

慢性萎缩性胃炎胃黏膜中T淋巴细胞亚群及PD-1表达的意义

李靖

张掖市第二人民医院 甘肃省张掖市 734000

摘要:目的: 探讨慢性萎缩性胃炎(CAG)胃黏膜中T淋巴细胞亚群及PD-1表达的意义。方法: 拟从本院2022年10月—2023年1月选取SPF级大鼠作为研究对象, 采用乙醇-水杨酸钠溶液灌胃制作慢性胃炎大鼠动物模型, 根据实验设计将SPF级大鼠分成2组: 模型组1、模型组2, 各15只。其中模型组1: 制作模型成功后, 即处死取胃粘膜组织; 模型组2: 制作模型成功后给予柴平汤治疗14天后, 处死取胃粘膜组织。对比两组大鼠胃粘膜当中的T淋巴细胞亚群及PD-1表达水平。**结果:**模型2组当中的CD3⁺、CD4⁺阳性细胞数上升明显, CD4⁺/CD8⁺比值升高, 与模型1组对比差异有统计学意义($P < 0.05$); 通过Real-time PCR发现慢性胃炎大鼠模型的胃黏膜中PD-1、PD-L1的mRNA表达水平显著低于正常大鼠($p < 0.05$); 但慢性胃炎模型大鼠服用柴平汤7天后, 胃黏膜中PD-1、PD-L1的mRNA表达水平与正常大鼠无显著差异($p > 0.05$)。**结论:**针对CAG疾病采用柴平汤药物治疗效果较好, 能够改善胃黏膜中T淋巴细胞亚群, 利于PD-1、PD-L1的mRNA表达水平恢复正常, 治疗效果较好, 可进行推广和应用。

关键词: 慢性萎缩性胃炎; T淋巴细胞亚群; PD-1

CAG是一种常见胃病疾病, 表现为胃粘膜固有腺体萎缩导致的黏膜变薄或消失, 黏膜基层增厚, 还会出现炎症及肠上皮化肾和不典型增生, 若不采取有效治疗方案, 则会导致病情进展, 可能引起胃癌, 威胁患者生命安全^[1]。有研究显示^[2], 胃癌的发病率较高, 仅次于肺癌、乳腺癌, 研究发现幽门螺杆菌感染和胃癌密切相关, 根治HP治疗意义重大, 鉴于肿瘤病因复杂、病程缓慢及治疗效果欠佳, 通过切断癌前病变炎症通路、控制炎症进展等是延缓癌前病变进展或逆转癌变发生研究方向之一。此类患者多存在免疫功能低下, 并和胃病的严重程度有关, 其中T淋巴细胞亚群相对平衡维持着机体的正常免疫功能, 在保护机体免受各种疾病侵袭过程起着重要作用^[4]。更有研究显示^[5], 程序性食物受体1(PD-1)与肿瘤发生、发展及抗肿瘤的治疗密切相关, 因此, 本次研究以SPF级大鼠作为研究对象, 探讨CAG胃黏膜中T淋巴细胞亚群及PD-1表达的意义, 内容如下:

课题: 张掖市市级科技计划—B类计划(项目编号: ZY2022BJ23)

作者简介: 李靖(1979.03), 性别: 男, 民族: 汉, 籍贯: 甘肃张掖, 学历: 本科, 职称: 副主任中药师, 单位: 张掖市第二人民医院, 研究方向: 中医学、中医临床研究。

1 资料与方法

1.1 一般资料

拟从本院2022年10月—2023年1月选取SPF级大鼠作为研究对象, 采用乙醇-水杨酸钠溶液灌胃制作慢性胃炎大鼠动物模型, 根据实验设计将SPF级大鼠分成2组: 模型组1、模型组2, 各15只。根据实验设计采用乙醇-水杨酸钠溶液灌胃制作慢性胃炎大鼠动物模型。

1.2 方法

将每组大鼠胃粘膜组织加入到1ml Trizol中, 组织匀浆器匀浆, 将其加入200 μ l氯仿, 涡旋器震荡15sec, 室温放置2min。4 $^{\circ}$ C, 10000rpm, 离心20min, 然后取上清液(600 μ l), 移入新离心管当中, 然后加入500 μ l异丙醇, 颠倒混匀, 将其放在室温10分钟, 温度为4 $^{\circ}$ C、10000rpm, 离心15min, 弃上清, 然后加入1ml的75%的乙醇, 悬浮沉淀, 4 $^{\circ}$ C, 10000rpm, 离心5min。弃上清, 室温晾干。加入40 μ l DEPC水, 充分溶解, -70 $^{\circ}$ C保存。用反转录试剂盒对所提取的RNA反转录, 反应体积为10 μ l, RNA的加入量均为380ng, 利用SYBR染料发检测PD-1、PD-L1、SHP-1、SHP-2、IFN- γ 、IL-2、IL-10等基因的mRNA的表达变化。其中模型2组采取柴平汤进行治疗, 具体药方如下: 柴胡、黄芩、姜半夏、厚朴、神曲、炒川芎子、木香、蒲公英及甘草各10g, 在加上陈

皮、炒紫苏子、陈皮、仓术各30g, 浙贝母15g, 加水煎服, 每日1剂, 150ml/次, 早晚可口服1次。

1.3 观察指标

对比两组大鼠胃粘膜当中的T淋巴细胞亚群及PD-1表达水平。

1.4 统计学分析

使用SPSS 22.0软件分析, 以“ $\bar{x} \pm s$ ”表示T淋巴细胞亚群, 采用t检验; 以[n (%)]表示PD-1、PD-L1表达水平, 用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对比两组T淋巴细胞亚群

干预后, 模型2组CD4⁺、CD8⁺数值水平均低于对照组, CD4⁺/CD8⁺数值水平高于对照组, 差异显著 ($P < 0.05$), 见表1:

表1 对比两组T淋巴细胞亚群 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	CD4 ⁺ (μL)	CD8 ⁺ (μL)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
模型组1	15	132.45 ± 11.56	126.39 ± 10.43	1.24 ± 0.45
模型组2	15	113.78 ± 12.34	123.45 ± 11.35	1.56 ± 0.36
t值		4.276	0.036	2.151
P值		0.000	0.847	0.040

2.2 对比两组PD-1、PD-L1表达水平

通过Real-time PCR发现慢性胃炎大鼠模型的胃黏膜中PD-1、PD-L1的mRNA表达水平显著低于正常大鼠 ($p < 0.05$); 但慢性胃炎模型大鼠服用柴平汤7天后, 胃黏膜中PD-1、PD-L1的mRNA表达水平与正常大鼠无显著差异 ($p > 0.05$)。

表2 对比两组胃黏膜中PD-1、PD-L1的mRNA表达水平

组别	例数	时间	PD-1	PD-L1
模型组1	15例	治疗前	132.39 ± 13.12	135.612 ± 12.45
		治疗后	126.31 ± 10.06	126.05 ± 12.23
t值			2.309	2.124
P值			0.028	0.000
模型组2	15例	治疗前	133.14 ± 11.03 ^①	135.12 ± 10.32 ^①
		治疗后	122.35 ± 12.06 ^②	123.56 ± 10.17 ^②
t值			5.615	3.090
P值			0.000	0.005

注: ①表示与模型组1治疗前进行比较, ②表示与模型组1治疗后进行比较, $P < 0.05$ 。

3 讨论

中医将CAG纳入“胃脘痛”、“痞满”等范畴, 其发病机理为情志不畅、外邪犯胃等导致胃气郁滞, 胃失和降, 不通则通^[6]。该病发生率较高, 主要由慢性浅表性胃炎在各种复杂因素相互作用下胃黏膜腺体逐渐萎缩而

来, 病理组织切片染色显示其时常伴有胃黏膜肠化及不典型增生, 又将其称为肠型胃癌前疾病^[7]。导致该病的原因与胃黏膜周围微环境中免疫细胞浸润及免疫修饰等有关, T细胞亚群发挥着更为重要的作用, 该T淋巴细胞在不同的微生物及致炎因子的作用下通过激活炎症通路可促进细胞因子、趋化因子的分泌和表达, 从而促进T淋巴细胞亚群 (TH1、TH2及Treg) 的分化, 可维持免疫系统的调节平衡^[8-9]。临床多采取药物、中医、中成药等进行治疗, 其中柴平汤治疗CAG效果较好, 能够发挥疏肝解郁、清热利湿、和胃止痛、通腑导滞等功效, 还可以平肠胃中腐气, 消六腑胀满, 临床症对口苦泛酸、心烦易怒、嗝气嘈杂、呃逆、焦虑抑郁、睡眠障碍, 其效如神^[10-11]。

本次研究中, 干预后, 模型2组CD4⁺、CD8⁺数值水平均低于对照组, CD4⁺/CD8⁺数值水平高于对照组, 通过Real-time PCR发现慢性胃炎大鼠模型的胃黏膜中PD-1、PD-L1的mRNA表达水平显著低于正常大鼠 ($p < 0.05$); 但慢性胃炎模型大鼠服用柴平汤7天后, 胃黏膜中PD-1、PD-L1的mRNA表达水平与正常大鼠无显著差异 ($p > 0.05$), 可见模型2组采取柴平汤治疗效果较好, 可使得PD-1、PD-L1的表达水平上升, 改善其T淋巴细胞亚群, 从而发挥治疗慢性胃炎的功效。分析原因在于柴平汤里面拥有多种中草药, 主要有柴胡、黄芩、姜半夏、厚朴、神曲、炒川芎、木香、蒲公英及甘草, 可发挥清热解毒、泻火消炎、调节肝气、疏肝解郁等功效, 更有陈皮、炒紫苏子、陈皮、仓术、浙贝母组成, 能够起到理气健脾、燥湿化痰、补血益气、温胃、消肿及调经的效果, 可更好的改善症状, 发挥调畅气机、活血化瘀、阻断或逆转黏膜萎缩的进程, 治疗效果较好^[12-13]。当患上CAG之后, 患者机体内会释放毒力因子可促进机体免疫反应使得CD4⁺、CD8⁺细胞与病原体之间关系密切, 以上细胞因子可作为免疫球蛋白样蛋白样抗原识别模式 (PRRs) 能够更好的与HP识别配体相互识别参与进行感染期免疫应答^[14]。更有研究发现^[15], PD-1具有抑制免疫反应作用, 通过表达于树突状细胞细胞膜上的PD-1和Hp感染后诱导的抗原提呈细胞PD-L1相结合将降低机体的免疫反应加速炎症反应, 但具体机制不明确。研究表明PD-1和PD-L1结合后通过激活信号通路抑制免疫细胞增殖分化, 可促进免疫细胞凋亡, 充分发挥负向免疫调控作用。相较于现代医学之对症处理, 本病症选择导师临床常用且多用之柴平汤药物, 从整体着眼, 借助于该药物对人体整体机能的协调, 由局部到整

体, 里面选择柴胡取其舒肝气、解郁结之功^[16], 柴胡结合黄芩可起到表里调和, 浮沉以助升降, 使得机体气体通调, 姜半夏其性燥烈正合脾喜燥恶湿之本性; 党参则加强脾胃之功能, 改善患者食欲不佳, 正和治疗之大法; 甘草药物可调和众药, 又合党参补益, 以上诸多药物可充分发挥其协调性, 取得了满意的临床效果^[17-18]。

综上所述, 针对CAG患者实施柴平汤治疗效果较好, 可缓解其临床症状, 改善胃黏膜中T淋巴细胞亚群及PD-1表达, 促进患者病情恢复, 值得推广和应用。

参考文献:

- [1]王金春, 张海莲, 刘军权, 等.Hp感染胃黏膜IL-17、TLR2及PD-1表达及意义[J].徐州医科大学学报, 2017, 37(10): 636-641.
- [2]李非凡, 阳正国.中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展[J].内蒙古中医药, 2023, 42(3): 159-162.
- [3]江欢欢, 王翼洲.中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展[J].中国民族民间医药, 2017, 26(22): 46
- [4]邵昌明, 宋佳, 谢珊珊, 等.中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展[J].新疆中医药, 2023, 41(1): 79-82.
- [5]Li Y, Xia R, Zhang B, Li C. Chronic Atrophic Gastritis: A Review. J Environ Pathol Toxicol Oncol. 2018;37(3):241-259.
- [6]江丹, 张晚晴, 杨景波.香砂六君丸对慢性胃炎患者T淋巴细胞亚群及胃黏膜COX-2表达的影响[J].深圳中西医结合杂志, 2021, 31(14): 45-47, 封3.
- [7]李欣莹, 赵荧荧, 赵兴林, 等.中医治疗慢性萎缩性胃炎研究进展[J].光明中医, 2023, 38(14): 2703-2707.
- [8]张浩, 黄张苗, 蒋晓芬.胃泌素-17及胃蛋白酶原在幽门螺杆菌感染与慢性萎缩性胃炎患者血清中表达的意义[J].中国基层医药, 2021, 28(12): 1875-1878.
- [9]Shah SC, Piazuelo MB, Kuipers EJ, et al. AGA Clinical Practice Update on the Diagnosis and Management of Atrophic Gastritis: Expert Review[J]. Gastroenterology. 2021,161(4):1325-1332.
- [10]高洁.胃蛋白酶原、胃泌素-17在慢性萎缩性胃炎中的表达及其与幽门螺杆菌感染相关性分析[J].陕西医学杂志, 2019, 48(1): 131-134.
- [11]程传奇, 王晓素.中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展[J].当代医学, 2019, 25(32): 190-192.
- [12]宋青, 刘震, 黄达.中医药治疗慢性萎缩性胃炎的研究进展[J].首都医科大学学报, 2019, 40(3): 479-482.
- [13]邱承智, 何玲.慢性萎缩性胃炎中医治疗研究进展[J].湖南中医杂志, 2017, 33(8): 188-189.
- [14]Rodriguez-Castro KI, Franceschi M, Noto A, et al. Clinical manifestations of chronic atrophic gastritis[J]. Acta Biomed. 2018,17(8-S):88-92.
- [15]赵秀明.胃蛋白酶原I、II和胃泌素-17在不同胃黏膜疾病患者血清中的表达水平及意义[J].医学理论与实践, 2018, 31(3): 422-423.
- [16]张明龙, 詹雅珍.幽门螺杆菌感染相关慢性胃病患者血清MTL与胃泌素及胃蛋白酶原含量水平表达差异性[J].世界华人消化杂志, 2018, 26(6): 384-388.
- [17]孔文洁, 刘卫东, 惠文佳, 等.幽门螺杆菌分型与胃肠疾病类型、感染部位、病理分型及胃功能血清学指标相关性的研究[J].国际消化病杂志, 2022, 42(5): 300-305.
- [18]李荣发, 郑锐年, 袁崇德.不同抗体型幽门螺杆菌感染与慢性萎缩性胃炎及胃功能状态的相关性研究[J].国际消化病杂志, 2021, 41(4): 267-271.