

利用显微镜镜检观察质控片的背景,确定胰蛋白酶为最佳的消化液,最佳消化浓度为 2%,最佳消化条件是 37℃下消化 20 min。另外,制备成 0.50 麦氏浓度的脓液分枝杆菌通过使用胰蛋白酶消化后的痰液进行不同倍数的稀释,可得到不同等级的抗酸染色室间质量评价质控片,且能保证其均匀和稳定。

抗酸染色项目因其操作简便、经济、快速等优点,受到我国各级临床实验室的青睐,其准确度对临床的诊断至关重要。目前尚未见关于如何标准化制备抗酸染色室间质量评价质控片的相关文献报道,本研究基于重庆市临床检验中心的平台,首次探讨了标准化制备稳定、均一抗酸染色室间质量评价质控片的方法,并成功用于重庆市各临床实验室抗酸染色项目的能力验证,保证了全市开展该项目临床实验室结果的准确性。

参考文献

[1] An expanded DOTS framework for effective tuberculosis control[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2002, 6(5): 378-388.
 [2] WORLD HEALTH ORGANIZATION. Global tuberculosis report 2017[Z]. 2017, https://who.int/th/publications/global_report/en/.
 [3] 李玉雪,柳晓金,王薇,等.改良抗酸染色法在检测痰结核

分枝杆菌中的应用[J]. 标记免疫分析与临床, 2018, 25(7): 1070-1073.
 [4] 张静. 分枝杆菌分离培养的实验室生物安全[J]. 世界最新医学信息文摘, 2018, 18(31): 112.
 [5] WU M H, CHIANG C Y, JOU R, et al. External quality assessment of sputum smear microscopy in Taiwan[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2009, 13(5): 606-612.
 [6] 罗锦成,周海军,夏建军. 痰液标本直接接种法和胰蛋白酶消化法培养结果的比较[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(9): 1019-1020.
 [7] DAVE P V, PATEL N D, RADE K, et al. Proficiency panel testing—a reliable tool in external quality assessment of sputum smear microscopy services in Gujarat, India[J]. Indian J Tuberc, 2011, 58(3): 113-119.
 [8] 杨荣武. 生物化学原理[M]. 北京: 高等教育出版社, 2006: 100-108.
 [9] 荣燕,江智霞,张天宏,等. 气管切开术后气道湿化对痰液成分改变的相关性研究[J]. 护士进修杂志, 2011, 26(2): 111-114.
 [10] RODRIGUEZ J, GUPTA N, SMITH R D, et al. Does trypsin cut before proline? [J]. J Proteome Res, 2008, 7(1): 300-305.

(收稿日期:2018-10-02 修回日期:2019-01-28)

sfgl2、IL-10 与颈动脉粥样硬化的关系*

孟胜兰¹, 刘安娜², 骆沿极², 肖创清^{2△}

(1. 湖南省人民医院/湖南师范大学第一附属医院检验科, 湖南长沙 410000;

2. 解放军第 921 医院检验科, 长沙 410000)

摘要:目的 探讨急性缺血性脑梗死患者血浆可溶性纤维蛋白原 2(sfgl2)、白细胞介素 10(IL-10)水平与颈动脉粥样硬化(CAS)的关系。方法 选择 2017 年 10 月至 2018 年 5 月湖南省人民医院(湖南师范大学第一附属医院)神经内科收治的急性缺血性脑梗死住院患者 88 例作为病例组,根据颈动脉彩色多普勒超声检查结果分为不稳定斑块组(40 例)、稳定斑块组(34 例)和无斑块组(14 例)。选择同期该院健康体检者 30 例作为健康对照组。比较各组研究对象血浆 sfgl2、IL-10 水平,同时分析二者与 CAS 斑块稳定性的关系。结果 不稳定斑块组患者 sfgl2 水平[(23.70±7.35)ng/mL]明显低于健康对照组和稳定斑块组[分别为(33.4±8.34)、(28.06±7.78)ng/mL],差异有统计学意义(P<0.05),IL-10 水平[(3.40±2.13)pg/mL]也明显低于对照组和稳定斑块组[分别为(10.42±3.80)、(5.63±3.92)pg/mL],差异均有统计学意义(P<0.05)。sfgl2、IL-10 均为 CAS 斑块易损性的保护因素[优势比(OR)=0.943、0.763,95%可信区间(95%CI):0.889~0.998、0.615~0.945, P<0.05]。结论 sfgl2、IL-10 均参与了 CAS 斑块的发生、发展,并对 CAS 斑块具有保护作用。

关键词:白细胞介素 10; 颈动脉; 动脉粥样硬化; 脑梗死; 可溶性纤维蛋白原 2

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.025

中图法分类号: R543.5; R446.61

文章编号: 1673-4130(2019)10-1255-04

文献标识码: B

可溶性纤维蛋白原 2(sfgl2)又称为可溶性纤维介素蛋白 2,是纤维蛋白原 2 的分泌型,是近年来发现的

* 基金项目: 国家科技支撑计划子课题(2015 BAI 32H00)。

△ 通信作者, E-mail: xcq163jyk@sina.com。

本文引用格式: 孟胜兰, 刘安娜, 骆沿极, 等. sfgl2、IL-10 与颈动脉粥样硬化的关系[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(10): 1255-1258.

由调节性 T 淋巴细胞 (Treg) 分泌的重要效应分子^[1-2]。sfgl2 最初克隆自细胞毒 T 淋巴细胞^[3]。sfgl2 蛋白有 2 种表达形式, mfgl2 具有凝血活性, 而 sfgl2 因其梭基端的 FRED 段而具有免疫抑制活性^[4]。其免疫抑制作用已在多种疾病得到证实。白细胞介素 10 (IL-10) 是机体非常重要的炎症调节因子, 抑制多种细胞因子的转录、表达和分泌, 并可增强内皮细胞的屏障功能, 抑制黏附分子表达而发挥抗动脉粥样硬化 (AS) 作用^[5]。本研究通过检测急性缺血性脑梗死患者血浆 sfgl2, IL-10 水平, 旨在探讨其与颈动脉粥样硬化 (CAS) 斑块的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2017 年 10 月至 2018 年 5 月湖南省人民医院 (湖南师范大学第一附属医院) 神经内科收治的急性缺血性脑梗死住院患者 88 例作为病例组, 其中男 41 例, 女 47 例; 平均年龄 (62.68 ± 11.86) 岁; 伴冠心病 16 例, 糖尿病 25 例, 高血压病 67 例。根据颈动脉彩色多普勒超声 (彩超) 检查结果将病例组患者分为不稳定斑块组 (40 例)、稳定斑块组 (34 例) 和无斑块组 (14 例)。稳定斑块组患者中男 12 例, 女 22 例; 平均年龄 (63.06 ± 13.04) 岁。不稳定斑块组患者中男 23 例, 女 17 例; 平均年龄 (64.60 ± 12.13) 岁。无斑块组患者中男 6 例, 女 8 例; 平均年龄 (56.29 ± 7.50) 岁。对照组选择 30 例同期于湖南省人民医院体检的健康志愿者, 其中男 12 例, 女 18 例; 平均年龄 (58.81 ± 11.31) 岁。各组研究对象性别、年龄等一般资料比较, 差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 颈动脉超声检查 患者入院后行彩超检查, 探头频率 6~12 Hz, 由超声科医生操作并观察颈动脉各段内膜改变、回声特点和斑块形态并报告彩超检查结果。局部颈动脉内-中膜厚度大于或等于 1.5 mm 认为斑块形成; 稳定斑块: 斑块质地呈强回声且表面光滑; 不稳定斑块: 斑块质地呈低回声或不规则低回声暗区, 表面不光滑, 斑块内有出血。

1.2.2 血浆 sfgl2、IL-10 水平测定 采集各组患者入院次日空腹肘静脉血 2~3 mL, 用肝素钠抗凝, 离心并收集血浆, 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测 sfgl2、IL-10 水平。ELISA 试剂盒购自美国 biolegend 公司。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件对数据进行分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 正态分布资料采用单因素方差分析, 非正态资料采用非参数检验。相关性分析采用 logistic 回归模型分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 颈动脉超声检查结果 88 例患者中检出 CAS 斑块 74 例, 斑块检出率为 84.1%, 其中不稳定斑块

40 例, 稳定斑块 34 例。不稳定斑块检出占比 54.1% (40/74)。

2.2 各组研究对象血浆 sfgl2、IL-10 水平比较 与健康对照组比较, 不稳定斑块组及稳定斑块组患者血浆 sfgl2、IL-10 水平均明显降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$); 与稳定斑块组比较, 不稳定斑块组患者血浆 sfgl2、IL-10 水平均明显降低, 差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组研究对象血浆 sfgl2、IL-10 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	sfgl2 (ng/mL)	IL-10 (pg/mL)
不稳定斑块组	40	23.70 ± 7.35* #△	3.40 ± 2.13* #△
稳定斑块组	34	28.06 ± 7.78*	5.63 ± 3.92*
无斑块组	14	28.94 ± 6.76	6.61 ± 2.27*
健康对照组	30	33.40 ± 8.34	10.42 ± 3.80
F		15.148	61.913
P		0.000	0.000

注: 与健康对照组比较, * $P < 0.05$; 与无斑块组比较, # $P < 0.05$; 与稳定斑块组比较, △ $P < 0.05$

2.3 sfgl2、IL-10 对 CAS 斑块易损性预测价值 以急性缺血性脑梗死患者 CAS 斑块稳定性 (1-不稳定型、0-稳定型) 为因变量, 以 sfgl2、IL-10 为自变量, 进行二元 logistic 回归模型分析。sfgl2、IL-10 均为 CAS 斑块易损性的保护因素 [优势比 (OR) = 0.943、0.763, 95% 可信区间 (95% CI): 0.889 ~ 0.998、0.615 ~ 0.945, $P < 0.05$], 可预测 CAS 斑块的易损性。见表 2。

表 2 不稳定斑块的二元 logistic 回归分析

变量	P	OR	95% CI
sfgl2	0.026	0.937	0.889 ~ 0.998
IL-10	0.006	0.763	0.615 ~ 0.945

3 讨论

CAS 斑块破裂是导致急性脑梗死的主要病因, 本研究 88 例急性缺血性脑梗死患者中检出 CAS 斑块 74 例, 其中不稳定斑块检出率达 54.1%, 表明不稳定斑块与脑梗死的发生、发展关系非常密切。

AS 是血管的慢性进行性炎症性疾病, 斑块内多种免疫细胞及炎症因子相互作用, 炎症贯穿于 CAS 斑块始末。在 AS 早期, IL-10 可增加人冠状动脉内皮细胞细胞间黏附分子-1 (ICAM-1) 的 mRNA 及血小板-内皮细胞黏附分子 (CD31) 蛋白的表达, 增强内皮细胞屏障功能, 使白细胞黏附减少, 抑制早期斑块的形成^[6]。当 IL-10 水平过低, 不足以拮抗 IL-18、肿瘤坏死因子 α (TNF- α) 等炎症因子的作用时则易导致动脉内膜的损伤^[7]。在斑块形成期, IL-10 同样具有保护作用。动物实验显示, IL-10 缺乏会导致炎症细胞尤其是活化的 T 淋巴细胞浸润, 以及纤维帽胶原含

量降低,从而使斑块更不稳定^[8];而移植 IL-10 的小鼠 AS 斑块的病灶减小^[9]。

sfgl2 是近年来发现的由 Treg 细胞产生的效应分子,在国外,对 sfgl2 的研究主要集中在动物模型的移植排斥方面^[10],在病毒性肝炎^[11]、自身免疫性疾病^[12-13]、肿瘤^[14]、心血管疾病也有相关研究。有研究表明,冠心病患者外周血 sfgl2 水平降低,且 sfgl2 水平与病变血管数量存在明显相关性,提示 sfgl2 参与了心血管疾病的病程^[15-16]。目前,有研究表明,sfgl2 主要与 FcγR II B、FcγR III 两种 Fcγ 受体结合而发挥免疫调控作用,但因为不同细胞表面表达的两种受体的比例不同,从而使 sfgl2 与之结合后产生的生物学效应也不同,如 sfgl2 可抑制辅助性 T 细胞 1 增殖,诱导 B 淋巴细胞凋亡,而与树突状细胞(DC)细胞 FcγR II B 结合,可减少骨髓源性 DC 细胞表面组织相容性复合体(MHC-II)及 CD8 分子表达,从而使 DC 细胞成熟受阻,使其刺激 T 淋巴细胞增殖的能力降低^[17]。因此认为,sfgl2 与 IL-10 作用一致,可延缓 AS 损伤的发展,增加斑块稳定性。

本研究首次结合颈动脉超声直接评估急性缺血性脑梗死患者外周血 sfgl2、IL-10 水平与 CAS 斑块稳定性的关系。结果显示,CAS 不稳定斑块组患者血浆 sfgl2 水平明显低于稳定斑块组和健康对照组,同样,不稳定斑块组患者血浆 IL-10 水平也明显低于稳定斑块组和健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。且随 CAS 斑块不稳定性增加,血浆 sfgl2、IL-10 水平呈逐渐降低趋势。对 CAS 不稳定斑块进行 logistics 回归模型分析发现,sfgl2 的 OR 值为 0.943,IL-10 的 OR 值为 0.763 ($P < 0.05$),显示 sfgl2、IL-10 均为 CAS 易损斑块的保护因素,也证实了 sfgl2 与 IL-10 作用类似,均参与了 CAS 斑块的发生和发展。

通过分析急性脑梗死患者血浆 sfgl2、IL-10 水平发现,二者与 CAS 斑块稳定性明显相关,其水平高低可反映 CAS 斑块的严重程度,且二者对 CAS 斑块均具有保护作用,但 sfgl2 发挥保护作用的相关机制暂不清楚,尚缺乏更多的研究,随着相关炎性细胞因子更加深入的研究,sfgl2 可能成为 CAS 不稳定斑块识别和预防的新的炎性标记物。

参考文献

- [1] MALLAT Z, BESNARD S, DURIEZ M, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis [J]. *Circ Res*, 1999, 85(8): e17-24.
- [2] CHAN C W, KAY L S, KHADAROO R G, et al. Soluble fibrinogen-like protein 2/fibroleukin exhibits immunosuppressive properties; suppressing T cell proliferation and inhibiting maturation of bone marrow-derived dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2003, 170(8): 4036-4044.
- [3] KOYAMA T, HALL L R, HASER W G, et al. Structure of a cytotoxic T-lymphocyte-specific gene shows a strong homology to fibrinogen beta and gamma chains [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1987, 84(6): 1609-1613.
- [4] LIU H, YANG P S, ZHU T, et al. Characterization of fibrinogen-like protein 2 (FGL2): monomeric FGL2 has enhanced immunosuppressive activity in comparison to oligomeric FGL2 [J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2013, 45(2): 408-418.
- [5] JIANG Y, GAO Q, WANG L, et al. Deficiency of programmed cell death 4 results in increased IL-10 expression by macrophages and thereby attenuates atherosclerosis in hyperlipidemic mice [J]. *Cell Mol Immunol*, 2016, 13(4): 524-534.
- [6] XUE M, QIQIGE C, ZHANG Q, et al. Effects of tumor necrosis factor α (TNF- α) and interleukin 10 (IL-10) on intercellular cell adhesion molecule-1 (ICAM-1) and cluster of differentiation 31 (CD31) in human coronary artery endothelial cells [J]. *Med Sci Monit*, 2018, 24: 4433-4439.
- [7] REN Z Q, LIU N, ZHAO K. Micro RNA-19a suppresses IL-10 in peripheral B cells from patients with atherosclerosis [J]. *Cytokine*, 2016, 86: 86-91.
- [8] ROBERTSON A K, RUDLING M, ZHOU X, et al. Disruption of TGF-beta signaling in T cells accelerates atherosclerosis [J]. *Clin Invest*, 2003, 112(9): 1342-1350.
- [9] PINDERSKI OSLUND L J, HEDRICK C C, OLVERA T, et al. Interleukin-10 blocks atherosclerotic events in vitro and in vivo [J]. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, 19(12): 2847-2853.
- [10] URBANELIS P, SHYU W, KHATTAR R, et al. The regulatory T cell effector molecule fibrinogen-like protein 2 is necessary for the development of rapamycin-induced tolerance to fully MHC-mismatched murine cardiac allografts [J]. *Immunology*, 2015, 144(1): 91-106.
- [11] EL-MESERY M, EL-MOWAFY M, ELGAML A, et al. Correlation of serum soluble Fibrinogen-Like protein 2 with soluble FAS ligand and interferon gamma in Egyptian hepatitis C Virus-Infected patients and hepatocellular carcinoma patients [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2017, 37(8): 342-347.
- [12] ZHU Y, ZHOU J, FENG Y, et al. Control of intestinal inflammation, Colitis-Associated tumorigenesis, and macrophage polarization by Fibrinogen-Like protein 2 [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 87.
- [13] ZHENG Z, YU Y, POTLA R, et al. Fibrinogen-like protein-2 causes deterioration in cardiac function in experimental autoimmune myocarditis rats through regulation of programmed death-1 and inflammatory cytokines [J]. *Immunology*, 2018, 153(2): 246-252.
- [14] TANG M, CAO X, LI P, et al. Increased expression of Fibrinogen-Like Protein 2 is associated with poor prognosis in patients with clear cell renal cell carcinoma [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 12676.
- [15] CHENG J, CHEN Y, XU B, et al. Association of soluble fibrinogen-like protein 2 with the severity of coronary artery disease [J]. *Intern Med*, 2016, 55(17): 2343-2350.

[16] LIU M, XU L J, WU J X. Changes of circulating CD4 (+)CD25(+)/CD127(low) regulatory T cells in patients with acute coronary syndrome and its significance[J]. Genet Mol Res, 2015, 14(4):15930-15936.

[17] 李婷. 急性冠脉综合征患者中 sfg12 及 Treg 表达的研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2016.

(收稿日期: 2018-09-20 修回日期: 2018-12-28)

• 短篇论著 •

南京地区女性高危型 HPV 亚型分布特征及与宫颈病变的临床分析*

张美娟¹, 成祥君¹, 邱胜丰^{1,2,Δ}

(1. 南京医科大学第一附属医院检验学部, 江苏南京 210029; 2. 江苏省妇幼保健院检验科, 江苏南京 210036)

摘要:目的 探讨南京地区女性高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)亚型分布特征, 并分析其在宫颈疾病诊治中的应用价值。方法 收集 2017 年 1—12 月江苏省妇幼保健院门诊就诊、自愿接受 HPV 分型检测的 3 598 例女性患者的宫颈脱落细胞标本, 采用罗氏 Cobas 4800 HPV 检测系统进行 14 种 HR-HPV 分型(16、18 型和其他 12 种型别)检测, 对 HPV 分型检测阳性病例进行阴道镜检查, 有异常者行多点活检。分析 HR-HPV 感染与宫颈病变的关系。结果 3 598 例患者中检出 HR-HPV 感染 1 404 例, 阳性率为 39.02%。HPV 阳性患者主要集中于 25~<55 岁, 占 89.58%。随着年龄的增长, HR-HPV 阳性率逐渐增高, 阳性率最高的是 65 岁以上人群, 阳性率为 58.06%。以单一亚型感染为主, 共 1 247 例(88.82%), 双重感染 154 例(10.97%)。HPV16 阳性 318 例(20.33%), HPV18 阳性 99 例(6.33%), 其他 12 种 HR-HPV 阳性 1 147 例(73.34%)。在不同程度的宫颈病变中均以单一亚型感染为主(83.37%), 但双重感染患者宫颈病变级别明显升高, 差异有统计学意义($P<0.05$)。HPV16 阳性患者宫颈病变率高达 72.33%, 引发宫颈病变为高级别宫颈鳞状上皮内病变(宫颈上皮内瘤变 II~III)及以上者占 53.88%, 明显高于其他 HPV 亚型, 差异有统计学意义($P<0.05$)。结论 南京地区女性 HR-HPV 阳性率随年龄增长逐渐增高。以单一感染为主, 但多重感染能显著增加宫颈病变发生率, 其中 HPV16 亚型感染更易引发宫颈高级别病变。

关键词:人乳头瘤病毒 16; 人乳头瘤病毒 18; 宫颈疾病; 江苏

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2019.10.026

中图法分类号:R373;R711.74

文章编号:1673-4130(2019)10-1258-04

文献标识码:B

宫颈癌是常见的妇科恶性肿瘤之一, 近年来呈明显上升和年轻化趋势^[1]。宫颈癌前病变的发生、发展与高危型人乳头瘤病毒(HR-HPV)的持续感染密切相关^[2]。HPV 是女性通过性传播感染的最常见病毒。至今已发现的 HPV 亚型有 150 多种, 其中 HR-HPV 包括 16、18、52、58 型等, 不同 HPV 型别所致疾病存在差异。

目前, 我国宫颈癌筛查仍以细胞学检查为主, 但在宫颈疾病诊治中 HPV 感染检测及分型检测的应用也逐渐得到推广^[3]。为探讨 HR-HPV 亚型检测诊断宫颈病变的价值及南京地区女性患者 HR-HPV 的分布, 本研究对 2017 年在江苏省妇幼保健院就诊患者的 HR-HPV 亚型分布进行了分析, 并与细胞学结果进行了比较, 以便优化诊疗路径。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 1 月 1 日至 12 月 31 日在江苏省妇幼保健院妇科因各种原因就诊、经知情同

意自愿接受宫颈 HPV 分型检查的 3 598 例女性患者的病例资料, 年龄 16~86 岁, 平均(39.73±9.39)岁, 中位年龄 40 岁。部分患者疑似存在宫颈病变, 其中 831 例同时进行了宫颈细胞学及阴道镜组织学病理检查。纳入标准: (1)既往有性生活史; (2)3 个月内未使用性激素; (3)非妊娠期; (4)非月经期; (4)无严重自身免疫性疾病。

1.2 仪器与试剂 采用罗氏 Cobas 4800 HPV 检测系统[包括 Cobas x480 DNA 提取仪, 实时荧光定量 Cobas z480 聚合酶链反应(PCR)仪及循环数(Ct)值自动读取软件平台]进行检测, Cobas HPV 检测试剂盒购自美国罗氏公司。

1.3 方法

1.3.1 用干净棉球擦净宫颈口分泌物, 然后用专用毛刷前半部于宫颈管内 1.0~1.5 cm 适当加压, 顺时针旋转 5 圈左右, 收集宫颈管内及外口的脱落上皮细胞, 置于保存液中, 用漩涡法洗脱刷头上细胞, 标明信

* 基金项目: 江苏省自然科学基金青年基金资助项目(BK20151035); 江苏省卫生健康委员会科研课题(Y2015065)。

Δ 通信作者, E-mail: 13813930278@163.com。