

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 •

[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)

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

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℃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 μL 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 ℃ 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

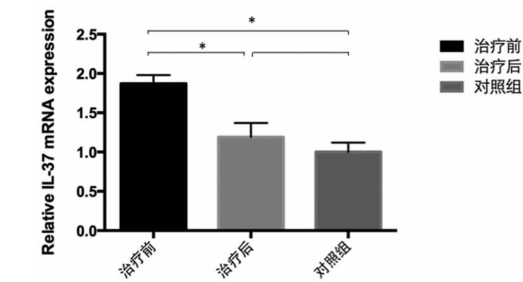
2.1 ELISA 检测治疗前后血浆中 IL-37、IL-6 及 TGF-β 水平 观察组在治疗前,IL-37、IL-6 及 TGF-β 水平均高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$),给予糖皮质激素泼尼松治疗后,观察组 IL-37、IL-6 及 TGF-β 均出现了明显下降,与治疗前相比,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

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

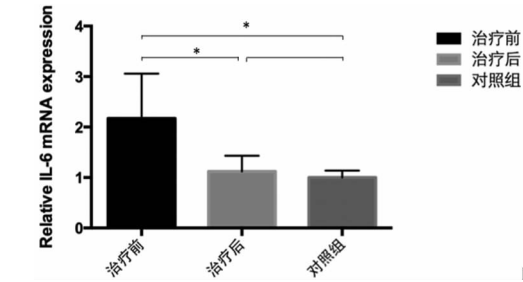
注:与观察组治疗前相比,* $P < 0.05$ 。

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。

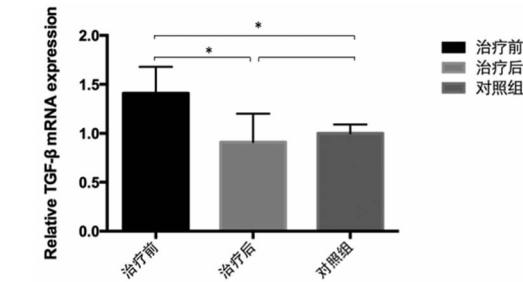
2.3 Western Blot 检测单个核细胞中的 IL-37、IL-6、TGF-β 蛋白的表达水平 观察组在治疗前 IL-37、IL-6、TGF-β 蛋白表达水平明显高于对照组,而经过泼尼松治疗 4 周,IL-37、IL-6、TGF-β 蛋白表达水平均出现了明显下降,见图 4。



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

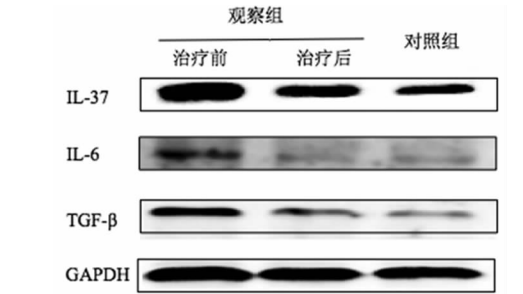


图 4 治疗前后单个核细胞中 IL-37、IL-6、TGF-β 蛋白表达水平

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],是临床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床表现、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症反应的作用,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 通过抑制炎症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 作为炎症介质及 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 •

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)

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奈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加, 血流感染的发病率明显升高^[1], 且病死率高达 50%^[2]。血

* 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。