

【论著摘要】

文章编号: 1000-7423(2002)-06-0376-02

泡球蚴病患者血清中 Th1/Th2 型细胞因子水平的观察

李富荣<sup>1</sup> 石佑恩<sup>2</sup> 史大中<sup>3</sup> D. A. Vuitton<sup>4</sup> P. S. Craig<sup>5</sup>

中图分类号: R532.32

文献标识码: A

近年来研究发现, Th1 和 Th2 细胞产生的细胞因子在病程转归中具有重要作用, 可反映宿主机体内免疫应答的反应类型。本文对泡球蚴病(AE)患者血清中的各种细胞因子进行了检测, 以了解 Th1/Th2 型细胞因子在 AE 患者细胞免疫调节中的作用及临床意义。

1 材料与方法

1.1 病例选择 甘肃省漳县草地合、草滩、韩川三个乡, 岷县蒲麻乡, 共 35 例。经 B 超检查筛选肝脏有典型的病灶损害, 经 Em2 抗原(B. Gottstein 教授提供)和棘球蚴囊液抗原(绵羊肝脏细胞棘球蚴囊液, EgAg), 2 800 g 离心 10 min, 上清液经半饱和硫酸铵盐析制成纯抗原, 蛋白质浓度为 12 mg/ml, 稀释至工作浓度 1 mg/ml 备用, 血清学试验阳性。男性 18 例, 女性 17 例, 年龄 18~71 岁, 平均 41.5 岁。对照组为非流行区健康人 24 例, 其中男 15 例, 女 9 例, 年龄 18~45 岁, 平均 28 岁。

1.2 试剂 sIL-2R ELISA 试剂盒, TNF-α ELISA 试剂盒, IL-6 ELISA 试剂盒, 人 IgE 抗体试剂盒, 购自北京邦定医学生物公司。IL-4 ELISA 试剂盒, IL-5 ELISA 试剂盒, IFN-γ ELISA 试剂盒, 购自深圳晶美生物工程公司。

1.3 血清中 sIL-2R, IFN-γ, IL-4, IL-5, IL-6 和 TNF-α 水平的测定 采用双抗体夹心 ELISA 法, 操作按各试剂盒说明书进行, 按标准曲线查找或采用回归方程式计算含量。

1.4 血清中特异性 IgG 和 IgE 抗体水平的测定

1.4.1 IgG 测定 用 pH 9.6 碳酸盐缓冲液稀释 EgAg 至 10 μg/ml, 包板 100 μl/孔, 4 ℃ 孵育 4 h, 0.05% Tween-20 PBS 洗板 3 次, 3 min/次, 1% BSA-PBS 200 μl/孔, 37 ℃ 封闭 2 h。病人血清用 0.01 mol/L pH 7.4 PBS 稀释, 倍比稀释 1:4~1:2 048, 加入酶标板中, 100 μl/孔, 并设置阳性对照和空白对照孔, 37 ℃ 1 h, 0.05% Tween-20 PBS 洗 3 次, 3 min/次, 加入 HRP-羊抗人 IgG, 用 0.01 mol/L pH 7.4 PBS 稀释至工作浓度 1:250, 100 μl/孔, 37 ℃ 1 h, 0.05% Tween-20 PBS 洗 3 次, 3 min/次, 加入 OPD 底物溶液, 100 μl/孔, 37 ℃ 15 min, 2 mol/L H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 50 μl/孔, 终止反应。测定 OD<sub>490</sub> 值, 以正常值 + 2SD 为阳性标准, 确定阳性抗体滴度。

1.4.2 IgE 测定 采用双抗体夹心 ELISA 法, 操作按试剂盒说明进行, 血清标本用 PBS(pH 7.4 含 0.25% BSA)1:20 稀释。

基金项目: 欧共体基金项目(STD-2)

作者单位: 1 深圳市人民医院临床医学研究中心, 深圳 518020; 2 华中科技大学同济医学院寄生虫学教研室, 武汉 430030; 3 兰州医学院寄生虫学教研室, 兰州 730000; 4 Centre Hospitalier Universitaire, Besancon, France; 5 Department of Biological Sciences, University of Salford, UK

1.5 统计学处理 全部数据均用 SPSS 8.0 软件进行处理。

2 结果

2.1 患者血清中 sIL-2R, IFN-γ, IL-4, IL-5, IL-6 和 TNF-α 水平的检测 由表 1 可见, AE 患者血清中 Th1 型细胞因子 sIL-2R, IFN-γ 水平和 Th2 型细胞因子 IL-4, IL-5 水平, 以及 TNF-α 显著高于正常对照组(P < 0.01)。值得指出的是, 患者血清 IL-5 的检出率为 53.3%, 而正常对照组人群检测不出。

表 1 泡球蚴病患者血清中 Th1/Th2 型细胞因子的含量测定

组别	正常对照组		泡球蚴病患者组		P
	例数	含量	例数	含量	
sIL-2R(U/ml)	24	115 ± 68.95	28	331.43 ± 177.98	<0.01
IFN-γ(pg/ml)	14	15.63 ± 7.6	15	266.67 ± 106.43	<0.01
TNF-α(ng/ml)	24	0.66 ± 0.96	30	8.25 ± 6.87	<0.01
IL-4(pg/ml)	14	19.3 ± 14.41	15	28.77 ± 14.59	<0.05
IL-5(pg/ml)	14	0	15	10.93 ± 14.77	<0.01
IL-6(ng/ml)	24	0.032 ± 0.013	25	0.040 ± 0.011	>0.05

2.2 AE 患者血清中特异性 IgG 和 IgE 抗体水平的检测 24 例 AE 患者血清中 IgG 抗体平均滴度为 1:768 ± 1:504, IgE 抗体在 35 例 AE 患者血清中水平为 (1.72 ± 2.08) U/ml, 而正常对照组人群均检测不出, 具有显著性差异(P < 0.01)。

3 讨论

本文 28 例 AE 患者血清 sIL-2R 水平较正常对照组显著升高(P < 0.01)。15 例 AE 患者血清中 IFN-γ 水平较正常对照组明显升高(P < 0.01)。这与 Rigano 等报道棘球蚴病患者 PBMC(外周血单核细胞)经抗原刺激 IFN-γ 水平升高相一致<sup>[1]</sup>。Sturm 等利用 RT-PCR 观察 AE 病人 PBMC 中有 IFN-γ mRNA 表达<sup>[2]</sup>。Jenne 等证实 IFN-γ mRNA 在患者 CD4<sup>+</sup> 细胞中表达<sup>[3]</sup>。这从分子水平进一步证明, sIL-2R, IFN-γ 水平的升高使机体呈抑制性免疫状态存在, 有利于寄生虫的生存。

15 例 AE 患者检测血清 IL-4, IL-5 水平均比正常对照组显著升高(P < 0.05)。Sturm 等证实 AE 患者中有 13 例 PBMC 经抗原刺激后有 IL-5 mRNA 表达(89%), 而正常人 PBMC 缺乏 IL-5 mRNA 表达<sup>[2]</sup>。

在慢性寄生虫感染特别是蠕虫感染, 细胞免疫功能低下时, 常伴有 IgE 升高。本研究中, AE 患者血清 IgE 水平明显高于正常对照组。IgE 在 AE 感染时宿主与寄生虫相互作用中发挥着重要作用<sup>[1,4]</sup>。IL-4 可增强 IgE 的产生, IL-5 对 IL-4 诱导 IgE 合成有显著的协同效应。

TNF-α 主要是由激活的巨噬/单核细胞产生的细胞因子, TNF-α 含量过高, 可引起免疫病理反应。AE 患者 TNF-α 水平高于正常人, 可能由于其病灶周围出现明显的单核细胞浸

润<sup>5</sup>;泡球蚴也可能直接诱导单核巨噬细胞产生。综上所述,AE 患者疾病的严重程度与 Th2 细胞因子的表达水平有关。

### 参 考 文 献

[1] Rigano R, Profumo E, Ioppolo S, et al. In vitro production of cytokines by peripheral blood mononuclear cells from hydatid patients[J]. Clin Exp Immunol, 1995, 99:433-439.

[2] Sturm D, Menzel J, Gottstein B, et al. Interleukin 5 is the predominant cytokine produced by peripheral blood mononuclear cells in alveolar echinococcosis[J]. Infect Immun, 1995, 63:1688-1697.

[3] Jenne L, Kilwinski J, Scheffold W, et al. IL-5 expressed by CD4<sup>+</sup>

lymphocytes from *Echinococcus multilocularis*-infected patients[J]. Clin Exp Immunol, 1997, 109:90-97.

[4] Rigano R, Profumo E, Ioppolo S, et al. Immunological markers indicating the effectiveness of pharmacological treatment in human hydatid disease[J]. Clin Exp Immunol, 1995, 102:281-285.

[5] Dreweck CM, Soboslay PT, Schulz-Key H, et al. Cytokine and chemokine secretion by human peripheral blood cells in response to viable *Echinococcus multilocularis* metacystode vesicles[J]. Parasite Immunol, 1999, 21:433-438.

(收稿日期:2001-04-17 编辑:庄兆农)

文章编号:1000-7423(2002)-06-0377-01

## 【病例报告】

# 肾移植术 2 年后发生卡氏肺孢子虫肺炎一例

徐霞<sup>1</sup> 王彤<sup>2</sup> 孟小鑫<sup>2</sup> 殷凯生<sup>2</sup> 陈锡慰<sup>1</sup>

中图分类号:R531.5

文献标识码:D

卡氏肺孢子虫肺炎(*Pneumocystis carinii* pneumonia, PCP)是一种致命的机会性感染疾病,如果延误治疗或治疗不当,死亡率很高。PCP 多发生于免疫功能低下患者,如恶性肿瘤、器官移植者等。徐肇珩<sup>[1]</sup>报道了我国第 1 例肾移植术后并发 PCP 的病例,到 1995 年 6 月我国已报道 55 例 PCP 患者<sup>[2]</sup>。最近,本院收治了 1 例肾移植术 2 年后并发 PCP 的病例,报道如下。

### 1 临床资料

患者,男性,43 岁。2000 年 9 月在本院接受同种异体肾移植手术,术后一直服用强的松、环孢素 A 和丝裂霉素以抗排斥反应。2002 年 8 月,患者在无明显诱因的情况下,突然出现畏寒、发热(体温 39℃)、咽痛。经抗炎治疗 1 wk 无效,遂入院。听诊双肺未闻及干湿啰音。移植的肾脏质地偏硬,边缘清楚,大小正常,无压痛。血细胞分析显示白细胞、血小板数量正常,红细胞  $3.28 \times 10^{12}/L$ 。血生化分析示乳酸脱氢酶(LDH)635 IU/L。X 光胸片示双肺感染,CT 示两肺纹理增多,呈斑片状模糊影,气管和支气管开口未见明显狭窄或阻塞,纵隔腔未见明显肿大淋巴结,右侧胸膜局部增厚。痰涂片检菌及细菌培养均阴性。临床诊断为肾移植术后并发感染,给予吸氧、抗炎治疗,效果欠佳。后行支气管肺泡灌洗,给予 50 ml 生理盐水反复冲洗 2~3 次,回收约 40 ml 泡沫样冲洗物,分别进行细菌培养(结果阴性)和卡氏肺孢子虫(*Pneumocystis carinii*, Pc)检测,病原学吉氏染色查见该虫包囊。PCR 检测结果为阳性。结合患者临床症状、相关检查、肺泡灌洗所见,以及治疗反应诊断为肾移植术后并发 PCP。给予复方新诺明口服(每次 0.9 mg,每天 2 次)治疗后症状好转,无咳嗽、咳痰及呼吸困难,血生化检查示 LDH 降至 259 IU/L。

### 2 讨论

吉田幸雄<sup>[3]</sup>报道,PCP 一般发生在肾移植术后 3~4 个月(13 例/15 例),肾移植术后 2 年以上发生 PCP 者较为少见。PCP 患者无特异性临床症状,以干咳较为明显,痰少甚至无痰,可伴有发热、气促、呼吸困难等。多数患者肺部听诊无异常,部分有散在的干湿性啰音。X 光胸片显示两肺弥漫性或斑点状阴影。Zaman 等<sup>[4]</sup>认为血清 LDH 升高可作为 PCP 的诊断指标,LDH>450 IU/L 要高度怀疑 PCP。

由于 PCP 患者症状不典型,痰量少,给临床诊断带来一定难度,病原学检查见到含 8 个囊内小体的包囊为确诊依据。免疫学检测抗 Pc 抗体,因多数健康人有隐性感染,血清中存在特异性抗体而不能用于临床诊断。近年来由于 PCR 及相关的分子生物学技术广泛用于检测 Pc,大大提高了检测的敏感性。滑立伟等<sup>[5]</sup>报道,mt-rRNA-PCR 特异性高达 100%。PCP 的诊断必须综合考虑患者临床症状、病原学及免疫学辅助检查结果以及治疗反应等而确诊。

### 参 考 文 献

[1] 徐肇珩. 肾移植术后并发卡氏肺孢子虫肺炎、细菌和巨细胞病毒感染 1 例报告[J]. 中华内科杂志, 1979, 18:293.

[2] Chunli AN, Masanobu T. Four cases of *Pneumocystis carinii* pneumonia in Shenyang, Northeast China[J]. Jpn J Parasitol, 1996, 45:512-517.

[3] 吉田幸雄. ニコーモシスチスカリニ肺炎[M]. 第 1 版. 东京:南山堂, 1981:96-97.

[4] Zaman MK, White DA. Serum lactate dehydrogenase levels and *Pneumocystis carinii* pneumonia. Diagnostic and prognostic significance [J]. Am Rev Respir Dis, 1988, 137:796-800.

[5] 滑立伟, 秦树林, 王爱霞, 等. 聚合酶链反应方法检测诱导排痰标本对卡氏肺孢子虫肺炎的诊断价值[J]. 中华内科杂志, 2002, 41:610-612.

(收稿日期:2002-09-12 编辑:富秀兰)

作者单位:1 南京医科大学病原生物学系,南京 210029;  
2 南京医科大学第一附属医院,南京 210029