胃未显示出疗效[1]，与文献中其他作者的报道相反[8-10]（生胃酮最初剂量为300mg/天），他考虑与剂量较小有关，拟加大剂量重复试验。我们认为不管其疗效如何，作为判定疗效的FC法及放射自显影法是可取的，值得予以介绍。

三、测定胃内DNA的丢失作为胃上皮细胞脱落的指标及测量胃内N-乙酰神经氨酸作为胃粘液分泌的指标[11]

方法

测定胃内DNA丢失[11]　共收集四次胃液标本，第一次标本为空腹胃液，第二、三、四次标本各用500毫升生理盐水持续胃灌洗，在一定时间内抽出，使每个标本液中DNA沉淀下来，将沉淀部分抽出并测定DNA含量。DNA值与标准DNA液内的磷含量有关，用mμg原子DNA-磷来表示。标准DNA液每毫升含1000mμg原子磷，是用40毫克高度聚合的小牛胸腺DNA溶解在100毫升5nM NaOH内制成。各灌洗液的DNA值除以每个采集标本的灌洗时间，得出胃内DNA聚积率即mμg原子DNA-磷/分）。每个标本最低DNA聚积率用来测量胃粘膜的DNA丢失。

测量胃醣蛋白NANA[12]　胃内游离的NANA用Aminoff所用的硫巴比土酸法测量。NANA总量用Aminoff法测量。NANA总量减去游离的NANA即得出结合的NANA部分，它相当于NANA醣蛋白量。NANA醣蛋白分泌率以每小时μmol结合NANA值表示之。

Domschke等报道用此法对胃溃疡病人进行疗效观察[10]，以19名正常人及17例用生胃酮治疗的胃溃疡病人做研究对象。测定胃内DNA的丢失做为上皮细胞脱落的指标，并以NANA量做为粘液分泌的指标。胃溃疡病人治疗前胃内的DNA丢失显著地高于正常人（$P<0.01$）。用生胃酮治疗四周后，DNA丢失显著地下降（$P<0.01$），其中17例病人有16例治愈。同时NANA的排出量显著地增加（$P<0.01$）。故认为胃溃疡病人胃内细胞丢失的速度高[15]，其胃粘膜上皮细胞脱落率增高系由于慢性萎缩性胃炎使粘膜细胞的脱落增多[11][13]，因胃溃疡常伴慢性萎缩性胃炎。用生胃酮可以使之恢复正常，使上皮细胞在胃粘膜内成熟，产生更多的粘液[14]。生胃酮钠对胃溃疡的胃粘膜上皮细胞其作用是使细胞增生减少而细胞向成熟分化增加（用粘液生成量来估计）[16]。利用本法研究观察生胃酮对胃溃疡病人的影响。

结果[11]

胃内DNA（细胞）丢失率　胃溃疡病人胃冲洗液内DNA聚积率（mμg原子DNA-磷/分）

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

显著高于正常对照组（P＜0.01），经生胃酮治疗后，原先增高的胃内DNA聚积率显著减少（P＜0.01），但仍较正常值高（P＜0.05），见图1。

17例胃溃疡病人生胃酮治疗前后 左侧为胃内DNA（细胞）丢失，右侧为NANA(粘液)分泌。经治疗四周后细胞脱落减少，粘液分泌增加（均P＜0.01），见图2。

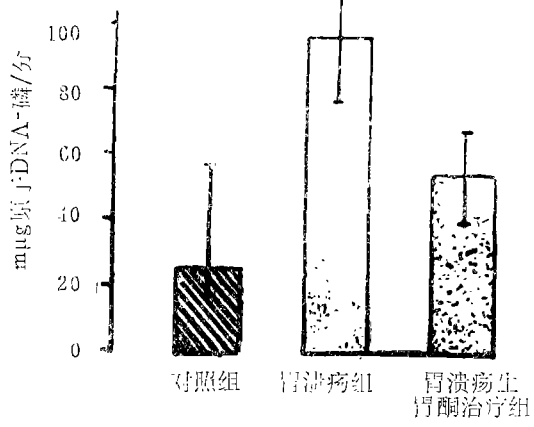


图 1

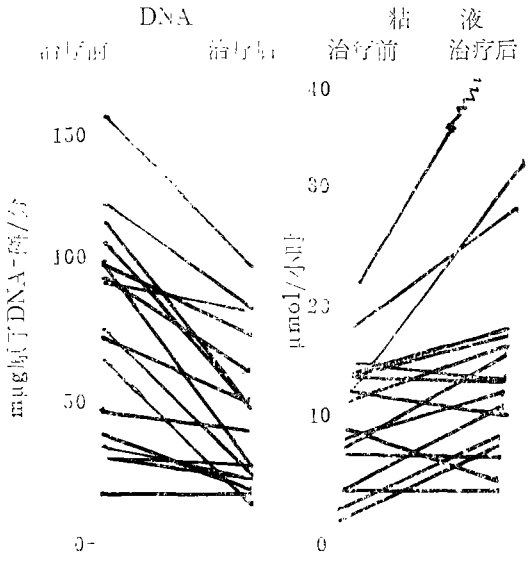


图 2

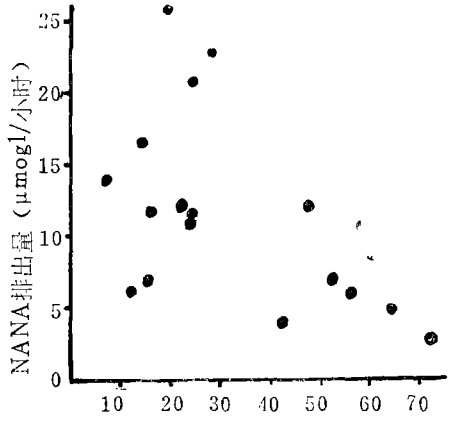


图 3

19名正常对照组胃内DNA（细胞）丢失率及醣蛋白NANA（粘液）排出，两者呈反比关系，具差异显著（P＜0.025），见图3。

前面已述及正常胃粘膜细胞处于生长、移行和脱落的动的状态，胃粘膜上皮细胞不断更生，衰老的被覆上皮细胞不断自表面脱落，胃小凹基底部的未分化细胞不断再生，向粘膜表面移行补充。患胃的粘膜上皮细胞脱落增多和更新增速，但由于炎症过程影响了细胞DNA的代谢和氧的供应，粘膜上皮细胞的数量仍减少，成熟紊乱，因而胃粘液的合成与分泌减少。

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

胃粘液分泌率与上皮细胞脱落呈反比关系。细胞寿命愈长，即胃上皮细胞的生命周期愈长，产生粘液愈多。反之，萎胃的胃上皮细胞脱落增多，生命周期缩短，故粘液的生成与分泌时间也缩短，粘液分泌率减少。

关于萎胃疗效判定的方法，到目前为止尚存在一定问题与困难。本文介绍根据萎胃细胞动力学表现，国外采用的疗效判定方法的动态，即流动细胞计数法，放射自显影法及判定胃内DNA丢失和NANA三种方法，供参考。

参 考 文 献

(1) Weiss H, et al: Digestion 21(3):151, 1981

(2) Croft DN, et al: Digestion 8:144, 1973

(3) Castrup HJ, et al: Dt Med Wschr 99:892, 1971

(4) Steenbeck L, et al: Arch Geschwulstforsch 38:132, 1971

(5) Weiss H: 4th Int Symp on flow cytometry (Voss 1979)

(6) Barlogie B, et al: Blood 48:245, 1976

(7) Jones FA, et al: 4th Symp on carbenoxolone (Butterworths London 1975)

(8) Klein HJ, et al: 4th Symp on carbenoxolone, pp of161--170 (Butterworths, London 1975)

(9) Lipkin M: Carbenoxolone sodium the rate of extrusion of gastric epithelial cells; in Baron and Sullivan, carbenoxolone sodium; pp 11—15 (Butterworths, Copenhagen 1970)

(10) Domschke W, et al: Gut 18:817, 1977

(11) Croft DN, et al: Gut 7:333, 1966

(12) Aminoff D: Biochemical J pp384-392, 1981

(13) Croft DN: In Tropics in Gastroenterology, pp58—61, Edited by SC Truelove and DP Jewell, Blackwell:Oxford

(14) Lipkin M: Gut 12:599, 1971

(15) Boyes BE, et al: Gut 12:867, 1971

(16) Goodier TEW, et al: Gut 8:514, 1967

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