

• 论 著 •

卡氏肺孢子虫肺炎大鼠血清中 IL-8 的动态变化

张金花^{1,2}, 杨霞霞¹, 万启惠^{1△}

(1. 遵义医学院寄生虫学教研室, 贵州遵义 563003; 2. 川北医学院附属医院检验科, 四川南充 637000)

摘要:目的 探讨卡氏肺孢子虫肺炎动物血清中 IL-8 的动态变化。方法 给 SD 大鼠皮下注射地塞米松建立肺孢子虫肺炎动物模型, 改良的六亚甲基四胺银染色法检获肺组织中的肺孢子虫包囊, 采用 IL-8 检测试剂盒检测大鼠血清中 IL-8 的含量。结果 对照组、第 7、8、9 周感染组的 IL-8 含量分别为 (16.554 ± 1.211) 、 (17.267 ± 3.172) 、 (18.173 ± 2.133) 及 (19.847 ± 5.346) pg/mL, 感染率依次为 0.00%、90.00%、90.91% 及 100.00%。结论 随着感染时间的延长, 血清中 IL-8 的水平逐渐升高, IL-8 水平的动态变化可以作为卡氏肺孢子虫肺炎的辅助诊断。

关键词:卡氏肺孢子虫肺炎; 血清; IL-8

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.05.017

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)05-0569-02

The dynamic change of the serum interleukin-8 in rats infected pneumocystis carinii pneumonia

Zhang Jinhua^{1,2}, Yang Xiaxia¹, Wan Qihui¹

(1. Department of Parasitology, Zunyi Medical College, Zunyi, Guizhou 563003, China; 2. Inspection Department; Affiliated Hospital of Chuanbei Medical College, Nanchong Sichuan 637000, China)

Abstract: Objective To approach the dynamic change of the serum interleukin-8 (IL-8) in rats with Pneumocystis carinii pneumonia (PCP). **Methods** Sprague Dawley (SD) rats were subcutaneously injected with dexamethasone sodium phosphate to establish animal model of Pneumocystis carinii pneumonia. The cysts of Pneumocystis carinii (PC) in the lung tissues were observed in the lung print smear after staining with the improvement gormori methenamine silver (GMS), the serum IL-8 was detected by using the C kit. **Results** The normal control group, 7th week, 8th week and the 9th week infected groups' IL-8 level was (16.554 ± 1.211) , (17.267 ± 3.172) , (18.173 ± 2.133) and (19.847 ± 5.346) pg/mL, respectively, infection percentage was 0.00%, 90.00%, 90.91% and 100.00%, respectively. **Conclusion** The serum IL-8 level elevates gradually along with the infection time extension, the dynamic change of the serum IL-8 may provide an assistance diagnosis for pneumocystis carinii pneumonia.

Key words: Pneumocystis carinii pneumonia; serum; interleukin-8

卡氏肺孢子虫 (Pneumocystis carinii, PC) 感染免疫功能受损的宿主后可引起卡氏肺孢子虫肺炎 (Pneumocystis carinii pneumonia, PCP) 或称肺孢子虫病。随着肿瘤化疗患者、器官移植、自身免疫病等高危人群的扩大, PCP 的发病率逐年上升。特别是 1984 年发现首例艾滋患者以来, PCP 一直是艾滋病患者首要的并发症和死因。据统计, 未经药物预防的艾滋病患者约 80% 感染 PCP, 被视为爱滋病的“标志病”^[1]。目前, PCP 发病机制尚未完全清楚, 无特效药防治。近年来, 研究表明炎性介质广泛参与机体免疫反应, 与肺部疾病发生、发展密切相关。本文通过测定 PC 感染大鼠血清中白细胞介素-8 (interleukin-8, IL-8) 的动态变化来探讨 PCP 与 IL-8 之间的相关性。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物 50 只清洁级 SD 大鼠由第三军医大学大坪医院动物中心提供, 动物许可证号为 SCXK (军) 2002008, 体重为 180~230 g, 均为雌性, 随机分为对照组 ($n=8$) 和第 7、8、9 周感染组, 每组 14 只。

1.1.2 试剂 地塞米松磷酸钠注射液由郑州羚锐制药有限公司生产, 大鼠血清 IL-8 检测试剂盒美国 Biolegend 生产。

1.2 方法

1.2.1 建立动物模型^[2] 感染组大鼠于腹股沟处皮下注射地塞米松磷酸钠注射液 3.5 mg/只/次, 2 次/W (每周测体质量 1

次, 根据体重变化而适当调整用药剂量), 并给予含 1 mg/mL 四环素的冷开水以预防继发性细菌感染。对照组大鼠饮用冷开水中不加四环素。各组大鼠均自由饮水和摄食, 普通混合颗粒饲料喂养。定期用紫外灯消毒动物室, 用消毒水拖地, 更换鼠笼垫料, 通风设施良好。感染组大鼠与对照组大鼠分别饲养在不同动物室内, 防止交叉感染。

1.2.2 标本采集

1.2.2.1 血清收集 感染组大鼠于试验第 7、8、9 周末采眼眶血 5 mL 静置, 待有少量血清析出后, 以离心半径 8 cm, 2 000 r/min 离心 10 min, 收集血清于 EP 管中, -80 °C 冰箱保存备用; 对照组大鼠于试验第 9 周末按同样的方法收集、保存血清。

1.2.2.2 肺印片制作 感染组大鼠于试验第 7、8、9 周末, 无菌条件下取出肺脏, 用无菌生理盐水洗净大鼠肺脏表面血液, 以肺组织切面在洁净载玻片上印片, 室温干燥后 10% 甲醛溶液固定 3 min, 流水冲洗后晾干备用; 对照组大鼠于试验第 9 周末按同样的方法制作肺印片。

1.2.3 肺印片染色 按参考文献^[2-3] 采用改良的六亚甲基四胺银染色法染色。

1.2.4 IL-8 测定 严格按照 IL-8 试剂盒使用说明书进行。

1.3 统计学处理 实验数据用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 应用 SPSS13.0 统计软件进行处理, 多组间比较用方差分析, $P > 0.05$ 示差异无统计学意义; $P < 0.05$ 示差异有统计学意义。

2 结果

△ 通讯作者, E-mail: qhwan@sina.com。

2.1 病原学检测结果 GMS 染色油镜下观察,发现肺印片有清晰可见的 PC 包裹,呈圆形、椭圆形或不规则形,囊壁呈黑褐色,部分包裹可见括弧样结构,或可见核状物及条索状结构,囊内小体不着色(图 1)。对照组大鼠均未感染卡氏肺孢子虫,感染率为 0.00%,第 7、8、9 周感染组的感染率分别为 90.00%、90.91%和 100.00%。

2.2 血清 IL-8 含量检测(见表 1) 从表中可以看出,随着感染时间的延长,感染率逐渐上升,血清 IL-8 的水平也逐渐升高。第 8 周组与其他各组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。

表 1 PCP 大鼠血清中 IL-8 含量

组别	感染率(%)	IL-8 浓度(pg/mL)
对照组感染	0.00	16.554±1.211
第 7 周组	90.00	17.267±3.172
第 8 周组	90.91	18.173±2.133
第 9 周组	100.00	19.847±5.346▲

▲:与其他各组比较, $P<0.05$ 。

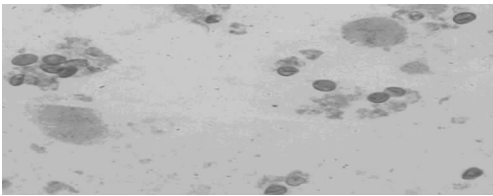


图 1 感染组大鼠肺印片可见大量 Pc 包裹 (GMS 染色,×1000)

3 讨 论

IL-8 是一种属于趋化因子家族的细胞因子,对中性粒细胞、T 淋巴细胞、嗜碱性粒细胞具有趋化性。对炎症具有双向调节功能,其功能的发挥取决于所处的位置以及同黏附分子之间的相互作用。IL-8 还可调节免疫反应,对 T 淋巴细胞具有趋化作用,调节淋巴再循环,影响 T 淋巴细胞对抗原的识别与杀伤。IL-8 与多种临床疾病密切相关,现已被广泛的应用于临床疾病的诊断和治疗。

卡氏肺孢子虫肺炎是一种严重的机会感染性疾病,随着 AIDS 的流行,全世界 PCP 的发病率逐年上升。感染卡氏肺孢子虫成为威胁患者生命的重要疾病。PC 通过呼吸道进入肺泡后,分泌数种表面蛋白借以逃避宿主免疫系统攻击,并利于其定植在 I 型肺泡上皮表面^[5],引起隐性感染,当机体免疫功能

下降,特别是 CD4⁺ 细胞减少至一定数目后被激活,引发 PCP^[6]。本研究显示感染组大鼠 PCP 的感染率高于对照组,且随着建模时间的延长,感染率逐渐增加,第 9 周感染组血清 IL-8 与对照组和第 7、8 周感染组相比差异有统计学意义,说明随着感染的加重大鼠血清 IL-8 水平升高。这与相关研究发现 AIDS 合并 PCP 的患者血清 IL-8 水平升高相一致^[7-8]。在对一些合并 PCP 的 AIDS 患者的相关研究中发现,PC 主要表面抗原诱导人类单核细胞和肺泡上皮细胞 A549 分泌 IL-8 和肿瘤坏死因子^[9],这可能就是血清 IL-8 水平升高的原因。IL-8 在机体的免疫生理及免疫病理过程中有着重要的作用,由于肺孢子虫的寄生以致体内多种细胞产生 IL-8,其升高是机体免疫保护作用的结果,可增强杀伤性 T 细胞、NK 细胞、单核细胞等增殖分化及杀伤效应。通过对患者血清中白介素-8 水平的测定来辅助诊断 PCP。

参考文献

[1] Phair JP, Munoz A, Detels R, et al. The risk of Pnenmocystis carlnii pneumonia among men infected with human immunoddiciency virus type 1[J]. N Engl J Med,1990,332(12):161-165.

[2] 唐小葵,倪小毅,陈雅堂,等. 白果内酯抗大鼠卡氏肺孢子虫肺炎的实验研究[J]. 第三军医大学学报,2003,25(10):851-853.

[3] 倪小毅,陈雅堂. 快速鉴定卡氏肺孢子虫[J]. 重庆医科大学学报,1999,24(3):283-285.

[4] 安春丽,王本颖,魏金荣. 检测卡氏肺孢子虫的快速银染法[J]. 中国寄生虫病防治杂志,1999,12(1):4-5.

[5] Santamauro JT, Stover DE. Pnenmocystis carinii Pneumonia[J]. Med Clin North Am,1997,81(3):299-318.

[6] Looney WJ, Windsor JJ. Pnenmocystis carinii infection in human immunodeficieucy virus-positive patients[J]. Br J Biomed Sci, 1999,56(4):39-48.

[7] Benito N, Moreno A, Filella X, et al. Inflammatory responses in blood samples of human immunodeficiency virus-infected patients with pulmonary infections[J]. Clin Diagn Lab Immunol,2004,11(3):608-614.

[8] 周必英,周冷. 卡氏肺孢子虫肺炎大鼠血清中 TNF-a、IL-8 和 ICAM-1 水平的变化[J]. 热带医学杂志,2009,9(4):386-388,378.

[9] Benfield TL. Clinical and experimental studies on inflammatory mediators during AIDS-associated Pneumocystis carnii pneumonia [J]. Dan Med Bull,1999,29(8):717-722.

(收稿日期:2010-09-13)

(上接第 568 页)

[3] Canizares F, Sola J, Perez M, et al. Preoperative values of CA 15-3 and CEA as prognostic factors in breast cancer:a multivariate analysis[J]. Tumour Biol,2001,22(5):273-281.

[4] Kumpulainen EJ, Kesikuru RJ, Johansson RT. Serum tumor marker CA 15.3 and stage are the two most powerful predictors of survival in primary breast cancer[J]. Breast Cancer Res Treat,2002,76(3):95-102.

[5] Gion M, Boracchi P, Dittadi R, et al. Prognostic role of serum CA15.3 in 362 node-negative breast cancers. An old player for a new game[J]. Eur J Cancer,2002,38(10):1181-1188.

[6] Molina R, Filella X, Alicarte J, et al. Prospective evaluation of CEA and CA 15.3 in patients with locoregional breast cancer[J]. Anticancer Res,2003,23(6):1035-1041.

[7] Theriault RL, Hortobagyi GN, Fritsche HA, et al. The role of serum CEA as a prognostic indicator in stage II and III breast cancer patients treated with adjuvant chemotherapy[J]. Cancer, 1989, 63(3): 828-835.

[8] Molina R, Jo J, Filella X, et al. c-erbB-2 oncoprotein, CEA, and CA 15.3 in patients with breast cancer: prognostic value[J]. Breast Cancer Res Treat,1998,51(13):109-119.

[9] 李艳丽,张宝军. 乳腺癌患者 CA153、TSGF 的表达及临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2009,39(8):832-833,F3.

[10] 彭建明,王冬娥,陈艳玲,等. 电化学发光法检测血清 CA153 及 CEA 在乳腺疾病中的临床意义[J]. 2007,28(4):379-380.

(收稿日期:2010-08-23)