

• 论 著 •

miR-218 调控 DKK2 在结核感染机制中的初步研究*

李引钰^{1,2}, 尚孟乔¹, 胡雪姣¹, 赵珍珍¹, 彭武¹, 应斌武^{1△}

(1. 四川大学华西医院实验医学科, 成都 610041; 2. 成都大学附属医院检验科, 成都 610081)

摘要:目的 探讨 miR-218 调控 DKK2 参与结核感染的分子机制。方法 选择 62 例结核病患者(结核组)和 64 例健康体检者(对照组)作为研究对象,采用逆转录-荧光定量 PCR 检测 miR-218 及其靶基因 DKK2 的表达水平;在结核感染细胞模型中,分别在 6、12、24 h 检测 miR-218、DKK2 及肿瘤坏死因子(TNF)- α 、白细胞介素(IL)-6 的表达水平。结果 与对照组比较,miR-218 在结核组的表达显著下调($P < 0.05$),DKK2 明显上调($P < 0.05$)。在结核感染细胞模型中,6 h 时 miR-218 的表达显著下降而 DKK2 表达明显升高($P < 0.05$);随时间延长两者的表达水平与对照组相比,差异无统计学意义($P > 0.05$);在 24 h 时 TNF- α 表达增高($P < 0.05$),IL-6 出现表达下调($P < 0.05$)。结论 结核分枝杆菌可能通过诱导宿主 miR-218 表达下调,靶向抑制 DKK2 作用减弱,Wnt 通路活性降低,进而打破免疫调节平衡促进结核病的发生。

关键词: 结核病; miR-218; DKK2; 基因诊断; 分子机制

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.23.010 **文献标志码:** A **文章编号:** 1672-9455(2017)23-3449-04

The preliminary study on regulation of DKK2 by miR-218 in tuberculosis infection*

LI Yinyu^{1,2}, SHANG Mengqiao¹, HU Xuejiao¹, ZHAO Zhenzhen¹, PENG Wu¹, YING Binwu^{1△}

(1. Department of Laboratory Medicine, West China Hospital, Sichuan University, Chengdu, Sichuan 610041, China;

2. Department of Clinical Laboratory, Affiliated Hospital of Chengdu University, Chengdu, Sichuan 610081, China)

Abstract: **Objective** To preliminary investigate the molecular mechanism of miR-218 in regulating DKK2 tuberculosis-infected cellular model. **Methods** A total of 62 TB patients and 64 healthy controls were recruited. The expression levels of miR-218 and its target gene DKK2 were detected by reverse transcription-fluorescence quantitative PCR. In the tuberculosis-infected cellular model, the expression levels of miR-218, DKK2 and inflammatory cytokines(TNF- α , IL-6) were detected at 6, 12, and 24 h respectively. **Results** When compared with the controls, the expression of miR-218 was found significantly lower in the tuberculosis-infected patients ($P < 0.05$) while the DKK2 was up-regulated ($P < 0.05$). In the tuberculosis-infected cellular model, the expression of miR-218 was significantly lower and the expression of DKK2 was significantly higher than control group at 6 h ($P < 0.05$). Both the gene expression and protein level of TNF- α were significantly increased at 24 h ($P < 0.05$) as well as the gene expression of IL-6 was down-regulated at 24 h ($P < 0.05$). **Conclusion** The down-regulation of miR-218 may be induced by mycobacterium tuberculosis and the weakened inhibition of DKK2 may reduce the Wnt pathway activity, which leading to breaking the balance of immune regulation and finally promoting the occurrence of tuberculosis.

Key words: tuberculosis; miR-218; DKK2; gene diagnosis; molecular mechanism

结核病由结核分枝杆菌(MTB)感染引起,仍然是威胁人类健康的公共卫生问题。据世界卫生组织 2016 年全球结核病报告显示^[1],世界范围内估计约有 1 040 万新发病例和 140 万死亡病例,结核病仍然是全球十大死因之一。深入研究结核病的发病机制对结核病的防控有着重要的意义。微小 RNA(miRNA)是一类存在于真核细胞中约 18~22 个核苷酸的内源性非编码小分子 RNA,在疾病的发生、发展过程中发挥着重要的作用^[2]。近年来研究报道,miRNA 能够调节 MTB 感染的宿主免疫应答,在结核病的进程中有着十分重要的意义^[3]。课题组前期芯片结果发现,miR-218 在结核组与对照组间有明显差异。查阅文献^[4-5]发现 miR-218 可靶向结合 Wnt 通路抑制剂——Dickkopf 相关蛋白 2(DKK2),影响 Wnt 信号转导。同时有研究表明^[6],Wnt 信号通路参与宿主对 MTB 的免疫应答。而 miR-218 调控 DKK2 对 Wnt 通路活性的影响是否

与结核感染机制有关,尚无相关报道。因此,本研究分析结核病患者和健康对照者 miR-218 及 DKK2 的表达情况,并进一步在结核感染细胞模型中对其调控机制进行初步研究,旨在探讨 miR-218 调控 DKK2 参与结核感染的分子机制,为 miR-218 作为结核病诊断标志物的研究提供新的证据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2015 年 7—11 月就诊于四川大学华西医院的初发未诊活活动性结核患者 62 例,将其作为结核组。诊断标准依据国家肺结核诊断标准(WS288-2008)。排除患有其他呼吸系统、感染性、自身免疫性疾病、肿瘤。选择同期健康体检者 64 例作为对照组(既往无结核病史,结核相关检查阴性、三大常规检查和胸片检测结果无明显异常)。本研究由四川大学华西医院伦理委员会授权[授权号:198(2014)],并经过研究对象知情同意。

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81472026;81672095)。

作者简介:李引钰,女,主管技师,主要从事结核病方面的研究。

△ 通信作者,E-mail:docbwy@126.com。

1.2 方法

1.2.1 标本的采集和处理 采集研究对象乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝全血 2 mL,与平衡盐液等比混匀,缓慢加入到 3 mL Ficoll-Paque PLUS(美国 GE)液面上方,共 400 g,18~20 °C 离心 30~40 min,吸取中间单个核细胞层,2 500 r/min 离心 10 min 吸弃上清液留取沉淀,加入 1 mL Trizol 试剂(美国 Invitrogen),吹打混匀后,冻存于-80 °C 备用。采用 Trizol 试剂严格按照说明书提取外周血单个核细胞中总 RNA,-80 °C 保存。

1.2.2 miR-218 及 DKK2 体内表达水平的检测 首先利用 Revert Aid First Strand cDNA Synthesis Kit(美国 Thermo)在 verity 96 well Thermal Cycler(美国 Applied Biosystems)上将模板 RNA 逆转录生成互补 DNA,再在 Light Cycler 480 实时荧光聚合酶链反应(PCR)仪(德国 Roche)上用 SYBR Premix Ex Taq II 试剂盒(日本 TaKaRa)进行荧光定量 PCR,2^{-ΔΔCt} 表示相对表达量。RNU6 作为 miR-218 的内参,β-actin 作为 DKK2 的内参。

1.2.3 miR-218 调控 DKK2 机制的初步研究 (1)体外结核感染细胞模型的建立。采用中国科学院上海细胞库的小鼠巨噬细胞系 RAW264.7。将冻存的细胞复苏后,置于含 10% 胎牛血清的 1640 培养基(美国 Hyclone)中进行培养,生长达到 70%~80% 融合度时进行传代,在细胞生长稳定后收集细胞。根据文献[7-9]报道,用结核菌素试验(PPD 组)刺激巨噬细胞模拟结核感染细胞模型,以磷酸盐缓冲液(PBS 组)作为空白对照,分别在 6、12、24 h 收集细胞及上清液。细胞用于 RNA 的提取,上清液用于细胞因子水平的检测。(2)细胞总 RNA 提取及检测。收集的细胞中加 1 mL Trizol 试剂,充分吹打裂解后提取 RNA。在小鼠巨噬细胞中,检测 miR-218,RNU6 作为内参;检测 DKK2 和炎性因子肿瘤坏死因子(TNF)-α、白细胞介素(IL)-6,甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为内参,方法同前。(3)细胞培养上清液中细胞因子水平的检测。收集细胞培养上清液,采用小鼠 TNF-α 酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒(中国四正柏),按试剂说明书检测。

1.2.4 RNA 检测的质量控制 用 NanoVue Plus 微量分光光度计(美国 GE)测定 RNA 的浓度和纯度,OD 值(260 nm/280 nm)在 1.8~2.0 之间纯度较好。选取纯度较好的标本检测,所有位点的荧光 PCR 检测均重复两次,以保证结果的准确性。

在 RNA 提取和检测过程中,设置 ddH₂O 作为阴性对照。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件进行分析处理,正态分布的计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;非正态分布的计量资料采用中位数和四分位数间距 $[M(P_{25}, P_{75})]$,组间比较采用秩和检验。用 Graphpad prism5 软件对差异表达的 miRNA 绘制受试者工作特征(ROC)曲线,判断其诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 纳入人群的基本特征 本研究纳入的 62 例结核患者中,包括 38 例肺结核和 24 例肺外结核患者。研究对象基本特征见表 1。年龄和性别构成在结核组和对照组间的差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。实验室检查中,结核组和对照组的清蛋白、红细胞计数、血红蛋白、红细胞比容和血小板计数差异有统计学意义($P < 0.05$),而谷氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)、尿素氮、血肌酐、白细胞和单核细胞计数在两组间的分布差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 外周血单核细胞中 miR-218 及 DKK2 的表达水平分析 在结核病患者中,miR-218 的表达水平为 0.48(0.23,0.88),对照组为 1.03(0.65,1.65),两组相比,结核组明显低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。为进一步评价 miR-218 对结核病的诊断价值而绘制 ROC 曲线,miR-218 的曲线下面积(AUC)为 0.756 4,95%CI:0.672 1~0.840 8,诊断结核的灵敏度为 0.65,特异度为 0.78。DKK2 在结核组中的表达水平为 5.53(1.79,21.06)显著高于对照组的 0.99(0.56,1.80),差异有统计学意义($P < 0.05$)。遂进一步在体外细胞模型中初步探讨 miR-218 调控 DKK2 参与结核感染的分子机制。

2.3 miR-218 调控 DKK2 在结核感染分子机制中的初步研究
2.3.1 结核感染细胞模型中 miR-218、DKK2 及炎性因子的 mRNA 表达水平 收集分别与 PPD、PBS 共孵育 6、12、24 h 的巨噬细胞,分析结核感染细胞模型中 miR-218、DKK2、炎性因子(TNF-α、IL-6)的表达变化。发现在 6 h 时,PPD 组的 miR-218 水平明显低于 PBS 组,而 DKK2 的表达明显高于 PBS 组,差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。PPD 组的 TNF-α 基因 mRNA 表达水平随时间延长逐渐增高,在 24 h 的水平显著高于 PBS 组,差异有统计学意义($P = 0.031$);而 IL-6 在 24 h 低于 PBS 组,差异有统计学意义($P = 0.012$)。见表 2。

表 1 两组研究对象的基本特征

组别	n	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	男/女(n/n)	ALT	AST	清蛋白	尿素氮	
				[IU/L, $M(P_{25}, P_{75})$]	[IU/L, $M(P_{25}, P_{75})$]	(g/L, $\bar{x} \pm s$)	(mmol/L, $\bar{x} \pm s$)	
结核组	62	41.42±19.23	33/29	16.00(12.00,29.00)	21.00(18.00,30.00)	39.44±6.15	5.17±2.81	
对照组	64	40.84±12.14	32/32	19.00(14.00,26.00)	21.00(18.00,23.75)	47.13±3.39	5.15±0.98	
P		0.831	0.720	0.217	0.351	0.003	0.973	
组别	n	血肌酐	红细胞($\times 10^{12}/L$)	血红蛋白	白细胞($\times 10^9/L$)	单核细胞	血小板	
		[mol/L, $M(P_{25}, P_{75})$]	$\bar{x} \pm s$)	(g/L, $\bar{x} \pm s$)	红细胞比容	$\bar{x} \pm s$)	($\times 10^9/L, \bar{x} \pm s$)	[$\times 10^9/L, M(P_{25}, P_{75})$]
结核组	62	68.00(55.00,86.00)	4.35±0.64	125.65±22.08	0.38±0.06	6.38±2.52	0.41±0.18	218.50(176.75,321.25)
对照组	64	70.55(59.78,80.30)	4.77±0.47	148.14±14.44	0.44±0.04	6.21±1.23	0.41±0.13	199.00(156.75,242.75)
P		0.568	<0.05	<0.05	<0.05	0.652	0.969	0.007

表 2 PPD 组和 PBS 组 miR-218、DKK2 及炎症因子的 mRNA 表达水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	miR-218			DKK2		
	6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h
PPD 组	0.66±0.13	1.06±0.11	1.03±0.10	2.04±0.07	1.07±0.09	0.87±0.13
PBS 组	0.98±0.09	1.01±0.13	1.01±0.14	1.02±0.10	1.01±0.12	0.98±0.14
P	0.026	0.597	0.879	<0.001	0.511	0.344

组别	TNF- α			IL-6		
	6 h	12 h	24 h	6 h	12 h	24 h
PPD 组	0.96±0.11	1.07±0.11	1.36±0.13	0.81±0.11	1.04±0.12	0.63±0.11
PBS 组	0.99±0.08	1.00±0.04	0.99±0.15	1.01±0.09	0.98±0.08	1.03±0.12
P	0.669	0.365	0.031	0.068	0.521	0.012

2.3.2 结核感染细胞模型中 TNF- α 的表达水平 根据 2.3.1 结果显示, TNF- α 基因 mRNA 表达水平在 PPD 刺激 24 h 后明显升高, 收集 6、12、24 h 的细胞培养上清液对其进行蛋白水平验证。分析发现, TNF- α 的水平随时间延长逐渐增高, 在 24 h 时在 PPD 组显著高于 PBS 组, 差异有统计学意义 ($P = 0.011$), 与基因表达情况一致。见表 3。

表 3 TNF- α 在 PPD 组和 PBS 组中的表达差异 (pg/mL, $\bar{x} \pm s$)

TNF- α	PPD 组	PBS 组	P
6 h	278.21±59.70	292.69±46.72	0.776
12 h	388.06±65.67	380.30±71.64	0.897
24 h	644.78±55.22	433.58±61.19	0.011

3 讨论

miRNA 参与细胞的生长、分化、增殖、凋亡等各个环节, 已成为近年来研究的热点。大量的研究发现 miRNA 调节结核感染的发病机制, 在结核病的进程中发挥重要的作用^[10]。miR-29 可通过在转录后水平靶向作用于 γ -干扰素 mRNA 的 3'UTR, 下调 γ -干扰素的表达, 抑制机体对 MTB 的免疫应答^[11]。Dorhoi 等^[12]研究发现在 miR-223 缺陷的小鼠中, 异常分化的粒细胞增加会加大组织的损伤与破坏, 导致 MTB 的易感性增加。miR-144 可能通过调节细胞因子产生和 T 细胞增殖来调节抗结核免疫^[13]。这表明 miRNA 与结核感染密切相关, 需加大其参与免疫应答的机制研究。miR-218 是一种脊椎动物特异性内含子 miRNA, 作为肿瘤抑制因子通过靶向与增殖、凋亡和侵袭相关的致癌基因, 在癌症的发展过程中发挥关键作用^[14]。Rao 等^[15]发现 miR-218 在宫颈癌组织中的表达与正常宫颈组织相比, 显著下调。Yang 等^[16]发现 miR-218 通过 IL-6/STAT3 信号通路调节作为肺癌肿瘤抑制因子, 降低细胞增殖、侵袭和肿瘤形成从而抑制肿瘤生长。也有研究发现, miR-218 参与慢性炎症反应, 在小鼠结肠炎相关的肿瘤中被显著诱导, 可能在炎症到癌变的转化过程中发挥特异作用^[17]。而结核同样作为慢性炎症疾病, 尚未有 miR-218 参与其感染机制的研究报道。本研究首次发现 miR-218 在结核患者外周血单个核细胞中的表达相比健康对照显著下调, 提示 miR-218 可能在结核的发生、发展过程中起着重要作用。通过分析 ROC 曲线显示 AUC 为 0.756 4, 灵敏度为 0.65, 特异度为 0.78, 表明 miR-218 对结核具有一定的诊断价值, 可作为潜在的生物标志物, 为下一步研究提供线索。

DKK2 属于 DKK 家族, 通过结合 LDL 受体相关蛋白 (LRP5/6) 调控 Wnt/ β -catenin 信号, 是涉及 Wnt 信号转导抑

制的关键基因^[18]。Hassan 等^[5]的研究发现, miR-218 通过下调 Wnt 信号转导抑制剂: 硬化蛋白 (SOST), DKK2 和分泌型卷曲相关蛋白 2 (SFRP2), 激活 Wnt 信号转导, 在成骨分化和肿瘤转移过程中发挥作用。Zhang 等^[4]再次验证了 miR-218 能直接靶向 WNT 信号通路拮抗剂的 SFRP2 和 DKK2, 导致 Wnt/ β -连环蛋白信号转导活性的增强。有研究证实, 下调的 DKK2 导致 Wnt 信号通路激活, 参与慢性炎症反应而促进肝纤维化^[19]。检测本实验外周血单个核细胞中 DKK2 的表达水平, 发现结核组的 DKK2 表达较对照组明显上调, 与前面 miR-218 下调的结果相符。原因可能为 miR-218 的下调降低其对 DKK2 的抑制作用, 从而导致 DKK2 水平升高。随后用 PPD 刺激巨噬细胞建立结核感染细胞模型, 分析细胞模型中 miR-218 和 DKK2 的表达情况, 发现在 6 h 时 miR-218 表达下降而 DKK2 表达升高, 随着时间延长, 两者的表达水平与对照组相平。这表明结核感染巨噬细胞早期可以出现 miR-218 下调, DKK2 相反地升高, 与外周血单个核细胞中变化模式一致。鉴于 Wnt 通路在结核病的发展过程中起着关键作用^[6], 由此推测: 结核感染刺激巨噬细胞后, miR-218 表达下调, 靶向抑制 Wnt 通路拮抗剂 DKK2 作用减弱, Wnt 通路活性降低, 进而参与机体对抗结核感染的免疫应答。在 MTB 感染宿主后, 机体会产生多种细胞因子参与炎症反应和免疫应答。TNF- α 是由活化的巨噬细胞产生的前炎症性细胞因子, 能启动抗菌炎症反应, 在机体抵抗结核杆菌的过程中起着关键作用; 并且结核患者 TNF- α 的水平较健康对照者显著上调, 随着病情的加重其水平也随之上升^[20]。细胞模型中的研究结果也发现, PPD 组 TNF- α 的基因表达水平随着时间逐渐升高, 24 h 时与 PBS 组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 随后在蛋白水平进行验证, 两者结果一致。IL-6 由多细胞产生具有广泛的生物学活性, MTB 可诱导 IL-6 上调以抵御机体固有免疫^[21]。本研究中 IL-6 的基因表达逐渐升高至 12 h 后开始下降, 在 24 h 时显著低于 PBS 组。可据此推测发生 MTB 感染时, 细胞因子随着疾病的发生、发展处于动态变化过程, 机体的免疫平衡被破坏时其表达也会发生变化。

综上所述, 本研究在群体标本和细胞模型中对 miR-218 进行初步研究发现: MTB 可能通过诱导宿主 miR-218 表达下调, 靶向抑制 DKK2 作用减弱, Wnt 通路活性降低, 进而打破免疫调节平衡促进结核病的发生。该研究结果仍需扩大样本量, 并进一步从正反双向探讨调控机制。

参考文献

[1] WHO. Global tuberculosis report 2017[R]. WHO: Gene-

- va, Switzerland; 2017.
- [2] Ha TY. MicroRNAs in human diseases; from lung, liver and kidney diseases to infectious disease, sickle cell disease and endometrium disease[J]. *Immune Netw*, 2011, 11(6):309-323.
- [3] Walzl G, Ronacher K, Hanekom W, et al. Immunological biomarkers of tuberculosis[J]. *Nat Rev Immunol*, 2011, 11(5):343-354.
- [4] Zhang WB, Zhong WJ, Wang L. A signal-amplification circuit between miR-218 and Wnt/ β -catenin signal promotes human adipose tissue-derived stem cells osteogenic differentiation[J]. *Bone*, 2014, 58:59-66.
- [5] Hassan MQ, Maeda Y, Taipaleenmaki H, et al. miR-218 directs a Wnt signaling circuit to promote differentiation of osteoblasts and osteomimicry of metastatic cancer cells[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(50):42084-42092.
- [6] Villasenor T, Madrid-Paulino E, Maldonado-Bravo R, et al. Activation of the Wnt Pathway by Mycobacterium tuberculosis; A Wnt-Wnt Situation[J]. *Front Immunol*, 2017, 8:50.
- [7] Wang Q, Liu S, Tang Y, et al. MPT64 protein from Mycobacterium tuberculosis inhibits apoptosis of macrophages through NF- κ B-miRNA21-Bcl-2 pathway[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7):e100949.
- [8] Giampietro F, de Waard JH, Rivas-Santiago B, et al. In vitro levels of cytokines in response to purified protein derivative (PPD) antigen in a population with high prevalence of pulmonary tuberculosis[J]. *Hum Immunol*, 2010, 71(11):1099-1104.
- [9] Palaga T, Ratanabunyoung S, Pattarakankul T, et al. Notch signaling regulates expression of Mcl-1 and apoptosis in PPD-treated macrophages[J]. *Cell Mol Immunol*, 2013, 10(5):444-452.
- [10] Harapan H, Fitra F, Ichsan I, et al. The roles of microRNAs on tuberculosis infection; meaning or myth? [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2013, 93(6):596-605.
- [11] Ma F, Xu S, Liu X, et al. The microRNA miR-29 controls innate and adaptive immune responses to intracellular bacterial infection by targeting interferon- γ [J]. *Nat Immunol*, 2011, 12(9):861-869.
- [12] Dorhoi A, Iannaccone M, Farinacci M, et al. MicroRNA-223 controls susceptibility to tuberculosis by regulating lung neutrophil recruitment[J]. *J Clin Invest*, 2013, 123(11):4836-4848.
- [13] Liu Y, Wang X, Jiang J, et al. Modulation of T cell cytokine production by miR-144* with elevated expression in patients with pulmonary tuberculosis[J]. *Mol Immunol*, 2011, 48(9/10):1084-1090.
- [14] Lu YF, Zhang L, Waye MM, et al. MiR-218 Mediates tumorigenesis and metastasis; Perspectives and implications [J]. *Exp Cell Res*, 2015, 334(1):173-182.
- [15] Rao Q, Shen Q, Zhou H, et al. Aberrant microRNA expression in human cervical carcinomas[J]. *Med Oncol*, 2012, 29(2):1242-1248.
- [16] Yang Y, Ding L, Hu Q, et al. MicroRNA-218 functions as a tumor suppressor in lung cancer by targeting IL-6/STAT3 and negatively correlates with poor prognosis [J]. *Mol Cancer*, 2017, 6(1):141-153.
- [17] Necela BM, Carr JM, Asmann YW, et al. Differential expression of microRNAs in tumors from chronically inflamed or genetic (APC(Min/+)) models of colon cancer [J]. *PLoS One*, 2011, 6(4):e18501.
- [18] Mu J, Hui T, Shao B, et al. Dickkopf-related protein 2 induces G0/G1 arrest and apoptosis through suppressing Wnt/ β -catenin signaling and is frequently methylated in breast cancer[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(24):39443-39459.
- [19] Yanagida A, Iwaisako K, Hatano E, et al. Downregulation of the Wnt antagonist Dkk2 links the loss of Sept 4 and myofibroblastic transformation of hepatic stellate cells [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1812(11):1403-1411.
- [20] 刘婷, 向延根, 范任华, 等. 肺结核病人细胞因子的研究进展[J]. *实用预防医学*, 2016, 23(7):894-896.
- [21] Dutta RK, Kathania M, Raje M, et al. IL-6 inhibits IFN- γ induced autophagy in Mycobacterium tuberculosis H37Rv infected macrophages[J]. *Int J Biochem Cell Biol*, 2012, 44(6):942-954.

(收稿日期:2017-06-11 修回日期:2017-08-28)

(上接第 3448 页)

- 防治体会[J]. *当代畜牧*, 2014(17):60-62.
- [8] 王芹, 李建东, 张全福, 等. 2014 年全国肾综合征出血热监测总结和疫情分析[J]. *疾病监测*, 2016, 31(3):192-199.
- [9] 毛德强, 李洪, 张春华, 等. 三峡库区成库前后鼠疫相关鼠形动物种群及数量变化趋势[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2016, 27(1):68-70.
- [10] 罗超, 刘纯华, 陈春蓉, 等. 重庆市万州区鼠害及鼠密度监测[J]. *中华卫生杀虫药械*, 2015, 21(1):51-52.
- [11] 张家勇, 丁俊, 白玉银, 等. 辽宁省 2006-2015 年鼠类密度及种群结构分析[J]. *中国媒介生物学及控制杂志*, 2017, 28(1):51-55.
- [12] 郭天宇, 刘丽娟, 陈倩. 《病媒生物密度控制水平 鼠类》标准的理解与应用[J]. *中华卫生杀虫药械*, 2014, 20(4):303-305.
- [13] 毛德强, 李洪, 冯连贵, 等. 三峡库区丰都县段潜在鼠疫源地调查分析[J]. *重庆医学*, 2011, 40(27):2763-2764.
- [14] 王铁军. 鼠感染肾综合征出血热病毒与人群发病情况分析[J]. *临床心身疾病杂志*, 2015, 21(Z2):73.

(收稿日期:2017-05-07 修回日期:2017-08-07)