

应用蛋白芯片技术观察慢性肝病患者血清细胞因子的变化规律

钟旬华¹, 李泽松², 张国良¹, 林巧¹, 吴其恺¹, 聂广¹

(1. 深圳市东湖医院, 广东 深圳 518020; 2. 深圳市创益生物科技有限公司, 广东 深圳 518026)

【摘要】 目的:应用蛋白芯片技术,探讨不同类型慢性肝病患者血清中细胞因子的变化规律。方法:自行构建细胞因子芯片,并优化检测体系。选择健康人群(正常对照组,30例)及轻、中、重度慢性肝炎患者各30例(慢乙肝组),A、B、C级肝硬化患者各30例(肝硬化组),慢性重型肝炎30例(慢重肝组);检测各组患者血清中白细胞介素-2(IL-2)、 γ -干扰素(IFN- γ)、IL-4、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、金属蛋白酶组织抑制剂-1(TIMP-1)7种细胞因子的水平。结果:慢乙肝组7种细胞因子与正常对照组比较差异均有显著性(P 均 <0.01)。Th1类细胞因子IL-2、IFN- γ 在慢乙肝轻度组中的水平基本正常,慢重肝组浓度最低($P<0.01$)。Th2类细胞因子IL-4则以慢重肝组最高($P<0.01$),其变化规律为轻度 $<$ A级 $<$ 中度 $<$ 重度=B级 $<$ C级 $<$ 慢重肝,TNF- α 变化规律为A级=轻度 $<$ 中度=B级 $<$ C级 $<$ 重度 $<$ 慢重肝,TGF- β 1为轻度 $<$ 中度 $<$ 重度 $<$ A级 $<$ 慢重肝 $<$ B级 $<$ C级,sICAM-1则表现为轻度 $<$ A级 $<$ B级=中度 $<$ 重度 $<$ C级=慢重肝,TIMP-1为轻度 $<$ 中度 $<$ A级 $<$ 重度 $<$ 慢重肝=B级 $<$ C级(P 均 <0.01)。结论:慢性肝病患者血清细胞因子水平在一定程度上可反映肝脏炎症及纤维化程度,并且与慢性肝病的发生、发展、转归、预后密切相关。

【关键词】 蛋白芯片;慢性肝病;细胞因子

中图分类号:R256.4;Q26 文献标识码:A 文章编号:1008-9691(2007)05-0267-05

Application of protein chip technology for investigation of changes of various serum cytokines in patients with chronic hepatopathy ZHONG Xun-hua¹, LI Ze-song², ZHANG Guo-liang¹, LIN Qiao¹, WU Qi-kai¹, NIE Guang¹. 1. Shenzhen Donghu Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong, China; 2. Shenzhen Chuangyi Biologic Technology Limited Company, Shenzhen 518026, Guangdong, China
Corresponding author: NIE Guang (Email: fqng1008@163.com)

【Abstract】 Objective: To apply protein chip technology for studying the variation of serum cytokines in patients with chronic hepatopathy. **Methods:** Cytokine protein chip for ourselves were designed and detection system was optimized, the protein chip was used to analyze 7 cytokines in different kinds of persons, including healthy controls ($n=30$) and following groups of patients: chronic hepatitis mild (CHMI), chronic hepatitis moderate (CHMO), chronic hepatitis severe (CHS), liver cirrhosis A (LCA), liver cirrhosis B (LCB), liver cirrhosis C (LCC), severe hepatitis (SH), each group containing 30 cases. The levels of serum interleukin-2 (IL-2), interferon- γ (IFN- γ), IL-4, tumor necrosis factor- α (TNF- α), soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1), transforming growth factor- β 1 (TGF- β 1), tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) were detected. **Results:** The protein chip has better sensitivity and specificity. There were significant differences in 7 cytokines between patients and normal controls (all $P<0.05$). Th1 cytokines (IL-2 and IFN- γ) were normal in CHMI and significantly decreased in SH ($P<0.01$). The level of Th2 cytokine (IL-4) was highest in SH ($P<0.01$), the regularity was CHMI $<$ LCA $<$ CHMO $<$ CHS=LCA $<$ LCC $<$ SH. The regularity of TNF- α was LCA=CHMI $<$ CHMO=LCA $<$ LCC $<$ CHS $<$ SH; TGF- β 1 showed CHMI $<$ CHMO $<$ CHS $<$ LCA $<$ SH $<$ LCB $<$ LCC; sICAM-1 had the rule of CHMI $<$ LCA $<$ LCB=CHMO $<$ CHS $<$ LCC=SH; the rule of TIMP-1 was CHMI $<$ CHMO $<$ LCA $<$ CHS $<$ SH=LCA $<$ LCC (all $P<0.01$). **Conclusion:** The levels of serum cytokines in patients with chronic hepatopathy may reflect the degree of inflammation and fibrosis, and have intimate association with occurrence, development, turnover and prognosis of chronic hepatopathy.

【Key words】 protein chip; chronic hepatopathy; cytokine

基金项目:广东省深圳市科技局资助项目(200304201)

通讯作者:聂广(Email: fqng1008@163.com)

作者简介:钟旬华(1960-),男(汉族),江西省人,副主任医师,主要从事传染病的防治与科研工作(Email: xun_hua_ok@126.com)。

目前蛋白芯片已经广泛应用于蛋白质表达谱的分析、蛋白质功能及蛋白质-蛋白质间相互作用的研究、临床疾病(如肿瘤等)的诊断和疗效评价、药物新靶点的筛选和新药的研制等各个领域^[1],但用于慢性肝病领域国内尚不多见。我们在前期工作的基础上^[2],自行构建了慢性肝病细胞因子芯片,并优化了检测体系,对临床标本进行了高通量、平行检测,揭示了 7 种细胞因子在不同慢性肝病患者血清中的变化规律,报告如下。

1 资料与方法

1.1 材料:3-氨丙基三乙氧基硅烷(APES)、牛血清白蛋白(BSA)购自大连宝生物公司;抗人白细胞介素-2(IL-2)、 γ -干扰素(IFN- γ)、IL-4、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、可溶性细胞间黏附分子-1(sICAM-1)、转化生长因子- β 1(TGF- β 1)、金属蛋白酶组织抑制剂(TIMP-1)单克隆抗体(单抗)为美国 DPC 公司产品;生物素标记的单抗、BSA 以及 Cy3 标记的亲合素为美国 Biosciences 公司产品;含有吐温的磷酸盐缓冲液(PBST,各 0.01 mol/L 磷酸盐,质量分数为 0.9%的 NaCl,0.05%的吐温 20(Tween20),pH7.2]与封闭液[0.01 mol/L 的磷酸盐缓冲液(PBS,pH7.4),10%的 BSA,质量分数为 2.5%的蔗糖]为本实验室自行配制;Cartisian 5500 点样仪(Genemachines 公司);Scan Array 4000 激光共聚焦扫描仪(美国 Axon 公司)。

1.2 标本来源:根据 2000 年西安《病毒性肝炎防治方案》和 Child-Pugh 分级标准,选择深圳市东湖医院 2005 年 3 月—2006 年 2 月住院期间轻、中、重度慢性肝炎患者各 30 例(慢乙肝组),A、B、C 级肝硬化患者各 30 例(肝硬化组),慢性重型肝炎 30 例(慢重肝组),HBsAg 均为阳性;年龄 17~58 岁。各组之间平均年龄、性别比较差异均无显著性。排除标准:①血清丙型肝炎病毒(HCV)、丁型肝炎病毒(HDV)、戊型肝炎病毒(HEV)、人类免疫缺陷病毒(HIV)阳性;②其他类型慢性肝病(含肝癌、脂肪肝、自身免疫性肝炎等);③有明显心、脑、肾、神经、精神病和不稳定糖尿病患者;④妊娠和哺乳期;⑤近 3 个月应用糖皮质激素等影响免疫功能药物者。所有患者均在清晨空腹时采集外周静脉血 3 ml,4℃下 2 000×g 离心 10 min 后收集血清,置-80℃冰箱冷藏待用。30 例健康人群的血清作为正常对照组。

1.3 细胞因子的选择:查阅相关文献,选取与慢性肝病发生发展及预后密切相关的 7 种细胞因子,包括 IL-2、IFN- γ 、IL-4、TNF- α 、sICAM-1、

TGF- β 1 和 TIMP-1。

1.4 蛋白芯片的制备及优化:将洗净的载玻片放入以 1:50 丙酮稀释的 APES 中,停留 20~30 s,取出稍停片刻,再用纯丙酮溶液涮去未结合的 APES,晾干。将 7 种细胞因子的单抗用 PBS(0.01 mol/L, pH7.0)稀释为 500 mg/L,用 Cartisian 5500 点样于 APES 玻片上,每个样品设 4 个重复,每张玻片有 8 个同样的微阵列。将芯片放于 37℃ 孵育 4 h,用 PBST 洗涤 15 s×3,室温晾干,用封闭液于 37℃ 封闭 2 h,用 PBST 洗涤 15 s×3,晾干备用。为了进行质量控制,同时以 500 mg/L 生物素标记的 BSA 作为阳性对照,用无生物素标记的 500 mg/L BSA 作为阴性对照。

1.5 杂交与洗涤:取 10 μ l 待检血清,用样本稀释液稀释 10 倍,用点样仪向每个反应孔中加入 100 μ l 处理好的样品,37℃ 孵育 1 h, PBST 洗涤 15 s×3,然后加入生物素标记的 7 种细胞因子的单抗 20 μ l (浓度 1 mg/L),37℃ 孵育 1 h, PBST 洗涤 15 s×3,晾干,再加入 Cy3 标记的亲合素,37℃ 孵育 1 h, PBST 洗涤 15 s×3,晾干。

1.6 蛋白芯片的检测:将蛋白芯片用 Scan Array 4000 激光共聚焦扫描仪进行扫描成像,扫描仪激光强度 33%,光电倍增管强度 75%,扫描后的图像用 Imagen 软件分析荧光强度,根据阳性与阴性对照值对所有原始数据进行标准化处理后,通过标准曲线换算成血清浓度,取 4 个反应孔浓度的平均值。

1.7 统计学方法:多个样本均数的两两比较采用方差分析(*q* 检验),统计分析软件采用 SPSS11.0 版软件包,*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 点样探针的分布情况:将稀释的 7 种细胞因子的单抗运用点样仪点于 APES 玻片上,并设立阳性和阴性对照,制成 8×5 矩阵,其分布情况见彩色插页图 1。

2.2 蛋白芯片的荧光扫描图:在对蛋白芯片检测技术进一步优化后,对所搜集的临床标本进行了高通量、大规模的平行检测。彩色插页图 2~5 为健康人、慢乙肝轻度、肝硬化 B 级、慢重肝患者血清细胞因子芯片的荧光扫描图,其中不同的颜色代表不同的荧光强度,红色表明荧光强度最大,黄色、绿色次之,蓝色最弱。

2.3 7 种细胞因子的检测结果(表 1,表 2):慢乙肝组 7 种细胞因子与正常对照组比较差异均有显著性,表明 7 种细胞因子在慢性肝病的发生发展过程

表 1 慢乙肝、肝硬化、慢重肝组 7 种细胞因子含量比较($\bar{x}\pm s$)Table 1 Comparison of 7 kinds of cytokines in chronic hepatitis B, liver cirrhosis and severe hepatitis($\bar{x}\pm s$)

组别	例数(例)	IL-2(ng/L)	IL-4(ng/L)	TNF- α (ng/L)	TGF- β 1(ng/L)	IFN- γ (ng/L)	sICAM-1(ng/L)	TIMP-1(μ g/L)
正常对照组	30	85.61 \pm 3.12	77.81 \pm 16.52	37.61 \pm 10.42	37.51 \pm 7.27	67.42 \pm 7.85	86.56 \pm 12.10	788.65 \pm 16.73
慢乙肝组	90	76.82 \pm 5.46*	165.37 \pm 23.61*	382.56 \pm 21.87*	86.23 \pm 8.52*	56.37 \pm 8.21*	172.39 \pm 14.56*	137.28 \pm 20.51*
肝硬化组	90	69.57 \pm 7.43*#	194.52 \pm 27.51*#	360.17 \pm 27.51*#	138.35 \pm 11.67*#	53.76 \pm 6.45*	193.82 \pm 16.43*#	184.67 \pm 17.38*#
慢重肝组	30	61.18 \pm 4.92*#	258.56 \pm 36.72*#	505.63 \pm 30.02*#	121.36 \pm 9.35*#	45.68 \pm 7.39*#	263.76 \pm 20.18*#	185.63 \pm 23.51*#

注:与正常对照组比较;* $P<0.01$;与慢乙肝组比较;# $P<0.01$

表 2 7 种细胞因子在肝脏处于不同炎症及纤维化程度时的变化($\bar{x}\pm s$)Table 2 Change of 7 kinds of cytokines in different inflammation and fibrosis degree of liver($\bar{x}\pm s$)

病情程度	例数(例)	IL-2(ng/L)	IL-4(ng/L)	TNF- α (ng/L)	TGF- β 1(ng/L)	IFN- γ (ng/L)	sICAM-1(ng/L)	TIMP-1(μ g/L)
正常对照组	30	85.61 \pm 3.12	77.81 \pm 16.52	37.61 \pm 10.42	37.51 \pm 7.27	67.42 \pm 7.85	86.56 \pm 12.17	88.65 \pm 16.73
慢乙肝轻度	30	87.06 \pm 5.72	136.35 \pm 21.82*	302.42 \pm 17.54*	71.64 \pm 10.21*	63.78 \pm 6.87	93.25 \pm 15.72	96.87 \pm 18.63
慢乙肝中度	30	74.47 \pm 6.45*#	173.49 \pm 24.37*#	378.17 \pm 20.17*#	88.13 \pm 7.02*#	52.07 \pm 8.34*#	201.47 \pm 10.64*#	142.32 \pm 21.07*#
慢乙肝重度	30	68.93 \pm 5.56*#	186.27 \pm 22.18*#	467.09 \pm 25.68*#	95.92 \pm 5.69*#	53.26 \pm 7.53*#	222.45 \pm 11.74*#	172.65 \pm 21.85*#
肝硬化 A 级	30	76.85 \pm 4.78*	160.36 \pm 25.71*	292.87 \pm 21.56*	115.83 \pm 10.87*	57.53 \pm 7.41*	136.34 \pm 10.92*	155.27 \pm 16.40*
肝硬化 B 级	30	69.23 \pm 5.61* Δ	192.67 \pm 28.19* Δ	384.13 \pm 30.67* Δ	140.58 \pm 11.93* Δ	52.46 \pm 6.17* Δ	196.61 \pm 15.43* Δ	190.64 \pm 19.37* Δ
肝硬化 C 级	30	62.63 \pm 3.17* Δ	230.33 \pm 28.73* Δ	403.51 \pm 31.24* Δ	158.64 \pm 12.62* Δ	51.29 \pm 5.83* Δ	259.51 \pm 16.01* Δ	208.10 \pm 17.09* Δ
慢重肝组	30	61.18 \pm 4.92*#	258.56 \pm 36.72*#	505.63 \pm 30.02*#	121.36 \pm 9.35*#	45.68 \pm 7.39*#	263.76 \pm 20.18*#	185.63 \pm 23.51*#

注:与正常对照组比较;* $P<0.01$;与慢乙肝轻度组比较;# $P<0.01$;与肝硬化 A 级组比较; $\Delta P<0.01$

中具有重要作用。Th1 类细胞因子 IL-2、IFN- γ 浓度在慢重肝组最低(P 均 <0.01);Th2 类细胞因子 IL-4 则以慢重肝组最高($P<0.01$);TNF- α 、sICAM-1 和 TIMP-1 则随肝脏炎症程度增加而升高;TGF- β 1 浓度则以肝硬化组最高($P<0.01$)。7 种细胞因子与肝脏炎症及纤维化程度的相关性分析表明:慢乙肝轻度患者 IL-2、IFN- γ 水平基本正常,中、重度则水平下降,肝硬化 C 级与慢重肝也均显著低于正常水平(P 均 <0.01);IL-4 变化规律则为轻度 $<$ A 级 $<$ 中度 $<$ 重度 $=$ B 级 $<$ C 级 $<$ 慢重肝(P 均 <0.01);TNF- α 为 A 级 $=$ 轻度 $<$ 中度 $=$ B 级 $<$ C 级 $<$ 重度 $<$ 慢重肝(P 均 <0.01);TGF- β 1 为轻度 $<$ 中度 $<$ 重度 $<$ A 级 $<$ 慢重肝 $<$ B 级 $<$ C 级(P 均 <0.01);sICAM-1 为轻度 $<$ A 级 $<$ B 级 $=$ 中度 $<$ 重度 $<$ C 级 $=$ 慢重肝(P 均 <0.01);TIMP-1 为轻度 $<$ 中度 $<$ A 级 $<$ 重度 $<$ 慢重肝 $=$ B 级 $<$ C 级(P 均 <0.01)。

3 讨论

蛋白质芯片的基本原理与基因芯片类似,即在一个基因芯片大小的载体上,按使用目的的不同,点布相同或不同种类的蛋白质,然后再用标记了荧光染料的蛋白质结合,扫描仪上读出荧光强弱,计算机分析出样本结果。该方法不仅适合于抗原、抗体的筛选,同样也可用于受体配体相互作用的研究,具有一次性检测样本巨大、相对低消耗、计算机自动分析结果以及快速、准确等特点^[3]。迄今国内将蛋白芯片应用于慢性肝病领域尚不多见,Peng 等^[4]曾应用抗原包被芯片来检测抗体,利用高分辨率的三色扫描系

统分析,进行了肝炎病毒亚型分析的研究。我们所构建的慢性肝病细胞因子芯片在国内尚处于领先地位,并且试验表明该蛋白芯片比常规酶联免疫吸附法(ELISA)检测具有更高的敏感性和特异性^[2]。

宿主的免疫紊乱是导致慢性乙肝的主要原因,而各种免疫细胞及细胞因子功能正常是机体进行免疫活动的前提。目前国内已有不少关于慢性肝病细胞因子的研究,但对细胞因子的检测大都采用 ELISA 法,且不同的文献报道不一,给具体临床应用带来了一定困阻。我们通过优化的蛋白芯片对慢性肝病患者血清细胞因子进行了高通量、平行检测,明确了不同因子的变化规律,寻找到与肝脏炎症及纤维化程度密切相关的新指标。

荟萃表明,Th1/Th2 细胞失衡与乙肝的发病、转归、预后密切相关性^[5,6]。Th1 主要产生 IL-2、IFN- γ 等,可增强细胞免疫应答;Th2 主要产生 IL-4、IL-10 等,主要促进体液免疫反应。Th1 和 Th2 细胞可通过其产生的细胞因子发挥相互调节和制约作用,Th1 细胞产生的 IFN- γ 可抑制 Th2 细胞增殖分化,反之,Th2 细胞产生的 IL-4、IL-10 则可抑制 Th1 的增殖分化。我们通过蛋白芯片检测分析发现,慢乙肝轻度患者血清 IL-2、IFN- γ 基本正常,随炎症的加重逐渐减少,慢重肝患者浓度则最低,推测由于 Th1 类因子减少,不能有效抑制病毒复制,从而导致感染的慢性化以及病情的加重。IL-4 的变化趋势与 IL-2、IFN- γ 基本相反,以慢重肝患者最高,Th1/Th2 比例明显倒置,这与文献^[7]报道的结果一致,可以说明由于 Th2 因子水平

升高,进一步抑制了 Th1 类细胞效应,导致机体更难以清除病毒。上述结果表明,通过外源性调节 Th1/Th2 比例,可能为乙型肝炎病毒(HBV)感染免疫治疗提供一个新途径。

Gonzalez 等^[8]研究报道表明,HBV-DNA 作为机体免疫系统的启动因素,在其复制时可以作为强诱导剂,直接刺激机体产生 TNF- α ,此外,HBV 亦能诱导机体肝细胞合成大量 TNF- α ,从而使肝组织中出现大量细胞因子,促进炎症反应,导致肝细胞炎症、坏死及肝纤维化的形成。罗宏等^[9]研究发现,病毒性肝炎患者血清中 sICAM-1 水平增加,而且其增加程度随着组织炎症损害的加重而增强,提示肝组织炎症存在和严重程度与血清中 sICAM-1 水平有关。我们的研究结果与上述基本一致,在慢重肝患者血清中 TNF- α 、sICAM-1 显著增高,可见 TNF- α 、sICAM-1 在关于肝脏损伤机制的“细胞因子瀑布”学说中扮演了重要角色,也说明血清中 TNF- α 、sICAM-1 水平能较好地反映病毒性肝炎患者肝损害和肝功能状况,对临床诊断及治疗具有重要价值。

TGF- β 1 是目前已知最重要的致肝纤维化细胞因子之一^[10],其突出作用是增加细胞外基质(ECM)合成的同时减少其蛋白降解,改变 ECM 合成和降解的正常平衡。TIMP-1 是相对分子质量约 28 500 的糖蛋白,主要由肝细胞、造血干细胞等产生,可在原位抑制基质金属蛋白酶(MMPs)活性,使 ECM 降解减少,有利于肝纤维化形成。Leroy 等^[11]曾研究发现,肝硬化患者血清 TIMP-1 明显升高,与纤维化程度呈显著正相关。蛋白芯片检测结果显示,TGF- β 1、TIMP-1 与肝脏纤维化程度明显相关,肝硬化组明显高于慢乙肝组,且以肝硬化 C 级含量最高,与李东复和邵彬等^[12,13]研究结果基本一致,表明血清中 TGF- β 1、TIMP-1 含量与常规肝纤维化指标[如透明质酸(HA)、层粘连蛋白(LN)、N 型胶原(CIV)等]具有相同的临床意义,对其检测

有助于判断肝纤维化的程度,并了解慢性肝病的发展、预后。

参考文献:

- [1] 黄越承,蔡建明,崔建国. 蛋白质芯片及其应用[J]. 国外医学·分子生物学分册,2003,25(1):19-21.
- [2] 钟旬华,李泽松,张国良,等. 蛋白芯片检测慢性肝病患者血清细胞因子方法学研究[J]. 中西医结合肝病杂志,2006,16(1):39-41.
- [3] Von Eggeling F, Davies H, Lomas L, et al. Tissue-specific microdissection coupled with protein-chip array technologies: applications in cancer research[J]. Biotechniques, 2000, 29(5): 1066-1070.
- [4] Peng Yong, Chen Yin, Li Bin, et al. Protein microchip based fluorescent immunoassay [R]. Beijing: International Forum on Biochip Technologies, 2000;475.
- [5] 赵彩彦,冯忠军,周俊英,等. 病毒性肝炎患者 Th1 和 Th2 细胞因子的变化[J]. 河北医科大学学报,2001,22(6):360-361.
- [6] 段国荣,周永兴,王平忠,等. Th1/Th2 在慢性乙型肝炎发病机制中的作用[J]. 西北国防医学杂志,2002,23(1):34-35.
- [7] Berroletti A, D'Elios M M, Boni C, et al. Different cytokine profiles of intrahepatic T cells in chronic hepatitis B and hepatitis C virus infections[J]. Gastroenterology, 1997, 112(1): 193-199.
- [8] Gonzalez A R, Garcia M L, Gaaraia B L, et al. Induction of tumor necrosis factor production by human hepatocytes in chronic viral hepatitis[J]. J Exp Med, 1994, 179(3):841-848.
- [9] 罗宏,郑雪莲,毛咏秋. 病毒性肝炎患者细胞因子和粘附分子的检测及其意义[J]. 泸州医学院学报,2003,26(2):142-144.
- [10] Gressner A M, Weiskirchen R, Breitkopf K, et al. Roles of TGF- β in hepatic fibrosis[J]. Front Biosci, 2002, 7:d793-807.
- [11] Leroy V, Monier F, Bottari S, et al. Circulating matrix metalloproteinases 1, 2, 9 and their inhibitors TIMP-1 and TIMP-2 as serum markers of liver fibrosis in patients with chronic hepatitis C: comparison with P-III NP and hyaluronic acid[J]. Am J Gastroenterol, 2004, 99(2):271-279.
- [12] 李东复,太京华,潘溜兰,等. 慢性肝病患者血清 sICAM-1 与 TGF- β 1 水平及临床意义[J]. 中国免疫学杂志,2001,17(12):673-675.
- [13] 邵彬,聂青和,张亚飞,等. 肝病患者血清中 TIMP-1 与 HA、PC-III、CIV、LN 水平的相关性[J]. 胃肠病学和肝病学杂志, 2006,15(3):254-257.

(收稿日期:2007-01-28 修回日期:2007-04-02)

(本文编辑:李银平)

欢迎订阅《中国中西医结合急救杂志》

中国科协主管,中国中西医结合学会主办,国家级核心期刊

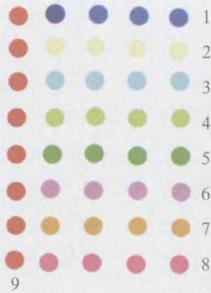
全国各地邮局办理订阅手续,邮发代号:6-93;

过刊和散刊也可向本刊社订阅;定价:每期 7.6 元,全年 45.6 元

社刊地址:天津市和平区睦南道 122 号 邮编:300050

应用蛋白芯片技术观察慢性肝病患者血清细胞因子的变化规律

(正文见267页)



1-9依次为: 阴性对照、IL-2、IL-4、TNF- α 、TGF- β 1、IFN- γ 、sICAM-1、TIMP-1、阳性对照
图1 慢性肝病细胞因子芯片探针矩阵
Figure 1 Probe array of cytokine chip for chronic hepatopathy

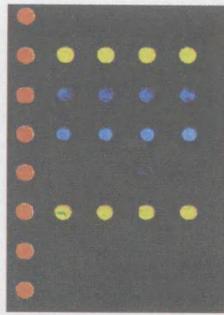


图2 健康人血清细胞因子芯片荧光扫描图
Figure 2 Fluorescence scanogram of cytokine chip for healthy people

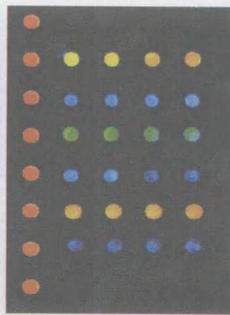


图3 慢乙肝轻度患者血清细胞因子芯片荧光扫描图
Figure 3 Fluorescence scanogram of cytokine chip for patient with chronic type B hepatitis mild

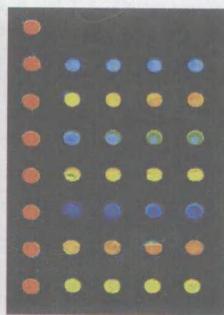


图4 肝硬化B级患者血清细胞因子芯片荧光扫描图
Figure 4 Fluorescence scanogram of cytokine chip for patient with liver cirrhosis B

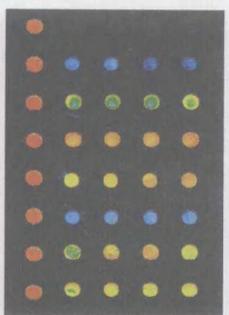
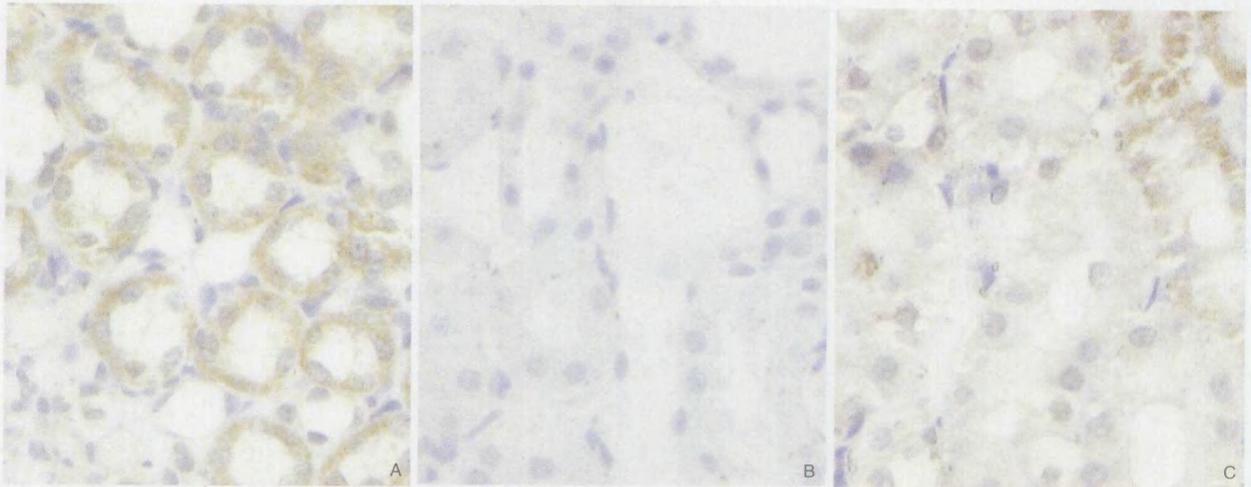


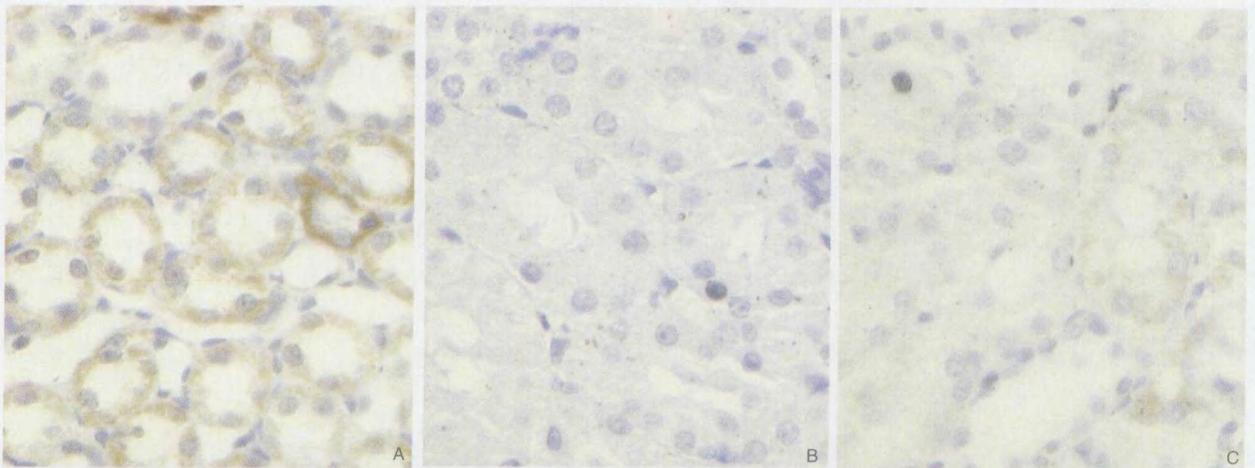
图5 慢性重型肝炎患者血清细胞因子芯片荧光扫描图
Figure 5 Fluorescence scanogram of cytokine chip for patient with chronic severe hepatitis

降糖通脉方干预肾组织细胞外基质表达的研究

(正文见303页)



A:病理模型组; B:正常对照组; C:中药干预组
图1 各组大鼠肾组织PAI-1 mRNA表达(原位杂交, $\times 400$)
Figure 1 Expression of PAI-1 mRNA in renal tissue of each group(in-situ hybridization, $\times 400$)



A:病理模型组; B:正常对照组; C:中药干预组
图2 各组大鼠肾组织TGF- β 1 mRNA表达(原位杂交, $\times 400$)
Figure 2 Expression of TGF- β 1 mRNA in renal tissue of each group(in-situ hybridization, $\times 400$)