

上都不如胱抑素 C。所以如果将胱抑素 C 作为心血管疾病相对独立的一个新的筛选指标,既不会遗漏高危人群,又可降低未来发生心血管事件的风险,对患者有更好的评估价值^[10]。

参考文献

[1] White HD, Chew DP. Acute myocardial infarction[J]. Lancet, 2008,372(9638):570-584.

[2] Bassand JP, Hamm CW, Ardissino D, et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes; the task force for the diagnosis and treatment of non-ST-segment elevation acute coronary syndromes of the European society of cardiology[J]. Eur Heart J, 2007,28(13):1598-1660.

[3] Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis; from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction[J]. Clin Chem, 2008,54(1):24-38.

[4] Mielniczuk LM, Pfeiffer MA, Lewis EF, et al. Estimated glomerular filtration rate, inflammation, and cardiovascular events after an acute coronary syndrome[J]. Am Heart J, 2008,155(4):725-731.

[5] Alpert JS, Thygesen K, Antman E, et al. Myocardial infarction redefined a consensus document of the joint European society of cardiology/american college of cardiology committee for the redefini-

tion of myocardial infarction[J]. J Am Coll Cardiol, 2000,36(3):959-969.

[6] Antman EM, Anbe DT, Armstrong PW, et al. ACC/AHA guidelines for the management of patients with ST-elevation myocardial infarction-executive summary. A report of the American college of cardiology/american heart association task force on practice guidelines(Writing committee to revise the 1999 guidelines for the management of patients with acute myocardial infarction)[J]. J Am Coll Cardiol, 2004,44(3):671-719.

[7] 黄君富. 急性肾损伤早期实验诊断标志物[J]. 国际检验医学杂志, 2010,31(5):462-464.

[8] 侯振江,魏明竟. 胱抑素 C 及其检测方法研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2007,28(11):1013-1015.

[9] Keller T, Messow CM, Lubos E, et al. Cystatin C and cardiovascular mortality in patients with coronary artery disease and normal or mildly reduced kidney function: results from the atherogene study[J]. Eur Heart J, 2009,30(3):314-320.

[10] 舒娟,傅春江. 血清胱抑素 C 与冠状动脉病变相关性研究[J]. 重庆医学, 2010,39(2):197-199.

(收稿日期:2011-01-18)

• 经验交流 •

麝香乌龙丸对兔膝关节炎关节软骨组织中 IL-1 β 及 TGF- β_1 水平的影响

韩秀玲,王志文,王建纲,李臣杰,丁春菊,徐涛
(华北煤炭医学院,河北唐山 063000)

摘要:目的 探讨麝香乌龙丸对关节软骨的修复和保护作用与调节白细胞介素 1 β (IL-1 β)及转化生长因子 β_1 (TGF- β_1)水平的关系。**方法** 选用健康日本大耳白兔 30 只,随机分成 3 组,除正常组外,其余两组(造模组、麝香乌龙丸组)均采用 1.6%木瓜蛋白酶膝关节腔注射造模,于给药后第 4 周末处死全部动物,逐层打开膝关节肉眼观察局部组织、软骨、滑膜及关节液的情况;免疫组化法检测关节软骨中的 IL-1 β 、TGF- β_1 水平。**结果** 麝香乌龙丸组退变程度较造模组明显减轻;IL-1 β 在软骨中的表达低于造模组($P < 0.01$),TGF- β_1 的表达高于造模组($P < 0.01$)。**结论** 麝香乌龙丸可以抑制兔膝关节炎软骨中破坏性因子 IL-1 β 的表达,增加修复性因子 TGF- β_1 的水平,调节两者的平衡,提示该药对兔膝关节软骨具有修复与保护作用。

关键词:麝香乌龙丸; 关节炎,膝; 白细胞介素 1 β ; 转化生长因子 β_1

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.08.041

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)08-0908-03

近年来,中医药在 OA 的治疗中取得了良好的疗效,结合日益发展的分子生物学技术,研究者发现某些中药能有效抑制炎症因子,促进抗炎因子的产生,特别是白细胞介素 1(IL-1)在骨关节炎发病中扮演着“始动因子”的角色,转化生长因子(TGF- β_1)是骨关节炎的另一个主要调控因子。本研究运用木瓜蛋白酶膝关节腔注射法造模,采用免疫组化法检测关节软骨中 IL-1 β 、TGF- β_1 的水平,探讨麝香乌龙丸是否存在通过调节 IL-1 β 、TGF- β_1 的平衡以实现减轻关节软骨损伤,促进软骨修复的机制。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 药物 麝香乌龙丸:华北煤炭医学院附属医院研制,由人工麝香、制川乌、地龙、全蝎、黑豆组成,批准文号为冀药制字 Z20051581。

1.1.2 实验动物 健康雄性日本大耳白兔 30 只由华北煤炭医学院实验动物中心提供,体质量(2.5 \pm 0.15)kg。于室温分笼饲养,按顿供给标准饲料,自由活动、饮水。

1.1.3 仪器及试剂 木瓜蛋白酶购自天津市诺奥科技发展有

限公司,活力 200 万单位/克;IL-1 β 免疫组化试剂盒均及 TGF- β_1 免疫组化试剂盒均由武汉博士德生物科技有限公司提供;石蜡组织切片机由天津天利航空机电有限公司提供;光学显微镜 BX50 型,由日本 OLYMPUS 公司提供。

1.2 方法

1.2.1 动物分组 健康雄性日本大耳白兔 30 只,适应性喂养 1 周后,将动物按体质量由小到大编号,查随机数字表将大耳白兔分为 3 组:正常组、造模组、麝香乌龙丸组,每组 10 只。

1.2.2 模型建立 参照日本研究者的兔膝关节腔内注入木瓜蛋白酶造成骨关节炎病变模型方法,用氯氨酮注射液肌肉注射(每公斤 10 毫克)将兔麻醉后,于膝关节处剔毛,碘伏消毒,将关节腔弯,经髌腱两侧进针,右膝关节腔内注射 1.6%木瓜蛋白酶生理盐水溶液 0.5 mL,隔 3 天注射 1 次,共注射 3 次。

1.2.3 给药 于造模完成后第 2 天开始给药。正常组不予任何处理;麝香乌龙丸组按成人每日每千克体质量用药量的 6 倍剂量作为大耳白兔每日每千克体质量的等效剂量,将麝香乌龙丸 0.6 g/kg 量溶于 10 mL 生理盐水中灌胃,每日 1 次;造模组灌入等量生理盐水,共灌胃 4 周。

1.2.4 标本采集及处理 于末次给药后 24 h 气栓法处死动物,逐层切开膝关节,肉眼观察关节、滑膜及关节软骨病理改变,切取胫骨内侧髁软骨,10% 中性甲醛溶液固定后,石蜡包埋,切片,作 HE 染色及免疫组织化学观察。

1.3 统计学处理 免疫组化的结果采用方差分析,运用 SPSS13.0 统计软件进行分析。

2 结果

2.1 大体观察 正常组兔膝关节无肿胀、充血,关节液透明,关节软骨呈淡蓝色、半透明、光滑,滑膜无水肿、肥厚;造模组兔右膝关节明显肿胀、充血,关节液呈浅黄色稍混浊,关节软骨无光泽、不光滑、不透明、有缺损,可见明显溃疡面及裂隙,少数可见软骨下骨裸露,以胫骨内侧髁明显,滑膜明显充血、水肿、肥厚;麝香乌龙丸组兔右膝关节轻度肿胀,无明显充血,关节液透明稍浅黄,关节软骨欠光泽、透明度减低,有轻度缺损,未见明显溃疡面和软骨下骨裸露,滑膜充血、水肿程度较造模组明显减轻,见图 1~3。

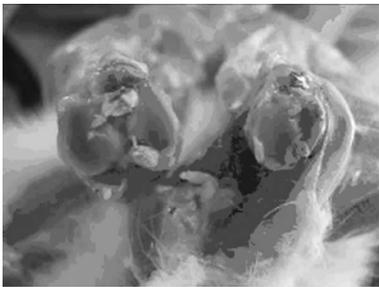


图 1 正常组



图 2 造模组

2.2 免疫组织化学法测定 IL-1 β 、TGF- β_1 表达 参考 Peltier 等^[1]的判定标准,每张切片随机取 6 个视野(400 倍),其中 3 个位于软骨表层和中上层,另 3 个位于软骨中下层和下层,计算每个视野的阳性细胞数和细胞总数,IL-1 β 、TGF- β_1 的表达量用细胞分数,即阳性细胞数占细胞总数的百分比表示,最大值为 100%,每张切片的细胞计数分别由两个独立的观察者进行,评分误差率控制在 5% 以内,取两者均值为最后的得分。结果见表 1、2。



图 3 麝香乌龙丸组

表 1 麝香乌龙丸对关节软骨 IL-1 β 表达的影响

组别	n	IL-1 β 软骨细胞分数($\bar{x} \pm s, \%$)
正常组	10	10.07 \pm 1.17
造模组	10	64.98 \pm 1.60*
麝香乌龙丸组	10	34.36 \pm 1.49 \blacktriangle

*: P<0.01,与正常组比较; \blacktriangle : P<0.01,与造模组比较。

表 2 麝香乌龙丸对关节软骨 TGF- β_1 表达的影响

组别	n	TGF- β_1 软骨细胞分数($\bar{x} \pm s, \%$)
正常组	10	22.08 \pm 2.50
造模组	10	10.96 \pm 1.42*
麝香乌龙丸组	10	30.61 \pm 1.37 \blacktriangle

*: P<0.01,与正常组比较; \blacktriangle : P<0.01,与造模组比较。

3 讨论

骨关节炎是严重威胁人类健康的一种骨关节疾病,其病理基础是关节软骨基质降解,引起关节软骨的进行性破坏所造成^[2],其病理过程主要是由于软骨细胞外基质分解代谢增强,而修复相对减慢,最终导致软骨的退行性改变。实验证实,这种分解与修复机制受到病变关节中相关细胞因子的调控。在某些破坏性因子介导下,引起软骨微环境的“多米诺骨牌效应”,原有细胞因子网络的稳态被打破,继而参与细胞外基质降解的酶被激活,包括基质金属蛋白酶、丝氨酸蛋白酶、羟基蛋白酶等,加速了软骨基质中蛋白多糖和 II 型胶原的降解,使软骨弹性和硬度下降,从而出现软骨损伤^[3]。

大量研究发现,IL-1 在骨关节炎发病中扮演着“始动因子”的角色^[4]。它主要来源于巨噬细胞、成纤维细胞、软骨细胞、滑膜细胞、破骨细胞,分为白细胞介素 1 α (IL-1 α)和 IL-1 β 两个亚型,与骨关节炎相关的是具有可溶性特点的 IL-1 β 。IL-1 β 通过多种途径影响软骨代谢:如上调金属基质蛋白酶的表达,加速基质降解;减少金属基质蛋白酶抑制物的合成,延缓基质的修复;促进滑膜细胞释放前列腺素、一氧化氮等炎症因子,介导炎症反应。本实验结果显示,造模组关节肿胀,软骨破坏,滑膜增厚,IL-1 β 较正常组表达明显增高。提示骨关节炎软骨损伤可能与 IL-1 β 异常高表达有关。

TGF- β_1 是骨基质中含量最多的细胞因子^[5],是骨关节炎的另一个主要调控因子。它是一种多功能细胞因子,广泛参与机体的细胞分化、基质合成与贮存、创伤修复、自身免疫等病理生理活动。关节软骨是 TGF- β_1 的主要组织来源,由软骨细胞以自分泌或旁分泌的形式产生,其生物学特性与软骨的力学特性有较强契合力^[6]。TGF- β_1 可以促进细胞外基质重塑,Mattey 等^[7]发现在牛软骨细胞培养时,TGF- β_1 加快了蛋白多糖代谢,并刺激胶原和葡萄糖胺聚糖在关节软骨聚集,减少了基质成分降解;Massague^[8]认为 TGF- β_1 促进骨连接素合成,增强基质钙化进程,这样有利于保持软骨必要的刚性和结构的完整性,对软骨细胞有一定保护作用。另外,TGF- β_1 也能够上调金属基质蛋白酶抑制物的表达,减少 IL-1 受体(IL-1R)在细胞膜上的数量,从而逆转了 IL-1 β 介导的破坏作用。本实验结果显示,麝香组关节软骨 TGF- β_1 表达明显增加,同时关节肿胀程度,软骨完整性亦有较大改善,提示麝香乌龙丸可能通过增加 TGF- β_1 的合成,促进了软骨修复,保护关节。

实验表明麝香乌龙丸可以降低软骨中破坏性因子 IL-1 β ,增加修复性因子 TGF- β_1 的表达,然而骨关节炎发病机制十分复杂,可能是一个多因素、多靶点、多途径的病理过程,测定 IL-

1 β 、TGF- β_1 的蛋白质水平并不足以完全诠释细胞因子网络中其他因子的变化及其相互作用,因此进行针对其他因子如 IL-6、Bax、Bcl-2 等的后续研究将有助于获得更客观、有力的论据。

参考文献

[1] Pellerier JP, Jovanovic D, Fem andes JC, et al. Reduced progression of experimental osteoarthritis in vivo by selective inhibition of inducible nitric oxide synthase[J]. *A rthritis Rheum*, 1998, 41(7):1275-1286.

[2] 杨靖, 刘剑平, 赵明才. TWEAK 及其受体 Fn14 与风湿性疾病[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(8):829-831.

[3] 孙永生, 姜思全. 骨性关节炎发病分子机制研究进展[J]. *中国骨与关节损伤杂志*, 2005, 20(8):571-573.

[4] 徐东红. 白介素与骨关节炎[J]. *药学服务与研究*, 2005, 5(1):82-86.

[5] 易伟莲, 吕俊廷, 欧超伟. 老年男性骨质疏松症与性激素和细胞因子的检测及其临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(7):643-644.

[6] 王序全. 转化生长因子- β 与骨关节炎[J]. *重庆医学*, 2005, 34(7):961-963.

[7] Mattey DL, Dawes PT, Nixon NB, et al. Transforming growth factor β_1 and interleukin 4 induced α smooth muscle actin expression and myfibroblast-like differentiation in human synovial fibroblasts in vitro; modulation by basic fibroblast growth factor[J]. *Ann Rheum Dis*, 1997, 56(7):426-431.

[8] Massague J. The transforming growth factor-beta family[J]. *Annu Rev Cell Biol*, 1990, 6:597-641.

(收稿日期:2011-03-01)

• 经验交流 •

262 株肺炎克雷伯菌感染的临床分析

余艳芳, 惠燕霞, 林玉萍

(甘肃省酒泉市医院检验科 735000)

摘要:目的 探讨肺炎克雷伯菌的分布特点和耐药情况,并指导临床合理选用抗菌剂。方法 对 262 例肺炎克雷伯菌感染患者的临床资料及药敏试验结果进行分析。结果 肺炎克雷伯菌主要分布在呼吸科 25.19%、中心监护室(ICU)19.08%、老年科 11.45%、神经内科 10.69%。临床送检标本中从痰液分离菌株 83.21%,从分泌物中分离菌株 5.34%,从尿中分离菌株 3.82%,从其他中分离菌株 7.65%;产超广谱真菌株占 23.28%,分离的 262 株肺炎克雷伯菌对 12 种抗生素均有不同程度耐药。结论 肺炎克雷伯菌感染主要在呼吸道,治疗要根据药敏结果合理使用抗生素。

关键词:克雷伯菌,肺炎; 抗药性; 分布

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.08.042

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2011)08-0910-02

肺炎克雷伯菌为革兰阴性杆菌,常寄生于人体上呼吸道和肠道,是重要的条件致病菌,也是院内感染常见的病原体之一^[1]。其广泛分布于自然界,存在于土壤和水中,常由呼吸道和泌尿系统感染患者的痰和尿中检出。可引起伤口创面、呼吸道、泌尿道感染及败血症,甚至脑膜炎、腹膜炎等。目前,已成为本院医院感染最常见病原菌之一。各地区各医院由于各种因素影响,其分布构成及耐药性各不相同。为了解肺炎克雷伯菌的分布和临床现状,对本院 2007 年 1 月至 2009 年 10 月感染病例的各类临床标本分离的 262 株肺炎克雷伯菌进行临床分析,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2007 年 1 月至 2009 年 10 月检验科细菌室收集的临床各科室送检的各类感染性标本,经培养分离出肺炎克雷伯菌 262 株。

1.2 方法

1.2.1 细菌鉴定、药敏试验及结果判断 细菌培养按《全国临床检验操作规程》进行。细菌鉴定采用法国梅里埃公司 Vitek 自动细菌鉴定系统和手工法;药敏试验采用 K-B 纸片扩散法,判断标准按美国临床实验室标准化委员会(CLSI)2006 版标准执行。质控菌株大肠埃希菌 ATCC 25922、肺炎克雷伯菌 ATCC 700603 均购自卫生部临床检验中心。抗菌剂纸片购自杭州天和及 Oxoid 药物生物技术公司。

1.2.2 产超广谱 β -内酰胺酶(ESBLs)检测 药敏纸片初筛和确证试验按 NCCLS 推荐方法,含克拉维酸与不含克拉维酸抗菌剂纸片间抑菌区直径大于或等于 5 mm 可判为产 ESBLs

阳性。

2 结果

2.1 临床科室的分布及构成比 262 株肺炎克雷伯菌主要分布在 18 个科室,其呼吸科、ICU、老年科、神经内科最多,占总数的 66.4%,结果见表 1。

2.2 肺炎克雷伯菌在临床标本中的比例 分离自痰标本 218 株,占 83.21%;分泌物标本 14 株,占 5.34%;尿标本 10 株,占 3.81%;其他标本有 20 株,占 7.63%,见表 2。

2.3 产 ESBLs 检出率 用初筛和确证试验按 CLSI 推荐方法检出产 ESBLs 肺炎克雷伯菌 61 株,其检出率为 23.28%。

2.4 肺炎克雷伯菌的耐药率 262 株肺炎克雷伯菌对 12 种抗菌剂的耐药率见表 3。

表 1 肺炎克雷伯菌分布的科室及构成

科室	n	构成比(%)
呼吸科	66	25.19
ICU	50	19.08
老年科	30	11.45
神经内科	28	10.69
东南分院	11	4.20
内分泌科	10	3.82
消化科	9	3.44
普外科	8	3.05