doi:10.11659/jjssx.06E020020

·基础研究·

法舒地尔对 TGF-β 诱导尿道成纤维细胞增殖、迁移以及胞外基质合成的影响

冯 欢,黄小兵,付卫华,朱景振,李 佳,杨凤霞 (陆军军医大学第二附属医院泌尿外科中心,重庆 400037)

[摘 要] **目的** 探究法舒地尔对 TGF-β 诱导尿道成纤维细胞增殖、迁移以及胞外基质合成的影响。**方法** 无菌条件下获得家兔尿道瘢痕组织,采用酶解法提取原代尿道成纤维细胞,用 10 ng/mL TGF-β 或者联合不同浓度(0,25,50 μM)法舒地尔处理后,通过 Western blot 检测 α-SMA、胶原蛋白Ⅰ、胶原蛋白Ⅲ和自噬以及迁移相关蛋白的表达。采用 Transwell 实验和 MTT 实验分别检测成纤维细胞迁移以及增殖能力。**结果** Western blot 结果显示,TGF-β 明显上调了 α-SMA 蛋白、胶原蛋白Ⅰ、胶原蛋白Ⅲ,法舒地尔下调了胞外基质蛋白表达($P<0.05$),并且呈浓度依赖性。Transwell 实验和 MTT 实验显示,TGF-β 增加了细胞迁移数量和细胞活性($P<0.05$),而法舒地尔抑制了细胞迁移数量($P<0.05$),下调了细胞活性($P<0.05$)。Western blot 结果还显示,TGF-β 显著下调了 pAKT、pmTOR 和 p62 等蛋白表达($P<0.05$),上调了 ATG7、ATG5、LC3 等自噬相关蛋白表达($P<0.05$);而法舒地尔上调了 pAKT、pmTOR 和 p62 等蛋白表达($P<0.05$),抑制了 ATG7、ATG5、LC3 等自噬相关蛋白表达($P<0.05$)。**结论** 法舒地尔可以通过激活细胞自噬从而抑制 TGF-β 诱导的成纤维细胞增殖、迁移以及胞外基质合成,其作用与促进 AKT/mTOR 信号通路相关。

[关键词] 法舒地尔;尿道成纤维细胞;TGF-β;自噬;尿道狭窄

[中图分类号] R363 [文献标识码] A [收稿日期] 2020-06-04

Effects of fasudil on proliferation, migration and extracellular matrix synthesis of urethral fibroblasts induced by TGF-β

FENG Huan, HUANG Xiao-bing, FU Wei-hua, ZHU Jing-zhen, LI Jia, YANG Feng-xia (Urology Center, Second Affiliated Hospital of Army Medical University, Chongqing 400037, China)

Abstract: Objective To investigate the effects of fasudil on proliferation, migration and extracellular matrix synthesis of urethral fibroblasts induced by transforming grouth factor-β(TGF-β). **Methods** Rabbit urethral scar tissue was obtained under aseptic conditions, the original generation urethral fibroblasts were extracted by enzymatic hydrolysis and treated with 10 ng/mL of TGF-β or combined with different concentrations (0,25,50 μM) of fasudil, the expressions of α-SMA, collagen Ⅰ, collagen Ⅲ and the proteins related to autophagy and migration were detected by Western blot assay. Fibroblast proliferation and migration were determined by Transwell assay and MTT test respectively. **Results** Western blot assay showed that TGF-β significantly up-regulated the expressions of α-SMA protein, collagen Ⅰ, collagen Ⅲ, while fasudil down-regulated the expression of extracellular matrix protein ($P<0.05$), with a concentration-dependent manner. Transwell assay and MTT test showed that TGF-β increased the amount of cell migration and cell activity ($P<0.05$), while fasudil inhibited the amount of cell migration ($P<0.05$) and down-regulated cell activity ($P<0.05$). Western blot assay also showed that TGF-β significantly down-regulated the protein expressions of pAKT, pmTOR and p62 ($P<0.05$), and up-regulated the expression of autophagy related proteins such as ATG7, ATG5, LC3 ($P<0.05$); while fasudil up-regulated the protein expressions of pAKT, pmTOR and p62 ($P<0.05$), and inhibited the expression of autophagy related proteins such as ATG7, ATG5, LC3 ($P<0.05$). **Conclusion** Fasudil inhibits proliferation, migration and extracellular matrix synthesis of fibroblast induced by TGF-β through activating cell autophagy, which is related to the promotion of AKT/mTOR signaling pathway.

Keywords: fasudil; urethral fibroblasts; TGF-β; autophagy; urethrostenosis

尿道狭窄是泌尿外科常见的疾病,伤口创面过度修复,形成增生性瘢痕,破坏尿道完整性,形成功能性狭窄,是尿道狭窄的诱因之一[1-3]。近年来,创伤性、炎症性、医源性尿道狭窄患者和手术后复发患者数量显著增加,术后 2 年内尿道狭窄的复发率为 50% ~ 70%[4]。尿道狭窄扩张手术—再狭窄的恶性循环使得尿道狭窄的临床治疗成为难题[5]。目前,尿道狭窄以药物治疗及尿道内切开手术治疗为主,但均存在远期疗效不佳、容易复发的缺点。因此,亟需寻找有效治疗尿道狭窄的药物。

[基金项目] 2019 年度大学优秀人才库重点扶持对象专项资助(2019R015)

[通信作者] 黄小兵,E-mail:109312701@qq.com

尿道狭窄由尿道瘢痕增生引起,而转化生长因子-β(transforming growth factor-β,TGF-β)诱导的成纤维细胞增生是尿道瘢痕形成的关键因素[6-7]。成纤维细胞的主要作用是修复细胞,该过程受 TGF-β 调控[8-9]。尿道成纤维细胞在正常情况下处于静止状态,在尿道损伤时经 TGF-β 调控可进行表型转换。活化的成纤维细胞大量增殖,表现出较强的分泌和胶原沉积的能力,致使细胞外基质如胶原蛋白过度合成和沉积,最终导致尿道瘢痕形成。近年来有研究报道,法舒地尔在肺纤维化和尿道瘢痕形成中发挥了重要作用,参与肺成纤维细胞和尿道瘢痕成纤维细胞的表型转化以及胶原的异常合成[10-11]。本研究拟提取尿道狭窄家兔的原代尿道成纤维细胞,通过体外培养给药后,探究法舒地尔对尿道成纤维细胞迁移和增殖能力以及胞外基质合成的影响,以探索法舒地尔对 TGF-β 诱导的成纤维细胞转型的作用,为尿道狭窄的治疗提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 材料

10% SDS-PAGE 凝胶(Bio-Rad)、α-SMA 抗体(Sigma)、Akt 抗体(Sigma)、pAKT 抗体(Sigma)、mTOR 抗体(Sigma)、胶原蛋白Ⅰ抗体(CST)、胶原蛋白Ⅲ抗体(CST)、LC3 抗体(CST)、E-钙黏蛋白抗体(CST)、波形蛋白抗体(CST)、纤维黏连蛋白抗体(CST)、N-钙黏蛋白抗体(CST)、ATG5 抗体(CST)、ATG7 抗体(Abcam)、IgG-HRP(Santa Cruz)二抗、DAPI(Beyotime)、侵袭小室(Millipore)。

1.2 方法

1.2.1 细胞培养 在无菌条件下获得家兔体内少量的尿道瘢痕组织,将组织标本洗涤并浸泡在平衡盐溶液中,然后切成大小为1 mm × 1 mm × 1 mm 的标本[12-13]。将标本置于 37 ℃、0.1% 胶原酶中消化 50 min 后过滤,组织悬浮液以 1 000 r/min 离心 5 min,在含 20% 灭活胎牛血清的 DMEM 培养液中复苏,获得原代尿道成纤维细胞,并采用免疫组织化学染色法进行细胞鉴定。取第 3 代细胞进行细胞爬片、固定、灭活过氧化物酶,按顺序滴加血清封闭液、波形蛋白(成纤维细胞的特异性标记蛋白)Ⅰ抗、Ⅱ抗及 ABC 复合物,以 DAB 显色,然后脱水、透明、封片,显微镜观察。成纤维细胞在 DMEM 培养基(含 10% 胎牛血清、青霉素 100 μ/mL、链霉素 100 μg/mL、丙酮酸 10 mmol/L、谷酰胺 10 mmol/L、非必需氨基酸 20 mmol/L)中于 37 ℃、5% CO_2 条件下培养。

1.2.2 Transwell 实验检测细胞迁移 小室嵌片置于含 2×10^4/L 细胞的 24 孔板内,10 ng/mL TGF-β 或 50 μM 法舒地尔与 10 ng/mL TGF-β 共同处理 24 h,分为对照组、TGF-β 组和法舒地尔(Fasu) 50 μM + TGF-β 组。取出小室内庭,用 PBS 洗涤,4% 多聚甲醛固定。内庭上部细胞用 0.1% 结晶紫染色。细胞迁移数量用 Image J 软件计算。

1.2.3 MTT 实验检测细胞增殖 成纤维细胞按每孔 2×10^3/L 接种于 96 孔板,10 ng/mL TGF-β 或 50 μM法舒地尔与 10 ng/mL TGF-β 共同处理 24 h,分为对照组、TGF-β 组和 Fasu 50 μM + TGF-β 组。然后用 5 mg/mL MTT 溶液 10 μL 处理 4 h,弃去培养液加入二甲基亚砜,并于 570 nm 处测量光密度值(OD 值)。细胞增殖率 = [(实验组 OD 值 - 空白组 OD 值)/(正常组 OD 值 - 空白组 OD 值)] × 100%。

1.2.4 Western blot 检测蛋白表达 测量细胞外基质蛋白和自噬相关蛋白表达情况时,成纤维细胞按每孔 5×10^4/L 接种于细胞皿,用 10 ng/mL TGF-β 或者联合不同浓度(0,25,50 μM)的法舒地尔共同处理 24 h,分别设为对照组、TGF-β 组、Fasu 25 μM + TGF-β 组和 Fasu 50 μM + TGF-β 组。收集细胞,用冷 PBS 溶液洗 2 次,加入 300 μL 裂解液(10 mmol/L Tris-HCl pH 7.6、160 mmol/L NaCl、1 mmol/L EGTA、1% 脱氧胆酸、1% Triton、0.1% SDS)于冰上裂解 5 min 后,以 12 000 r/min 离心 30 min,上清液于 -80 ℃储存。总蛋白用 10% SDS-PAGE 凝胶分离,并转移到 PVDF 膜上。分别孵育 α-SMA 蛋白、胶原蛋白Ⅰ、胶原蛋白Ⅲ、p62、LC3、ATG5、ATG7(1∶2 000 稀释),4 ℃过夜,二抗用 IgG-HRP 室温孵育 1 h。显影后用 Image J 软件计算蛋白浓度。测量细胞迁移相关蛋白以及 AKT/mTOR 信号通路相关蛋白时,成纤维细胞按每孔 5×10^4/L接种于细胞皿,用 10 ng/mL TGF-β 或者联合 50 μM法舒地尔共同处理 24 h,分别设为对照组、TGF-β组、Fasu 50 μM组和 Fasu 50 μM + TGF-β 组。Western blot 操作步骤除一抗孵育环节替换为波形蛋白、纤维黏连蛋白、N-钙黏蛋白、E-钙黏蛋白、Akt/PKB、pAKT、mTOR、pmTOR(1∶2 000稀释)等抗体稀释液,其余步骤一致。

1.3 统计学分析

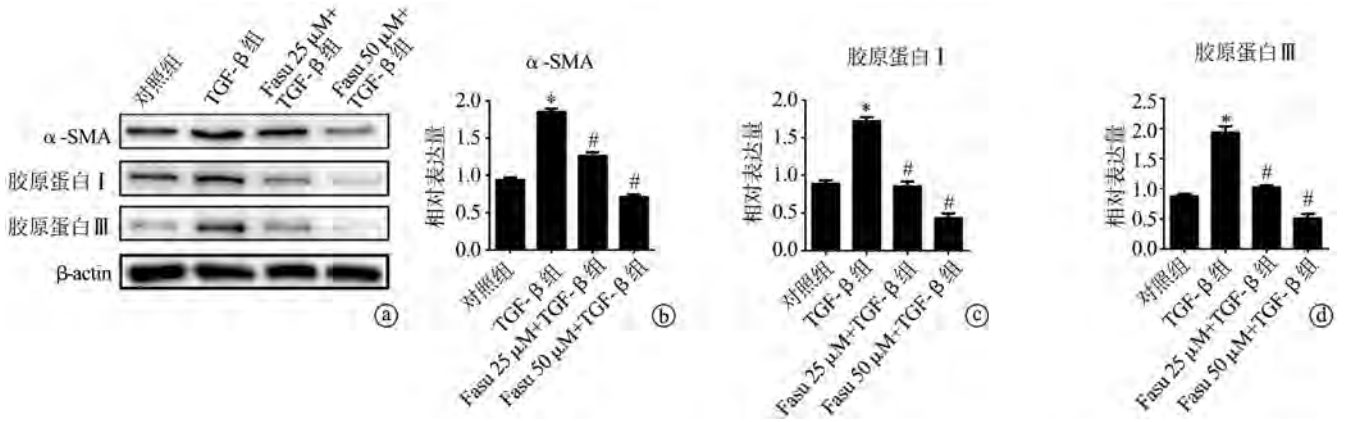
采用 SPSS 19.0 统计软件进行分析。使用 *P-P* 图及 *t-test* 对所有的数据行正态性及方差齐性检验;符合正态分布的计量资料采用均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示。2 组间均数比较采用独立样本 *t* 检验,多组检验用

ANOVA 检验。$P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 法舒地尔对成纤维细胞外基质相关蛋白的影响

Western blot 结果显示(图 1),相比于对照组,TGF-β 组的 α-SMA 蛋白、胶原蛋白Ⅰ和胶原蛋白Ⅲ表达明显增加($P<0.05$)。相比于 TGF-β 组,其余各组的 α-SMA 蛋白、胶原蛋白Ⅰ和胶原蛋白Ⅲ等细胞外基质蛋白表达明显下降($P<0.05$)。

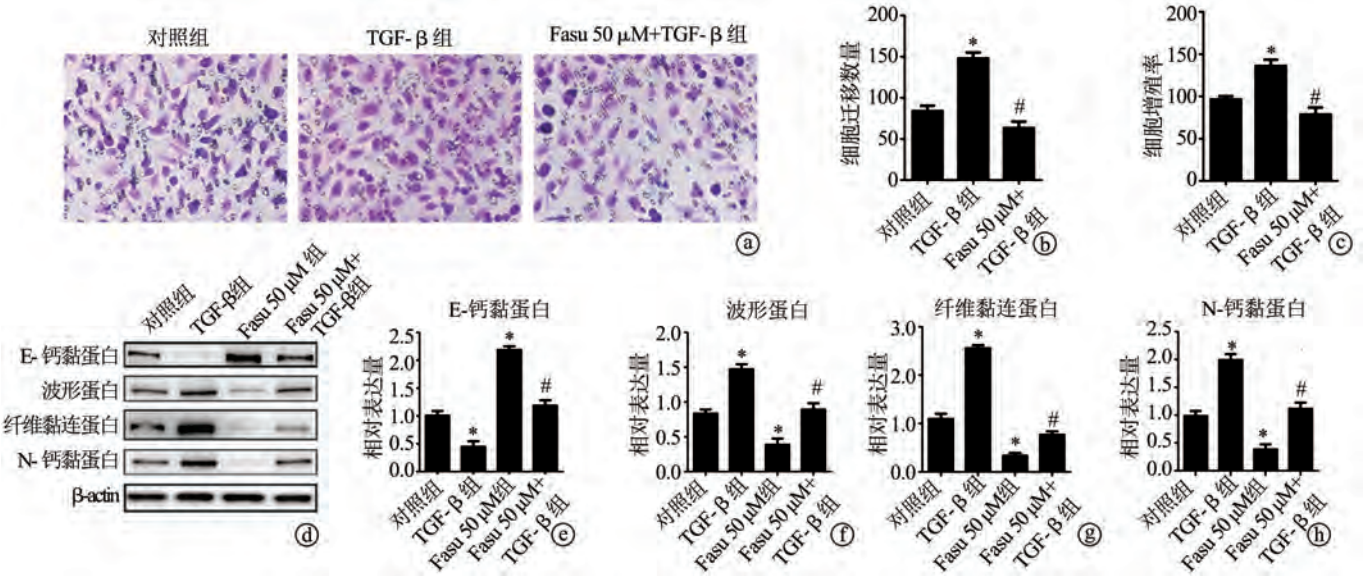


a:Western blot 电泳图;b:α-SMA 相对表达量;c:胶原蛋白Ⅰ相对表达量;d:胶原蛋白Ⅲ相对表达量 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与TGF-β 组比较,$P<0.05$

图 1 法舒地尔对成纤维细胞外基质相关蛋白的影响

2.2 法舒地尔对成纤维细胞增殖、迁移的影响

Transwell 实验结果显示(图 2a ~ b),TGF-β 组的细胞迁移数量显著高于对照组($P<0.05$),Fasu 50 μM + TGF-β 组的细胞迁移数量显著低于 TGF-β 组($P<0.05$)。MTT 结果实验显示(图 2c),相比于 TGF-β 组,对照组及 Fasu 50 μM + TGF-β 组的细胞增殖率显著较低($P<0.05$)。Western blot 结果显示(图 2d ~ h),相比于对照组,TGF-β 组的波形蛋白、纤维黏连蛋白、N-钙黏蛋白表达显著上升,E-钙黏蛋白表达显著下降($P<0.05$);相比于 TGF-β 组,Fasu 50 μM + TGF-β 组的波形蛋白、纤维黏连蛋白、N-钙黏蛋白表达显著下降,E-钙黏蛋白表达显著上升($P<0.05$)。

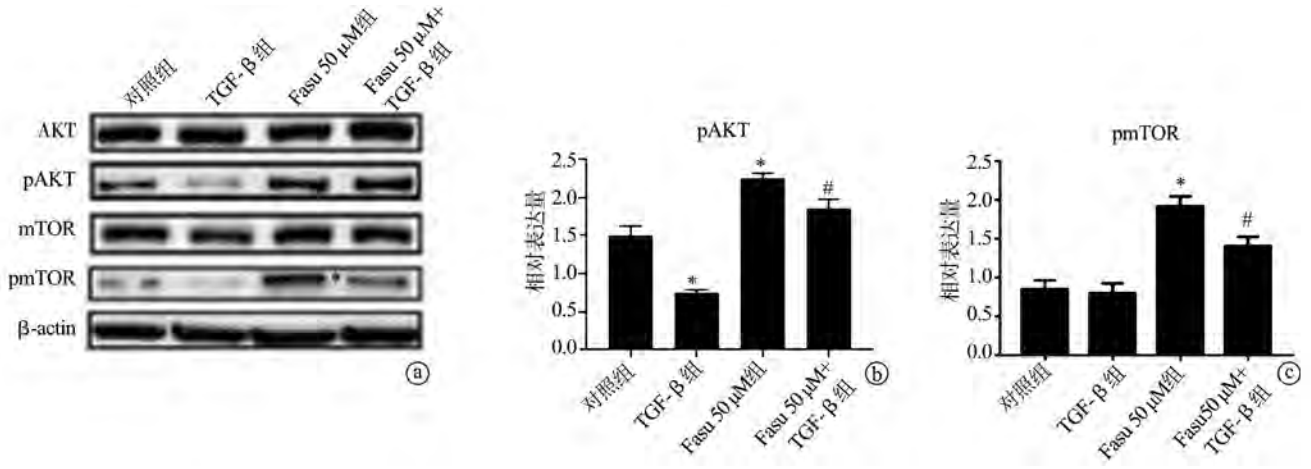


a:细胞迁移结晶紫染色图(×20);b:细胞迁移数量定量分析;c:细胞增殖定量分析;d:Western blot 电泳图;e:E-钙黏蛋白相对表达量;f:波形蛋白相对表达量;g:纤维黏连蛋白相对表达量;h:N-钙黏蛋白相对表达量 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与 TGF-β 组比较,$P<0.05$

图 2 法舒地尔对成纤维细胞增殖、迁移的影响

2.3 法舒地尔对 AKT/mTOR 信号通路的影响

Western blot 结果显示,相比于对照组,TGF-β 组的 pAKT 蛋白表达显著下降($P<0.05$),但 pmTOR 表达无统计学差异($P>0.05$)。与 TGF-β 组相比,Fasu 50 μM + TGF-β 组的 pAKT 和 pmTOR 蛋白表达明显上升 $P<0.05$),见图 3。

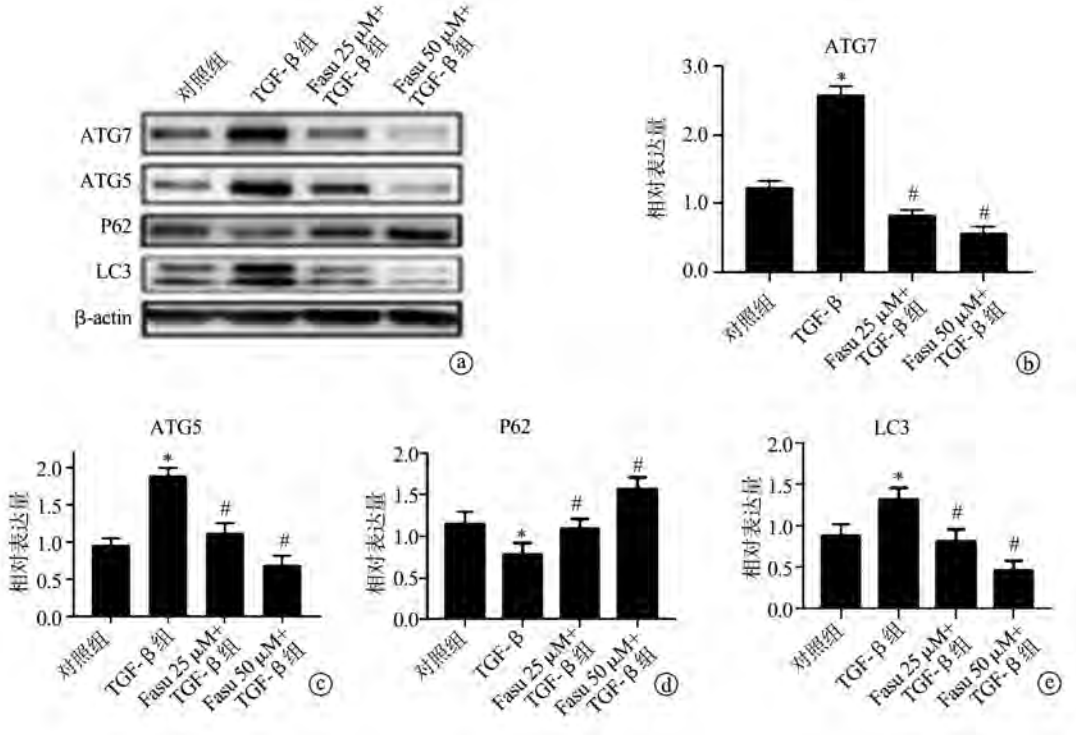


a:Western blot 电泳图;b:pAKT 蛋白相对表达量;c:pmTOR 蛋白相对表达量 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与 TGF-β 组比较,$P<0.05$

图 3 法舒地尔对 AKT/mTOR 信号通路的影响

2.4 法舒地尔对成纤维细胞自噬相关蛋白的影响

Western blot 结果显示,相比于对照组,TGF-β 组的 ATG7、ATG5、LC3 自噬相关蛋白表达显著上升($P<0.05$),P62 蛋白表达显著下降($P<0.05$);相比于 TGF-β 组,Fasu 25 μM + TGF-β 组和 Fasu 50 μM + TGF-β 组的 ATG7、ATG5、LC3 自噬相关蛋白表达明显下降($P<0.05$),P62 蛋白表达显著上升($P<0.05$),见图 4。



a:Western blot 电泳图;b:ATG7 蛋白相对表达量;c:ATG5 蛋白相对表达量;d:P62 蛋白相对表达量;e:LC3 蛋白相对表达量 *:与对照组比较,$P<0.05$;#:与 TGF-β 组比较,$P<0.05$

图 4 法舒地尔对成纤维细胞自噬相关蛋白的影响

3 讨论

尿道狭窄是一种慢性创伤性疾病,其特征是尿道内纤维组织的形成增加。其病理过程包括创面过度修复,尿道黏膜及海绵体组织纤维化,尿道腔增生、压迫或堵塞,最终导致尿道梗阻等功能紊乱[14]。尿道瘢痕狭窄的形成是瘢痕成纤维细胞、细胞因子和细胞外基质共同作用的结果。细胞外基质含有蛋白质、多糖等大分子物质,包括胶原蛋白、弹力蛋白、纤维蛋白、蛋白多糖等,这些生物大分子的无序合成和降解最终导致

瘢痕形成[15]。因此,抑制成纤维细胞的异常生物学活性和基质在瘢痕组织中的过表达是预防瘢痕组织增生挛缩的有效途径。

尿道瘢痕成纤维细胞是尿道狭窄主要的效应细胞[16],其增殖和迁移在尿道瘢痕形成中具有重要意义。TGF-β 可以诱导纤维细胞增殖、迁移。除此之外,TGF-β 可诱导尿道成纤维细胞转换成肌成纤维细胞,增加 α-SMA 蛋白的合成和表达,α-SMA 蛋白和胶原蛋白的过表达是尿道瘢痕形成的主要原因[17]。α-SMA 蛋白组成细胞骨架基本结构,是成纤维细胞转换成肌成纤维细胞的特殊标志。尿道损伤后 TGF-β 诱导 α-SMA蛋白表达并促进其转换[18-19]。同时胶原蛋白Ⅰ和胶原蛋白Ⅲ是胞外基质的主要成分。尿道狭窄海绵体由 83.9% 的胶原蛋白Ⅰ和 16.1% 的胶原蛋白Ⅲ组成[20]。本研究中 TGF-β 显著提高了 α-SMA 蛋白、胶原蛋白Ⅰ和胶原蛋白Ⅲ的表达量,促进了细胞迁移和增殖,与上述研究结果一致。进一步研究发现,法舒地尔的各个剂量组显著降低了 α-SMA 蛋白、胶原蛋白Ⅰ和胶原蛋白Ⅲ的表达量,从而抑制了成纤维细胞向肌成纤维细胞转化,高浓度的法舒地尔明显抑制了 TGF-β 刺激下成纤维细胞的增殖与迁移能力。同时本研究观察到经法舒地尔处理后,波形蛋白、纤维黏连蛋白、N-钙黏蛋白表达显著下降,E-钙黏蛋白表达显著上升,提示法舒地尔也抑制了 TGF-β 诱导的成纤维细胞向肌成纤维细胞转换。

自噬是细胞再利用细胞内组分包括大分子来维持细胞稳态的分解代谢通路,近年来发现,其在纤维化疾病的发生发展过程中也发挥了极大的作用[21]。AKT/mTOR信号通路是一个重要的真核细胞通路,可以参与到免疫抑制、细胞增殖、凋亡以及自噬等过程。研究表明,mTOR 介导的自噬途径可以抑制成纤维细胞增殖,预防硬膜外纤维化粘连[22]。Kiyono 等[23]证明通过调节 AMPK 驱动的 AKT/mTOR 和 TGF-β/SMAD3 通路可以缓解异丙肾上腺素诱导的心肌纤维化。在肝肿瘤细胞和哺乳动物肿瘤细胞中 TGF-β 可以快速刺激细胞自噬,但具体机制尚不明确。He 等[24]的研究证明 TGF-β 诱导的纤维形成可以被 PI3K/AKT/mTOR 介导的自噬抑制。本研究结果显示,TGF-β 组的pAKT、pmTOR 和 p62 蛋白表达显著下降,ATG7、ATG5、LC3 等自噬相关蛋白上调,提示自噬过程被抑制;而法舒地尔不仅上调了 pAKT、pmTOR、p62 等蛋白,抑制了 ATG7、ATG5、LC3 等自噬相关蛋白,同时还抑制了成纤维细胞的增殖、迁移以及胞外基质合成,表明法舒地尔可以通过激活 AKT/mTOR 信号通路激活自噬,进而抑制 TGF-β 诱导的成纤维细胞转型。

综上所述,本实验初步证实了法舒地尔可以通过激活 AKT/mTOR 介导的自噬从而抑制 TGF-β 诱导的成纤维细胞增殖、迁移以及胞外基质合成,提示法舒地尔可能在尿道狭窄中发挥治疗作用。

[参考文献]

[1] Santucci RA, Joyce GF, Wise M. Male urethral stricture disease[J]. J Urol, 2007, 177(5): 1667 - 1674. doi: 10.1016/j.juro.2007.01.041.

[2] Stein DM, Thum DJ, Barbagli G, et al. A geographic analysis of male urethral stricture aetiology and location[J]. BJU Int, 2013, 112(6): 830 - 834. doi: 10.1111/j.1464 - 410X.2012.11600.x.

[3] Tritschler S, Roosen A, Füllhase C, et al. Urethral stricture: etiology, investigation and treatments[J]. Dtsch Arztebl Int, 2013, 110(13): 220 - 226. doi: 10.3238/arztebl.2013.0220.

[4] Balin AK, Fisher AJ, Carter DM. Oxygen modulates growth of human cells at physiologic partial pressures[J]. J Exp Med, 1984, 160(1): 152 - 166. doi: 10.1084/jem.160.1.152.

[5] Hampson LA, McAninch J, WBreyer BN. Male urethral strictures and their management[J]. Nat Rev Urol, 2014, 11(1): 43 - 50. doi: 10.1038/nrurol.2013.275.

[6] Sievert KD, Selent-Stier C, Wiedemann J, et al. Introducing a large animal model to create urethral stricture similar to human stricture disease: a comparative experimental microscopic study[J]. J Urol, 2012, 187(3): 1101 - 1109. doi: 10.1016/j.juro.2011.10.132.

[7] Mundy AR, Andrich DE. Urethral strictures[J]. BJU Int, 2011, 107(1): 6 - 26. doi: 10.1111/j.1464 - 410X.2010.09800.x.

[8] Xie H, Feng C, Fu Q, et al. Crosstalk between TGF-β1 and CXCR3 signaling during urethral fibrosis[J]. Mol Cell Biochem, 2014, 394(1 - 2): 283 - 290. doi: 10.1007/s11010 - 014 - 2104 - 5.

[9] Biernacka A, Dobaczewski M, Frangogiannis NG. TGF-β signaling in fibrosis[J]. Growth Factors, 2011, 29(5): 196 - 202. doi: 10.3109/08977194.2011.595714.

[10] 姜纯国,黄 慧,刘 佳,等. 法舒地尔对肺纤维化小鼠模型及NIH3T3 成纤维细胞的抑制作用及其机制[J]. 中华结核和呼吸杂志,2014,37(9):671 - 676.

[11] Xu N, Chen SH, Qu GY, et al. Fasudil inhibits proliferation and collagen synthesis and induces apoptosis of human fibroblasts derived from urethral scar via the Rho/ROCK signaling pathway[J]. Am J Translat Res, 2017, 9(3): 1317 - 1325.

[12] Bei Y, Zhou Q, Fu S, et al. Cardiac telocytes and fibroblasts in primary culture: different morphologies and immunophenotypes[J]. PloS One, 2015, 10(2): e0115991. doi: 10.1371/journal.pone.0115991.

[13] Zhang Y, Atala A. Urothelial cell culture: stratified urothelial sheet and three-dimensional growth of urothelial structure[J]. Methods Mol Biol, 2013, 945: 383 - 399. doi: 10.1007/978 - 1 - 62703 - 125 - 7_23.

[14] Lumen N, Hoebeke P, Willemsen P, et al. Etiology of urethral stricture disease in the 21st century[J]. J Urol, 2009, 182(3): 983 - 987. doi: 10.1016/j.juro.2009.05.023.

[15] Reinke JM, Sorg H. Wound repair and regeneration. European surgical research[J]. Eur Surg Res, 2012, 49(1): 35 - 43. doi: 10.1159/000339613.

doi:10.11659/jjssx.01E021135

·基础研究·

某儿童医院术后切口感染病原菌及耐药性分析

林 海[1],王 燕[2] (海南省妇女儿童医学中心药学部,海南 海口 571100)

[摘 要] **目的** 分析儿童医院外科手术后切口感染病原菌及耐药性情况,为预防和治疗术后感染提供科学依据。**方法** 收集海南省妇女儿童医学中心外科手术后创口分泌物及脓液送检标本,采用 VITEK 2 Compact 全自动微生物药敏分析仪进行细菌培养鉴定和药敏试验,采用 WHONET 5.6 软件进行统计学分析。**结果** 292 例外科手术后切口感染患者的创口分泌物和脓液标本中共分离出 169 株病原菌,其中革兰氏染色阳性球菌占 59.2%,主要为金黄色葡萄球菌;革兰氏染色阴性杆菌占 33.7%,主要为大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌、铜绿假单胞菌、鲍曼不动杆菌;真菌占 7.1%,主要为白色念珠菌。药敏结果方面,金黄色葡萄球菌多重耐药以苯唑西林敏感性实验作为标准,耐药率为 48.3%,革兰氏染色阴性杆菌中大肠埃希菌对 β-内酰胺类抗生素的耐药性略高,肺炎克雷伯菌对 β-内酰胺类抗生素有较高的耐药性,铜绿假单胞菌和鲍曼不动杆菌对各类抗生素都较敏感。**结论** 外科手术后切口感染以金黄色葡萄球菌、大肠埃希菌、肺炎克雷伯菌为主,细菌耐药情况仍然比较严峻,合理的术前准备工作和有效的使用抗菌药物治疗尤为重要,应尽量减少或避免经验用药,同时应当加强抗生素使用的监管,杜绝滥用,以减少耐药菌株的产生。

[关键词] 儿童医院;外科手术;手术部位感染;医院感染;致病菌;耐药性

[中图分类号] R378 [文献标识码] A [收稿日期] 2021-01-29

Distribution and drug resistance of pathogenic bacteria of postoperative incision infection in a Children's hospital

LIN Hai[1], WANG Yan[2] (Department of Pharmacy, Hainan Women and Children's Medical Center, Haikou Hainan 571100, China)

Abstract: Objective To analyze the distribution and drug resistance of pathogenic bacteria of postoperative incision infection in a Children's hospital and provide scientific basis for prevention and treatment of postoperative infection. **Methods** Specimens of the incision secretions and pus after surgery in Hainan Women and Children's Medical Center were collected. Bacterial culture identification and susceptibility testing were conducted by VITEK 2 Compact automatic microbial susceptibility analyzer, and statistical analysis was conducted by WHONET 5.6. **Results** A total of 169 strains of pathogens were isolated from the incision secretions and pus specimens of 292 patients with postoperative incision infection, of which the gram-positive cocci accounted for 59.2%, mainly including Staphylococcus aureus; the gram-negative bacilli accounted for 33.7%, mainly including Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter

[基金项目] 海南省卫生计生行业科研项目(20A200241)

[通信作者] 王 燕,E-mail:13307515000@163.com

[16] Chong T, Fu DL, Li HC, et al. Rapamycin inhibits formation of urethral stricture in rabbits[J]. J Pharmacol Exp Ther, 2011, 338(1): 47-52. doi:10.1124/jpet.110.178624.

[17] Darby IA, Laverdet B, Bonté F, et al. Fibroblasts and myofibroblasts in wound healing[J]. Clin Cosmet Investig Dermatol, 2014, 7: 301-311. doi:10.2147/ccid.s50046.

[18] Mack M, Yanagita M. Origin of myofibroblasts and cellular events triggering fibrosis[J]. Kidney Int, 2015, 87(2): 297-307. doi:10.1038/ki.2014.287.

[19] Park IH, Park SJ, Cho JS, et al. Effect of simvastatin on transforming growth factor beta-1-induced myofibroblast differentiation and collagen production in nasal polyp-derived fibroblasts[J]. Am J Rhinol Allergy, 2012, 26(1): 7-11. doi:10.2500/ajra.2012.26.3679.

[20] Baskin LS, Constantinescu SC, Howard PS, et al. Biochemical characterization and quantitation of the collagenous components of urethral stricture tissue[J]. J Urol, 1993, 150(2 Pt 2): 642-647. doi:10.1016/s0022-5347(17)35572-6.

[21] Du C, Tian Y, Duan W, et al. Curcumin enhances the radiosensitivity of human urethral scar fibroblasts by apoptosis, cell cycle arrest and downregulation of Smad4 via autophagy[J]. Radiat Res, 2021. doi:10.1667/RADE-20-00239.1.

[22] 陈 辉. 青蒿琥酯通过 mTOR 介导的自噬途径抑制成纤维细胞增殖预防硬膜外纤维化粘连的研究[D]. 大连:大连医科大学,2020.

[23] Kiyono K, Suzuki HI, Matsuyama H, et al. Autophagy is activated by TGF-beta and potentiates TGF-beta-mediated growth inhibition in human hepatocellular carcinoma cells[J]. Cancer Res, 2009, 69(23): 8844-8852. doi:10.1158/0008-5472.can-08-4401.

[24] He J, Peng H, Wang M, et al. Isoliquiritigenin inhibits TGF-β1-induced fibrogenesis through activating autophagy via PI3K/AKT/mTOR pathway in MRC-5 cells[J]. Acta Biochim Biophys Sin, 2020, 52(8): 810-820. doi:10.1093/abbs/gmaa067.

(编辑:刘 艺)