

空白,保证人群中有足够免疫力,可以形成群体性免疫屏障,阻断麻疹在人群中的传播。及时、有效开展麻疹应急接种,加强对医源性感染的控制和麻疹监测管理工作,争取做到早发现、早诊断、早控制。

参考文献

- [1] Haim HY. Measles virus[J]. Hum Vaccin Immunother, 2015, 11: 21-26
- [2] Mercader S, Garcia P, Bellini WJ. Measles virus IgG avidity assay for use in classification of measles vaccine failure in measles elimination settings[J]. Clin Vaccine Immunol, 2012, 19(11): 1810-1817.
- [3] 沈崇灵; 法理学. 标题为空[J]. Griffin, DE Lin WH, Pan CH. Measles virus comes, immune control, And persistence[J]. FEMS Microbiol Rev, 1994, 36(3): 51-52.
- [4] 陆健. 2005—2014 年上海市崇明县麻疹流行病学特征分析[J]. 职业与健康, 2016, 32(15): 2082-2085.
- [5] 白杉, 穆金萍. 2014 年沈阳市麻疹流行特征分析[J]. 职业与健康, 2016, 32(2): 205-207.
- [6] 中华人民共和国卫生部. 中华人民共和国传染病防治法及其实施办法条文释义[M]. 北京: 法律出版社, 2003.

• 临床研究 •

IL-37、IL-6 及 TGF-β 在特发性血小板减少性紫癜中的意义^{*}

武昌¹, 陈斌²

(1. 临沂市河东区人民医院, 山东临沂 276034; 2. 山东省费县中医院, 山东临沂 273400)

摘要: 目的 研究白细胞介素(IL)-37、IL-6 及转化生长因子 β(TGF-β)在特发性血小板减少性紫癜(ITP)中的意义。

方法 选取 2015 年 12 月至 2016 年 12 月收治的 ITP 患者 58 例作为观察组, 给予泼尼松治疗 4 周, 在治疗前、治疗后分别采血与对照组比较。采用 ELISA 法检测观察组治疗前后及对照组血浆中 IL-37、IL-6 及 TGF-β 水平; 采用实时荧光 PCR(RT-PCR) 检测治疗前后及对照组 IL-37、IL-6 及 TGF-β mRNA 表达水平; 采用 Western Blot 检测单个核细胞中的 IL-37、IL-6、TGF-β 蛋白水平。结果 治疗前观察组血浆 IL-37、IL-6 及 TGF-β 水平明显高于对照组($P < 0.05$), 治疗后均较治疗前出现了明显下降($P < 0.05$)。治疗前观察组 IL-37、IL-6 及 TGF-β mRNA 水平明显高于对照组($P < 0.05$), 治疗后均低于治疗前($P < 0.05$)。治疗前观察组单个核细胞中 IL-37、IL-6、TGF-β 蛋白水平明显高于对照组($P < 0.05$), 治疗后均有不同程度的下降($P < 0.05$)。结论 IL-37、IL-6、TGF-β 在 ITP 患者中明显升高, 在治疗过程中得到抑制, 这些指标可能对于 ITP 诊断及治疗具有一定的指导意义。

关键词: 特发性血小板减少性紫癜; 白细胞介素-37; 白细胞介素-6; 转化生长因子 β

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.20.035

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2017)20-2891-03

特发性血小板减少性紫癜(ITP)是一种获得性器官特异性自身免疫疾病, 是临床常见的出血性疾病, 其发病机制并不明确, 现较为普遍的观点认为 ITP 是由于体液免疫机制发生异常而出现的血小板表面结合自身抗体, 从而使血小板在降解过程中暴露多种隐匿性表位, 抗原提呈细胞识别隐匿性表位的 T 细胞, 产生了血小板相关的抗体, 引起血小板减少^[1]。近年来, 随着对 ITP 研究的深入, 发现细胞免疫在 ITP 的发病中发挥着重要的作用, 本文通过对比 52 例 ITP 患者治疗前后及与健康对照者的差异, 研究白细胞介素(IL)-37、IL-6、转化生长因子 β(TGF-β)在 ITP 中的表达及意义, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 12 月至 2016 年 12 月于临沂市河东区人民医院诊疗的 ITP 患者 58 例作为观察组, 年龄 24~61 岁, 平均(32.11±11.21)岁, 男性 30 例, 女性 28 例。所有

- [7] 宋全伟, 苏琪茹, 马超, 等. 2005—2014 年中国麻疹空间自相关分析[J]. 中华预防医学杂志, 2016, 50(7): 615-619.
- [8] 马超, 郝利新, 苏琪茹, 等. 中国 2011 年麻疹流行病学特征与消除麻疹进展[J]. 中国疫苗和免疫, 2012, 18(3): 193-199.
- [9] Li J, Lu L, Pang X, et al. A 60-year review on the changing epidemiology of measles in capital, Beijing[J]. BMC Public Health, 2013, 21(13): 1951-2011.
- [10] Wang Z, Yan R, He H, et al. Difficulties in eliminating measles and controlling rubella and mumps: a cross-sectional study of a first measles and rubella vaccination and a second measles, mumps, and rubella vaccination [J]. Plos One, 2014, 9(2): e89361.
- [11] 葛晓普. 儿童麻疹 121 例临床分析[J]. 医学信息, 2015, 28(45): 335.
- [12] 马超, 苏琪茹, 郝利新, 等. 中国 2012—2013 年麻疹流行病学特征与消除麻疹进展[J]. 中国疫苗和免疫, 2014, 20(3): 193-209.

(收稿日期: 2017-03-24 修回日期: 2017-05-28)

纳入病例均符合第 3 版《血液病诊断及疗效标准》^[2]: 血小板多次检查计数减少; 骨髓检查巨核细胞增多或正常, 有成熟障碍; 排除继发性血小板减少症。对照组选取该院体检健康者 30 例, 2 组年龄、性别差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有入选对象均签署知情同意书。

1.2 标本采集 观察组给予泼尼松 1 mg/(kg·d) 口服, 4 周为 1 个疗程, 分别采集对照组及观察组治疗前后的肘静脉血 10 mL, 肝素钠抗凝, 1 000 r/min 离心 10 min 分离血浆, 分装后保存于 -80 °C 冰箱待测。

1.3 检测方法

1.3.1 检测治疗前后血浆中 IL-37、IL-6 及 TGF-β 水平 选用碧云天酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(批号: PI330-0210、PI336-1342、PT-528-381), 按照试剂盒说明书操作, 将观察组治疗前、治疗后及对照组标本及试剂盒常温放置至室温,

* 基金项目: 国家高技术研究发展计划(863 计划)资助项目(2014AA022304)。

稀释标准品,配置生物素化抗体工作液、酶结合物工作液。加样、孵育、洗板,加入 IL-37、IL-6 及 TGF- β 抗体,洗板、避光孵育 10 min 显色,加终止液终止反应,上酶标仪(美国 BIO-RAD 公司)读板,选用 450 nm 波长读数,实验重复 3 次。

1.3.2 实时荧光 PCR(RT-PCR) 检测治疗前后 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β mRNA 的表达 PBS 清洗观察组治疗前、治疗后及对照组血浆血细胞,加外周血淋巴细胞分离液,离心收集中间乳白色细胞层, PBS 洗涤离心后加 PBS 混匀后离心。总 RNA 提取,加 Trizol 充分裂解,加氯仿,震荡后冰上静置 3 min, 低温离心,取上层加入异丙醇室温静置 10 min, 充分溶解后,离心,去上清液,加 75% 乙醇震荡离心,加 ddH₂O, 吹打均匀。按照 TianScript cDNA 第一链合成试剂盒(批号:KR104-01)说明书合成 cDNA。引物由上海生工生物技术有限公司合成。IL-37 引物: 正链 5'-AGT GCT GCT TAG AAG ACC CGG-3', 反链 5'-AGA GTC CAG GAC CAG TAC TTT GTG A-3'。IL-6 引物: 正链 5'-AGC CAC TCA CCT CTT C AG AAC-3', 反链 5'-ACA TGT CTC CTT TCT CAG GGC-3'。TGF- β 引物: 正链 5'-AAC TAC TGC TTC AGC TCC AC-3', 反链 5'-GTA ACA CGA TGG CGA GTG CG-3'。 β -actin 引物: 正链 5'-CCT GAC TGA CTA CCT CAT GAA G-3', 反链 5'-GAC GTA GCA CAG CTT CTC CTT A-3'。RT-PCR 检测 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β 的表达,根据 TIANGEN SuperReal PreMix(Probe) 试剂盒(批号:FP206)两步法在荧光定量 RCR 仪(美国 BioRad) 进行 PCR 反应,实验重复 3 次。

1.3.3 Western Blot 检测单个核细胞中的 IL-37 、 IL-6 、 TGF- β 蛋白的表达 将观察组治疗前、治疗后及对照组按照 107/200 μ L 加入裂解液,充分裂解后离心取上清液,测定蛋白浓度,煮蛋白使其完全变性和解聚。配胶,上样,电泳跑胶,转膜。BSA 封闭,加 IL-37 、 IL-6 、 TGF- β 一抗, 4 $^{\circ}$ C 过夜,洗膜,加二抗孵育 2 h, 显影,实验重复 3 次。

1.4 统计学处理 所用数据采用 SPSS16.0 统计软件。数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,符合正态分布的各组均数间比较采用单因素方差分析,不符合正态分布的采用非参数检验, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结 果

2.1 ELISA 检测治疗前后血浆中 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β 水平 观察组在治疗前, IL-37 、 IL-6 及 TGF- β 水平均高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),给予糖皮质激素泼尼松治疗后,观察组 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β 均出现了明显下降,与治疗前相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1 。

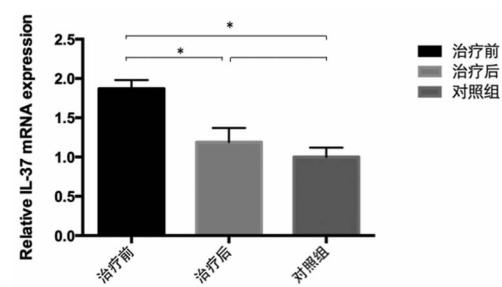
表 1 治疗前后血浆中 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β 水平($\bar{x} \pm s$)

指标	观察组		对照组
	治疗前	治疗后	
IL-37(ng/mL)	48.71 \pm 14.01	24.18 \pm 7.21*	21.84 \pm 3.81*
IL-6(pg/mL)	176.81 \pm 41.11	92.22 \pm 31.23*	74.11 \pm 18.61*
TGF- β (ng/mL)	1.02 \pm 0.31	0.91 \pm 0.29*	0.89 \pm 0.21*

注:与观察组治疗前相比,* $P < 0.05$ 。

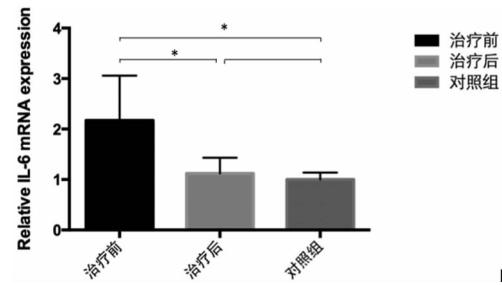
2.2 RT-PCR 检测治疗前后 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β mRNA 的表达水平 治疗前观察组 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β mRNA 水平均明显高于对照组($P < 0.05$),治疗后 IL-37 、 IL-6 及 TGF- β mRNA 水平均较治疗前明显下降($P < 0.05$),见图 1~3 。

2.3 Western Blot 检测单个核细胞中的 IL-37 、 IL-6 、 TGF- β 蛋白的表达水平 观察组在治疗前 IL-37 、 IL-6 、 TGF- β 蛋白表达水平明显高于对照组,而经过泼尼松治疗 4 周, IL-37 、 IL-6 、 TGF- β 蛋白表达水平均出现了明显下降,见图 4 。



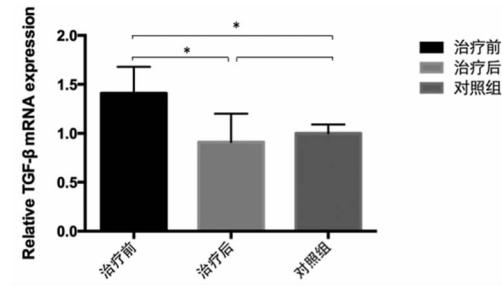
注:与观察组治疗前相比,* $P < 0.05$ 。

图 1 治疗前后 IL-37 mRNA 的表达



注:与观察组治疗前相比,* $P < 0.05$ 。

图 2 治疗前后 IL-6 mRNA 的表达



注:与观察组治疗前相比,* $P < 0.05$ 。

图 3 治疗前后 TGF-β mRNA 的表达

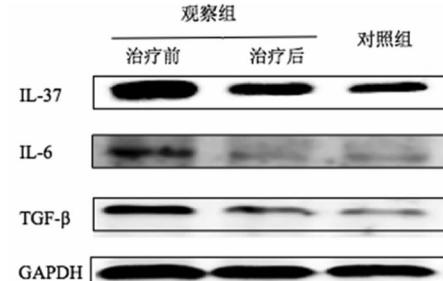


图 4 治疗前后单个核细胞中 IL-37 、 IL-6 、 TGF- β 蛋白表达水平

3 讨 论

ITP 是由于血小板破坏增多而引起的血小板减少的自身免疫性疾病^[3], 是临幊上常见的出血性疾病。由于缺乏特异性诊断标志, 目前关于 ITP 的诊断主要依赖于临幊表现、实验室检查及排除性诊断。而 ITP 的发病机制迄今并不明确, 近年来研究发现, 细胞免疫在 ITP 的发病中起着至关重要的作用, 而众多的细胞因子参与其中^[4]。细胞因子是由免疫细胞, 如 T 细胞、NK 细胞、B 细胞等和非免疫细胞通过刺激合成、分泌的一类具有广泛活性的小分子蛋白。通过与相应的受体结合而调节细胞的生长、分化和效应来调节免疫应答^[5]。

IL-37 是近年来发现的一种固有炎症和免疫应答的天然抑制剂, 属于 IL-1 家族中的一员^[6]。IL-37 作为抗炎性因子,

在自身免疫疾病中发挥着抑制炎性反应的作用,在某些自身免疫性疾病中处于高表达的状态。研究发现,IL-37 敲除的转基因小鼠表现出严重的内毒素休克、心肌梗死、肺和脊髓损伤,认为 IL-37 抑制炎症的同时也可抑制免疫反应^[7]。Liang 等^[8]研究发现,IL-37 与系统性红斑狼疮的疾病活动密切相关,IL-37 通过抑制炎性因子来调控系统性红斑狼疮的发生。但 IL-37 与 ITP 的发生、发展是否具有相关性仍缺乏相关的文献研究。因此,本研究就 IL-37 与 ITP 之间的关系进行了探讨,发现 ITP 患者外周血中 IL-37 水平较对照组明显升高,而给予糖皮质激素治疗后,IL-37 水平出现了明显抑制,说明当机体发生 ITP 时,IL-37 会随之升高,而当给予糖皮质激素进行免疫治疗后,IL-37 出现了减少,从而减轻了自身免疫症状。

IL-6 可由单核细胞、T 细胞、B 细胞等多种细胞产生。IL-6 可以诱导 B 细胞增殖分化,并且可以诱导 T 细胞的分化。IL-6 作为炎性介质及 MHC II 抗原诱导物,参与自身免疫疾病发生、发展的全过程^[9]。本研究发现,IL-6 在 ITP 患者中出现了明显上升,而给予糖皮质激素治疗后,IL-6 的表达出现了抑制。可能是由于当 ITP 发生时,机体的单核细胞、淋巴细胞反应性增多,而这些细胞所分泌的 IL-6 随之出现了升高,给予治疗后,随着病情的好转,IL-6 水平随之出现了下降。

TGF-β 是一种具有多种生物学功能的蛋白质,在免疫调节及耐受中发挥着重要的作用。当机体发生 ITP 时,体内的血小板破坏增多,而破坏的血小板释放过多的血小板反应蛋白(TSP)和 TGF 等颗粒蛋白,从而引起机体的 TGF-β 升高^[10]。本研究也发现,ITP 患者的 TGF-β 表达水平明显高于对照组,给予免疫治疗后,TGF-β 水平逐渐减低。

综上所述,与健康人相比较,ITP 患者的 IL-37、IL-6 及 TGF-β 表达水平明显升高,给予糖皮质激素治疗后,又出现明显下降,说明这些指标可能对于 ITP 的诊断及治疗具有一定的指导意义,其临床价值值得进一步研究。

参考文献

[1] Kistangari G, McCrae KR. Immune thrombocytopenia[J].

• 临床研究 •

3 159 份血液标本中病原菌的构成和耐药性分析^{*}

宁长秀,邱锡荣[△],胡利民,吴国英,陈招娣
(抚州市第一人民医院检验科,江西抚州 344000)

摘要:目的 了解该院血液标本中检出病原菌的构成和耐药状况,以指导临床合理用药。方法 该院 2016 年 3 159 份血液标本采用美国 BD BACTEC9120 全自动血液分析仪培养,血培养阳性标本采用法国梅里埃 VITK2-compact 全自动细菌鉴定和药敏系统进行鉴定和药敏实验,参照 CLSI 2015 年版判读结果,WHONET5.5 软件进行数据分析。结果 分离出病原菌 216 株,阳性率 6.8%;其中革兰阴性菌 104 株,占 48.1%;革兰阳性细菌 92 株,占 42.6%;酵母样真菌 20 株,占 9.3%。革兰阴性杆菌以大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌为主,产超广谱 β-内酰胺酶(ESBLs)大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌检出率分别为 40.3% 和 31.3%,未检出耐碳青霉烯类肠杆菌科细菌。革兰阳性菌以凝固酶阴性葡萄球菌(CNS)和金黄色葡萄球菌为主,耐甲氧西林凝固酶阴性葡萄球菌(MRCNS)和耐甲氧西林金黄色葡萄球菌(MRSA)的检出率分别为 86.4% 和 10.0%,未见耐万古霉素和利耐唑胺葡萄球菌和肠球菌属细菌。结论 该院血培养分离菌以革兰阴性杆菌为主,细菌耐药性仍是临床重要问题,应引起临床高度重视。

关键词:血培养; 病原菌; 抗菌药物; 耐药性

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.20.036

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)20-2893-04

随着近年来临床大量抗菌药物的使用及侵入性操作的增

- Hematol Oncol Clin North Am, 2013, 27(3):495-520.
 [2] 张之南,沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京:科学出版社,2007:172-176.
 [3] Xie J, Cui D, Liu Y, et al. Changes in follicular helper T cells in idiopathic thrombocytopenic purpura patients[J]. Int J Biol Sci, 2015, 11(2):220-229.
 [4] Tripathi AK, Mishra S, Kumar A, et al. Megakaryocyte morphology and its impact in predicting response to steroid in immune thrombocytopenia[J]. Platelets, 2014, 25(7):526-531.
 [5] 刘朝霞,罗雅琴. Th1/Th2、Th17/Treg 相关细胞因子在 ITP 发病中的作用研究进展[J]. 山东医药, 2014, 64(42):103-105.
 [6] Bulau AM, Nold MF, Li SZ, et al. Role of caspase-1 in nuclear translocation of IL-37, release of the cytokine, and IL-37 inhibition of innate immune responses[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2014, 111(7):2650-2655.
 [7] Dinarello CA, Nold-Petry C, Nold M, et al. Suppression of innate inflammation and immunity by interleukin-37[J]. Eur J Immunol, 2016, 46(5):1067-1081.
 [8] Liang Y, Ling J, Wen Z, et al. IL-37 inhibits the production of inflammatory cytokines in peripheral blood mononuclear cells of patients with systemic lupus erythematosus: its correlation with disease activity[J]. J Transl Med, 2014, 12(1):69-77.
 [9] Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease[J]. Cold Spring Harb Perspect Biol, 2014, 6(10):a016295.
 [10] Talaat RM, Elmaghraby AM, Barakat SS, et al. Alterations in immune cell subsets and their cytokine secretion profile in childhood idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP)[J]. Clin Exp Immunol, 2014, 176(2):291-300.

(收稿日期:2017-04-11 修回日期:2017-06-14)

* 基金项目:抚州市社会发展指导性科技计划项目(20164071)。

△ 通信作者,E-mail:13707949525@163.com。

加,血流感染的发病率明显升高^[1],且病死率高达 50%^[2]。血