

3~7 d)、修复期(7~10 d 后),在不同疾病不同时期其细胞的变化是不相同的,在诊断和鉴别诊断中起重要作用。

本研究分析 469 例患者,化脓性脑膜炎的患者 84 例,脑脊液有核细胞数为 $(9\sim 7\ 950)\times 10^6/L$,细胞学分类在急性期以中性粒细胞为主,最高可达 97.5%,以中性粒细胞增多反应。经抗菌药物治疗有效后,脑脊液有核细胞数下降明显,尤其中性粒细胞下降明显,淋巴细胞逐渐回升,激活的单核细胞增多,恢复期中性粒细胞消失,淋巴细胞与单核细胞比例正常。结核性脑膜炎的患者 51 例,脑脊液有核细胞数为 $(14\sim 780)\times 10^6/L$,细胞学分类在疾病早期中性粒细胞比例增高,最高占 85%,随着病程进展中性粒细胞、淋巴细胞、转化型淋巴细胞、单核细胞、激活单核细胞并存,呈混合细胞增多反应,且这种混合细胞反应会长时间持续,是结核性脑膜炎脑脊液细胞学的最显著特征^[3];恢复期以淋巴细胞增多为主,最后淋巴细胞与单核细胞比例恢复正常。结核性脑膜炎的诊断金标准为在脑脊液中找到或培养出结核杆菌,但由于传统的检测方法灵敏度较低,很难从脑脊液中得到结核杆菌,故脑脊液细胞学检查具有重要的诊断价值^[4]。病毒性脑膜炎的患者有 295 例,脑脊液有核细胞总数为 $(21\sim 860)\times 10^6/L$,细胞学分类急性期以中性粒细胞为主,但反应时间极短,不易被发现;亚急性期呈淋巴细胞增多反应,淋巴细胞最高可达 98%,尤其转化型淋巴细胞增多,最高可达 81%,是由于受病毒抗原的刺激,涂片中淋巴细胞核出现脑样、花瓣状、扭曲、折叠等改变,恢复期有核细胞总数为明显下降至正常,淋巴细胞与单核细胞的比例正常^[5]。3 例患者 8 次检查中检出新型隐球菌,其细胞学分类为混合性细胞增多反应,有报道利用细胞离心沉淀仪制涂片方法检测新型隐球菌较墨汁染色阳性率高^[6]。23 例嗜酸性粒细胞增高的,结合临床表现及患者曾食用螺丝的病史,符合脑寄生虫脑膜炎,其有核细胞数为 $(14\sim 1\ 600)\times 10^6/L$,嗜酸性粒细胞比例达 40%~87.5%,明显高于外周血,并伴转化型淋巴细胞和激活型单核细胞增多,经过治疗后淋巴细胞升高,嗜酸性粒细胞下降。虽未见寄生虫虫体,但结合病史考虑多为广州管圆线虫感染^[7]。而通过 CT 等检查手段确诊的 13 例脑囊虫病,影像学可见脑膜表面的多发囊性结节,以外侧裂显著;在分析中有核细胞数

• 临床研究 •

Th17 细胞在过敏性哮喘患者中的临床研究

刘子雯,申卫红

(无锡市第三人民医院检验科,江苏无锡 214041)

摘要:目的 探讨 Th17 细胞及其分泌的细胞因子白细胞介素-17(IL-17)、白细胞介素-10(IL-10)在过敏性哮喘患者外周血中的变化及临床意义。方法 选取过敏性哮喘患者和健康体检者各 60 例,选用流式细胞术检测外周血 Th17 细胞的百分率;ELISA 法检测外周血培养上清液中 IL-17 和 IL-10 的表达;电化学发光法检测血清中 IgE 的含量。结果 哮喘组外周血 Th17 细胞比例、血清中 IgE 的含量及 IL-17 水平均高于健康对照组;而 IL-10 水平则低于健康对照组。结论 Th17 细胞表达失衡可能在过敏性哮喘的发病机制中起重要作用。

关键词: Th17; 过敏性哮喘; 白细胞介素-17; 白细胞介素-10

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.057

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)07-0995-03

过敏性哮喘是由多种细胞特别是肥大细胞、嗜酸性粒细胞和 T 淋巴细胞参与的慢性气道炎症,在易感者中此种炎症可引起反复发作的喘息、气促、胸闷和(或)咳嗽等症状,多在夜间和(或)凌晨发生,气道对多种刺激因子反应性增高,其发病率

正常,分类未见到嗜酸性粒细胞增多。

进行脑脊液细胞学的动态检查,若脑脊液炎性细胞逐渐减少或消失、淋巴细胞和单核细胞计数及二者比例显示改善或正常,则提示病情改善或痊愈;反之,显示病情加重或复发,对疗效判断提供客观依据。

综上所述,应用细胞离心涂片仪收集脑脊液进行细胞学检查,方法简单易行,结果确切且有一定特异性,因此对中枢神经系统感染性疾病的诊断具有不可忽视的作用。学者应该摒弃传统脑脊液细胞分类仅简单的分出单个核细胞和多个核细胞的方法,且认为中枢神经系统感染中除了真菌性感染,脑脊液检查没有特异性发现的陈旧观点,为各类中枢神经系统疾病诊断、病因鉴别、药物选择、疗效评估、复发预报和预后判断等提供了客观依据,减少不必要的误诊、漏诊及医疗纠纷。

参考文献

- [1] Lee W, Kim SJ, Lee S, et al. Significance of cerebrospinal Fluids IL-2R Level as a marker of CNS involvement in acute Lymphoblastic Leukemia [J]. Ann Clin Lab Sci, 2005, 35(4): 407.
- [2] 孔繁元, 范学文, 吴若芬. 脑脊液细胞学规范化检查和诊断程序 [J]. 脑与神经疾病杂志, 2009, 17(1): 71-75.
- [3] 许自强, 黄刚, 刘世民, 等. 脑脊液细胞学呈混合细胞反应的临床意义 [J]. 南昌大学学报: 医学版, 2010, 50(1): 44-47.
- [4] 莎丽娅·那色尔, 王展波, 半沂, 等. 脑脊液细胞学呈混合细胞反应对结核性脑膜炎的临床价值 [J]. 医学综述, 2014, 20(21): 4000-4001.
- [5] 战玉喜, 李建新. 颅内感染者脑脊液细胞学检查的临床意义 [J]. 山东医学高等专科学校学报, 2013, 35(3): 364-365.
- [6] Schop J. Protective immunity against cryptococcus neoformans infection [J]. McGill J Med, 2007, 10(1): 35-43.
- [7] 关鸿志, 陈琳, 崔丽英, 等. 广州管圆线虫病致嗜酸性粒细胞性脑膜炎 9 例患者临床和脑脊液细胞学特点 [J]. 中华神经科杂志, 2010, 43(4): 268-272.

(收稿日期: 2015-12-03)

在呼吸科患者中呈上升趋势。中国哮喘的患病率约为 1%, 儿童可达 3%, 据测算全国约有 1 千万以上哮喘患者。研究表明, Th17 细胞主要分泌细胞因子白细胞介素-17(IL-17), 是近年来发现的一类辅助性 CD4⁺ T 细胞, 在自身免疫性疾病、变

态反应性疾病中发挥重要作用^[1-3]。国外的许多研究表明,改变外周血中 IL-17、白细胞介素-10(IL-10)的表达可以影响过敏性哮喘患者的炎症反应程度,从而参与哮喘的发生^[4-5]。本研究主要通过检测过敏性哮喘患者外周血中 Th17 细胞比率及细胞因子 IL-17、IL-10 的表达水平,从而探讨其在过敏性哮喘患者发病机制中的意义及其严重程度之间的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年在无锡市第三人民医院呼吸科住院治疗的过敏性哮喘患者 60 例,其中男 38 例,女 22 例,平均(40.6±13.2)岁。本院健康体检者 60 例作为对照组,男 35 例,女 25 例,平均(29.4±9.7)岁,均为无过过敏性疾病和呼吸道感染,近一个月内未使用其他药物等。

1.2 方法

1.2.1 外周血 Th17 淋巴细胞亚群的检测 分别抽取哮喘组和对照组静脉血各 2 mL,分别加 PE 标记的抗人 IL-17 抗体各 10 μL,室温避光孵育 30 min。然后再加入红细胞裂解液,振荡混匀。离心后弃上清液,用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤后混匀,用流式细胞仪进行计数,获得 Th17 细胞的百分数。

1.2.2 外周血单个核细胞的分离 以聚蔗糖-泛影葡胺液分离过敏性哮喘患者和对照组外周血单个核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),PBS 洗涤后以每孔(3~5)×10⁵ 个细胞接种于 24 孔培养板,以含 10% 小牛血清的 RPMI-1640 培养基,于 37℃、5%CO₂ 的培养箱中培养,72 h 后收集培养上清液,待检。

1.2.3 外周血细胞因子水平检测 细胞因子 IL-17、IL-10 的检测,采用酶联免疫吸附法(ELISA)试剂盒进行检测,严格按照试剂盒说明书进行检测。

1.2.4 血清 IgE 含量检测 所有实验者清晨空腹抽取静脉血 4 mL,3 000 r/min 离心 10 min,分离出血浆待检。血清 IgE 定量测定采用电化学发光免疫分析法进行检验,操作严格按照仪器设定的程序进行测定。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计分析软件对样本数据进行处理,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。两组间的均数比较采用组间 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血 Th17 淋巴细胞亚群的检测 通过流式细胞仪检测 60 例哮喘患者和健康者外周血中 Th17 淋巴细胞亚群的数量,结果表明:哮喘患者外周血中 Th17 细胞约占 CD4+T 细胞(5.04±1.02)%,明显高于健康对照组(1.90±0.57)%,差异有统计学意义(*P* < 0.05),见表 1。

表 1 过敏性哮喘患者外周血中 Th17 细胞亚群的检测

组别	<i>n</i>	Th17 细胞(%)
哮喘组	60	5.04±1.02
对照组	60	1.90±0.57
<i>P</i>		<0.05

2.2 细胞因子 IL-17、IL-10 的表达 通过 ELISA 法分别检测哮喘组和对照组外周血细胞因子 IL-17、IL-10 的含量,结果表明:IL-17 的含量哮喘组明显高于健康对照组,而 IL-10 的含量明显低于健康对照组,且差异具有统计学意义(*P* < 0.05),结果见表 2。

2.3 血清 IgE 含量的检测 通过电化学发光免疫分析仪检测哮喘组和对照组血清 IgE 的含量,结果表明:哮喘组患者空腹

IgE 的含量的含量(289.88±80.32)ng/mL,明显高于健康对照组(49.44±8.21)ng/mL,且差异具有统计学意义(*P* < 0.05),结果见表 3。

表 2 哮喘组外周血 IL-17、IL-10 表达量的比较 (pg/mL)

组别	<i>n</i>	IL-17	IL-10
哮喘组	60	44.23±8.23	30.23±12.37
对照组	60	10.45±5.05	53.77±33.59
<i>P</i>		<0.05	<0.05

表 3 哮喘组空腹 IgE 含量的检测

组别	<i>n</i>	IgE(ng/mL)
哮喘组	60	289.88±80.32
对照组	60	49.44±8.21
<i>P</i>		<0.05

3 讨论

过敏性哮喘是由多种细胞特别是肥大细胞、嗜酸性粒细胞和 T 淋巴细胞参与的慢性气道炎症,在易感者中此种炎症可引起反复发作的喘息、气促、胸闷和(或)咳嗽等症状,气道对多种刺激因子反应性增高。Th17 细胞主要分泌 IL-17,在过敏性哮喘中发挥重要作用^[6-7]。国外有研究显示,通过给过敏性哮喘小鼠输入活化的 Th17 细胞,能够促进气道中性粒细胞性炎症。另有许多研究发现,在中重度过敏性哮喘患者外周血中 Th17 细胞及其分泌的 IL-17 的表达均增加^[8-9]。因而, Th17 细胞在哮喘的发病机制中发挥着重要作用,而其效应的发挥主要通过特征性细胞因子 IL-17 来完成。本研究结果也显示,在过敏性哮喘患者组中,细胞因子 IL-17 的表达也增加,这与国外的研究结果相一致。最近调节性 T 淋巴细胞成为免疫抑制治疗的研究重点,其主要通过分泌细胞因子 IL-10 来抑制免疫应答,从而发挥免疫耐受的作用。有研究显示,在 IL-10 表达减少的小鼠中对于过敏原诱导的哮喘炎症反应相应地增加。因此,IL-10 表达减少可加重哮喘的发作,提示其在过敏性哮喘中起重要作用^[10-12]。

近年来调控免疫反应的 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞成为免疫抑制治疗的研究焦点。Treg 特征性地表达转录因子 FOXP3,可通过细胞间直接接触或分泌细胞因子 IL-10 等方式来抑制免疫应答,从而使机体产生免疫耐受。有研究显示,儿童过敏性哮喘患者外周血 CD4⁺CD25⁺Treg 细胞明显减少,表明 Th17/FOXP3 表达失衡可能在儿童过敏性哮喘的发病机制中起重要作用。

本研究结果表明,过敏性哮喘组 IL-17 的表达以及血清中 IgE 的含量均高于健康对照组;而 IL-10 水平则低于健康对照组,提示 Th17 细胞和调节性 T 细胞共同参与过敏性哮喘的发病。在本研究中,过敏性哮喘组存在 IL-17 的表达增加而 IL-10 表达水平却减少的情况,提示其细胞水平 Th17/CD4⁺CD25⁺Treg 表达失衡可能在过敏性哮喘的发病机制中起重要作用。因此,本研究发现, Th17 细胞以及 IL-17、IL-10 等细胞因子共同在过敏性哮喘的发病机制中起重要作用。临床上如能动态掌握其变化将有助于临床早期诊断和及时治疗。

参考文献

[1] van Mierlo GJD, Scherer HU, Hameetman M, et al. Cutting Edge:

TNFR-Shedding by CD4⁺CD25⁺ Regulatory T Cells Inhibits the Induction of Inflammatory Mediators[J]. J Immunol, 2008, 180(26):2747-2751.

[2] Albano GD, Di Sano C, Bonanno A, et al. Th17 immunity in children with allergic asthma and rhinitis: a pharmacological approach [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e588-592.

[3] Ramirez-Velazquez C, Castillo EC, Guido-Bayardo L, et al. IL-17-producing peripheral blood CD177⁺ neutrophils increase in allergic asthmatic subjects[J]. Allergy Asthma Clin Immunol, 2013, 9(1):23.

[4] Doe C, Bafadhel M, Siddiqui S, et al. Expression of the T helper 17-associated cytokines IL-17A and IL-17F in asthma and COPD [J]. Chest, 2010, 138(5):1140-1147.

[5] Mays LE, Ammon-Treiber S, Mothes B, et al. Modified Foxp3 mRNA protects against asthma through an IL-10-dependent mechanism[J]. J Clin Invest, 2013, 123(3):1216-1228.

[6] Togbe D, Fauconnier L, Madouri F, et al. Thymic Stromal Lymphopoietin Enhances Th2/Th22 and Reduces IL-17A in Protease-Allergen-Induced Airways Inflammation[J]. ISRN Allergy, 2013, 2013(3):971036.

[7] Tsuji M, Kawamoto T, Koriyama C, et al. IL-22 mRNA expression in blood samples as a useful biomarker for assessing the ad-

verse health effects of PCBs on allergic children[J]. Int J Environ Res Public Health, 2012, 9(12):4321-4332.

[8] Wakashin H, Hirose K, Maezawa Y, et al. IL-23 and Th17 cells enhance Th2-cell-mediated eosinophilic airway inflammation in mice[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 178(10):1023-1032.

[9] Bajoruniene I, Malakauskas K, Lavinskiene S, et al. Response of peripheral blood Th17 cells to inhaled Dermatophagoides pteronyssinus in patients with allergic rhinitis and asthma [J]. Lung, 2012, 190(5):487-495.

[10] Eusebio M, Kraszula L, Kupczyk M, et al. Low frequency of CD8⁺CD25⁺FOXP3(BRIGHT) T cells and FOXP3 mRNA expression in the peripheral blood of allergic asthma patients[J]. J Biol Regul Homeost Agents, 2012, 26(2):211-220.

[11] Yalcin AD, Bisgin A, Gorczyński RM. IL-8, IL-10, TGF- β , and GCSF levels were increased in severe persistent allergic asthma patients with the anti-IgE treatment[J]. Mediators Inflamm, 2012(2012):720976.

[12] Albano GD, Di Sano C, Bonanno A, et al. Th17 immunity in children with allergic asthma and rhinitis: a pharmacological approach [J]. PLoS One, 2013, 8(4): e58892.

(收稿日期:2015-10-28)

• 临床研究 •

RPR、TP-ELISA、TPPA 试验在梅毒诊断中的应用评价

丁 静, 王 泉, 王庆国

(徐州市第一人民医院检验科, 江苏徐州 221002)

摘要:目的 评价梅毒快速血浆反应素试验(RPR)、梅毒抗体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、梅毒明胶凝集试验(TPPA)在梅毒诊断中的应用, 制定结合实际的梅毒血清学筛选检测方案。方法 采用 RPR、TP-ELISA、TPPA 试验检测 430 例梅毒患者, 其中临床一期现症梅毒患者 184 例, 既往梅毒感染而无临床症状患者 246 例, 同时检测健康体检者 52 例, RPR 阳性患者采用血清倍比稀释检测, 报告最高稀释度。结果 在 430 例梅毒患者中, TPPA 阳性 428 例, ELISA 阳性 426 例, RPR 阳性 237 例。在 4 例 TP-ELISA 阴性患者中, TPPA 检测均为阳性, 对样本稀释后再检测 TP-ELISA, 结果有 3 例阳性, 这 3 例患者 RPR 检测均为高滴度现症一期梅毒患者。在 52 例健康体检者中, RPR 和 TP-ELISA 各有 1 例阳性, TPPA 全部为阴性。3 种不同检测方法的灵敏度: TPPA > TP-ELISA > RPR, 且敏感性比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。不同方法联合检测的灵敏度均高于单一方法, 其独立检测的特异度均高于 98%。结论 TP-ELISA、TPPA 敏感度和特异度均较高, TP-ELISA 适合筛选试验, TPPA 适合复检确认, RPR 可判断是否为现症患者, 并用于观察梅毒治疗及预后, 不同方法互相补充才能提供科学的实验结果。

关键词:梅毒螺旋体; 梅毒快速血浆反应素试验; 酶联免疫吸附试验; 梅毒明胶凝集试验

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.07.058

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)07-0997-02

近年来, 梅毒发病率在我国有逐年上升的趋势, 由于人是梅毒的唯一宿主, 其病程漫长、症状复杂, 实验室检测成为梅毒诊断的重要依据^[1-2]。为了选择敏感性高、特异性好、操作简单等临床检测方法, 本研究通过评价梅毒快速血浆反应素试验(RPR)、梅毒抗体酶联免疫吸附试验(TP-ELISA)、梅毒明胶凝集试验(TPPA)3 种检测方法在临床中的应用, 以期更好、更快、更准确辅助诊断、治疗和控制梅毒, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2014 年 2 月至 2015 年 1 月在徐州第一医院性病中心就诊的 430 例临床梅毒患者, 其中现症 1 期梅毒患者 184 例, 既往感染无临床症状复检者 246 例(梅毒诊断参照 1995 年卫生部防疫司颁布的梅毒诊断标准^[3]), 男 216 例, 女 224 例, 年龄 18~72 岁。52 例健康体检者排除内、外科疾病, 从体检科随机抽取, 年龄 20~78 岁。

1.2 仪器与试剂 RPR 试剂由上海科华生物技术公司提供;

TPPA 试剂由日本富士瑞欧株式会社提供, 96 孔选用瑞必欧生产的原装 U 形板; ELISA 试剂购于北京万泰生物技术公司; 梅毒质控血清(1NCU)由卫生部临床检验中心提供。仪器为 BIO-RAD 680 酶标仪和 YT-wash II 全自动洗板机。

1.3 检测方法 TPPA 试验在 U 形板上用稀释液将每份血清样本作倍比稀释, 加致敏粒子孔大于或等于 1:80 凝集为阳性; TP-ELISA 检测采用酶标仪 450 nm 读取吸光度(A 值), A 小于临界值为阴性, A 大于或等于临界值为阳性; RPR 可作半定量试验, 以定性试验结果进行统计, 所有检测步骤严格按说明书进行。

1.4 统计学处理 应用 SPSS13.0 统计软件进行分析, RPR 与 TP-ELISA、TPPA 方法的敏感度和特异度比较采用 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 TPPA、TP-ELISA、RPR 检测结果 52 例健康体检者中