

2.2 Uu 和 Ct 感染在不同年龄的分布 见表 2。

表 1 983 例生殖道感染者 Ct 和 Uu 检测阳性率[n(%)]

病原体	男性(n=169)	女性(n=814)	合计(n=983)
Ct	7(4.14)	53(6.51)	60(6.10)
Uu	41(24.26)	517(63.51)	558(56.77)
Ct+Uu	5(2.96)	37(4.55)	42(4.27)

表 2 不同年龄组 Ct 和 Uu 检测阳性率[n(%)]

组别	n	Ct	Uu	Ct+Uu
<20 岁组	18	1(5.56)	6(33.33)	1(5.56)
20~<30 岁组	384	33(8.59)	239(62.24)	23(5.99)
30~<40 岁组	284	15(5.28)	170(59.86)	11(3.87)
40~<50 岁组	217	10(4.61)	113(52.07)	6(2.76)
50~<60 岁组	60	1(1.67)	24(40.00)	1(1.67)
>60 岁组	20	0(0.00)	6(30.00)	0(0.00)
合计	983	60(6.10)	558(56.77)	42(4.27)

3 讨 论

荧光定量 PCR 技术采用完全闭管检测,有效避免了交叉污染,对 Uu、Ct 两种病原体的检测具有高度的特异性和敏感性,而且方法简单、快速、准确。荧光定量 PCR 可对 1 例标本同时检测 Uu、Ct 两种病原体,因此避免了患者同时取多份标本的繁琐和标本间存在的差异,也解决了病原体培养条件高、

• 经验交流 •

## 2 型糖尿病肾病患者外周血中 Th17 细胞的表达及其意义

李先云<sup>1</sup>,张平安<sup>2△</sup>,叶 茂<sup>3</sup>

(1. 武汉大学人民医院,湖北武汉 430060;2. 湖北省人民医院检验科,湖北武汉 430060;

3. 恩施土家族苗族自治州中心医院内分泌科,湖北恩施 445000)

**摘要:**目的 探讨 Th17 细胞与 2 型糖尿病肾病之间的关系,为 2 型糖尿病肾病的预防和治疗提供新的思路。方法 采用流式细胞仪测定 62 例 2 型糖尿病患者和 16 例健康对照组外周血 Th17 细胞表达率。结果 微量蛋白尿组和大量蛋白尿组 Th17 细胞表达率较健康对照组明显增加( $P<0.05$ ),大量蛋白尿组较微量蛋白尿组 Th17 细胞表达率增加更明显( $P<0.05$ );2 型糖尿病肾病病程与 Th17 细胞表达率呈正相关( $r=0.752, P<0.05$ )。结论 Th17 细胞可能参与了 2 型糖尿病肾病的发生和发展。

**关键词:**Th17 细胞; 2 型糖尿病; 糖尿病肾病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.08.067

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)08-1076-03

糖尿病肾病(diabetic nephropathy, DN)是糖尿病特发性全身微血管病变的肾脏表现,是 1 型糖尿病(type 1 diabetes mellitus, T1DM)患者的主要死亡原因。而目前关于 2 型糖尿病(type 2 diabetes mellitus, T2DM)及其肾病的发病机制仍不清楚。目前关于 Th17 细胞亚群及其主要效应因子参与的炎症反应与 T2DM 的关系,及其在 DN 患者中的表达及意义报道极少。因此,本文分析了 T2DM 患者外周血 Th17 细胞表达率与 DN 的关系,以期对 T2DM 及其 DN 发病机理的阐述提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 病例组选自 2011 年 12 月至 2013 年 6 月在

周期长的问题,可为临床提供快捷、准确的诊断依据<sup>[2]</sup>。

研究表明,本地区引起泌尿生殖道感染的常见病原菌以 Uu 多见。由于 Ct 感染后机体局部防御功能降低,泌尿生殖道黏膜受损,有利于 Uu 的黏附,而且 Uu 在混合感染中与 Ct 有联合效应,可增加泌尿生殖道炎症的发病率,因此,Ct 多伴有 Uu 混合感染<sup>[3]</sup>。女性 Uu 感染率明显高于男性,可能与治疗不规范、滥用药物,以及男、女生殖器官构造不同有关<sup>[4]</sup>。Uu 和 Ct 感染主要集中在 20~<50 岁人群,且随着年龄的递增有递减的趋势,由于 Uu 和 Ct 感染与性生活活跃程度、激素水平、阴道尿道环境、社会因素等有关,因此,该病原菌感染多发生于性成熟期患者,且年龄越小感染的危险性越大。

鉴于 Uu 和 Ct 的感染特点,建议临床对泌尿生殖道感染者,尤其是高危人群,应将 Uu、Ct 检测列入常规检测项目,以便及时控制和治疗各种泌尿生殖道疾病,减少并发症的发生。

参考文献

[1] 李跃进,谭湘芳. 荧光定量 PCR 检测性病的结果分析[J]. 实用医技杂志,2007,14(16):2151.  
 [2] 陈暖,彭学宏,李粉莲. FQ-PCR 检测淋球菌、沙眼衣原体和解脲支原体[J]. 中国实用医药,2008,3(20):49-51.  
 [3] 于红,王蓓,金辉,等. 女性生殖道感染中多种病原体的交互作用分析[J]. 实用妇产科杂志,2006,22(7):433-435.  
 [4] 张顺利. 不同性别、年龄解脲支原体感染的研究[J]. 检验医学与临床,2007,4(11):1134.

(收稿日期:2013-12-25)

△ 通讯作者,E-mail:68471104@qq.com.

恩施土家族苗族自治州中心医院住院的 T2DM 患者 62 例,其中,男性 36 例,女性 26 例,平均年龄(51.22±9.35)岁,平均体质质量指数(BMI)为(24.68±3.62)kg/m<sup>2</sup>,平均病程(5.36±4.67)年。健康对照组均来自恩施土家族苗族自治州中心医院体检中心健康体检者 16 例,其中,男性 9 例,女性 7 例,平均年龄(45.18±11.57)岁,BMI 为(21.02±1.38)kg/m<sup>2</sup>,其体检各项指标均在正常值范围之内。

1.2 DN 分期 根据国际通用的 Mogensen 分期标准选择,根据尿清蛋白排泄率(UAER)将病例组分为 3 组,正常蛋白尿组(UAER<30 mg/24 h)30 例,微量蛋白尿组(UAER:30~300 mg/24 h)17 例,大量蛋白尿组(UAER>300 mg/24 h)15 例。

**1.3 排除标准** 排除患有自身免疫性疾病、近期使用大剂量免疫抑制剂、经过放化疗、合并其他类型恶性肿瘤、患有其他炎症性疾病者,以及孕妇,患有严重心、肺、肾疾病,精神病,慢性消耗性疾病及传染病者。

**1.4 主要试剂和仪器** 荧光标记的 CD3-PE、CD4-APC、IL-17A-FITC 及红细胞溶解剂均购自美国 BD 公司, FACSCalibur 流式细胞仪为美国 Becton Dickinson 产品。

**1.5 检测方法** 所有受检对象均于晨起空腹抽取外周血 2 mL,离心后,加磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,制备成细胞悬液。在试管中加入 CD3-PE、CD4-APC、IL-17A-FITC 及单抗各 10  $\mu$ L,室温避光孵育 30 min,加入 1 mL 溶血剂,37  $^{\circ}$ C 水浴箱内放置 10 min,待完全溶血时立刻上流式细胞仪检测。选择 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>IL-17<sup>+</sup>Th17 细胞群作为 Th17 细胞的表型鉴定,分析其占 CD4<sup>+</sup>T 细胞百分比。使用 CellQuest 软件收获细胞并进行分析。

**1.6 统计学处理** 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,多组间比较采用 SNK-*q* 检验,两组间比较采用 *t* 检验;计数资料以率表示,采用  $\chi^2$  检验;采用 Pearson 相关分析研究各因素之间的相关性。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 病例组和健康对照组的临床资料和实验室检查结果比较** 病例组与健康对照组在性别、年龄、高密度脂蛋白(HDL)水平等方面比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ );而低密度脂蛋白(LDL)、总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、BMI 水平比较,差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

**表 1 病例组和健康对照组的临床资料和实验室检查结果比较( $\bar{x} \pm s$ )**

临床资料	健康对照组( $n=16$ )	病例组( $n=62$ )	<i>P</i>
性别(男/女)	9/7	36/26	$>0.05$
年龄(岁)	45.18 $\pm$ 11.57	51.22 $\pm$ 9.35	$>0.05$
BMI(kg/m <sup>2</sup> )	21.02 $\pm$ 1.38	24.68 $\pm$ 3.62	$<0.05$
HDL(mmol/L)	1.22 $\pm$ 0.19	1.15 $\pm$ 0.33	$>0.05$
LDL(mmol/L)	2.37 $\pm$ 0.27	3.01 $\pm$ 0.72	$<0.05$
TC(mmol/L)	4.25 $\pm$ 0.39	5.18 $\pm$ 1.02	$<0.05$
TG(mmol/L)	1.03 $\pm$ 0.78	2.55 $\pm$ 1.39	$<0.05$

**2.2 病例组及健康对照组 Th17 细胞表达率比较** 大量蛋白尿组 Th17 细胞表达率明显高于健康对照组、正常蛋白尿组、微量蛋白尿组( $P < 0.05$ ),微量蛋白尿组 Th17 细胞表达率明显高于高于健康对照组、正常蛋白尿组( $P < 0.05$ ),正常蛋白尿组 Th17 细胞表达率高于健康对照组( $P < 0.05$ ),见表 2。

**表 2 病例组及健康对照组 Th17 细胞表达率比较( $\bar{x} \pm s$ )**

组别	<i>n</i>	Th17 细胞(%)
健康对照组	16	0.87 $\pm$ 0.15
正常蛋白尿组	30	1.35 $\pm$ 0.46 <sup>a</sup>
微量蛋白尿组	17	2.78 $\pm$ 0.55 <sup>ab</sup>
大量蛋白尿组	15	3.67 $\pm$ 0.53 <sup>abc</sup>

<sup>a</sup>:  $P < 0.05$ ,与健康对照组比较;<sup>b</sup>:  $P < 0.05$ ,正常蛋白尿组比较;  
<sup>c</sup>:  $P < 0.05$ ,与微量蛋白尿组比较。

**2.3 Th17 细胞表达率与糖尿病相关指标的相关性分析** Th17 细胞表达率与糖化血红蛋白无相关性( $P > 0.05$ ),与 U-REA 分级呈正相关( $r=0.752, P < 0.05$ )。

**3 讨论**

DN 的发生是多种因素综合作用所致<sup>[1]</sup>,可能的发病机制包括生化代谢紊乱、氧化应激、血流动力学改变、细胞因子及遗传易感性,其发病与糖尿病病程密切相关,病程越长,DN 发病率越高<sup>[2]</sup>。目前研究提示 T2DM 及其慢性并发症可能是先天免疫性疾病、炎症和免疫因素在其进程中起到重要作用,其中,胰岛  $\beta$  细胞分泌功能减退及胰岛素抵抗是其持续发展的关键<sup>[3]</sup>。T2DM 的易感个体在营养过剩、环境刺激及年龄增长的因素的作用下,导致自身免疫系统异常,体内多种炎症因子被激活,在不同机制作用下,导致 T2DM 的发生和 DN 的出现<sup>[4]</sup>。有研究表明,随着 DN 的进展,肿瘤细胞坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、白细胞介素 6(IL-6)等在 DN 患者血清中的水平较单纯 T2DM 患者明显上升,提示在 DN 发展过程中有炎症因子的参与。吴晓燕等<sup>[5]</sup>研究发现,T2DM 患者存在 Th1/Th2 淋巴细胞失衡,提示免疫炎症可能参与了 T2DM 的发病进程。Th17 细胞是 2005 年发现的一种 CD4<sup>+</sup>T 细胞<sup>[6]</sup>,其通过分泌 IL-17 促进炎症反应,在自身免疫性疾病及炎症疾病中发挥了重要作用。IL-17 通过诱导 TNF- $\alpha$ 、IL-6 以及趋化因子(如 MIP-2、MCP-1 等)表达,介导炎症细胞到局部浸润及组织损伤,导致自身免疫性疾病的发生发展。

本研究发现正常蛋白尿组 Th17 细胞表达率与健康对照组之间差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),提示 Th17 细胞在 T2DM 的发病过程中起重要作用,与杜爱民等<sup>[7]</sup>研究结果类似。国外 Jagannathan-Bogdan 等<sup>[8]</sup>研究提示 T2DM 患者外周血中 Th17 细胞比率明显升高,而 Treg 比率明显降低,提示 Th17/Treg 失衡参与 DN 的发病。随 DN 病情加重, Th17 细胞表达率显著升高,且与 UREA 分级呈正相关,这与 DN 发生于 T2DM 之后,而且随着病程的进展 DN 的病情逐渐加重密切相关。Th17 诱导 IL-17 产生,并与其受体结合,又可诱导效应细胞分泌集落刺激因子、趋化因子等,进而促进巨噬细胞和中性粒细胞产生和募集,引起一系列炎症免疫反应损伤机体,导致 DN 的产生和发展<sup>[9-11]</sup>。但 Th17 细胞与其他 CD4<sup>+</sup>T 细胞亚型之间存在复杂的相互调控网络, Th17 细胞导致 T2DM 及 DN 的具体机制需要进一步深入探讨。因此在预防和治疗 T2DM 及 DN 的过程中,应开拓思路,引入免疫调节预防和治疗方向,为 DN 的预防和治疗提供新的靶点。

**参考文献**

[1] 王扬天,王坚,赵明,等.不同病程及干预下糖尿病大鼠肾脏核因子- $\kappa$ B 的表达[J].南方医科大学学报,2007,27(3):332-334.  
[2] 全春兰.糖尿病肾病的预防及护理进展[J].解放军护理杂志,2004,21(12):52-53.  
[3] Williams MD, Nadler JL. Inflammatory mechanisms of diabetic complication[J]. Curr Diab Rep,2007,7(3):242-248.  
[4] Rivero A, Mora C, Muros M, et al. pathogenic perspectives for the role of inflammation in diabetic[J]. Clin Sci, 2009, 116(6):479-492.  
[5] 吴晓燕,汤旭磊,高林.2 型糖尿病免疫炎症的初步探讨[J].中国免疫学杂志,2007,23(10):944-946.  
[6] Park H, Li Z, Yang XO, et al. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin-17[J]. Nat Immunol,2005,6(11):1133-1141.

[7] 杜爱民,曾姣娥,宁尚侠. 2 型糖尿病患者 Th17 细胞检测及其临床意义[J]. 临床荟萃,2010,25(6):495-497.

[8] Jagannathan-Bogdan M, McDonnell ME, Shin H, et al. Elevated proinflammatory cytokine production by a skewed T cell compartment requires monocytes and promotes inflammation in type 2 diabetes[J]. J Immunol, 2011, 186(2):1162-1172.

[9] 姚寿林,徐建华,连莉,等. 类风湿关节炎患者外周血 Th17 细胞/调节性 T 细胞变化及其临床意义[J]. 中华风湿病学杂志, 2011,

15(5):309-313.

[10] 梅丽萍,孙星达,陈葆国,等. Th17 细胞在骨髓增生异常综合征骨髓组织中的表达及意义[J]. 医学研究杂志, 2013, 42(1):76-79.

[11] 杜善梅,周韧. Th17 细胞的研究进展[J]. 国际免疫学杂志, 2009, 32(2):107-110.

(收稿日期:2013-12-26)

• 经验交流 •

# 均相酶增强免疫法监测他克莫司血药浓度在肾移植患者中的临床应用

李美珠,李炜焯,李启欣,何健棋

(中山大学附属佛山医院/佛山市第一人民医院检验科,广东佛山 528000)

**摘要:**目的 采用均相酶增强免疫法监测他克莫司血药浓度,探讨肾移植患者他克莫司“治疗窗”浓度,为临床肾移植患者他克莫司的合理用药提供参考。方法 采用均相酶增强免疫法对 2012 年 1 月至 2013 年 4 月 45 例肾移植患者进行他克莫司血药浓度检测,结合临床诊断与肾中毒、移植排斥反应判断标准,对所测得的结果及疗效进行统计学分析。结果 45 例肾移植患者共测定他克莫司血药浓度 342 次,其中 252 例次(占 73.7%)在有效血药浓度范围(5~15 ng/mL)内。结论 结合他克莫司“治疗窗”,实施个性化用药,定期检测他克莫司血药浓度,对避免患者发生中毒或排斥反应意义重大。

**关键词:**肾移植; 他克莫司; 血药浓度

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.08.068

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2014)08-1078-02

他克莫司属大环内酯类抗菌药物,具有强大的免疫抑制作用,当前在临床器官移植的抗排斥反应中应用日趋广泛<sup>[1-2]</sup>。但是由于他克莫司存在治疗窗窄,极易造成肾中毒和急性排斥反应。因此,定期检测其血药浓度,及时调整药物剂量,对提高移植器官的存活率,减少不良反应发生意义重大。作者对 45 例使用他克莫司的肾移植患者定期进行血药浓度检测(共检测 342 次),现分析如下。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2012 年 1 月至 2013 年 4 月在本院监测他克莫司血药浓度的肾移植术后患者 45 例,其中,男性 35 例,女性 10 例;年龄 14~70 岁,平均(44.3±12.0)岁;共检测 342 次。术后患者采用他克莫司+泼尼松+霉芬酸酯三联免疫抑制剂治疗方案。患者术后第 3 天开始服用他克莫司,起始剂量为 0.1~0.15 mg/(kg·d),于早、晚间隔 12 h 分 2 次服用,以后根据血药浓度及临床情况及时调整剂量。结合临床诊断,根据肾中毒和急性排斥反应判断标准<sup>[3-4]</sup>,将各例次不用时期血药浓度分成以下 3 组:正常组,中毒组和排斥组。

**1.2 仪器与试剂** 采用德灵公司 Vival-E 血药浓度分析仪及配套他克莫司检测试剂盒。

**1.3 方法** 采用均相酶增强免疫法来分析全血中他克莫司的浓度,操作步骤严格按照说明书中进行。采血时间为服用他克莫司 12 h 后,空腹抽取静脉血 1~2 mL 置 EDTA-K<sub>2</sub> 抗凝管中。患者常规服用他克莫司 0~1 个月,每周测定 2 次; >1~<3 个月,每周测定 1 次; 3~<7 个月每 2 周测定 1 次; >7~12 月,每个月测定 1 次。该方法最低检测浓度为 2 ng/mL,平均回收率为 107%。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS17.0 软件进行统计学分析,计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示,组间比较用 *t* 检验,以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 45 例患者全血他克莫司浓度测定结果** 45 例肾移植患者共测定 342 次,在 12 h 内全血他克莫司浓度测定值的分布见表 1,其中 252 例次(占 73.7%)在有效血药浓度范围(5~15

ng/mL)内。

表 1 全血他克莫司浓度测定值分布

浓度范围(ng/mL)	<i>n</i>	百分比(%)
≤5.0	85	24.9
>5.0~10.0	222	64.9
>10.0~15.0	30	8.8
>15.0	5	1.5

**2.2 不同时期各分组血药浓度结果比较** 不同时期各组他克莫司血药浓度检测结果见表 2。

表 2 不同时期各组他克莫司血药浓度检测结果比较(ng/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

术后开始服药后时间(月)	正常组	中毒组	排斥组
0~1	7.8±1.8	13.8±4.6**	4.3±1.5**
>1~<3	7.7±2.0	15.9±3.3**	3.7±1.6**
3~<7	7.3±1.9	12.2±1.0*	3.5±2.1**
>7~12	6.5±1.6	12.1±2.1**	3.9±1.2**

\*: *P*<0.05, \*\*: *P*<0.01,与正常组比较。

## 3 讨论

本研究采用均相酶增强免疫法,这类方法较其他方法特异性好<sup>[5-6]</sup>,样品处理简单,获取结果时间较短,已成为临床用于评判疗效的一个重要依据。本文中 45 例肾移植患者共测定全血他克莫司浓度 342 次,其中 252 例次(占 73.7%)在有效血药浓度范围(5~15 ng/mL)内。

定期检测他克莫司全血浓度,及时调整用药剂量,使得该药浓度在理想的浓度范围内,对提高他克莫司疗效,避免排斥反应及毒性反应的发生有重要意义<sup>[7-9]</sup>。他克莫司在体内的血药浓度存在个体间差异<sup>[10-11]</sup>,同时也与有效血药浓度范围设定有关,临床用药时需结合患者具体的症状及血药浓度值合理调整用药剂量。

本研究发现,随着时间的推移,患者体内(下转第 1083 页)