文章编号:1000-5404(2014)07-0659-05

论著

# 双特异性磷酸酶5对人胎盘滋养层细胞系BeWo增殖和凋亡的影响

戴小燕[1],李新哲[2],黄团明[1],王 婉[1],俞丽丽[1],郑英如[1] (400042 重庆,第三军医大学大坪医院野战外科研究所妇产科[1];400038 重庆,第三军医大学基础医学部生物化学与分子生物学教研室[2])

[摘要] **目的** 探讨双特异性磷酸酶5(dual specificity phosphatase 5,DUSP5)基因过表达对人胎盘滋养层细胞系BeWo增殖和凋亡的影响及其可能机制。**方法** 以携带人DUSP5基因的重组慢病毒感染BeWo细胞,用流式细胞仪分选建立过表达DUSP5的BeWo细胞模型,以携带空载体的慢病毒感染的细胞以及未经任何处理的细胞作对照。经荧光实时定量PCR和Western blot检测DUSP5基因mRNA和蛋白的表达,经CCK-8实验和流式细胞术检测BeWo细胞增殖和凋亡的变化,经Western blot检测磷酸化ERK(p-ERK)、p-p38及p-JNK的变化。**结果** ①经荧光实时定量PCR和Western blot证实,成功构建了DUSP5过表达的人胎盘滋养层细胞BeWo细胞模型;②CCK-8实验结果显示DUSP5过表达组在第3、4、5天的光密度值$D$(490)与其他两对照组相比明显增高($P<0.01$);流式细胞仪结果显示顺铂作用48 h后,DUSP5过表达组与空病毒载体组相比,正常细胞的百分比显著增加而早期凋亡细胞百分比则显著减少($P<0.01$);Western blot结果显示DUSP5过表达组中p-ERK1/2水平显著下降,而p-p38和p-JNK未见明显变化。**结论** DUSP5可促进人胎盘滋养细胞系BeWo增殖、抑制细胞凋亡,以上作用可能与DUSP5抑制ERK信号通路有关。

[关键词] 双特异性磷酸酶5;BeWo细胞;细胞增殖;细胞凋亡;ERK1/2信号通路
[中图法分类号] R321.4; R329.28; R345 [文献标志码] A

# Effect of dual specificity phosphatase 5 on proliferation and apoptosis in human placental trophoblast cell line BeWo

Dai Xiaoyan[1], Li Xinzhe[2], Huang Tuanming[1], Wang Wan[1], Yu Lili[1], Zheng Yingru[1] ([1]Department of Gynecology and Obstetrics, Institute of Surgery Research, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing, 400042; [2]Department of Biochemistry and Molecular Biology, College of Basic Medical Sciences, Third Military Medical University, Chongqing, 400038, China)

[**Abstract**] **Objective** To determine the effect of the over-expression of dual specificity phosphatase 5 (DUSP5) on the proliferation, apoptosis in human placental trophoblast cell line BeWo and investigate the possible signaling pathway. **Methods** BeWo cells was infected by recombinant lentiviral vector carrying human DUSP5 gene. The cells infected by empty lentiviral vector and untreated cells served as control. Flow cytometry was used to select the cells over-expressing DUSP5. Real-time PCR and Western blotting were used to detect the mRNA and protein levels of of DUSP5. CCK-8 assay and flow cytometry were employed to detect cell proliferation and apoptosis. The expression of p-ERK1/2, p-p38 and p-JNK1/2/3 were detected by Western blotting. **Results** Real-time PCR and Western blotting indicated that the BeWo cells over-expressing DUSP5 was successfully established. CCK-8 assay confirmed that the BeWo cells over-expressing DUSP5 had significantly higher rates of proliferation than the other 2 cells in days 3, 4 and 5 ($P<0.01$). The number of normal cells was significantly increased, while that of early apoptotic cells was markedly lesser in DUSP5 over-expression cells than the vector group in 48 h after cisplatin treatment ($P<0.01$). The protein level of p-ERK1/2 was lower in BeWo cells over-expressing DUSP5 than in the cells infected by empty lentiviral vector and untreated cells, while that of p-p38 and p-JNK was not changed. **Conclusion** Over-expressing of DUSP5 induces cell proliferation, and inhibits cell apoptosis in human placental trophoblast BeWo cells, which may be relevant with inhibiting ERK1/2 signaling pathway.

[**Key words**] dual specificity phosphatase 5; BeWo cells; cell proliferation; cell apoptosis; ERK1/2 signaling pathway

Supported by the National Natural Science Foundation of China (81070505). Corresponding author: Zheng Yingru, Tel: 86-23-68757721, E-mail: zyrdaping@aliyun.com; Yu Lili, Tel: 86-23-68757029, E-mail: lililiyuyu@sina.com

[基金项目] 国家自然科学基金(81070505)
[通信作者] 郑英如,电话:(023)68757721,E-mail:zyrdaping@aliyun.com;俞丽丽,电话:(023)68757029,E-mail:lililiyuyu@sina.com
[优先出版] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140126.1056.025.html(2014-01-26)

胎盘滋养层细胞功能障碍是导致妊娠期相关疾病如子痫前期发生的重要原因[1]。多种因素导致的胎盘滋养层细胞过度凋亡,使胎盘植入过浅同时发生子宫螺旋小动脉生理性"血管重塑"障碍,导致胎盘灌注不足进而使胎盘缺血缺氧和代谢障碍,引起广泛的血管内皮损伤,最终导致妊娠期相关疾病子痫前期的发生[2]。

双特异性磷酸酶5(dual specificity phosphatase 5, DUSP5)属于核内DUSP,该基因由Toshio Ishibashi于1994年从人乳房上皮细胞cDNA文库中筛选获得。大量文献表明,DUSP5作为ERK1/2信号通路的特异性负性调节剂,参与调节细胞增殖[3]、凋亡[4]和迁移[5],且其生物学效应具有组织细胞特异性。目前关于DUSP5在人胎盘滋养层细胞中的作用少见报道。本研究拟构建稳定过表达DUSP5基因的BeWo细胞株,探讨DUSP5对人胎盘滋养层细胞增殖、凋亡的影响及可能的调节机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 细胞和主要试剂

人胎盘滋养细胞株BeWo由大坪医院妇产科实验室保存,为贴壁细胞。BeWo细胞培养于含10% FBS、1%青-链霉素混合液的DMEM高糖培养基中,培养条件为37 ℃、5% $CO_2$饱和湿度。含有DUSP5的重组慢病毒颗粒由上海吉凯公司制备包装,DMEM/HIGH培养基及胎牛血清均购自美国Gibco公司,DMSO购自Sigma公司,Trizol总RNA提取试剂购自康为世纪公司,M-MLV逆转录试剂盒购自美国Invitrogene公司,DUSP5和β-actin的特异性引物由上海生工合成,2×qPCR Master Mix购自TaKaRa公司,BCA蛋白浓度测定试剂购自碧云天公司,鼠抗人DUSP5单克隆抗体购自美国Sigma公司,鼠抗人β-actin单克隆抗体购自Santa Cruz公司,兔抗人p-ERK1/2单克隆抗体、兔抗人total ERK1/2单克隆抗体、兔抗人p-p38单克隆抗体及兔抗人p-JNK1/2/3单克隆抗体购自Bioworld公司,羊抗鼠IgG和羊抗兔IgG购自北京中杉公司。

### 1.2 建立过表达DUSP5的BeWo细胞稳定株

1.2.1 慢病毒感染BeWo细胞及流式细胞仪分选建立细胞模型 实验设空白对照组、空病毒载体组及DUSP5过表达组共3组。将BeWo细胞以$5\times10^5$/mL的密度接种于24孔板,24 h后根据细胞数量和制备的2种病毒滴度,以感染复数(MOI=20)感染BeWo细胞,同时添加多聚季胺(polybrene)至10 μg/mL,感染24 h后换液,37 ℃、5% $CO_2$继续培养3 d后用0.25%胰蛋白酶消化于大培养瓶培养。待细胞长满用0.25%胰蛋白酶消化,重悬于1 mL PBS中,根据所带荧光标记的波长选择通道用流式细胞仪分选稳定表达株,于荧光显微镜下观察感染细胞阳性率并拍照。取筛选后过表达DUSP5的BeWo细胞株用于后续实验。

1.2.2 Real-time PCR检测DUSP5 mRNA的表达 按照Trizol总RNA提取试剂说明书分别提取细胞总RNA后,逆转录成各自的cDNA。各取1 μL cDNA,用特异性的基因引物作PCR扩增。DUSP5上游引物:5′-ACCAGGAGAAAAGGCAGTTATG-3′,下游引物:5′-CGAAGCAACAGAGACAGACATT-3′,扩增片段:104 bp;β-actin上游引物:5′-CCATGACCCCTTCATTGACC-3′,下游引物5′-GACAAGCTTCCCGTTCTCAG-3′,扩增片段:147 bp。①FQ PCR反应体系:DNA模板1 μL,2×qPCR Master Mix 10 μL,上、下引物(10 μmol/L)各0.5 μL,灭菌的去离子水8 μL,总体积20 μL;②Real-time PCR反应条件:50 ℃ 2 min,95 ℃ 10 min预变热,(92 ℃ 15 s,60 ℃ 1 min)×40次循环;③数据处理。使用β-actin作为内参,每个样重复3个复孔,选择3个复孔差异性<0.5的数据作为有效数据。相对定量结果采用$2^{-\triangle\triangle Ct}$法分析,将空白对照组的相对定量定为1。根据ABI 7000型荧光定量PCR仪所得各组Ct值计算各组细胞DUSP5 mRNA的相对表达量,用$2^{-\triangle\triangle Ct}$值表示,$\triangle Ct = Ct_{目的基因} - Ct_{\beta\text{-actin}}$;$-\triangle\triangle Ct = \triangle Ct_{各样品} - \triangle Ct_{空白对照组}$。

1.2.3 Western blot检测DUSP5蛋白的表达 提取细胞总蛋白,采用BCA法进行蛋白定量。各取60 μg样品上样进行SDS-PAGE,一抗4 ℃过夜,一抗为鼠抗人β-actin单克隆抗体(1∶1 000)和鼠抗人DUSP5单克隆抗体(1∶1 000);二抗为羊抗鼠IgG(1∶10 000),最后按ECL试剂盒说明书进行电化学发光检测,并用Gel Doc凝胶成像仪采集图像。

### 1.3 CCK-8实验检测DUSP5过表达对BeWo细胞增殖的影响

接种细胞于96孔板,每孔$2\times10^3$个,每组均设5个复孔,共铺5块96孔板,隔天换液。分别于第1、2、3、4、5天的同一时间吸弃旧培养基,每孔加入90 μL的培养基和10 μL的CCK-8溶液,继续培养10 min,用全自动酶标仪检测各孔在490 nm波长下的光密度值$D(490)$。

### 1.4 流式细胞仪检测DUSP5过表达对BeWo细胞凋亡的影响

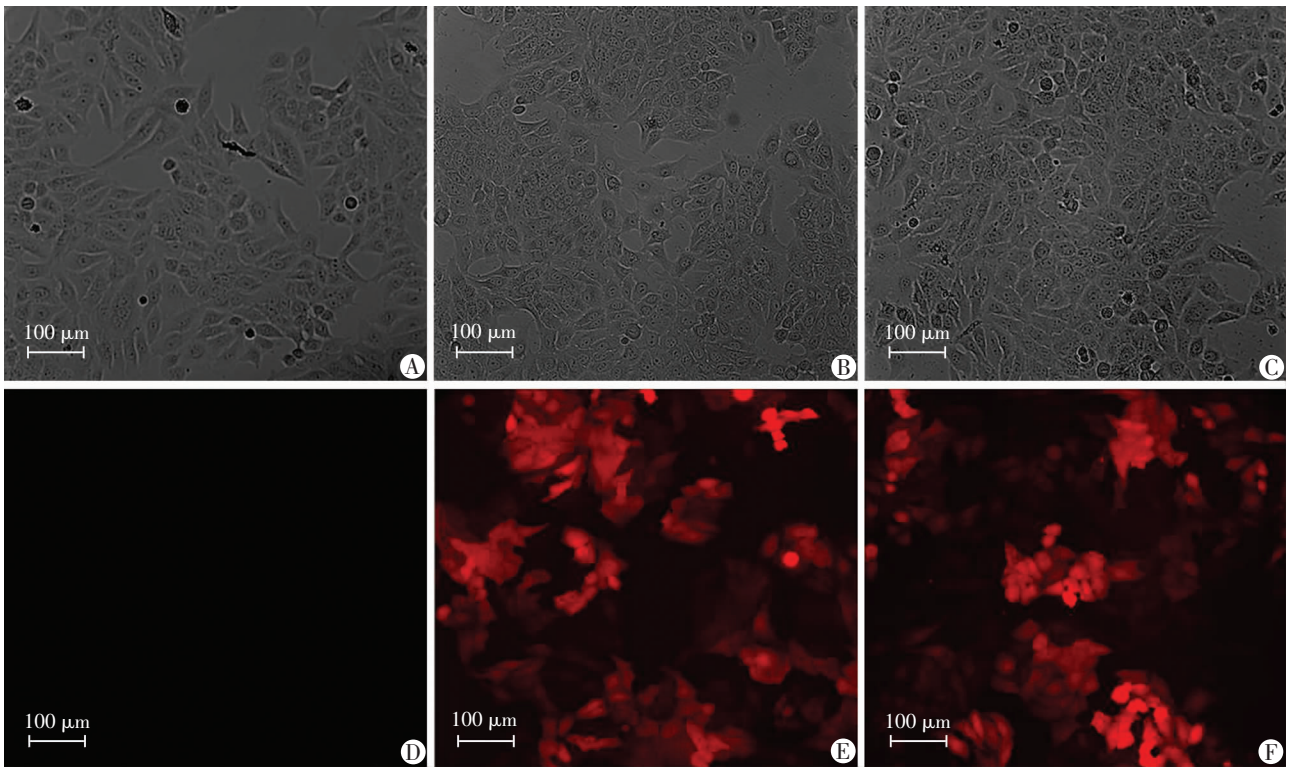
接种细胞于6孔板,每孔$1\times10^6$个,待细胞融合度达到80%时,每孔加入10 μg/mL顺铂(凋亡诱导剂)作用48 h后,胰酶消化细胞,800 r/min离心3 min,弃上清,PBS重悬,再次800 r/min离心3 min,弃上清。用结合缓冲液重悬细胞,取100 μL的细胞悬液于5 mL流式管中,加入10 μg/mL的PI及10 μg/mL的FITC Annexin V,混匀后避光孵育15 min,在反应管中加入400 μL稀释好的结合缓冲液上机测试。

### 1.5 Western blot检测DUSP5过表达对BeWo细胞中p-ERK1/2、ERK1/2、p-p38及p-JNK1/2/3蛋白表达水平的影响

提取细胞总蛋白,采用BCA法进行蛋白定量。各取60 μg样品上样进行SDS-PAGE,一抗4 ℃过夜。一抗为兔抗人p-ERK1/2单克隆抗体(1∶1 000)、兔抗人total ERK1/2单克隆抗体(1∶1 000)、兔抗人p-p38单克隆抗体(1∶1 000)及兔抗人p-JNK1/2/3单克隆抗体(1∶1 000),二抗为羊抗兔IgG(1∶10 000)。最后按ECL试剂盒说明书进行电化学发光检测,并用Gel Doc凝胶成像仪采集图像。

### 1.6 统计学处理

运用SPSS 13.0软件行统计学分析并用Prism 5绘图,所得数据以$\bar{x}\pm s$表示,3组间采用单因素方差分析进行比较。




A～C:正常白光观察;D～F:荧光显微镜观察;A、D:空白对照组;B、E:空病毒载体组;C、F:DUSP5 过表达组

**图 1　流式细胞术检测各组细胞株的荧光表达**

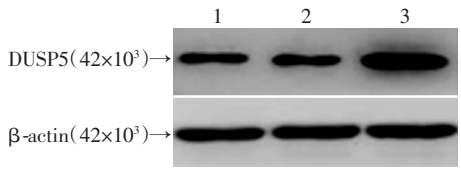
## 2　结果

### 2.1　建立过表达 DUSP5 基因的 BeWo 细胞模型

2.1.1　慢病毒感染 BeWo 细胞及流式细胞仪分选建立细胞模型　经流式细胞仪分选后,荧光显微镜下观察感染效率均在 90% 以上(图 1)。

2.1.2　Real-time PCR 与 Western blot 鉴定 DUSP5 mRNA 和蛋白的表达　Real-time PCR 结果显示相比于空病毒载体组,DUSP5 过表达组 DUSP5 mRNA 表达水平显著增高(0.98 ± 0.01 *vs* 2.92 ± 0.31,$P<0.01$)。

Western blot 结果显示:DUSP5 过表达组 DUSP5 的蛋白表达量显著高于其他 2 组,空白对照组和空病毒载体组间无明显差异(图 2)。

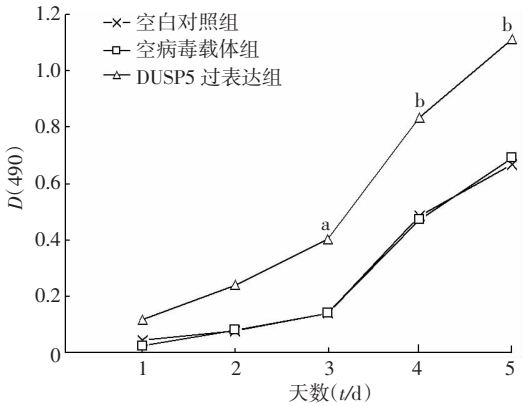



1:空白对照组;2:空病毒载体组;3:DUSP5 过表达组

**图 2　Western blot 检测 DUSP5 蛋白的表达**

### 2.2　DUSP5 过表达促进 BeWo 细胞的增殖

CCK-8 实验结果显示:第 1、2 天 DUSP5 过表达组的光密度值与空病毒载体组和空白对照组相比差异无统计学意义;第 3、4、5 天的光密度值分别是空病毒载体组的 1.45、1.47 倍和 1.5 倍,差异有统计学意义($P<0.01$),而空白对照组和空病毒载体组间差异无统计学意义。提示 DUSP5 过表达有促进 BeWo 细胞增殖的能力(图 3)。




a:$P<0.05$,b :$P<0.01$,与空病毒载体组比较

**图 3　CCK-8 实验检测 DUSP5 过表达对 BeWo 细胞增殖的影响**

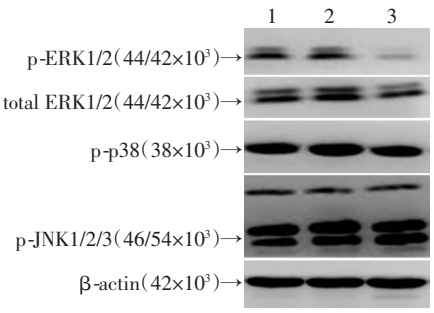
### 2.3　DUSP5 过表达抑制 BeWo 细胞的凋亡

顺铂(10 μg/mL)作用 48 h 后,DUSP5 过表达组与空病毒载体组相比,正常细胞的百分比显著增加而早期凋亡细胞百分比则显著减少[(72.77 ± 3.26)% *vs* (56.6 ± 1.75)%,(21.16 ± 3.45)% *vs* (33.10 ± 2.52)%;$P<0.01$]。

### 2.4　Western blot 检测 DUSP5 过表达对 BeWo 细胞中 p-ERK1/2、total ERK1/2、p-p38 及 p-JNK1/2/3 蛋白表达水平的影响

Western blot 显示:DUSP5 过表达组 p-ERK1/2 蛋白表达与其他 2 组相比明显减少,而空病毒载体组和空白对照组间无明

显差异;p38 和 JNK 信号通路的相关指标 p-p38 和 p-JNK1/2/3 的蛋白表达 3 组间无明显差异(图 4)。




1:空白对照组;2:空病毒载体组;3:DUSP5 过表达组

**图 4 Western blot 检测 DUSP5 过表达对 BeWo 细胞中 p-ERK1/2、p-p38、p-JNK1/2/3 蛋白表达的影响**

## 3 讨论

双特异性磷酸酶(dual specificity phosphatases, DUSPs),又名 MAPK 磷酸酶(mitogen-activated protein kinase phosphatases,MPK),是一种特异性针对促分裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK),催化磷酸化的苏氨酸和酪氨酸去磷酸化的酶。DUSP5 是这个家族中重要的一员,属于核内、可诱导的双特异性磷酸酶,具有 MAP 激酶结合域/激酶作用区域,能够特异性结合 MAPK 信号通路中磷酸化细胞外调节蛋白激酶(phosphatase-extracelluar regulated protein kinase 1/2, p-ERK1/2)并使其去磷酸化失活或作为核内锚定器使其停留在核内[6]。研究表明,DUSP5 作为 ERK1/2 信号通路特异性的负性调节剂参与调节细胞增殖[3]、凋亡[4]、迁移[5]及 T 细胞的发生、发展[7]。然而 DUSP5 在胎盘滋养层细胞中的功能作用少见报道。目前关于 DUSPs 在胎盘滋养层细胞中的作用鲜有文献报道,Czikk 等[8]利用免疫组化技术分别检测在妊娠 8、16、32 周及 38 周的正常胎盘组织中 DUSP9 基因的表达情况,证实了随妊娠的进展 DUSP9 基因表达量逐渐减少;并利用 Western blot 技术进一步证明:与正常晚孕胎盘组织相比,子痫前期胎盘组织中 DUSP9 基因的表达显著减少。这些研究提示:DUSP9 基因与胎盘的发生发展密切相关,并且子痫前期的发生可能与 DUSP9 基因的缺失有关,但具体机制和可能的信号通路尚少见报道。据此,本研究利用慢病毒载体过表达技术建立过表达 DUSP5 基因的 BeWo 细胞株,利用 CCK-8 实验和流式细胞术检测 DUSP5 基因过表达后对滋养层细胞 BeWo 增殖和凋亡的影响。研究发现 DUSP5 基因过表达可促进人胎盘滋养细胞系 BeWo 的增殖,抑制其凋亡,并进一步提示:DUSPs 家族中不仅仅只有 DUSP9 基因与胎盘发生、发展密切相关,其他基因如 DUSP5 基因也与胎盘滋养层细胞的生物学功能紧密相关,这为今后探讨由胎盘滋养层功能障碍引起的妊娠期相关性疾病的发病机制提供新的研究方向,DUSP5 基因有望成为治疗妊娠期相关性疾病的新靶点。

MAPK 信号通路是真核生物信号传递网络中的重要途径之一,在哺乳动物中已发现 5 种不同的 MAPK 信号通路。其中 ERK1/2 信号通路调控细胞生长和分化,p38 和 c-Jun 氨基末端激酶(c-Jun N-terminal kinase,JNK)信号通路在炎症与细胞凋亡等应激反应中发挥重要作用。以往研究表明,ERK1/2 信号通路的激活可促进细胞增殖、抑制细胞凋亡:如 Chowdhury 等[9]研究发现在大鼠粒细胞中,抑制素通过激活 ERK1/2 信号通路抑制细胞凋亡;但新近研究发现,ERK1/2 信号通路的激活可抑制细胞增殖、促进细胞凋亡,这与以往的研究正好相反。在研究漆黄素诱导宫颈癌 HeLa 细胞凋亡中,Ying 等[10]发现,漆黄素是通过激活 ERK1/2 信号转导通路依赖 Caspase-8/Caspase-3 经典凋亡途径实现其诱导 HeLa 细胞凋亡功能的;在研究 PFHxS 诱导神经细胞凋亡过程中,Lee 等[11]发现,PFHxS 可激活 ERK1/2 信号转导通路作用于下游分子 ROS 从而促进细胞凋亡。这些实验证据说明:ERK1/2 信号通路发挥其生物学效应具有组织和细胞种类的特异性。我们的研究结果显示:DUSP5 基因过表达可下调 p-ERK1/2 蛋白水平,而对 MAPK 的其他通路如 p38 和 JNK 信号通路的相关指标(p-p38 和 p-JNK1/2/3)无明显作用,提示 DUSP5 基因特异性地负性作用于 ERK1/2 信号通路,并可能通过抑制 ERK1/2 信号通路在人胎盘滋养细胞系 BeWo 中起促进细胞增殖、抑制凋亡的作用。

综上所述,DUSP5 基因在人胎盘滋养细胞系 BeWo 中促进细胞增殖、抑制细胞凋亡的作用可能是通过抑制 ERK1/2 信号通路实现的。相反,DUSP5 基因低表达是否可激活 ERK1/2 信号通路,从而发挥其促进凋亡的作用以及 DUSP5 基因在其他滋养细胞系如 JEG-3 细胞和 JAR 细胞中是否也有类似作用,有待下一步研究验证。

## 参考文献:

[1] 张惠, 刘伟. 子痫前期滋养细胞功能障碍病因学研究[J]. 中国实用妇科与产科杂志, 2012, 28(4): 305-308.

[2] Pijnenborg R, Vercruysse L, Hanssens M. The uterine spiral arteries in human pregnancy: facts and controversies[J]. Placenta, 2006, 27(9/10): 939-958.

[3] Ferguson B S, Harrison B C, Jeong M Y, *et al*. Signal-dependent repression of DUSP5 by class I HDACs controls nuclear ERK activity and cardiomyocyte hypertrophy[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2013, 110(24): 9806-9811.

[4] Nunes-Xavier C E, Tarrega C, Cejudo-Marin R, *et al*. Differential up-regulation of MAP kinase phosphatases MKP3/DUSP6 and DUSP5 by Ets2 and c-Jun converge in the control of the growth arrest versus proliferation response of MCF-7 breast cancer cells to phorbol ester[J]. J Biol Chem, 2010, 285(34): 26417 - 26430.
[5] Bellou S, Hink M A, Bagli E, *et al*. VEGF autoregulates its proliferative and migratory ERK1/2 and p38 cascades by enhancing the expression of DUSP1 and DUSP5 phosphatases in endothelial cells[J]. Am J Physiol Cell Physiol, 2009, 297(6): C1477 - C1489.
[6] Dickinson R J, Keyse S M. Diverse physiological functions for dual-specificity MAP kinase phosphatases[J]. J Cell Sci, 2006, 119(Pt 22): 4607 - 4615.
[7] Kovanen P E, Bernard J, Al-Shami A, *et al*. T-cell development and function are modulated by dual specificity phosphatase DUSP5[J]. J Biol Chem, 2008, 283(1): 17362 - 17368.
[8] Czikk M J, Drewlo S, Baczyk D, *et al*. Dual specificity phosphatase 9 (DUSP9) expression is down-regulated in the severe pre-eclamptic placenta[J]. Placenta, 2013, 34(2): 174 - 181.
[9] Chowdhury I, Thompson W E, Welch C, *et al*. Prohibitin (PHB) inhibits apoptosis in rat granulosa cells (GCs) through the extracellular signal-regulated kinase 1/2 (ERK1/2) and the Bcl family of proteins[J]. Apoptosis, 2013, 18(12): 1513 - 1525.
[10] Ying T H, Yang S F, Tsai S J, *et al*. Fisetin induces apoptosis in human cervical cancer HeLa cells through ERK1/2-mediated activation of caspase-8-/caspase-3-dependent pathway[J]. Arch Toxicol, 2012, 86(2): 263 - 273.
[11] Lee Y J, Choi S Y, Yang J H. PFHxS induces apoptosis of neuronal cells *via* ERK1/2-mediated pathway[J]. Chemosphere, 2014, 94: 121 - 127.

(**收稿**:2013-12-03;**修回**:2014-01-17)
(编辑 王 红)

**文章编号**:1000-5404(2014)07-0663-01

**个案与短篇**

# 肺假鼻疽伯克霍尔德菌败血症 1 例

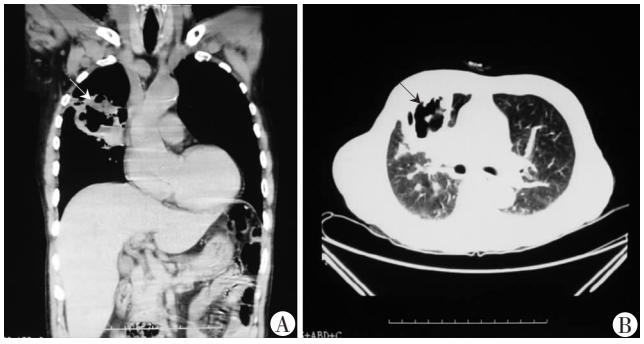
孙芬芬[1],康 军[1],彭 云[2],林科雄[1] (400042 重庆,第三军医大学:大坪医院野战外科研究所呼吸内科[1];400038 重庆,第三军医大学学员旅[2])

[**关键词**] 假鼻疽伯克霍尔德菌;败血症;肺脓肿
[**中图法分类号**] R631.3 [**文献标志码**] B

类鼻疽(melioidosis)是由假鼻疽伯克霍尔德菌(*Burkholderia pseudomallei*)所致的地方性传染病,该病世界范围内主要流行于澳大利亚中部、东南亚等热带、亚热带地区,在美洲、欧洲等地也有病例报道[1]。在我国,假鼻疽伯克霍尔德菌主要分布在海南、广西、广东和福建等地区[2],其他地方罕有报道。本研究对重庆发现的 1 例假鼻疽伯克霍尔德菌感染病例报告如下。

## 1 临床资料

患者,男性,76 岁,以"畏寒、发热、咳嗽、气促 13 d"于 2013 年 10 月 25 日入院。13 d 前因受凉后出现畏寒、发热,体温高达 39 ℃,伴咳嗽,咳少量黄白色粘痰,痰液无臭味,活动后气促。至当地医院就诊,胸片提示:①右肺中野可见不规则占位性病变,考虑肺脓肿,肿瘤待排;②小肠高位不完全性梗阻。既往无糖尿病、肺结核病史,无手术、外伤、输血史,否认疫区居住史及疫水、疫源接触史。入院查体:体温 39 ℃,脉搏 89 次/min,血压 127/53 mmHg,急性热病容,全身浅表淋巴结不大,双肺呼吸音减弱,右肺可闻及少量湿性啰音,肝脾未及肿大。入院查血常规:WBC 20.72 × $10^9$/L, NEU 91.5%, CRP > 160.0 ng/L,降钙素原 24.37 ng/mL,血沉 70.00 mm/h,真菌 1-3-β-D 葡聚糖 237.50 pg/mL,结核抗体阴性,HIV 抗体(-),梅毒试验(-)。胸部 CT 检查示:①右肺上叶前段占位性病变,考虑肺脓肿可能性大,肿瘤不能除外;②双肺多发小片状及结节影,考虑感染性病变(图 1)。入院后拟诊肺脓肿,给予注射用亚胺培南西司他丁钠 1 g,4 次/d 抗感染治疗,给予灌肠后,肠道梗阻解除。住院期间仍有发热,体温波动在 37.5 ~ 39 ℃,10 月 29 日血培养示:假鼻疽伯克霍尔德菌;30 d 痰培养示:假鼻疽伯克霍尔德菌,均对头孢他啶、复方新诺明和亚胺培南敏感。故诊断为:①败血症(假鼻疽伯克霍尔德菌感染);②右上肺肺脓肿。遂建议转传染病医院进一步诊治。在出院 7 d 后对其进行电话随访,得知在出院 2 d 后患者死亡。



A:冠状位;B:横截面;右肺上叶前段见 7.9 cm × 6.1 cm 后壁空洞,形态不规则,边缘不清,其内未见液平面(箭头示)

**图 1 肺假鼻疽伯克霍尔德菌败血症患者胸部 CT 表现**

## 2 讨论

假鼻疽伯克霍尔德菌为革兰阴性杆菌,常存在于疫区水、土壤、粪便以及腐烂尸体中。人畜之间可进行传播。主要传播途径包括接触含有致病菌的水或土壤,经破损的皮肤而受感染,或通过吸入带菌的尘土或气溶胶,经呼吸道感染[3-4],也可

(下转 668 页)

[**通信作者**] 林科雄,E-mail:herokl@sohu.com
[**优先出版**] http://www.cnki.net/kcms/detail/51.1095.R.20140225.0923.007.html(2014-02-25)