

· 技术方法 ·

肺炎支原体下呼吸道感染患儿血清 肿瘤坏死因子- α 、白细胞介素-8 的检测

车莉 卢竞 鲁杰 赵小元 刘小燕

【摘要】 目的 探索肺炎支原体所致下呼吸道感染的免疫学发病机制。方法 采用顺序饱和液相竞争放射免疫分析及夹心酶免疫放射分析法对 30 例肺炎支原体所致下呼吸道感染患儿血清进行了肿瘤坏死因子(TNF)- α 和白细胞介素-8(IL-8)的检测。结果 肺炎支原体所致下呼吸道感染患儿血清中 TNF- α 及 IL-8 水平均明显高于健康儿童; TNF- α 和 IL-8 升高呈正相关。结论 TNF- α 在肺炎支原体所致下呼吸道感染中起着重要作用,也是 IL-8 升高的重要促进因子。

【关键词】 支原体,肺炎 肿瘤坏死因子 白细胞介素-8

Measurement of serum tumor necrosis factor- α and interleukin-8 in children with low respiratory tract infection (LRTI) caused by *Mycoplasma pneumoniae* CHE Li, LU Jing, LU Jie, et al. Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020

【Abstract】 Objective To investigate the immunopathological mechanism of LRTI caused by *Mycoplasma pneumoniae*. **Methods** Serum tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interleukin-8 (IL-8) from 30 patients with LRTI caused by *Mycoplasma pneumoniae*, were measured with sequence saturated solution competitive radioimmunoassay and sandwich ELISA. **Results** The level of serum TNF- α and IL-8 of patients suffering from LRTI caused by *Mycoplasma pneumoniae* were magnificently higher than that of healthy children. Meanwhile, a positive relationship between serum TNF- α and IL-8 was noticed. **Conclusion** TNF- α plays an important role in LRTI caused by *Mycoplasma pneumoniae*, and serves the key factor to the elevation of IL-8.

【Key words】 *Mycoplasma pneumoniae* Tumor necrosis factor Interleukin-8

肺炎支原体(Mp)是小儿下呼吸道感染最常见的病原之一。近年来,小儿Mp所致下呼吸道感染的发病率在逐年增加,但其发病机制至今尚不十分清楚。为了进一步探讨其免疫学有关的发病机制,我们对Mp所致下呼吸道感染患儿血清中肿瘤坏死因子(TNF)- α 及白细胞介素-8(IL-8)的水平进行检测。

材料和方法

一、研究对象:病例选自1997年11月至

1998年4月就诊的患儿30例,年龄3~10岁,平均年龄5.03岁;男14例,女16例。Mp感染的临床诊断标准依据《实用儿科学》^[1]和1987年中华儿科学会呼吸组成都会议通过的诊断标准。采用ELISA-IgM方法,确诊为Mp所致急性支气管炎12例;喘息性支气管炎10例及支原体肺炎8例。其中重症者(组)20例,年龄3~10岁,平均年龄6.4岁,男13例,女7例;轻症者(组)10例,年龄为3~7岁,平均年龄5.6岁,男5例,女5例。对照组选自无器质性疾病,近期(2个月内)无急性感染性病史的健康儿童25例。年龄3~10岁,平均4.84岁,男12例,女13例。

二、方法:

1. 血清学检测: 采用酶免疫放射分析 IgM 方法检测被检血清。对临床诊断为 Mp 感染患儿抽取静脉血, 分离血清, 每批实验均以阳性和阴性血清作对照。

2. 血清中 TNF- α 检测: 采用顺序饱和液相竞争放射免疫分析法。首先将待测样品中的 TNF- α 与特异性抗体在 4 $^{\circ}$ C 温育中 3 小时, 然后加入 125 I-TNF 标记物与抗体在 4 $^{\circ}$ C 温育中 17 小时, 最后加入免疫沉淀剂。室温放置 15 分钟, 离心分离未结合的 125 I-TNF 和样品(或标准)中的 TNF, 吸取上清液, 测定沉淀中的放射性计数率。放射免疫分析试剂盒, 由中国原子能科学院提供。

3. 血清中 IL-8 检测: ①将包被抗体加入 ELISA 板, 4 $^{\circ}$ C, 放置 48 小时; ②冲洗 3 次, 加封闭液, 37 $^{\circ}$ C 1 小时; ③加入待测样品、阴性对照及标准品, 37 $^{\circ}$ C 1 小时; ④冲洗 3 次, 加入稀释好的酶标抗体, 37 $^{\circ}$ C 1 小时; ⑤冲洗 3 次, 加入的 ABTS 显色液, 室温或 37 $^{\circ}$ C 显色 15~30 分钟; ⑥用 ELISA 读数仪测吸光度(A)。IL-8 试剂盒由第四军医大学免疫学教研室提供。

结 果

一、Mp 所致下呼吸道感染患儿血清中 TNF- α 及 IL-8 水平: 经 *t* 检验分析, 两组间具有统计学意义。两组比较显示: Mp 感染组 TNF- α 与 IL-8 含量均高于正常对照组($P < 0.01$)。Mp 感染组 TNF- α 与 IL-8 血清中含量升高呈正相关($r = 0.413, P < 0.05$), 即 TNF- α 与 IL-8 含量同步上升(表 1)。

表 1 Mp 所致下呼吸道感染患儿血清中 TNF- α 与 IL-8 水平

组别	例数	\bar{S}_x	
		TNF- α (ng/L)	IL-8(ng/L)
感染组	30	497.19 \pm 113.90	904.63 \pm 367.73
对照组	25	161.40 \pm 83.51	297.96 \pm 80.23
<i>t</i> 值		12.24	8.08
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

二、Mp 所致下呼吸道感染不同病情患儿血清中 TNF- α 与 IL-8 水平: 重症组与轻症组比较显示: 重症组血清 TNF- α 与 IL-8 含量明显高于轻症组($P < 0.01$), 见表 2; 轻症组较正常对照组为高, 两组经 *t* 检验分析具有统计学意义($P < 0.05$)。重症组 TNF- α 与 IL-8 血清中含量明显升高, TNF- α 与 IL-8 血清中含量升高呈高度正相关($r = 0.82, P < 0.01$); 轻症组 TNF- α 与 IL-8 血清中含量升高呈正相关($r = 0.41, P < 0.05$), 正常组各指标相关分析, 无统计学意义。

表 2 Mp 所致下呼吸道感染不同血清 TNF- α 与 IL-8 水平

组别	例数	\bar{S}_x	
		TNF- α (ng/L)	IL-8(ng/L)
重症组	20	520.42 \pm 67.90	642.24 \pm 29.00
轻症组	10	280.12 \pm 26.72	340.37 \pm 87.22
<i>t</i> 值		10.6	6.99
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

讨 论

肺炎支原体是下呼吸道感染的主要病原之一。研究表明: 支原体感染是人体免疫系统对侵入体内病原的免疫反应, 其中, 细胞免疫在发病机制中起着重要的作用。TNF- α 是由巨噬细胞产生的一种具有多种生物反应的细胞因子, 并可参与免疫过程。主要表现为免疫调节活性。此外, 还介导炎症反应的许多病理生理改变, 从而在很多疾病的发病机制中起着重要作用。在正常情况下, 它在机体内浓度较低, 具有调节应答, 促进细胞生长分化等多种生理功能, 若明显升高, 则可引起局部炎症反应, 器官的损害, 甚至多系统受损²。

本研究表明: Mp 感染的患儿血清中, TNF- α 浓度明显高于对照组($P < 0.01$), 重症患者 TNF- α 血清含量明显高于轻症患者, 轻症患者高于对照组, 这与国外报道相符³。受炎症刺激后, 巨噬细胞可在原位释

放大量 TNF, 激活中性粒细胞及内皮细胞表面粘附受体, 故参与重症肺炎所致的肺损伤^[5]。这说明 TNF- α 在支原体感染中起着重要作用。TNF- α 可通过对 T 细胞和 B 细胞, 调节机体的特异性和非特异免疫功能, 即 TNF 具有诱导中性粒细胞的趋化作用和局部浸润, 从而启动炎症反应。IL-8 是一种重要的白细胞趋化因子, 可以趋化白细胞引起炎症反应, 属一类典型的炎症介质。TNF- α 与某些细胞因子可相互诱生, 从而激发炎症介质的级联反应。人体多种细胞在接受 TNF- α 、IL-1、干扰素等单独或联合刺激后均能较长期地合成、释放 IL-8 家族的低分子性细胞因子, 并扩大参与炎症的作用。IL-8 还是肺内主要的趋化因子^[4]。

本研究表明支原体感染组患儿血清中 IL-8 含量比对照组明显升高, 重症组血清 IL-8 含量明显高于轻症组, 轻症组高于对照组。其血清含量的升高与 TNF- α 均呈正相关, 这表明 IL-8 参与炎症反应过程, TNF- α 与 IL-8 同步升高, 说明了 TNF- α 可能是 IL-8 升高的重要促进因素。

综上所述, 可以认为 Mp 感染的发病机理, 在启动 TNF- α 与 IL-8 方面起着重要

作用。有文献^[2]指出, TNF- α 可能的病理作用为: 内皮细胞的损害, 促进微血栓形成; 降低肌细胞跨膜电位, 钠-钾泵失效; 诱发其他炎性介质释放, 活化中性多核细胞, 引起组织细胞损伤, 并与 IL-1 协同, 加重感染反应。而 TNF- α 作为 IL-8 升高的重要促进因素, IL-8 浓度升高扩大参与病理生理过程。但是必须指出, TNF- α 和 IL-8 在其它传染病中的作用也是值得深入探讨的。

参 考 文 献

- 1 吴瑞萍, 胡亚美, 江裁芳主编. 实用儿科学. 第 6 版. 北京: 人民卫生出版社, 1996. 1136, 1171.
- 2 Bruce B and Cerami A. The Biology of cachectic TNF- α primary mediator of the host response. *Am Rev Immunol*, 1989, 7:625-655.
- 3 Nohynek H, Teppo AM, Laine E, et al. Serum tumor necrosis factor- α concentrations in children hospitalized for acute lower respiratory tract infection. *J Infect Dis*, 1991, 163:1029.
- 4 毕爱华主编. 医学免疫学. 北京: 人民军医出版社, 1997. 72-76.
- 5 Mark P, Krausp M, Sibautte J, et al. Hydrocortison and tumor necrosis factor in severe community-acquired pneumonia: a randomized controlled study. *Chest*, 1993, 104:389-392.

(收稿: 1998-09-29 修回: 1998-10-27)

一起铅污染井水的调查报告

杨文生 冯宝华

1998 年 5 月, 我们在卫生监督监测中发现, 全椒县某冰棒厂生产的冰棒铅含量高达 3.4mg/kg, 超过国家卫生标准($\leq 0.3\text{mg/kg}$) 10 多倍。为了查明铅超标的原因, 进行了调查分析。

该厂是一家个体老厂。生产模具全部为铝制品, 生产工艺均符合要求, 前几年的产品检验中均未发现铅超标情况。此次抽检铅超标的冰棒为 5 月 19 日生产的试产品。检测表明, 井水、冰棒半成品(未经灌模冷冻的料浆)、成品冰棒中的铅含量均为

3.0mg/kg, 而各食品添加剂、糖精、蛋白糖、甜蜜素、柠檬酸中的铅含量均低于检出限($< 0.05\text{mg/kg}$)。现场调查发现, 生产冰棒的水并未加盖, 井口周围 3 米内有散在电池粉末。挖去井底淤泥并连续 3 次抽干井水后, 井水中的铅含量降至 0.1mg/kg, 冰棒中的铅含量也达到了国家规定标准(0.3mg/kg)。

基于以上结果可以认为, 冰棒铅超标不是由于原料和生产模具造成的, 而是井水被污染所致。井水中的铅来源可能是由于儿童向井中投掷含有可溶性氧化铅的破损电池造成的。