

· 研究原著 ·

文章编号 1000-2790(2007)17-1559-04

## 孕酮对大鼠脑损伤后神经细胞保护作用及其可能机制

司道文<sup>1</sup>, 周洪霞<sup>1</sup>, 张宇新<sup>1</sup>, 程爱国<sup>2</sup>, 张作凤<sup>1</sup>(华北煤炭医学院: 基础部解剖学教研室,<sup>2</sup>附属医院骨科, 河北唐山 063000)

### Neuroprotective effect of progesterone on neurons after traumatic brain injury in rats and its mechanism

SI Dao-Wen<sup>1</sup>, ZHOU Hong-Xia<sup>1</sup>, ZHANG Yu-Xin<sup>1</sup>, CHENG Ai-Guo<sup>2</sup>, ZHANG Zuo-Feng<sup>1</sup><sup>1</sup>Department of Anatomy, School of Basic Medicine, <sup>2</sup>Department of Orthopaedics, Affiliated Hospital, North China Coal Medical College, Tangshan 063000, China

**【Abstract】** AIM: To investigate the neuroprotective effect of progesterone (PROG) on neurons after traumatic brain injury (TBI) in rats and the possible mechanism. **METHODS:** 108 Male Sprague-Dawley rats were randomly divided into 3 groups: sham-operated group ( $n = 36$ ), PROG-treated group ( $n = 36$ ) and TBI group ( $n = 36$ ). The rat models of TBI were duplicated with the improved Feeney's method. At 6, 12, 24, 48, 72 and 144 h after establishment of models, the nerve cell apoptosis in hippocampal CA1 was determined with TUNEL method, and the expression of Bcl-2 and Bax were detected with immunohistochemistry. **RESULTS:** No apoptotic cells, Bcl-2 and Bax positive nerve cells were detected in the sham-operated group. The number of apoptotic cells of the PROG-treated group were  $9.80 \pm 1.36$ ,  $10.90 \pm 1.13$ ,  $9.50 \pm 1.62$  at 24, 48 and 72 h after injury respectively, less than those of the TBI group, which were  $11.60 \pm 1.95$ ,  $13.20 \pm 1.04$ ,  $11.80 \pm 1.84$  respectively. There were significant differences between the PROG-treated group and the TBI group in TUNEL positive cells at 24, 48 and 72 h after injury ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Bcl-2 positive nerve cells in the PROG-treated group were more than those in the TBI group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). Bax positive nerve cells in the PROG-treated group were less than those in the TBI group ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). The ratios of Bcl-2 to Bax positive nerve cells in the PROG-treated group were  $3.84 \pm 0.49$ ,  $3.48 \pm 0.72$ ,  $3.31 \pm 0.38$ ,  $3.94 \pm 0.67$ ,  $4.88 \pm 0.93$  at 12, 24, 48, 72 and 144 h after injury respectively, higher than those in the TBI group, which were  $2.91 \pm 0.74$ ,  $2.43 \pm 0.52$ ,  $2.34 \pm 0.41$ ,  $2.99 \pm 1.04$ ,  $3.69 \pm 0.87$  respectively. There were significant dif-

ferences between the PROG-treated group and the TBI group at 12, 24, 48, 72 and 144 h after injury ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ). **CONCLUSION:** The administration of PROG may increase the expression of Bcl-2, suppress the expression of Bax, increase the ratio of Bcl-2 to Bax, and reduce nerve cell apoptosis. These results indicate that PROG exerts neuroprotective effects on the neurons after TBI.

**【Keywords】** progesterone; brain injury; apoptosis; Bcl-2; Bax

**【摘要】**目的: 探讨孕酮(PROG)对大鼠创伤性脑损伤(TBI)后神经细胞保护作用及其可能的机制。方法: 雄性SD大鼠108只随机分为假手术组、损伤组和PROG治疗组, 每组36只。按照改进的Feeney自由落体损伤装置制作大鼠脑损伤模型。建模后6, 12, 24, 48, 72和144h各组分别利用末端脱氧核酸转移酶介导的三磷酸鸟苷末端标记法(TUNEL)测定大鼠海马CA1区神经细胞凋亡, 利用免疫组织化学方法测定大鼠海马CA1区Bcl-2, Bax的表达。结果: 假手术组未见神经细胞凋亡, Bcl-2和Bax阳性细胞; PROG治疗组伤后24, 48和72h神经细胞凋亡数分别为  $9.80 \pm 1.36$ ,  $10.90 \pm 1.13$ ,  $9.50 \pm 1.62$ , 低于损伤组细胞凋亡数  $11.60 \pm 1.95$ ,  $13.20 \pm 1.04$ ,  $11.80 \pm 1.84$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); PROG治疗组大鼠脑组织中Bcl-2阳性神经细胞表达高于损伤组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ), Bax阳性神经细胞表达低于损伤组( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ ); PROG治疗组损伤后12, 24, 48, 72和144h Bcl-2/Bax细胞比值分别为  $3.84 \pm 0.49$ ,  $3.48 \pm 0.72$ ,  $3.31 \pm 0.38$ ,  $3.94 \pm 0.67$ ,  $4.88 \pm 0.93$ , 大于损伤组Bcl-2/Bax比值  $2.91 \pm 0.74$ ,  $2.43 \pm 0.52$ ,  $2.34 \pm 0.41$ ,  $2.99 \pm 1.04$ ,  $3.69 \pm 0.87$ , 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。结论: 脑损伤后, PROG可能通过促进Bcl-2的表达, 抑制Bax的表达, 增加Bcl-2/Bax比值, 从而减少神经细胞凋亡。

**【关键词】** 孕酮; 脑损伤; 凋亡; Bcl-2; Bax**【中图分类号】** R651.1 **【文献标识码】** A

## 0 引言

近年来, 孕酮(progesterone, PROG)对创伤性脑损伤(tramatic brain injury, TBI)的保护作用越来越受到重视。Wagner等<sup>[1]</sup>证实了脑损伤的预后受性别因素的影响, 雌性动物优于雄性。PROG作为性别特征的重要物质, 可能在脑保护方面起重要作用。Dje-baili等<sup>[2]</sup>报道PROG可抑制脑损伤后神经细胞凋亡, 但相关的机制尚未阐明。本实验按照改进的

收稿日期 2007-02-02; 接受日期 2007-06-08

作者简介: 司道文, 硕士, 讲师。Tel: (0315)3725753 Email: sdaowen@yaho.com.cn

Feeney 自由落体损伤装置制作大鼠脑损伤模型<sup>[3]</sup>, 研究 PROG 对脑损伤后神经细胞凋亡及凋亡相关基因 Bcl-2, Bax 表达的影响, 探讨 PROG 对神经细胞保护作用的可能机制。

## 1 材料和方法

**1.1 材料** 健康雄性 SD 大鼠 108 只, 体质量 280 ~ 300 g (华北煤炭医学院实验动物中心提供); 按文献<sup>[3]</sup>的方法制作 Feeney 自由落体脑损伤装置。孕酮 (黄体酮注射液) 药物批号: 国药准字 H12020534, 产品批号 0404151 (天津金耀氨基酸有限公司生产); 三磷酸鸟苷末端标记法 (TUNEL), Bcl-2, Bax 检测试剂盒 (北京中山生物技术有限公司), 其他常用试剂均为国产分析纯。

### 1.2 方法

**1.2.1 动物分组** 将 108 只大鼠随机分为假手术组、损伤组和 PROG 治疗组, 每组动物 36 只。按伤后取材时间的不同每组又分为伤后 6, 12, 24, 48, 72 和 144 h 共 6 个时间点组, 每组 6 只动物。

**1.2.2 模型制备** 按照文献<sup>[4]</sup>的方法, 损伤组和 PROG 治疗组大鼠均经戊巴比妥钠 (40 mg/kg) 腹腔麻醉, 在矢状缝后 1.5 mm, 中线旁 2.5 mm 处打开一直径 5 mm 骨窗, 用 40 g 的击锤从 25 cm 处自由坠落冲击撞杆造成脑损伤, 致伤冲击力约为 0.088 N·s。假手术组仅切开头皮, 开同样大小骨窗而不造成脑挫伤。PROG 治疗组伤后 1 d 腹腔注射 PROG 16 mg/kg, 伤后 24, 48, 72, 96, 120 和 144 h 皮下注射 PROG 16 mg/kg。假手术组和损伤组在相同时间内给予等量生理盐水腹腔注射或皮下注射。

**1.2.3 取材固定切片** 于上述伤后各时相点, 对动物进行戊巴比妥钠麻醉, 开胸 40 g/L 多聚甲醛经心灌流固定 10 min 后, 断头取出脑组织, 置于 40 g/L 多聚甲醛后固定 12 ~ 24 h, 取出固定液中脑组织标本, 常规脱水、石蜡包埋。标本自视交叉后连续作冠状切片, 层厚 6 μm, 贴附于玻片上待用。

**1.2.4 免疫组织化学染色** 采用 SP 法: 切片脱蜡至水, 3 g/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 室温 10 min, 抗原微波热修复, 山羊血清孵育, 兔抗大鼠 Bcl-2, Bax 多克隆抗体 1:100 孵育, 湿盒内 4℃ 冰箱过夜, 生物素标记的二抗 10 min, 链霉菌抗生物素蛋白-过氧化酶 10 min, DAB 显色。阴性对照以 PBS 代替一抗。

**1.2.5 神经细胞凋亡检测** 采用 TUNEL 法 3 g/L H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 封闭内源性过氧化物酶, 以蛋白酶 K 消化, 缓冲液冲洗, 加入反应液 37℃ 孵育 60 min, 冲洗, 加入转化剂 POD 37℃ 孵育 30 min, PBS 冲洗, DAB 显色。

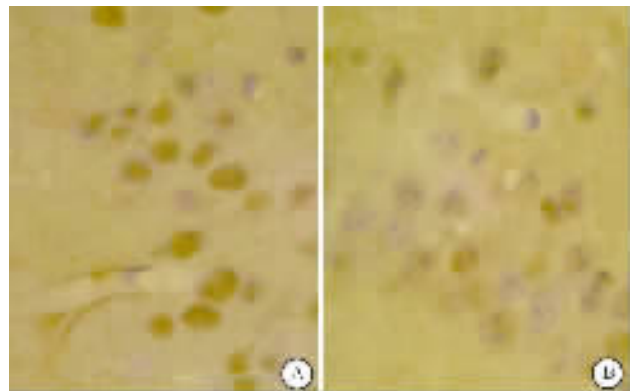
用不含 TdT 的 TUNEL 反应液作阴性对照。

**1.2.6 结果判定** 胞核染色呈棕黄色或棕红色为 TUNEL 阳性。胞质染色呈棕黄色或棕褐色为 Bcl-2, Bax 免疫组化染色阳性。切片在 400 倍光镜下观察, 随机取 5 个视野, 计数每个视野 (在海马 CA1 区长度为 1 mm) 阳性细胞数, 以平均值代表各区计数结果。

统计学处理: 所有数据用  $\bar{x} \pm s$  表示, 采用 SPSS 10.0 统计软件进行数据统计处理, 各组间比较采用方差分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 大鼠海马 CA1 区神经细胞凋亡, Bcl-2 和 Bax 的表达** 假手术组未见神经细胞凋亡和 Bcl-2, Bax 阳性细胞。PROG 治疗组 TUNEL 阳性细胞数低于损伤组 (图 1A, B) 24, 48 和 72 h PROG 治疗组与损伤组之间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。PROG 治疗组 Bcl-2 阳性细胞高于损伤组 (图 2A, B), 12, 24, 48 和 72 h PROG 治疗组与损伤组之间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。PROG 治疗组 Bax 阳性细胞表达减少 (图 2C, D), 损伤后 24 和 48 h PROG 治疗组与损伤组之间差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  表 1)。



A: 损伤组; B: PROG 治疗组。

图 1 大鼠伤后 24 h 海马 CA1 区神经细胞凋亡 TUNEL  $\times 400$

**2.2 Bcl-2/Bax 比值的变化** 结果显示, 损伤后 6, 12, 24, 48, 72 和 144 h 大鼠海马 CA1 区 Bcl-2/Bax 比值损伤组为  $3.36 \pm 0.83$ ,  $2.91 \pm 0.74$ ,  $2.43 \pm 0.52$ ,  $2.34 \pm 0.41$ ,  $2.99 \pm 1.04$  和  $3.69 \pm 0.87$ ; PROG 治疗组为  $3.97 \pm 0.47$ ,  $3.84 \pm 0.49$ ,  $3.48 \pm 0.72$ ,  $3.31 \pm 0.38$ ,  $3.94 \pm 0.67$  和  $4.88 \pm 0.93$ 。PROG 治疗组 Bcl-2/Bax 比值大于损伤组, 组间差异具有统计学意义 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

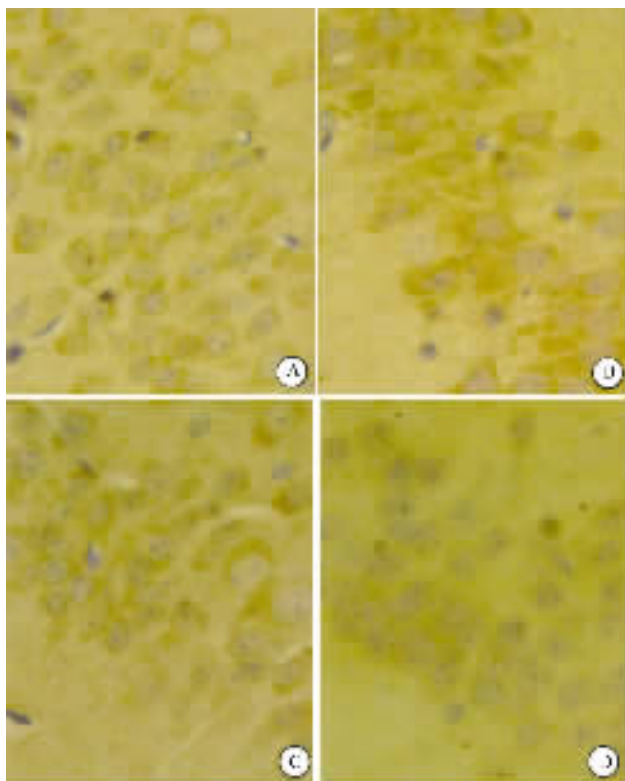


图2 大鼠伤后24 h海马CA1区Bcl-2, Bax表达 SP ×400  
A: 损伤组 Bcl-2; B: PROG 治疗组 Bcl-2; C: 损伤组 Bax; D: PROG 治疗组 Bax.

图2 大鼠伤后24 h海马CA1区Bcl-2, Bax表达 SP ×400

表1 大鼠海马CA1区神经细胞凋亡, Bcl-2, Bax的表达

( $n=6, \bar{x} \pm s$ )

组别	6 h	12 h	24 h	48 h	72 h	144 h
凋亡细胞						
损伤	6.9 ± 1.32	8.5 ± 1.56	11.6 ± 1.95	13.2 ± 1.04	11.8 ± 1.84	8.9 ± 1.74
PROG 治疗	5.7 ± 1.24	7.9 ± 1.68	9.8 ± 1.36 <sup>a</sup>	10.9 ± 1.13 <sup>b</sup>	9.5 ± 1.62 <sup>a</sup>	7.8 ± 1.27
Bcl-2						
损伤	22.9 ± 1.96	30.7 ± 2.43	39.3 ± 1.84	36.1 ± 2.25	27.8 ± 3.95	21.3 ± 3.67
PROG 治疗	24.6 ± 3.83	35.4 ± 1.82 <sup>a</sup>	45.6 ± 2.17 <sup>b</sup>	41.7 ± 2.16 <sup>b</sup>	32.5 ± 4.32 <sup>a</sup>	24.9 ± 4.78
Bax						
损伤	6.8 ± 1.62	10.7 ± 2.44	16.2 ± 1.95	15.4 ± 2.39	9.3 ± 2.07	5.9 ± 1.95
PROG 治疗	6.2 ± 1.56	9.3 ± 1.95	13.1 ± 1.78 <sup>b</sup>	12.6 ± 1.64 <sup>a</sup>	8.4 ± 1.48	5.1 ± 1.14

\* $P < 0.05$ , <sup>b</sup> $P < 0.01$  vs 损伤.

凋亡的发生<sup>[7]</sup>. Yao 等<sup>[8]</sup>在大鼠液压脑损伤模型检测伤灶大脑皮质凋亡相关基因 Bax, Bcl-2 在 mRNA 水平和蛋白质水平的表达时观察到, PROG 可以降低损伤侧 Bax 的表达, 而上调相应损伤部位 Bcl-2 的表达. 本研究结果显示, 脑损伤后 Bcl-2 蛋白在 6 h 时即有表达, 于 24 h 达高峰, 以后逐渐下降, 6 d 时 Bcl-2 仍有表达. 与 Bax 蛋白表达变化规律相似, 二者比值越小神经细胞凋亡数越多. Bcl-2, Bax 的比值于伤后 48 h 最低, 同神经细胞凋亡峰值时间一致. 我们认为 Bcl-2 与 Bax 之间相互作用是影响脑损伤后神经细胞凋亡的重要原因. PROG 干预后与损伤组比较, Bcl-2 阳性细胞数增加, 而 Bax 阳性细胞数减少, 二者之间的比值也相应增大. 由此可见, PROG 可以上调

### 3 讨论

脑损伤后的继发性损伤至今仍缺乏理想的治疗方法和手段. PROG 作为新的神经调质对脑损伤的保护作用逐渐受到重视. Guo 等<sup>[5]</sup>在双额叶脑损伤大鼠模型中观察到, PROG 治疗可以减少损伤灶周围水通道蛋白-4 (AQP4) 的表达, 减轻脑水肿以及神经细胞凋亡, 提示 PROG 对神经细胞具有保护作用. PROG 还具有抗氧化损害作用, 可减轻脑损伤后的炎症反应, 抑制 NMDA 受体活性, 增强抑制性神经递质 GABA 受体的活性, 降低兴奋性氨基酸的毒性作用等<sup>[6]</sup>. 本实验我们观察了 PROG 对脑损伤后神经细胞凋亡的影响, 结果显示脑损伤后 6 h 海马 CA1 区即有神经细胞凋亡, 伤后 48 h 神经细胞凋亡数量达到高峰, 持续至 6 d 仍可见少量凋亡细胞. 给予 PROG 后, 海马 CA1 区 TUNEL 阳性细胞数较损伤组的 TUNEL 阳性细胞数明显降低, 提示 PROG 可抑制创伤性脑损伤后神经细胞凋亡, 这与文献报道的研究结果基本一致<sup>[2]</sup>.

Bcl-2 蛋白可抑制细胞色素-C 从线粒体释放, 而 Bax 蛋白可启动该过程并通过活化 Caspase-3 而导致细胞凋亡. Bcl-2 与 Bax 有很高的同源性, 两者之间常可形成异源性二聚体, 其比值变化可影响神经细胞

Bcl-2 蛋白表达, 阻抑 Bax 蛋白表达, 使 Bcl-2 与 Bax 比值增大, 可能的原因是 PROG 通过改变 Bcl-2 与 Bax 的平衡来影响神经细胞凋亡过程, 从而发挥脑保护的作用.

### 【参考文献】

- [1] Wagner AK, Willard LA, Kline AE, et al. Evaluation of estrous cycle stage and gender on behavioral outcome after experimental traumatic brain injury [J]. Brain Res, 2004, 998(1): 113-121.
- [2] Djebaili M, Hoffman S, Stein D. Allopregnanolone and progesterone decrease cell death and cognitive deficits after a contusion of the rat pre-frontal cortex [J]. Neurosci, 2004, 123(2): 349-359.
- [3] 江基尧, 朱 诚. 现代颅脑损伤学 [M]. 上海: 第二军医大学出版社, 1999: 509-511.

[4] Feeney DM, Boyeson MG, Linn RT, et al. Responses to cortical injury: Methodology and local effects of contusions in the rat [J]. Brain Res, 1981, 211(1): 67-77.

[5] Guo Q, Sayeed I, Baronne LM, et al. Progesterone administration modulates AQP4 expression and edema after traumatic brain injury in male rats [J]. Exp Neurol, 2006, 198(2): 469-478.

[6] Smith SS, Gong QH. Neurosteroid administration and withdrawal alter GABAA receptor kinetics in CA1 hippocampus of female rats [J]. J Physiol, 2005, 564(2): 421-436.

[7] 马利杰, 王红, 王相利, 等. 大鼠急性脊髓损伤后神经细胞 Bcl-2 与 Bax 比值及细胞凋亡的关系 [J]. 第四军医大学学报, 2005, 26(22): 2042-2045.

[8] Yao XL, Liu J, Lee E, et al. Progesterone differentially regulates pro- and anti-apoptotic gene expression in cerebral cortex following traumatic brain injury in rats [J]. J Neurotrauma, 2005, 22(6): 656-668.

编辑 杨湘华

· 经验交流 · 文章编号 1000-2790(2007)17-1562-01

### 自身免疫性肝炎 28 例临床观察

王珏琼<sup>1</sup>, 乔泰东<sup>2</sup>, 刘俊<sup>2</sup>, 王海英<sup>2</sup> ( <sup>1</sup>平凉市第二人民医院消化内科, 甘肃 平凉 744000, <sup>2</sup>第四军医大学西京医院消化内科, 陕西 西安 710033 )

【关键词】 自身免疫性肝炎; 诊断; 观察  
【中图分类号】 R593.2 【文献标识码】 B

1 临床资料 西京医院消化内科 2000-01/2006-12 收治的自身免疫性肝炎( autoimmune hepatitis, AIH)患者 28(男 11,女 17)例, 年龄 15~73(平均 41.8±14.5)岁。患者排除了病毒、药物、乙醇性和遗传代谢性肝病。AIH 的诊断均根据美国肝病学会 2002 年发表的 AIH 临床指南列举的诊断条件做出诊断<sup>[1]</sup>。28 例 AIH 患者中乏力 25 例(89.3%), 纳差 26 例(92.9%), 腹胀 16 例(57.1%), 发热 8 例(28.6%), 恶心 20 例(71.4%), 皮肤黏膜黄染 22 例(78.5%), 肝脏增大 8 例(28.6%), 蜘蛛痣(+)10 例(35.7%), 腹水 6 例(21.4%), 消化道出血 1 例(3.6%)。伴有肝外表现 5 例(17.9%)。肝功能各项生物学指标及自身抗体检测由西京医院临检中心统一完成。超声引导下肝穿穿刺, 标本分别用 100 mL/L 的福尔马林固定, 石蜡包埋, HE 染色, 镜检。统计学处理应用 SPSS 10.0 软件, 进行独立样本 *t* 检验。结果 28 例主要表现为肝功能指标普遍异常: ALT (212.4±49.6) U/L, AST (113.7±95.3) U/L, T-Bil (97.1±94.4) μmol/L, D-Bil (48.0±30.0) μmol/L, ALP (347.4±313.0) U/L, γ-GT (229.1±226.0) U/L, 球蛋白(48.6±6.4) g/L。26 例患者做了自身抗体检测, 22 例患者自身抗体阳性, 其中抗核抗体(ANA)阳性 19 例(86.4%), 抗平滑肌抗体 3 例(13.6%), 合并 SSA 2 例(9.1%), 合并 AMA 1 例(4.5%)。未见抗 SLA/抗 LP 抗体阳性患者。11 例病检结果可见汇管区有淋巴细胞、浆细胞浸润, 肝细胞可见散在的灶性坏死或碎屑样坏死, 脂肪变性较少见, 肝细胞界板不清, 有纤维组织侵入(图 1)。19 例采用强的松治疗, 治疗 3 mo 后, 16 例(84.2%)乏力, 黄染明显改善, 转氨酶、总胆红素、碱性磷酸酶明显下降。

2 讨论 AIH 是一种肝脏的特殊炎症反应。其确切病因和发病机制尚不清楚, 目前认为是自身免疫、遗传与环境因素共同作用的结果。AIH 好发于女性, 临床起病隐匿, 症状、体征与一般病毒性肝病极易混淆, 也以纳差、乏力、恶心、腹胀、皮肤黏膜黄染、肝脾增大、蜘蛛痣和腹水等为主。同时, AIH 常伴有多种自身免疫性疾病的表现, 如甲亢、关节炎、银屑病等

易出现误诊, 这些肝外体征的出现也表明 AIH 患者通常免疫功能异常<sup>[2]</sup>。

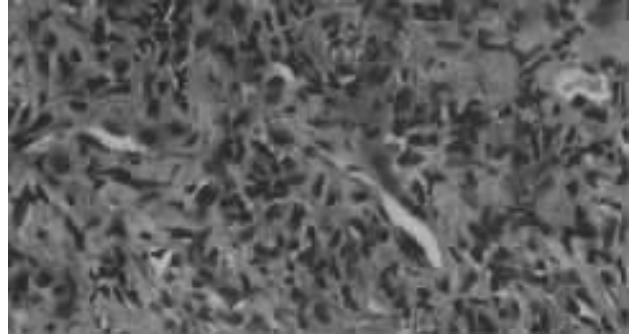


图 1 AIH 患者肝活检镜检 HE ×200

临床上, AIH 患者肝功明显异常, 但以免疫球蛋白、ALP 及 γ-GT 明显增高, 提示免疫球蛋白、ALP 及 γ-GT 异常可以作为 AIH 诊断的参考依据。此外, 自身抗体可作为 AIH 诊断的特殊标志, 也用作 AIH 分型的标准<sup>[3]</sup>。本组病例中 22 例患者自身抗体阳性, 其中以 I 型多见, 约 19 例(86.4%); II 型 3 例(13.6%), 且该型肝外表现较 I 型更为多见。本组病例中未见 III 型。此外, AIH 患者还伴有其它自身抗体阳性, 如 SSA 2 例(9.1%)。

肝活检也是诊断 AIH 的一个辅助指标, AIH 在组织学上有一定的特点, 以淋巴细胞浸润为主的界面性肝炎(即碎屑样坏死), 伴或不伴小叶性肝炎, 严重病例可出现肝细胞呈玫瑰花结样改变或小结节性肝细胞再生<sup>[4]</sup>。本组 11 例病检结果基本符合上述特点。

对免疫抑制剂治疗有效是 AIH 的特点之一<sup>[5]</sup>。经皮质激素或其它免疫抑制剂正规治疗后, 患者临床表现、生化等各方面的损害可以得到明显缓解, 支持该病是与自身免疫性疾病有关的肝炎。

#### 【参考文献】

[1] 张福奎, 贾继东. 自身免疫性肝炎的诊断与治疗 [J]. 中国实用内科杂志 2006 26(23): 1850.

[2] 李新民, 骆帆, 马雄, 等. 自身免疫性肝炎的临床特点和病理分析 [J]. 临床内科杂志 2006 23(8): 525-528.

[3] Zachou K, Rigopoulou E, Dalekos GN. Autoantibodies and autoantigens in autoimmune hepatitis: Important tools in clinical practice and to study pathogenesis of the disease [J]. J Autoimmune Dis, 2004, 1(1): 2.

[4] Czaja AJ. Understanding the pathogenesis of autoimmune hepatitis [J]. Am J Gastroenterol, 2001 96(4): 1224-1231.

[5] 钱谷男. 自身免疫性肝炎的诊断 [J]. 综合临床, 2000, 49: 717-722.

编辑 袁天峰