

DOI: 10.13288/j.11-2166/r.2015.15.013

慢性萎缩性胃炎患者胃黏膜中医微观辨证与癌前病变特征分析

孟建宇¹, 谭杰², 郭玉婷², 张铁峰², 孟令军^{2*}

(1. 山东中医药大学理工学院, 山东省济南市长清大学科技园, 250355; 2. 山东中医药大学第二附属医院)

摘要 目的 观察慢性萎缩性胃炎患者胃黏膜中医微观辨证分型分布规律及癌前病变发生情况。方法 170 例慢性萎缩性胃炎患者进行无痛胃镜检查及共聚焦激光显微内镜检查, 根据内镜下表现中医微观辨证分为胃阴不足型、胃络瘀阻型、脾胃虚寒型、脾胃湿热型、肝郁气滞型和肝胃郁热型。对腺体萎缩部位进行靶向活检判定肠上皮化生或上皮内瘤变, 免疫组化法检查胃黏膜组织 CD34 及 Ki67 平均光密度, 同时判定幽门螺杆菌 (Hp) 感染情况。结果 慢性萎缩性胃炎中医微观辨证胃阴不足型 54 例、脾胃虚寒型 28 例、肝郁气滞型 26 例、胃络瘀阻型 24 例、肝胃郁热型 22 例、脾胃湿热型 16 例。中医微观辨证各证型间 Hp 感染率差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。肝郁气滞型和脾胃湿热型的肠上皮化生率及上皮内瘤变率显著高于脾胃虚寒型与胃阴不足型 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 肝郁气滞型上皮内瘤变率显著高于脾胃虚寒型与胃阴不足型 ($P < 0.01$)。肝郁气滞型 CD34 平均光密度值显著高于肝胃郁热型、胃络瘀阻型、脾胃虚寒型、胃阴不足型 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 脾胃湿热型与脾胃虚寒型显著高于胃络瘀阻型、胃阴不足型 ($P < 0.05$); 肝郁气滞型、脾胃湿热型 Ki67 平均光密度值显著高于脾胃虚寒型、胃阴不足型与胃络瘀阻型 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 脾胃湿热型显著高于肝胃郁热型 ($P < 0.01$)。结论 慢性萎缩性胃炎胃黏膜中医微观辨证分型实证较虚证多, 各微观证型中肝郁气滞型和脾胃湿热型的癌前病变发生率较高。

关键词 慢性萎缩性胃炎; 微观辨证; 肠上皮化生; 上皮内瘤变; 癌前病变

胃癌居恶性肿瘤发病率及死亡率的前三位^[1], 但目前尚无能确切阻断癌变发展的防治手段。慢性萎缩性胃炎 (chronic atrophic gastritis, CAG) 与胃癌的基因表达有一定的相似度, 与肠上皮化生和上皮内瘤变被称为胃癌前病变^[2]。我们运用中医的微观辨证方法, 通过观察 CAG 的胃镜表现, 结合共聚焦激光显微内镜、病理组织学检查及免疫组化, 探讨 CAG 中医微观辨证分型分布规律及各证型的癌前病变发生率, 为防治本病提供临床依据。

1 临床资料

1.1 诊断标准及中医辨证标准

CAG 胃镜及病理组织学诊断标准参照中华医学会消化病分会公布的《中国慢性胃炎共识意见》^[3]。中医微观辨证分型标准参照中国中西医结合学会消化系统疾病专业委员会公布的《慢性胃

炎中西医结合诊疗共识意见》^[4], 辨证为肝郁气滞型、肝胃郁热型、脾胃湿热型、胃络瘀阻型、脾胃虚寒型、胃阴不足型 6 个证型。肝郁气滞型: 胃黏膜蠕动活跃或减慢; 胃黏膜红斑, 呈点、片状或条状; 胆汁反流。肝胃郁热型: 胃黏膜蠕动活跃或亢进; 胃黏膜充血水肿; 胃黏膜可见糜烂或散在出血点; 胆汁反流。脾胃湿热型: 黏液黏稠混浊; 胃黏膜明显充血、水肿和糜烂。胃络瘀阻型: 胃黏膜呈颗粒状或结节; 黏膜下血管透见; 黏膜陈旧性出血。脾胃虚寒型: 黏液稀薄而多; 胃黏膜炎症减轻或呈苍白, 黏膜变薄; 胃蠕动缓慢。胃阴不足型: 黏液量少黏稠; 胃黏膜充血水肿或呈颗粒状或血管显露。

1.2 纳入标准

符合上述诊断标准及中医辨证标准; 共聚焦激光显微镜检查示: 胃小凹数目减少, 开口明显扩张; 细胞排列整齐, 极性可; 血管形态规则, 荧光素钠轻度渗出^[5]。

基金项目: 山东省自然科学基金 (ZR2012HM041)

* 通讯作者: mljsd58@163.com, 13082735138

1.3 一般资料

收集 2012 年 3 月至 2013 年 8 月山东省齐鲁医院内镜中心接受无痛胃镜、共聚焦激光显微镜检查及病理组织学检查确诊为 CAG 的患者共 170 例, 其中男 89 例, 女 81 例; 年龄 27 ~ 78 岁, 平均 (55.73 ± 0.85) 岁; 病程 4 ~ 47 年, 平均 (23.5 ± 1.23) 年。

2 方法

2.1 观察指标及方法

2.1.1 幽门螺杆菌 (Hp) 感染检查 在共聚焦激光显微镜的靶向活检指导下, 在病变黏膜处取活检标本行快速尿素酶检查, 将胃黏膜放入快速尿素酶试剂 (国药准字 S20080275, 深圳市康美实业发展有限公司), 等待 3 ~ 5 min, 显红色者为 Hp 感染阳性。

2.1.2 胃黏膜组织形态观察 石蜡标本切片 4 μm, 脱蜡、水化; 苏木素染色 5 min, 流水冲洗 5 min; 1% 盐酸酒精分色 5 s, 流水冲洗 2 min; 5% 氨水反蓝 30 s, 流水冲洗 5 min; 伊红染色 1 min; 梯度酒精脱水, 晾干, 二甲苯透明 20 min, 封片。采用 HE 染色观察胃黏膜组织形态, 判断肠上皮化生或上皮内瘤变。

2.1.3 胃黏膜组织 Ki67 及 CD34 阳性免疫组化图像分析 在共聚焦激光显微镜的靶向活检指导下, 在病变黏膜处取活检标本, 因胃黏膜标本较小, 且若干标本组织较细碎, 故选取各证型较完整的病例标本进行免疫组化检查, 共 93 例。石蜡切片, 常规脱蜡、水化; 3% 过氧化氢溶液室温培育 10 min; 蒸馏水冲洗, PBS 平衡 5 min, 加入微波修复液, 微波炉加热。冷却后滴加一抗, 放入保温箱内 2 h; PBS 冲洗, 3 min × 3 次; 滴加二抗, 放入保温箱 30 min; PBS 冲洗 3 min, 蒸馏水冲洗 2 遍; 显色剂显色 (DAB); 自来水充分冲洗; 苏木素复染 1 min, 流水冲洗 10 min; 梯度酒精脱水, 晾干, 二甲苯透明 20 min, 封片。Ki67、CD34 免疫组化图像分析采用 Image-Pro Plus 6.0 软件 (Media Cybernetics 公司)。

2.1.4 中医微观辨证分型分析 在共聚焦激光显微镜的靶向活检指导下进行观察并取活检标本, 由同一医师采集标本并进行辨证分型。

2.2 统计学方法

使用 SPSS 18.0 软件进行数据统计分析。组间计量资料采用 t 检验, 计数资料采用 χ^2 检验。

3 结果

3.1 中医微观辨证分型结果

170 例患者中, 肝郁气滞型 26 例 (15.3%), 肝胃郁热型 22 例 (12.9%), 脾胃湿热型 16 例 (9.4%), 胃络瘀阻型 24 例 (14.1%), 脾胃虚寒型 28 例 (16.5%), 胃阴不足型 54 例 (31.8%)。

3.2 不同中医微观辨证分型患者 Hp 阳性、肠上皮化生、上皮内瘤变分布比较

表 1 示, 不同中医微观辨证分型慢性萎缩性胃炎患者 Hp 阳性率比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 肠上皮化生率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 两两比较结果显示, 肝郁气滞型与脾胃湿热型患者肠上皮化生率显著高于脾胃虚寒型与胃阴不足型 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 上皮内瘤变发生率比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 两两比较结果显示, 肝郁气滞型患者上皮内瘤变率显著高于脾胃虚寒型与胃阴不足型 ($P < 0.01$)。

表 1 不同中医微观辨证分型慢性萎缩性胃炎患者 Hp 感染阳性、肠上皮化生及上皮内瘤变者分布比较 例 (%)

中医微观辨证分型	例数	Hp 阳性	肠上皮化生	上皮内瘤变
肝郁气滞	26	10 (38.5)	21 (80.8)	18 (69.2)
肝胃郁热	22	8 (36.4)	14 (63.6)	8 (36.4)
脾胃湿热	16	2 (12.5)	14 (87.5)	10 (62.5)
胃络瘀阻	24	4 (16.7)	17 (70.8)	10 (41.7)
脾胃虚寒	28	8 (28.6)	13 (46.4)	9 (32.1)
胃阴不足	54	24 (44.4)	22 (40.7)	14 (25.9)

3.2 不同中医微观辨证分型患者胃黏膜组织 CD34、Ki67 平均光密度值比较

表 2 示, 不同证型患者 CD34 平均光密度值存在显著差异 ($P < 0.01$), 两两比较结果显示, 肝郁气滞型 CD34 平均光密度值显著高于肝胃郁热型、胃络瘀阻型、脾胃虚寒型、胃阴不足型 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$); 脾胃湿热型与脾胃虚寒型显著

表 2 不同中医微观辨证分型慢性萎缩性胃炎患者 CD34、Ki67 平均光密度值比较 ($\bar{x} \pm s$)

中医微观辨证分型	例数	CD34	Ki67
肝郁气滞	16	0.189 ± 0.024	0.384 ± 0.051
肝胃郁热	9	0.161 ± 0.028*	0.339 ± 0.059 ^{△△}
脾胃湿热	9	0.178 ± 0.022	0.428 ± 0.067
胃络瘀阻	20	0.150 ± 0.031** [△]	0.339 ± 0.059* ^{△△}
脾胃虚寒	18	0.170 ± 0.024*	0.320 ± 0.070** ^{△△}
胃阴不足	21	0.150 ± 0.028** [△]	0.324 ± 0.055** ^{△△}

注: 与肝郁气滞型比较, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与脾胃湿热型比较, $\Delta P < 0.05$, $\Delta\Delta P < 0.01$; 与脾胃虚寒型比较, $\Delta P < 0.05$

高于胃络瘀阻型、胃阴不足型 ($P < 0.05$)。不同证型患者 Ki67 平均光密度值存在显著差异 ($P < 0.01$)，两两比较结果显示，肝郁气滞型、脾胃湿热型显著高于脾胃虚寒型、胃阴不足型与胃络瘀阻型 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)，且脾胃湿热型显著高于肝胃郁热型 ($P < 0.01$)。

4 讨论

慢性萎缩性胃炎伴有肠上皮化生和上皮内瘤变是胃黏膜癌变过程中的重要阶段，在此阶段采取积极治疗的手段能阻止或者逆转胃黏膜癌变进程，降低胃癌发病率。此前关于慢性萎缩性胃炎的中医研究都是中医宏观整体辨证，整体辨证运用望、闻、问、切四诊，但主观性很强，并要求诊疗医师有一定的临床经验。中医“微观辨证”的概念是由沈自尹在 1986 年首次提出的^[1]，微观辨证可以提高临床诊断的准确性，并能正确地指导临床治疗用药^[2]。“微观辨证”是在中医基础理论的指导下，运用现代医学影像学检查、内镜检查、实验室检查、组织病理检查甚至基因检查等先进技术，旨在从器官水平、细胞水平、亚细胞水平、分子水平、基因水平等较深层次上辨证，从而为临床诊断治疗提供一定客观依据的辨证方法^[3]。有临床报道，宏观辨证结合微观辨证治疗疗效优于单纯采用中医宏观辨证疗效^[4]，因此，本研究对指导临床用药有一定意义。

本研究通过观察胃镜下 CAG 的胃黏膜进行中医微观辨证分型，并从中医微观辨证分型与 Hp 关系、肠上皮化生率、上皮内瘤变率、CD34 免疫组化平均光密度值、Ki67 免疫组化平均光密度值方面进行系统研究。共聚焦激光显微镜对于 CAG 的敏感度为 83.6%，特异度为 99.6%，准确度为 97.5%，对 CAG 诊断的具有高度的准确性和真实性^[5]，其能在做普通胃镜的同时为检查者提供黏膜和黏膜下组织图像，使检查者能直接观察黏膜组织的显微结构，且无痛胃镜能有效减少检查中的呕吐反应^[6]，并不影响正常的胃蠕动，能有效减少假性胆汁反流^[7]，能更准确地进行胃镜下分型。本研究结果显示，170 例患者中微观辨证为实证者 88 例，虚证者 82 例，各证型比例从高到低排序为胃阴不足型 > 脾胃虚寒型 > 肝郁气滞型 > 胃络瘀阻型 > 肝胃郁热型 > 脾胃湿热型。各微观辨证证型在 Hp 阳性感染无相关性，但显示出微观辨证为实证的 Hp 感染率较虚证多的趋势。因本次研究为通过

胃黏膜象进行中医微观辨证，而以往研究^[8]是中医整体辨证分型，故结果不同。

中医微观辨证分型各证型的癌前病变率在本次研究的结果显示，肝郁气滞型和脾胃湿热型的肠上皮化生率较高，肝郁气滞型和脾胃湿热型的上皮内瘤变率较高。CD34 是内皮细胞标记物抗原，主要表达在造血前体细胞核血管内皮细胞上，与血管生成有密切关系，通查作为肿瘤转移及预后的重要标记物，是反映胃癌细胞生物学行为的一种可靠的指标^[9]。Ki67 抗原是目前较为肯定的核增殖标志基因，可准确的反应细胞增殖活性，在肿瘤组织中表达越高，癌细胞增殖就越活跃，癌组织就生长的越快^[10-14]。中医微观辨证肝郁气滞型和脾胃湿热型的 CD34、Ki67 平均光密度值均较高。

综上所述，中医微观辨证分型肝郁气滞型和脾胃湿热型的癌前病变发生率高于其他微观辨证证型。中医微观辨证有助于 CAG 中医证候的疗效评价体系的客观性，提高中医药疗效评价的客观性、严谨性和科学性；弥补宏观辨证的不足，完善 CAG 中医辨证“证”的内容，是对 CAG 深层次的探索和补充，也为早期胃癌的筛查提供更全面依据，丰富中医辨证治疗的内容，更好地指导临床治疗用药。

参考文献

- [1] 邹文斌,李兆申. 中国胃癌发病率及死亡率研究进展 [J]. 中国实用内科杂志,2014,34(4):408-415.
- [2] 吴建新,张燕,李定国,等. 胃癌与慢性萎缩性胃炎基因表达谱的差异和关联 [J]. 中国癌症杂志,2008,18(2):118-123.
- [3] 房静远,刘文忠,李兆申,等. 中国慢性胃炎共识意见 [J]. 胃肠病学,2013,18(1):24-36.
- [4] 张万岱,李军祥,陈治水,等. 慢性胃炎中西医结合诊疗共识意见 [J]. 中国中西医结合杂志,2012,32(6):738-743.
- [5] Guo YT, Li YQ, Yu T, et al. Diagnosis of gastric intestinal metaplasia with confocal laser endomicroscopy in vivo: a prospective study [J]. Endoscopy, 2008, 40(7):547-553.
- [6] 沈自尹. 微观辨证和辨证微观化 [J]. 中医杂志, 1989, 33(4):37-40.
- [7] 薛飞飞,陈家旭. 论微观辨证与宏观辨证的关系 [J]. 中华中医药学刊, 2007, 25(8):1594-1596.
- [8] 薛飞飞,陈家旭. 对“微观辨证”的思考与展望 [J]. 中医杂志, 2007, 48(2):104-106.
- [9] 彭林,陈金泉,马普伟,等. 中医宏观辨证结合结肠镜

下微观辨证治疗功能性便秘 50 例[J]. 中医研究, 2011, 24(1): 39-41.

- [10] 张建娜, 于涛, 李延青, 等. 共聚焦激光显微内镜对组织学胃炎的诊断[J]. 中华消化内镜杂志, 2008, 25(7): 347-352.
- [11] 陈立. 无痛胃镜与普通胃镜检查的比较[J]. 中国内镜杂志, 2012, 18(2): 220-222.
- [12] 谭庆华, 车筑萍, 王于锦, 等. 无痛胃镜术中上消化道蠕动变化分析[J]. 贵州医药, 2009, 33(3): 251-252.
- [13] 黄雅慧, 郭菊清, 刘越洋, 等. 慢性萎缩性胃炎胃黏膜

癌前病变病理变化与中医证型及 Hp 的相关性研究[J]. 中华中医药学刊, 2014, 32(6): 1381-1383.

- [14] Tokunaga Y, Hata K, Nishitai R, et al. Gastric stromal tumor stained with CD34 and infected with Helicobacter pylori[J]. Surgery, 1998, 124(1): 106-108.
- [15] Yerushalmi R, Woods R, Ravdin PM. Ki-67 in Breast Cancer; Prognostic and Predictive Potential[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(2): 74-83.
- [16] 乔伟. DEK、Ki67 在胃癌组织中的表达及意义[J]. 昆明: 昆明医科大学, 2012.

Analysis on the Characteristics of Microcosmic Differentiation of Gastric Mucosa and Precancerous Lesions in Patients with Chronic Atrophic Gastritis

MENG Jianyu¹, TAN Jie², GUO Yuting², ZHANG Tiefeng², MENG Lingjun²

(1. Institute of Science and Technology, Shandong University of Traditional Chinese Medicine, Shandong Province, 250355; 2. The Second Affiliated Hospital of Shandong University of Traditional Chinese Medicine)

ABSTRACT Objective To observe the distribution laws of TCM microcosmic differentiation syndromes of gastric mucosa in patients with chronic atrophic gastritis and the occurrence of precancerous lesions. **Methods** A total of 170 patients with chronic atrophic gastritis were treated with the examination of painless gastroscopy and confocal laser endoscopy. According to the endoscope observation, they were divided into stomach yin insufficiency type, stasis blocking stomach collaterals type, deficiency cold of spleen and stomach type, spleen-stomach damp-heat type and stagnation of liver-Qi type after microcosmic syndrome differentiation of traditional Chinese medicine. Targeted biopsy was taken on the the glands atrophy to determine the intestinal epithelial metaplasia or intraepithelial neoplasia, the mean optical density of CD34 and Ki67 in gastric mucosa was examined by immunohistochemical method, and at the same time, Helicobacter pylori (Hp) infection would be judged. **Results** Among all the cases of chronic atrophy gastritis in this study, according to TCM microcosmic syndrome differentiation, there were 54 cases of stomach yin insufficiency type, 28 cases of deficiency cold of spleen and stomach type, 22 cases of liver stomach heat type, 16 cases of spleen-stomach damp-heat type. There was no significant difference in the Hp infection rate among different types of TCM microcosmic syndrome differentiation ($P > 0.05$). Intestinal metaplasia rate and intraepithelial neoplasia rate in stagnation of liver-Qi type and spleen-stomach damp-heat type was significantly higher than that in deficiency cold of spleen and stomach type and stomach yin insufficiency type ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The intraepithelial neoplasia rate in stagnation of liver Qi type was significantly higher than that of deficiency cold of spleen and stomach type and stomach yin insufficiency type ($P < 0.01$). The CD34 average optical density value of stagnation of liver Qi type value was significantly higher than that of liver stomach heat type, stasis blocking stomach collaterals type, deficiency cold of spleen and stomach type, stomach yin insufficiency type ($P < 0.05$ or $P < 0.01$); Pi-Wei damp-heat type and deficiency cold of spleen and stomach type was significantly higher than that in stasis blocking stomach collaterals type and stomach yin insufficiency type ($P < 0.05$); Ki67 average optical density value in stagnation of liver-Qi type and spleen-stomach damp-heat type was significantly higher than that in deficiency cold of spleen and stomach type, stomach yin insufficiency type and stasis blocking stomach collaterals type ($P < 0.05$ or $P < 0.01$), Ki67 average optical density value in Pi-Wei damp-heat type was significantly higher than that in liver stomach heat type ($P < 0.01$). **Conclusion** Among TCM microcosmic differentiation of gastric mucosa in chronic atrophic gastritis, excess syndrome is more than deficiency syndrome Among all the microscopic syndromes, Stagnation of liver-Qi Type and spleen-stomach damp-heat type have higher incidence rate of precancerous lesions.

Keywords chronic atrophic gastritis; microcosmic differentiation; intestinal metaplasia; intraepithelial neoplasia; precancerous lesion

(收稿日期: 2014-12-17; 修回日期: 2015-04-10)

编辑: 焦爽