

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2015.07.011

乙肝免疫标志物与乙肝病毒核酸含量与肝功能的关系研究*

吴琳¹ 唐敏英¹ 张美娜¹ 姜孝新^{2△}

(1 南京军区福州总医院检验科 福建 福州 350025; 2 南华大学附属第一医院 湖南 衡阳 421001)

摘要 目的:研究乙肝免疫标志物(HBV-M)与乙肝病毒脱氧核苷酸(HBV-DNA)载量与肝功能的关系。**方法:**检测 104 例乙肝患者 HBsAg、HBeAg、HBcAb、HBsAb、HBeAb 5 种 HBV-M; 用 PCR 法检测 HBV-DNA 含量; 同时检测天冬氨酸氨基转移酶 (AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、胆碱酯酶(CHE) 等肝功能指标, 对三者关系采用 Spearman 相关性分析。**结果:**HBsAg、HBcAb、HBeAg 阳性组 HBV-DNA 阳性率及载量均大于其余组($P<0.05$); HBeAg 含量、ALT 浓度与 HBV-DNA 载量均呈正相关($r=0.48$, $P<0.05$)、($r=0.36$, $P<0.05$); AST、CHE 与 HBV-DNA 含量无明显相关性, 但在无病毒载量与有病毒载量组之间 AST 比较有统计学意义 ($P<0.05$)。**结论:**HBV-M、HBV-DNA 与肝功能之间有一定的相关性, 但 HBeAg 阴转不代表病毒复制停止, HBV-DNA 也不能完全反应肝损害程度, 临床应加大重视。

关键词: 乙肝; 乙肝病毒脱氧核苷酸; 免疫标志物; 肝功能

中图分类号: R512.62 文献标识码: A 文章编号: 1673-6273(2015)07-1241-04

Relationship of Hepatitis B Immune Markers and HBV-DNA Content with Liver Function*

WU Lin¹, TANG Min-ying¹, ZHANG Mei-na¹, JIANG Xiao-xin^{2△}

(1 Clinical Laboratory of Fuzhou General Hospital of Nanjing Military Area Command, Fuzhou, Fujian, 350025, China;

2 The First Affiliated Hospital, University of South China, Hengyang, Hunan, 421001, China)

ABSTRACT Objective: To study the relationship of HBV-M and HBV-DNA content with liver function. **Methods:** Detected the HBsAg, HBeAg, HBcAb, HBsAb and HBeAb levels of 104 hepatitis B patients. PCR method was used to detect their HBV-DNA levels. Meanwhile, their aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase enzymes (ALT), cholinesterase (CHE) levels were detected, and their relations between each other were obtained by using Spearman correlation analysis. **Results:** The positive rate of HBV-DNA and its load volume was greater in HBsAg, HBcAb, HBeAg-positive group than in the other groups ($P<0.05$). The HBeAg levels and ALT concentration was positively correlated with HBV-DNA load ($r=0.48$, $P<0.05$), ($r=0.36$, $P<0.05$). AST and CHE showed no significant correlation with HBV-DNA load, but AST between no viral group and viral group showed statistical difference ($P<0.05$). **Conclusion:** There is a certain correlation between HBV-M, HBV-DNA and liver function. But HBeAg seroconversion does not mean to stop viral replication, and yet HBV-DNA can not completely reflect liver damage. So we should pay more attention in clinic.

Key words: Hepatitis B; Hepatitis B virus deoxynucleotides; Immune markers; Liver function

Chinese Library Classification (CLC): R512.62 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2015)07-1241-04

前言

临床对于乙肝病毒(Hepatitis B virus, HBV)感染的诊断主要依赖于乙肝免疫标志物(HBV immune marks, HBV-M)及乙肝病毒脱氧核苷酸(HBV-DNA)含量的检测。HBV 感染后受感染方式及宿主免疫状况的影响, 而表现出不同的肝损害病理过程。近年研究显示, 5 种 HBV-M 的表达与 HBV-DNA 含量密切相关, 两者共同反映 HBV 复制情况, 为病情的判断及预后的评价有重要意义^[1]。本文分析 HBV-M、HBV-DNA 含量与肝功能的关系, 分析 HBV-M、HBV-DNA 对肝损害程度的判断及预后评估的价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2012 年 1 月~2014 年 4 月在本院治疗的乙肝患者 104 例。入选标准: ①均符合《病毒性肝炎的诊断标准》中乙肝的诊断标准^[2]; ②既往未进行抗病毒治疗或免疫抑制治疗; ③签署知情同意书。排除标准: ①伴有严重心、肾、肺疾病; ②其他类型肝炎病毒感染者, 失代偿性肝病者、脂肪肝、酒精肝; ③妊娠或哺乳期妇女。其中男 69 例, 女 35 例; 年龄 22~69 岁, 平均 (38.58 ± 13.45) 岁; 慢性轻度乙肝 36 例, 中度 59 例, 重度 9 例。

1.2 检测方法

* 基金项目: 卫生部医药卫生科技发展研究中心项目(W2013GJ09); 湖南省自然科学基金项目(14JJ2092)

作者简介: 吴琳(1985-), 女, 本科, 初级检验技师, 研究方向: 临床检验, 电话: 13400559524, E-mail: 81382024@qq.com

△ 通讯作者: 姜孝新, 男, 博士, 主任技师, 主要从事临床检验与肿瘤免疫, E-mail: jiangxiaoxin168@126.com

(收稿日期: 2014-07-12 接受日期: 2014-08-02)

1.2.1 标本采集 104 例患者均抽取晨起空腹静脉血 5 mL,置于试管中(不抗凝),轻摇混匀,在室温下静置 2 h,进行 3000 r/min 离心处理 15 min 待测。

1.2.2 HBV-M 检测 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法按顺序检测表面抗原(HBsAg)、表面抗体(HBsAb)、e 抗原(HBeAg)、e 抗体(HBeAb)、核心抗体(HBcAb)共 5 项 HBV-M。试剂采用英科新创试剂盒,严格按照试剂盒操作要求检测。

1.2.3 HBV-DNA 检测 采用聚合酶链反应(PCR)法定量检测血清 HBV-DNA 载量。仪器为 ABI SLAN PCR Detection System 7500 荧光定量检测仪(美国生产),试剂购于中山大学达安基因股份有限公司。严格按照试剂盒操作要求检测,HBV-DNA 定量结果由仪器软件自动计算出,以 > 500 IU/mL 为阳性。

1.2.4 肝功能指标检测 采用双试剂速率法检测天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、胆碱酯酶(CHE)等肝功能指标。仪器为贝克曼奥林巴斯 AU 2700 型全自动生化

分析仪(日本生产),试剂购于美康生物科技有限公司。正常参考值:AST <40 U/L,ALT 为 <40 U/L,CHE 为 4300~10500 U/L。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 17.0 软件包对数据进行统计学分析,计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验;对 5 种 HBV-M 阳性率、HBV-DNA 阳性率及载量与肝功能指标的关系采用 Spearman 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HBV-M 不同阳性模式的 HBV-DNA 阳性率及载量比较

104 例患者 HBV-M 模式复杂,共检出 9 种阳性模式,其中以 HBsAg、HBeAg、HBcAb 阳性,HBsAg、HBeAb、HBcAb 阳性,HBsAg、HBcAb 阳性的检出率最高,占 82.69%;大三阳组 HBV-DNA 阳性率及载量均大于其余各组($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),见表 1。

表 1 HBV-M 阳性模式与 HBV-DNA 阳性率及载量的关系

Table 1 The relationship between HBV-M positive mode and HBV-DNA positive rate and load

mode	Positive HBV-M	n	HBV-DNA positive rate (%)	HBV-DNA load (IU/mL)
I	HBsAg、HBeAg、HBcAb	32	31(96.88)	1.44×10^7
II	HBsAg、HBeAb、HBcAb	42	18(42.86)*	$4.36 \times 10^{3\#}$
III	HBsAg、HBcAb	12	5(41.67)*	$3.72 \times 10^{4\#}$
III	HBsAb	4	1(25.00)**	$2.01 \times 10^{4\#}$
IV	HBsAg、HBeAg、HBeAb、HBcAb	3	2(66.67)**	$3.96 \times 10^{4\#}$
V	HBsAb、HBcAb	3	1(33.33)**	$3.63 \times 10^{3\#}$
VI	HBsAg	2	0(0.00)	<500
VII	HBsAb、HBeAb、HBcAb	1	0(0.00)	<500
VIII	全阴	5	1(20.00)**	$8.94 \times 10^{2\#}$

注:HBV-DNA 阳性率与模式 I 比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$;HBV-DNA 载量与模式 I 比较 # $P < 0.01$ 。

Note: HBV-DNA positive rate was compared with mode I, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; HBV-DNA load was compared with mode I, # $P < 0.01$.

2.2 HBV-M 含量与 HBV-DNA 载量的关系

HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb 5 项 HBV-M,仅 HBeAg 的表达与 HBV-DNA 表达呈相关性,其余无明显相关性。104 例患者中,HBeAg 阳性 35 例,HBV-DNA 阳性率 94.29%;HBeAg 阴性 69 例,HBV-DNA 阳性率 37.68%。HBeAg 阳性组 HBV-DNA 阳性率显著高于 HBeAg 阴性组($\chi^2=27.19$,

$P < 0.01$)。

为进一步验证 HBeAg 表达与 HBV-DNA 表达的相关性,将 HBeAg 含量与 HBV-DNA 载量分为 4 个梯度,Spearman 相关性分析显示 HBeAg 含量与和 HBV-DNA 载量呈正相关($r=0.48$, $P < 0.05$),见表 2。

表 2 HBeAg 含量与和 HBV-DNA 载量的关系[n(%)]

Table 2 The relationship between HBeAg level and HBV-DNA load [n(%)]

HBV-DNA load (IU/mL)	n	HBeAg level (Ncu/mL)			
		≤ 0.03	0.03~1.00	1.00~3.00	> 3.00
≤ 500	4	3(8.57)	1(2.86)	0(0.00)	0(0.00)
500~ 10^4	14	6(17.14)	4(11.43)	3(8.57)	1(2.86)
10^4 ~ 10^7	10	5(14.29)	3(8.57)	1(2.86)	1(2.86)
$> 10^7$	7	0(0.00)	1(2.86)	2(5.71)	4(11.43)

2.3 肝功能指标与 HBV-DNA 载量的关系

将 HBV-DNA 载量分为 4 个梯度,Spearman 相关性分析显示 ALT 浓度与 HBV-DNA 载量呈正相关($r=0.36$, $P < 0.05$)。

AST、CHE 浓度与 HBV-DNA 载量无明显相关性,但在无病毒载量组(即 HBV-DNA 载量 ≤ 500 IU/mL)与有病毒载量组之间 AST 浓度比较有统计学意义($P < 0.05$),见表 3。

表 3 肝功能指标与 HBV-DNA 载量的关系

Table 3 Relationship between the indexes of liver function and HBV-DNA load

HBV-DNA load(IU/mL)	n	ALT(U/L)	AST(U/L)	CHE(U/L)
≤ 500	36	97.32± 23.45	42.34± 12.04	8302.34± 503.45
500~10 ⁴	34	126.34± 35.48*	53.45± 13.28*	8139.06± 712.56
10 ⁴ ~10 ⁷	20	217.45± 43.12*#	74.23± 16.3*	8231.24± 685.42
> 10 ⁷	14	241.26± 48.65*#△	104.34± 22.03*#	8179.37± 805.82

注:与≤ 500 组比较 *P<0.01,与 500~10⁴ 组比较 #P<0.01,与 10⁴~10⁷ 组比较△P<0.01

Note: compared with the group of HBV-DNA load ≤ 500 IU/mL, * P<0.01; compared with the group of HBV-DNA load of 500~10⁴ IU/mL, # P<0.01; compared with the group of HBV-DNA load of 10⁴~10⁷ IU/mL, △ P<0.01.

3 讨论

对于 HBV 感染患者而言,HBV-M、HBV-DNA 及肝功能指标改变有不同的临床意义。HBV-DNA 可反映 HBV 病毒的复制水平,HBV-M 则反映机体对 HBV 的免疫反应,肝功能指标则反映 HBV 对肝细胞的损害程度^[3-5]。本研究拟分析三者的关系,以了解病情的转归,并指导临床治疗。

HBV-DNA 阳性被认为是 HBV 感染诊断的主要指标,而 HBV-DNA 载量越大,HBV 复制越活跃,传染性越强。以往研究认为,HBV-M 与 HBV-DNA 两者的水平应表现一致。曹瑞华等^[6] 研究报道,HBsAg 阳性者 HBV-DNA 的阳性率达 100.00%。本研究中,HBsAg 阳性者 HBV-DNA 的阳性率达 94.29%,略低于文献报道水平,但与 HBeAg 阴性组比较差异有统计学意义(P<0.01)。而且在 5 种 HBV-M 的仅有 HBeAg 含量与 HBV-DNA 载量呈正相关(r=0.48,P<0.05),其余 HBV-M 与 HBV-DNA 无明显相关性。证实 HBeAg 可作为 HBV 复制的良好指标。本研究中,HBV-M 表现出复杂多变的阳性模式。施志农等^[7]研究报道,在 HBV-M 阳性模式中,1-3-5、1-4-5,即俗称的"小三阳"约占 45%以上。本研究中在 HBsAg 阳性模式中,HBsAg、HBeAb、HBcAb 约占 40.18%,与文献报道基本相符,这与目前临床重视 HBeAg 阴性肝炎有关。McMahon 等^[8]研究认为,HBV 前 C 区变异可导致 HBeAg 缺失,以逃避宿主的免疫清除和药物抗病毒作用,但 HBV 复制不受影响,这类感染更容易在患者体内长期潜伏,不断复制,对患者肝组织造成慢性损害。近年来,国内外加大对 HBeAg 阴性的重视,认为 HBeAg 阴性而 HBV-DNA 阳性者易发生慢性乙肝或肝硬化。范公忍等^[9]研究发现,HBeAg 阴性和阳性两种慢性乙肝患者中肝细胞的损害程度相当。本研究中,在 HBeAg 阴性的患者中,HBV-DNA 阳性率仍为 37.68%,而且 HBV-DNA 的载量高达 4.36×10⁵ IU/mL,这证实 HBeAg 阴性不能代表 HBV 病毒停止复制或者病情好转^[10,11]。

值得注意的是,本研究中有 5 例 HBV-M 全阴患者,但仍有 1 例检出 HBV-DNA 低浓度复制,而且在 2 抗阳性患者中同样检出 1 例 HBV-DNA 复制^[12-14]。提示 HBV-M 转阴或者抗体出现并不代表病毒血症终止或者病情好转,可能存在变异菌株持续感染或肝损害持续进行。单纯采用 HBV-M 来评价肝炎病情变化有一定的局限性^[15]。

临床对于 HBV-DNA 与肝功能的的关系存在较大争议。李建国等^[16]研究认为血清 HBV-DNA 载量与 AST、ALT、CHE 等肝

功能指标浓度呈比。Fan 等^[17] 则得到相反的结论,其报道 HBV-DNA 载量与肝脏炎症和纤维化程度无显著相关性。本研究中 ALT 浓度与 HBV-DNA 载量均呈正相关(r=0.36,P<0.05);AST、CHE 与 HBV-DNA 载量无明显相关性。笔者认为,在乙肝患者中,HBV 经过宿主免疫清除后,初步与宿主免疫系统建立暂时的动态平衡,表现出 HBV 暂停或减缓复制,对肝细胞的损害减轻,HBV-DNA 与转氨酶维持在较低或正常水平。但随着宿主免疫反应的减弱或其他诱因下,平衡被破坏,肝细胞随着受到损害,ALT 不断升高。反应肝脏炎症反应的可靠指标 AST 与 HBV-DNA 载量并无明显相关性,但在无病毒载量与有病毒载量组之间 AST 比较有统计学意义(P<0.05)。CHE 可作为肝脏是否发生实质性损害的指标,当肝脏发生实质性损害时,CHE 含量下降,随慢性肝病分级程度的增加呈下降趋势,并与病理学改变呈相关^[18,19]。本研究中 CHE 与 HBV-DNA 载量无明显相关性。由此提示 HBV-DNA 载量高低与肝脏炎症指标存在一致性,而与肝实质损害指标不具有相关性。考虑到肝实质损害的因素较多,在乙肝患者诊治过程中,应询问或通过体检查找是否存在其他肝损害因素,而不能仅靠 HBV-DNA 载量或肝功能指标检测下定论^[20]。

综上所述,HBV-M、HBV-DNA 与肝功能之间有一定的相关性,但 HBeAg 阴转不代表病毒复制停止,HBV-DNA 也不能完全反应肝损害程度,临床应加大重视。

参考文献(References)

- [1] 刘毅,王波,黄小川,等.乙型肝炎血清免疫标志物与病毒核酸含量的相关性研究[J].中国实验诊断学,2013,(12):2185-2188
Liu Yi, Wang Bo, Huang Xiao-chuan, et al. Study on correlation between [J]. Hepatitis B immune serum markers and virus nucleic acid content Chinese laboratory diagnosis, 2013, (12): 2185-2188
- [2] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会.病毒性肝炎的诊断标准[J].中西医结合肝病杂志,2001,11(1):56-60
Infectious Diseases Society of Hepatology, Chinese society of Hepatology of Chinese Medical Association Journal. Liver disease combined with [J]. diagnostic criteria of traditional Chinese medicine and Western medicine for viral hepatitis, 2001, 11(1): 56-60
- [3] 李欣华,蒋卫平,郑颖.乙肝病毒前 S1 蛋白与 HBVD-NA、乙肝免疫标志物检测结果相关性分析[J].临床肝胆病杂志,2004,(5):303-304
Li Xin-hua, Jiang Wei-ping, Zheng Ying. Hepatitis B virus associated S1 protein and HBVD-NA, hepatitis B immune markers results analysis [J]. Journal of clinical virology, 2004, (5): 303-304
- [4] 岳欣,韩国荣,吴凯华,等.乙肝孕妇肝功能指标变化与早产相关性的

- 临床分析[J].现代生物医学进展, 2010, 10(12): 2269-2271
- Yue Xin, Han Guo-rong, Wu Kai-hua, et al. Clinical analysis of [J]. progress in modern biomedicine associated liver function of pregnant women with preterm B changes, 2010, 10 (12): 2269-2271
- [5] 陈颖, 王瑾, 刘元昉, 等. 利妥昔单抗联合 CHOP 化疗治疗感染乙肝病毒的非霍奇金淋巴瘤患者的安全性分析 [J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(10): 1871-1874
- Chen Ying, Wang Jin, Liu Yuan-fang, et al. Development of [J]. Modern biomedical safety of rituximab and CHOP chemotherapy in the treatment of hepatitis B virus infection in patients with non Hodgkin's lymphoma analysis, 2014, 14 (10): 1871-1874
- [6] 曹瑞华. HBsAg 阴性献血者乙肝五项标志物及 HBV-DNA 检测性分析[J]. 中华疾病控制杂志, 2009, 13(5): 538-540
- Cao Rui-hua. HBsAg negative blood donors and five items of hepatitis B markers and HBV-DNA detection analysis [J]. Chinese Journal of disease control, 2009, 13 (5): 538-540
- [7] 施志农, 陈继梅. 1546 例乙型肝炎患者血清 HBV-M、HBVDNA、肝功能检测结果分析[J]. 中华全科医学, 2011, 9(6): 966-968
- Shi Zhi-nong, Chen Jim-ei. 1546 cases of serum HBV-M in patients with hepatitis B, HBVDNA, liver function test results analysis [J]. Chinese Journal of family medicine, 2011, 9 (6): 966-968
- [8] McMahon BJ, Bulkow L, Simons B, et al. Relationship between level of hepatitis B virus DNA and liver disease: a population-based study of hepatitis B e antigen-negative persons with hepatitis B [J]. Clin Gastroenterol Hepatol, 2014, 12(4): 224-231
- [9] 范公忍, 熊锦华, 王帅, 等. 药物治疗过程中乙型肝炎患者血清病毒外膜大蛋白与病毒核酸的检测分析 [J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32 (15): 1714-1715
- Fan Gong-ren, Xiong Jin-hua, Wang Shuai, et al. The detection of serum hepatitis B virus in patients with drug treatment in the process of outer membrane protein and nucleic acid analysis of [J]. International Journal of laboratory medicine, 2011, 32 (15): 1714-1715
- [10] 吴引伟, 文剑. 慢性乙型肝炎患者 B 淋巴细胞及其活化状况对治疗和预后的影响[J]. 临床荟萃, 2006, (21): 31
- Wu Yin-wei, Wen Jian. B in patients with chronic hepatitis B lymphocytes and their activation effect on the treatment and prognosis of [J]. Clinical focus, 2006, (21): 31
- [11] 邓益斌, 罗艳红, 邹佳峻, 等. 反基因锁核酸体外阻断乙肝病毒前 S2 基因表达[J]. 现代生物医学进展, 2013, 13(19): 3641-3644
- Deng Yi-bin, Luo Yan-hong, Zou Jia-jun, et al. Antisense locked nucleic acid in vitro blocking [J]. Progress in modern biomedical hepatitis B virus S2 gene expression, 2013, 13(19): 3641-3644
- [12] Chen T, Luk J M, Cheung S T. Evaluation of quantitative PCR and branched-chain DNA assay for detection of hepatitis B virus DNA in sera from hepatocellular carcinoma and liver transplant patients [J]. Journal of Clinical Microbiology, 2000, (05): 1977-1980
- [13] 肖光明, 姚细安, 连粤湘. 乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2005, (01): 22
- Xiao Guang-ming, Yao Xi-an, Lian Yue-xiang. Hepatitis B patients peripheral blood T lymphocyte subsets of [J]. Journal of Clinical hepatology, 2005, (01): 22
- [14] 吕玉凤, 李晓光, 王晓燕, 等. RNA 干扰对乙肝病毒基因的抑制作用[J]. 现代生物医学进展, 2011, 23(23): 4569-4572
- Lv Yu-feng, Li Xiao-guang, Wang Xiao-yan, et al. RNA interfere with progression of hepatitis B virus gene inhibition of [J]. modern medicine, 2011, 23 (23): 4569-4572
- [15] Lambert C, Mann S, Prange R. Assessment of determinants affecting the dual topoi of hepadna-viral large envelope proteins [J]. Journal of General Virology, 2004, (5): 1221-1225
- [16] 李建国, 王璐莎, 柴艳云, 等. YMDD 变异与 ALT、HBeAg 及 HBV DNA 的相关性分析 [J]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2012, 6(4): 316-318
- Li Jian-guo, Wang Lu-sha, Chai Yan-yun, et al. YMDD mutation and ALT, HBeAg and HBV DNA correlation analysis [J]. Chinese Journal of experimental and clinical infectious diseases (electronic version), 2012, 6 (4): 316-318
- [17] Fan X, Fang D, Bin D, et al. Serum levels of surface large envelope-proteins: prognostic marker for hepatitis Be antigen-negative patients with adefovir dipivoxil treatment [J]. Antivir Ther, 2009, 14 (8): 1149-1156
- [18] Zhang L, Meng HX, Han XY, et al. The relationship between HBV serum markers and the clinicopathological characteristics of hepatitis B virus-associated glomerulonephritis (HBV-GN) in the northeastern Chinese population [J]. Virology J, 2012, 9(200): 1-9
- [19] Kessler H H, Preininger S, Stelzl E. Identification of different states of hepatitis B virus infection with a quantitative PCR assay [J]. Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology, 2000, (02): 298-300
- [20] Schweitzer B, Kingsmore S. Combining nucleic acid amplification and detection [Review] [J]. Current Opinion in Biotechnology, 2001, (01): 21-27

(上接第 1208 页)

- [15] Omwancha WS, Mallipeddi R, Valle BL, et al. Chitosan as a pore former in coated beads for colon specific drug delivery of 5-ASA [J]. Int J Pharm, 2013, 441(30): 343-351
- [16] Damge C, Socha M, Ubrich N, et al. Poly (epsilon caprolactone)/eudragit nanoparticles for oral delivery of aspart-insulin in the treatment of diabetes [J]. J Pharm Sci, 2010, 99(2): 879-889
- [17] Makhlof A, Tozuka Y, Takeuchi H. PH-sensitive nanospheres for colon-specific drug delivery in experimentally induced colitis rat model [J]. Eur J Pharm Biopharm, 2009, 72(1): 1-8
- [18] Krawisz JE, Sharon P, Stenson WF. Quantitative assay for acute intestinal inflammation based on myeloperoxidase activity. Assessment of inflammation in rat and hamster models [J]. Gastroenterology, 1984, 87: 1344-1350