

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.23.004

绿脓杆菌感染肺炎大鼠模型中的 PCR 检测方法及 IL23 的动态变化 *

乌兰·同巴依尔¹ 颜 婕² 刘媛媛¹ 牛晓琳¹ 王志强¹ 白煜峡^{1Δ}

(1 新疆医科大学第一附属医院消毒配送中心次供应室一部 新疆 乌鲁木齐 830054;

2 新疆医科大学第一附属医院中心手术室 新疆 乌鲁木齐 830054)

摘要 目的:探讨 PCR 技术在绿脓杆菌感染肺炎大鼠模型中进行检测的方法可行性以及大鼠体内 IL23 的表达水平变化。方法:将健康 SD 大鼠随机分为 3 组,空白对照组、实验对照组和肺炎感染组。在绿脓杆菌肺炎模型建立后,设计绿脓杆菌的特异性引物,进行 3 组大鼠体内绿脓杆菌感染的 PCR 鉴定,并用 qPCR 和 ELISA 技术检测大鼠体内 IL23 水平变化。结果:① PCR 技术检测到肺炎大鼠模型中的绿脓杆菌,其中肺组织检出率为 100%,而对照组的 PCR 结果是阴性。② 绿脓杆菌感染肺炎大鼠模型建立后,大鼠的 IL23 mRNA 逐渐上升,在第 3 天达到最高值,相比对照组,有显著差异(分别是 60852.9 ± 1474.2 和 1987.7 ± 246.4 拷贝, $P < 0.05$);血清中的 IL23 蛋白水平也逐渐上升,在第 1 周到达最高值,相比对照组,有显著差异(分别是 297.4 ± 14.7 和 123.8 ± 18.3 pg/mL, $P < 0.05$)。结论:本研究建立了大鼠体内的高特异性、快速、简便绿脓杆菌感染检测 PCR 方法,发现大鼠 IL23 在绿脓杆菌感染后显著升高,在绿脓杆菌肺炎和 IL23 之间建立了联系。

关键词: 绿脓杆菌;肺炎;PCR 检测;IL23

中图分类号:R-33;R378;R563.11 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2018)23-4416-05

Application of PCR Detection in the Rats with *Pseudomonas Aeruginosa* Pneumonia and the Dynamic Changes of IL23 in Rats*

Wulan·tongbayier¹, YAN Jie², LIU Yuan-yuan¹, NIU Xiao-lin¹, WANG Zhi-qiang¹, BAI Yu-xia^{1Δ}

(First Affiliated Hospital of Xinjiang Medical University: 1 Disinfecting supply division, Urumqi, Xinjiang, 830054, China;

2 Central operating room, Urumqi, Xinjiang, 830054, China)

ABSTRACT Objective: To explore the feasibility of PCR detection and the change of IL23 expression level in the rat model of pyocyanic pneumonia. **Methods:** Healthy SD rats were randomly divided into three groups, blank control group, experimental control group and pneumonia group. After the establishment of pyocyanic pneumonia model, specific primers of *Pseudomonas aeruginosa* were designed, and PCR was carried out to identify whether the rats were infected or not. The IL23 level in rats was detected by qPCR and ELISA. **Results:** ① *Pseudomonas aeruginosa* was detected in the rat with *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia by PCR, and the positive ratio was 100% in lung, but the results in the control group were negative. ② After the establishment of pyocyanic pneumonia model, the content of IL23 mRNA showed gradual increases, and reached the top level on the third day. When compared to the control group, there was significant difference (60852.9 ± 1474.2 and 1987.7 ± 246.4 copies, respectively, $P < 0.05$). The content of serum IL23 increased gradually, and reached the top level in the first week. When compared to the control group, there was significant difference (297.4 ± 14.7 and 123.8 ± 18.3 pg/mL, respectively, $P < 0.05$). **Conclusions:** A highly specific, rapid and simple PCR method for detection of *Pseudomonas aeruginosa* infection in rats was established. IL23 in rats increased significantly after infection with *Pseudomonas aeruginosa*, and a connection between pyocyanic pneumonia and IL23 was established.

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*; Pneumonia; PCR detection; IL23

Chinese Library Classification(CLC): R-33; R378; R563.11 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2018)23-4416-05

前言

绿脓杆菌(*Pseudomonas aeruginosa*, PA),是一类致病力较弱但具有较强抗药性的细菌,经伤口感染后能引起化脓性病变^[1],肺部疾病患者在感染绿脓杆菌后可引起严重的肺炎,即绿脓

杆菌性肺炎。近年来,分子生物学技术在细菌基因水平的研究应用快速发展,不断为致病菌的鉴定带来新的技术手段。这其中,PCR 快速检测鉴定方法被越来越多的研究者使用,并逐渐得到行业认可。Saint 等^[2]早在 1992 年就利用 PCR 技术成功检测到 PA 的脂蛋白基因。随着绿脓杆菌外毒素 A(ETA)的发现

* 基金项目:新疆维吾尔自治区重点实验室医学动物模型研究实验室开放课题(XJDX1103-2012-08)

作者简介:乌兰·同巴依尔(1988-),本科,研究方向:消毒配送中心消毒灭菌等相关工作,电话:13639936290, E-mail: wlan1201@163.com

Δ 通讯作者:白煜峡,本科,主任护师,研究方向:消毒配送中心消毒灭菌等相关工作

(收稿日期:2018-04-27 接受日期:2018-05-23)

^[3] 以及相关研究的深入,ETA 基因的高度保守性得到了验证,而 ETA 又与 PA 的致病能力密切相关,目前关于 PCR 方法检测绿脓杆菌的研究多数是通过检测 ETA 基因,因此本研究在现有研究的基础上,建立了快速检测绿脓杆菌感染大鼠体内 PA 的 PCR 方法。

白细胞介素 23^[4](Interleukin, IL23)是一类炎症细胞因子,属于白介素 12 家族,参与细胞增殖、分化、免疫、炎症反应等过程。Rudner 等^[5]在研究中发现,BALB/c 小鼠在卡氏肺孢子虫感染后,体内 IL23 能够介导卡氏肺孢子虫的清除,这表明 IL23 可能与抗感染有密切关系。本文对 IL23 在绿脓杆菌感染肺炎大鼠模型中的表达水平变化进行了相关研究。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 PA 菌株 购自中国典型培养物保藏中心,菌株编号 CCTCC AB 2012006。

1.1.2 动物 90 只 SPF 级健康雄性 SD 大鼠,7 周龄,体重 180-220 g,购自河南省实验动物中心。喂养 1 周后用于实验。

1.1.3 PA 特异性 PCR 引物 根据绿脓杆菌 ETA 基因序列设计一对特异性引物,ETA-F:5'-GACAACGCCCTCAGCAT-CACCAGC-3',ETA-R:5'-CGCTGGCCCCATTGCTCCAGCGC-T-3',由上海英骏生物技术有限公司合成。

1.1.4 大鼠 IL23 的 qPCR 引物 根据大鼠 IL23 基因序列设计 qPCR 引物,IL23-F:5'-TGGCTGTGCCTAGGAGTAGCA-3',IL23-R:5'-TTCATCCTCTTCTCTCTTAGTAGATTTCATA-3',由上海英骏生物技术有限公司合成。

1.1.5 pMD18-T-大鼠 IL23 质粒 用做 qPCR 实验的标准品,制作标准曲线,购自北京义翘神州科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 PA 海藻酸盐微粒(SAB)制备 PA 接种培养至适当菌浓度,离心收集细菌。将藻酸盐溶液和 PA 菌液混匀后倒入 SAB 制作器,利用压缩空气将其注入 Tris-HCL 缓冲液,再通过菌落计数调整至所需菌液浓度,即制得 SAB,备用。详细制备方法见参考文献^[6]。

1.2.2 动物分组 90 只 SD 大鼠随机分为 3 组,空白对照组、实验对照组和肺炎感染组,每组 30 只,分笼饲养,其中各组有 15 只用苦味酸进行被毛染色标记。

1.2.3 建立动物模型 参照文献^[7]的方法,用 3%戊巴比妥钠对实验对照组和肺炎感染组动物进行腹腔注射麻醉,剂量 1 mL/kg。行气管切开,用弯曲钝圆头长针滑入左支气管深部,分别推注 0.1 mL 生理盐水和 0.1 mL SAB,缝合伤口,动物置于 23 °C SPF 级饲养房。空白对照组不做处理,饲养条件同前面两组。

1.2.4 实验动物样本采集 注射 SAB 前、注射后 1 天、3 天、1 周和 2 周,每个时间点从 3 组中各取 3 只苦味酸标记的大鼠,麻醉后心脏抽取血液,放入离心管,离心收集血清置于 -80 °C 保存用于 ELISA 检测 IL23;参照文献^[8]的方法,进行支气管肺泡灌洗,灌洗液放入离心管,离心收集细胞后,用常规 TRIzol 法提取 RNA,再逆转录成 cDNA,保存于 -20 °C 用于 qPCR 检测 IL23 mRNA。注射 SAB 前,3 组各取 5 只未标记的大鼠,处死并解剖,在无菌条件下打开腹腔,取出肺组织、肝组织、脾组

织和肠系膜淋巴结,进行 DNA 提取,DNA 保存于 -20 °C 用于绿脓杆菌 PCR 检测;注射 SAB 一周后,将 3 组剩余 10 只未标记的大鼠处死,按上述方法提取 4 种组织 DNA 用于绿脓杆菌 PCR 检测。从上述 4 种组织内分离细菌,进行形态特征观察和生化试验,鉴定绿脓杆菌是否感染。

1.2.5 PCR 反应检测 PA 以 1.2.4 制备的组织 DNA 为模板,配制以下 PCR 反应体系(50 μ L):25 μ L 2 $\times$ Superstar Plus PCR Mix,1 μ L ETA-F(10 μ M),1 μ L ETA-R(10 μ M),DNA 模板 10 ng。反应条件:94 °C 预变性 2 min,98 °C 变性 30 sec,64 °C 退火 30 sec,72 °C 延伸 1 min,32 个循环,72 °C 延伸 10 min。

1.2.6 PCR 产物电泳及凝胶观察 制备 1%琼脂糖凝胶,取 10 μ L PCR 产物进行电泳,电压 7 V/cm,电泳时间为 30 min,将凝胶置于凝胶成像仪中观察条带。

1.2.7 qPCR 检测 IL23 mRNA 测定 1.2.4 制备的 cDNA 样品浓度和纯度,以 10 ng 做为 qPCR 的模板,再用 pMD18-T-大鼠 IL23 质粒制作标准曲线,浓度梯度分别为 100 pg、10 pg、1 pg、0.1 pg、0.01 pg。反应体系(50 μ L)如下:25 μ L 2 $\times$ GoTaq qPCR Master Mix,1 μ L IL23-F(10 μ M),1 μ L IL23-R(10 μ M),模板(cDNA 10 ng 或者标准品)。采用三步法:95 °C 3 min;95 °C 10 s,60 °C 10 s,72 °C 20 s,39 个循环;熔解曲线分析:温度 65 °C-95 °C,每 5 s 读一次。以标准品的拷贝数的常用对数为横坐标,以 Ct 值为纵坐标,可以得到 qPCR 的标准曲线,再根据 cDNA 样品的 Ct 值得到对应的拷贝数。

1.2.8 ELISA 检测血清中 IL23 采用美国 USCN 公司的大鼠 IL23 的 ELISA 试剂盒,按照说明书步骤进行检测。

1.3 统计学方法

采用 SPSS18.0 统计软件进行实验数据处理分析。计量资料用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$),采用重复测量资料的方差分析和 LSD-t 检验;率的比较采用卡方检验;以 P<0.05 判定为有统计学意义的差异。

2 结果

2.1 大鼠模型绿脓杆菌 PCR 检测

注射 SAB 前,3 组大鼠,每组各 5 只的 4 种组织 DNA 的 PCR 产物电泳均无特异性条带;通过形态特征观察和生化试验方法,3 组大鼠的组织均未鉴定出绿脓杆菌。注射 SAB 一周后,3 组大鼠均无死亡,空白对照组和实验对照组各 10 只大鼠的 4 种组织 DNA 的 PCR 产物电泳均无特异性条带,判定 PA 感染为阴性,通过形态特征观察和生化试验也未鉴定出绿脓杆菌;肺炎感染组的 10 只大鼠均有组织 DNA 的 PCR 产物电泳出现清晰的特异性条带,条带大小与预期 396 bp 基本相符,判定 PA 感染为阳性,其中肺组织 PA 检出率为 100%,高于其他组织(P<0.05)。通过形态特征观察和生化试验在 10 只大鼠的 4 种组织中都鉴定出绿脓杆菌。具体结果见表 1。

2.2 大鼠模型体内 IL23 表达变化

2.2.1 mRNA 水平变化 在注射 SAB 前、注射后 1 天、3 天、1 周和 2 周,对三组大鼠的 IL23 mRNA 进行了 qPCR 检测。其中,空白对照组和实验对照组在整个实验期间的 mRNA 均无显著变化;肺炎感染组在注射 SAB 后,IL23 mRNA 拷贝数上升,高于其他两个对照组(P<0.05),并在第 3 天达到最大值。具体结果见表 2。

表 1 大鼠模型各组织绿脓杆菌 PCR 检测结果

Table 1 PCR detection of *Pseudomonas aeruginosa* in tissues of rat model

Groups	Before SAB injection	One week after SAB injection				
		Lung	Liver	Spleen	Lymphoglandulae mesentericae	Total
Blank control group	0/5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/40
Experimental control group	0/5	0/10	0/10	0/10	0/10	0/40
Pneumonia infection group	0/5	10/10*	2/10	1/10	3/10	16/40

Note: * P<0.05, pneumonia infection group vs. experimental control group.

表 2 大鼠模型体内 IL23 mRNA 拷贝数

Table 2 The copy number of IL23 mRNA in rat model

Groups	The copy number of IL23 mRNA(n=3)				
	Before SAB injection	One day after SAB injection	Three day after SAB injection	One week after SAB injection	Two week after SAB injection
Blank control group	2319.5± 352.3	2089.2± 147.5*	2112.6± 348.5*	1942.5± 257.8*	2168.2± 272.4*
Experimental control group	1903.1± 448.4	2047.9± 518.3*	1987.7± 246.4*	2273.7± 478.2*	2190.7± 314.3*
Pneumonia infection group	2199.7± 493.6	30672.2± 2134.8	60852.9± 1474.2	17392.2± 3381.7	8856.1± 3259.4

Note: Compared with Pneumonia infection group, *P<0.05.

2.2.2 蛋白水平变化 在注射 SAB 前、注射后 1 天、3 天、1 周和 2 周，对三组大鼠血清中的 IL23 蛋白水平进行了 ELISA 检测。注射 SAB 前，3 组大鼠的 IL23 表达水平无差异；注射 SAB 后第 3 天、1 周和 2 周，肺炎感染组 IL23 蛋白水平显著高于其他两个对照组(P<0.05),在第 1 周时到达最高值。具体结果见表 3。

表 3 大鼠模型体内 IL23 蛋白水平

Table 3 The protein level of IL23 in rat model

Groups	IL23(pg/mL)(n=3)				
	Before SAB injection	One day after SAB injection	Three day after SAB injection	One week after SAB injection	Two week after SAB injection
Blank control group	111.4± 12.9	119.3± 23.9	124.1± 12.7*	113.6± 25.1*	128.9± 21.7*
Experimental control group	104.3± 38.6	124.7± 31.8	107.8± 26.3*	123.8± 18.3*	91.4± 35.1*
Pneumonia infection group	128.7± 27.3	152.4± 14.4	202.7± 22.4	297.4± 14.7	257.2± 29.2

3 讨论

肺炎主要由致病微生物引起,如细菌、真菌、病毒等病原体。由绿脓杆菌感染引起的肺炎,发病率高,治疗困难,有时病情可出现急剧恶化,导致病人死亡,因此早期诊断具有重要意义。目前的主要诊断方式依赖临床病原学检查,病人样本是通过气管镜或经气管穿刺从下呼吸道吸取分泌物获得,或经胸壁行肺穿刺从感染局部取样^[9]。但这些均为创伤性检查,对患者身体有损害,患者难以接受,而且需要较长时间才能得到检测结果。PCR 技术已经广泛地应用到各领域的微生物鉴定检测,绿脓杆菌的检测也不例外,比如化妆品^[10]、食品和环境样品^[11]中的 PCR 检测技术已经建立,且具有高特异性、速度快的特点,近期还出现了相关检测试剂盒这使得检测操作更加简便,因此将 PCR 技术应用在绿脓杆菌肺炎检测,研究其临床早期诊断上的可行性,具有重要意义。

病原体感染机体后,免疫系统被激活并产生一系列免疫应答,包括免疫细胞释放多种免疫因子,发挥抗感染功能^[12,13]。

CD4⁺T 淋巴细胞是一类重要的免疫细胞,Harmsen 等^[14]研究发现,将已活化的 CD4⁺T 淋巴细胞移植到卡氏肺孢子虫感染的 Scid 小鼠体内后,能够清除肺部的卡氏肺孢子虫,对照组小鼠则出现死亡。彭富栋^[15]等研究发现,新生儿感染细菌或病毒后,体内的 CD4⁺T 淋巴细胞受到抑制。IL23 是近年发现的细胞因子,是一个由 p19 和 IL12-p40 通过二硫键相连组成的致炎性异源二聚体分子,为 IL12 细胞因子家族的新成员,主要由活化的树状突细胞、巨噬细胞分泌,能够激活 CD4⁺T 淋巴细胞,起到调节免疫系统的作用^[16,17]。Belladonna^[18]构建了 IL23 与 Ig 的融合蛋白,并作用于小鼠的 DC 细胞,发现融合蛋白可以直接作用于 CD8a⁺DC 和 CD8a⁻DC,进一步促进 CD40 的免疫原性传递,减少干扰素的分泌。早在 2001 年就有科学家对 IL23 的抗细菌感染功能进行了研究。Lehmann 等人^[19]用沙门氏菌感染 IL12-p40^{-/-}小鼠,发现相对于对照组,IL12-p40^{-/-}小鼠的死亡率更高,肝脾等器官受细菌感染程度也更重,IL12-p40mRNA 水平在感染 20 天内迅速上调。黎焯基等^[20]对 60 例细菌性肺炎患者的研究发现,多种细菌感染患者体内的 IL23 表达均显著

升高,无论是革兰氏阴性菌还是革兰氏阳性菌感染。丁洁等^[21]对住院部收治的 111 名慢性乙型肝炎(chronic hepatitis B, CHB)患者的研究发现,与对照组相比,IL23 水平显著增加($P<0.05$),治疗 48 周后,IL23 水平显著下降($P<0.05$)。

本研究结果显示,首先在绿脓杆菌感染肺炎大鼠模型上应用 PCR 技术成功检测到 PA 感染,检出率为 100%,对照组未检测到 PA,即未出现假阳性,证明此方法具有高度特异性和灵敏度,检测结果可靠。值得注意的是,大鼠除了肺组织全部检测到 PA 感染后,还有若干只大鼠其他组织也有 PA 检出,可能是 PA 在感染后期出现了转移扩散,这可能做为判断绿脓杆菌肺炎患者的疾病严重程度的依据之一,但需要进一步研究验证。李华强等^[22]的研究结果表明,绿脓杆菌肺炎大鼠模型中,绿脓杆菌在体内各组织器官的转移跟大鼠的免疫功能有关,当使用地塞米松和环磷酰胺抑制免疫功能时,大鼠体内的绿脓杆菌扩散程度相比正常大鼠更加严重。夏非等^[23]在研究了 5 例头颈部细菌感染的患者后发现,5 名患者均是金黄色葡萄球菌感染后出现了转移性脓肿症状,严重者甚至出现全身中毒症状,细菌扩散至颅脑、胸肺、腹部等全身各处。因此,对于绿脓杆菌肺炎患者的临床监测,需重点关注患者的免疫功能情况,在使用地塞米松等抗炎药时应注意用量的选择。其次,绿脓杆菌感染肺炎大鼠体内 IL23 在 mRNA 和蛋白两个水平上都有显著上升, mRNA 在感染后第 1 天就明显升高,在第 3 天达到最高值,在两周后逐渐下降恢复,IL23 蛋白水平的最高值出现在一周后。这些结果表明 IL23 与绿脓杆菌感染之间存在联系,可能做为绿脓杆菌肺炎治疗的新靶点。目前有研究证实,IL23 在病原体感染过程中,对免疫功能的调节比较复杂。陆敏等^[24]在对肺炎支原体患儿的研究中发现,伴有肺外并发症的患儿血清中的 IL23 含量比无肺外并发症的患儿要显著升高,这表明 IL23 可能在支原体感染过程中起到多器官多细胞因子之间的协调作用。臧梦雅^[25]对 IL23/IL23 受体在原发性肝细胞癌(hepatocellular carcinoma, HCC)发展进程中的作用进行了研究,研究结果表明乙型肝炎病毒感染后促进了 IL23 的表达量升高,并通过自分泌的方式促进巨噬细胞产生和分泌 VEGF,从而促进 HCC 的发生和发展。Chackerian 等人^[26]通过构建基因缺陷型 C57BL/6 小鼠模型,并用牛型分枝杆菌(*Mycobacterium bovis*)感染小鼠,发现当 IL12 缺陷时,IL23 可以增强免疫应答,促进肉芽肿形成,从而抑制牛型分枝杆菌增殖;而对于 IL12 正常的小鼠,是否给予抗 IL23 抗体以中和 IL23 生物活性都对小鼠的免疫功能无明显影响。这表明,当 IL12 缺陷时,IL23 可在一定程度上替代 IL12 在免疫系统中的作用。在自身免疫疾病领域,已经有抗 IL23 抗体药物处在临床研究阶段或上市^[27],其有效性和安全性已经通过验证,这也说明了 IL23 在免疫系统中发挥作用。综上,本研究结果建立了大鼠体内的高特异性、快速、简便绿脓杆菌感染检测 PCR 方法,将该方法与现行的绿脓杆菌肺炎临床诊断技术加以结合优化,具有开发高效便捷的新型诊断技术的潜在价值。同时,我们验证了大鼠 IL23 在绿脓杆菌感染后显著升高,在绿脓杆菌肺炎和 IL23 之间建立了联系,这为进一步阐明绿脓杆菌肺炎感染的机制打下了基础,为开发新的治疗方案提供了参考。

参考文献(References)

- [1] Hu MZ, Norman JM, Faison BD, et al. Biosorption of uranium by *Pseudomonas aeruginosa* strain CSU: characterization and comparison studies[J]. *Biotechnology & Bioengineering*, 2015, 51(2): 237-247
- [2] Saint-Onge A, Romeyer F, Lebel P, et al. Specificity of the *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 lipoprotein I gene as a DNA probe and PCR target region within the *Pseudomonadaceae*[J]. *Journal of General Microbiology*, 1992, 138(4): 733-741
- [3] Yousefi-Avarvand A, Khashei R, Ebrahim-Saraie HS, et al. The Frequency of Exotoxin A and Exoenzymes S and U Genes Among Clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Shiraz, Iran[J]. *International Journal of Molecular & Cellular Medicine*, 2015, 4(3): 167-173
- [4] 董媛,师贞宗,赵宇,等.酪酸梭菌活菌联合西药治疗老年人肠易激综合征的疗效及对 IL-18、IL-23 和 TNF- α 的影响 [J]. *湖南师范大学学报(医学版)*, 2014, 11(04): 62-64
Dong Yuan, Shi Zhen-zong, Zhao Yu, et al. Curative Effect of *Clostridium Butyricum* Combining Western Medicine in the Treatment of Elderly Irritable Bowel Syndrome and Influence on IL-18, IL-23 and TNF- α [J]. *Journal of Hunan Normal University (Medical Science)*, 2014, 11(04): 62-64
- [5] Rudner XL, Happel KI, Young EA, et al. Interleukin-23 (IL-23)-IL-17 Cytokine Axis in Murine *Pneumocystis carinii* Infection [J]. *Infection & Immunity*, 2007, 75(6): 3055
- [6] Choi YH, Kim CB, Hong HB, et al. Production of Alginate Submicron Particles and Their Biological Application[J]. *Bulletin of the Korean Chemical Society*, 2017, 38(4): 507-510
- [7] 郭向华,郭润华,宋志军.卡介苗对慢性绿脓杆菌性肺炎大鼠细胞因子的调节作用[J].*现代中西医结合杂志*, 2005, 14(16): 2101-2102
Guo Xiang-hua, Guo Run-hua, Song Zhi-jun. Modulating action of *Bacillus Calmette-Guerin* on cytokine in rats with chronic *Pseudomonas aeruginosa* pneumonia[J]. *Modern Journal of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine*, 2005, 14(16): 2101-2102
- [8] 王志华,王玉水,刘艳.地塞米松对肺炎支原体感染大鼠血清及肺泡灌洗液中 IL-12、IL-13 的影响 [J]. *临床儿科杂志*, 2014, 32(03): 265-270
Wang Zhi-hua, Wang Yu-shui, Liu Yan. Effects of dexamethasone on the levels of IL-12 and IL-13 in bronchoalveolar lavage fluid and serum in rats[J]. *Journal of Clinical Pediatrics*, 2014, 32(03): 265-270
- [9] 章邱东.血清降钙素原在老年支气管肺炎中的诊疗价值[J].*实用老年医学*, 2015, 29(10): 867-869
Zhang Qiu-dong. Value of serum procalcitonin in the diagnosis and treatment of senile bronchial pneumonia in the elderly patients [J]. *Pract Geriatr*, 2015, 29(10): 867-869
- [10] 苏建晖,蔡颖,许如苏,等.以 oprI 为靶基因实时荧光 PCR 法检测化妆品中绿脓杆菌[J].*检验检疫学刊*, 2014, 24(04): 45-50, 13
Su Jian-hui, Cai Ying, Xu Ru-su, et al. Taking oprI as Target Gene to Test *Pseudomonas aeruginosa* in Cosmetics by RT-PCR[J]. *Journal of Inspection and Quarantine*, 2014, 24(04): 45-50, 13
- [11] 艾启俊,于庆华,张红星,等.PCR 技术检测编码绿脓杆菌外毒素 A 基因[J].*中国食品学报*, 2006, 6(6): 117-120
Ai Qi-jun, Yu Qing-hua, Zhang Hong-xing, et al. Detection of the Gene Encoding Exotoxin A of *Pseudomonas Aeruginosa* by PCR Technique[J]. *Journal of Chinese Institute of Food Science And Tech-*

- nology, 2006, 6(6): 117-120
- [12] 王世芳,杨先智,赵璇,等.胃肠道手术患者术前免疫功能及手术时间对术后切口感染的风险评价[J]. 中华医院感染学杂志, 2016, 26(17): 4023-4025
Wang Shi-fang, Yang Xian-zhi, Zhao Xuan, et al. Influence of preoperative immune function and operation duration on postoperative incision infections in patients undergoing gastrointestinal tract surgery [J]. Chinese Journal of Nosocomiology, 2016, 26(17): 4023-4025
- [13] 陈华侨,王宝珍.免疫功能变化在支原体肺炎感染患儿中的检测价值[J].湖南师范大学学报(医学版), 2017, 14(04): 41-43
Chen Hua-qiao, Wang Bao-zhen. The detective value of the changes of immune function in children with mycoplasmal pneumonia infection[J]. Journal of Hunan Normal University (Medical Science), 2017, 14(04): 41-43
- [14] Harmsen AG, Stankiewicz MT. Requirement for CD4⁺ cells in resistance to *Pneumocystis carinii* pneumonia in mice [J]. Journal of Experimental Medicine, 1990, 172(3): 937
- [15] 彭富栋,许玉静,李洪双,等.新生儿感染不同病原体后体内相关免疫细胞及细胞因子的变化 [J]. 中国妇幼保健, 2017, 32(11): 2369-2371
Peng Fu-dong, Xu Yu-jing, Li Hong-shuang, et al. Changes of immune cells and cytokines in neonates infected by different pathogens [J]. Maternal & Child Health Care of China, 2017, 32(11): 2369-2371
- [16] Langrish CL, McKenzie BSWilson NJ, De WMR, et al. IL-12 and IL-23: master regulators of innate and adaptive immunity [J]. Immunological Reviews, 2004, 202(1): 96-105
- [17] 谭广,王忠裕.白细胞介素-23的研究进展[J].国际检验医学杂志, 2006, (10): 894-895, 898
Tan Guang, Wang Zhong-yu. Advances in studis of interleukin-23[J]. International Journal of Laboratory Medicine, 2006, (10): 894-895, 898
- [18] Belladonna ML, Renauld JC, Bianchi R, et al. IL-23 and IL-12 have overlapping, but distinct, effects on murine dendritic cells[J]. Journal of Immunology, 2002, 168(11): 5448-5454
- [19] Lehmann J, Bellmann S, Werner C, et al. IL-12p40-dependent agonistic effects on the development of protective innate and adaptive immunity against *Salmonella enteritidis* [J]. Journal of Immunology, 2001, 167(9): 5304-5315
- [20] 黎焯基,林桂花,陈大勇,等.细菌性肺炎患者 IL-23 的表达及与感染程度的关系[J].实用临床医学, 2015, 16(8): 1-3
Li Zhuo-ji, Lin Gui-hua, Chen Da-yong, et al. Expression of IL-23 in Patients with Bacterial Pneumonia and Its Correlation with Infection Severity[J]. Practical Clinical Medicine, 2015, 16(8): 1-3
- [21] 丁洁,王丹,刘怀鄂,等.慢性乙型肝炎患者抗病毒治疗前后外周血 IL-23/IL-17 信号通路活性的变化[J].现代免疫学, 2017(6): 467-472
Ding Jie, Wang Dan, Liu Huai-e, et al. Changes of IL-23/IL-17 signaling pathway in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B before and after antiviral therapy [J]. Current Immunology, 2017(6): 467-472
- [22] 李华强,张文俊,潘捷,等.免疫低下时绿脓杆菌肺炎大鼠肠源性感染的实验研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2001, 16(5): 286-288
Li Hua-qiang, Zhang Wen-jun, Pan Jie, et al. A study on the enterogenons infection in rats with pyocyanic pneumonia under immunosuppression[J]. Chinese Journal of Practical Pediatrics, 2001, 16(5): 286-288
- [23] 夏非,谭华章,丁亚男.头颈部细菌感染形成转移性脓肿 5 例报告 [J].中国临床医学, 2013, 20(6): 847-848
Xia Fei, Tan Hua-zhang, Ding Ya-nan. Metastatic Abscess Caused by Bacterial Infections of Head and Neck: a Report of 5 Cases [J]. Chinese Journal of Clinical Medicine, 2013, 20(6): 847-848
- [24] 陆敏,付汉东,张爱华,等.肺炎支原体感染患儿血清 IL-17、IL-23 表达及临床意义[J].中华全科医学, 2012, 10(3): 374-376
Lu Min, Fu Han-dong, Zhang Ai-hua, et al. Expression and Clinical Significance of IL-17, IL-23 in Serum of Children with Mycoplasma Pneumoniae Infection [J]. Chinese Journal of General Practice, 2012, 10(3): 374-376
- [25] 臧梦雅.IL-23/IL-23R 在慢性乙型肝炎相关肝癌发展进程中的作用探讨[D].北京协和医学院, 2016
Zang Meng-ya. Effect of IL-23/IL-23R in The Development of HBV-Related Hepatocellular Carcinoma [D]. Peking Union Medical College, 2016
- [26] Chackerian AA, Chen SJ, Brodie SJ, et al. Neutralization or Absence of the Interleukin-23 Pathway Does Not Compromise Immunity to Mycobacterial Infection [J]. Infection & Immunity, 2006, 74(11): 6092-6099
- [27] Kopp T, Riedl E, Bangert C, et al. Clinical improvement in psoriasis with specific targeting of interleukin-23[J]. Nature, 2015, 521(7551): 222-226