

DNA 或 DNA 文库”结合构建猎物蛋白融合质粒,当融合表达的诱饵蛋白与猎物蛋白由于相互作用而使 BD 与 AD 在空间上相互靠近时,可以激活酵母细胞内通过基因工程设计的 MEL1、AUR1-C 等报告基因的表达。

JEV 隶属黄病毒科黄病毒属,所致日本脑炎为经蚊虫传播、主要累及中枢神经系统并伴有高病死率的传染性疾病<sup>[3]</sup>。JEV C 蛋白作为该病毒的核心蛋白,除具有病毒颗粒组装、调节细胞凋亡、脂代谢、转录及免疫呈递等一般特性外<sup>[4]</sup>,还可利用其核定位基序进入细胞核及核仁指导病毒复制<sup>[5]</sup>。JEV C 蛋白的细胞核及核仁内定位功能与病毒复制密切相关,而酵母双杂交 Gal4 系统 3 的蛋白-蛋白之间相互作用主要发生在细胞内<sup>[6]</sup>,因此,利用酵母双杂交 Gal4 系统 3 进行筛选及验证细胞内 JEV C 蛋白相互作用蛋白对于探讨 JEV C 蛋白生物学功能及其致病机理具有重要指导意义。而在进行该项工作之前必须明确诱饵质粒表达的诱饵蛋白本身在酵母菌中是否能稳定表达,是否对酵母细胞存在毒性及自身激活效应。本实验中,pGBKT7-JC 诱饵质粒成功构建并能在酵母 Y2H Gold 菌株中稳定表达,且表达的诱饵蛋白产物对酵母细胞无毒性及自身激活效应,符合后续借助酵母双

杂交 Gal4 系统 3 技术筛选及验证与 JEV C 蛋白相互作用蛋白实验需要,以期进一步阐明 JEV C 蛋白生物学功能及其致病机制。

#### 参考文献:

- [1] Ding DP, Feng GH. The interaction between Japanese encephalitis virus proteins and host proteins [J]. International Journal of Epidemiology and Infectious Disease 2011, 38 (3): 208-211. (In Chinese)  
(丁德平,冯国和.日本脑炎病毒蛋白与宿主蛋白的相互作用[J].国际流行病学传染病学杂志,2011,38(3): 208-211.)
- [2] Williamson MP, Sutcliffe MJ. Protein-protein interactions [J]. Biochemical Society transactions 2010, 38(4): 875-878.
- [3] Ghosh D, Basu A. Japanese encephalitis—a pathological and clinical perspective[J]. PLoS neglected tropical diseases 2009, 3(9): e437.
- [4] Chen SO, Fang SH, Shih DY, et al. Recombinant core proteins of Japanese encephalitis virus as activators of the innate immune response[J]. Virus genes 2009, 38:10-18.
- [5] Mori Y, Okabayashi T, Yamashita T, et al. Nuclear localization of Japanese encephalitis virus core protein enhances viral replication[J]. Journal of Virology 2005, 79(6): 3448-3458.
- [6] Lalonde S, Ehrhardt DW, Loqué D, et al. Molecular and cellular approaches for the detection of protein-protein interactions: latest techniques and current limitations [J]. Plant Journal 2008, 53(4): 610-635.

收稿日期: 2011-12-14 编辑:符式刚

### • 经验交流 •

## 1 例单纯肺隐球菌病临床诊治分析

陈恩斌

Diagnosis and treatment of a pulmonary Cryptococcosi case. CHEN En-bin. (Hainan Frontier Garrison of Armed Police, Haikou 570208, Hainan, P. R. China)

关键词 肺隐球菌病;误诊;特殊染色

中图分类号 R519.4 文献标识码 B 文章编号:1009-9727(2012)4-430-02

肺隐球菌病(Pulmonary Cryptococcosis)为新型隐球菌感染引起的亚急性或慢性内脏真菌病。肺隐球菌病如其名,具有一定的隐蔽性,其临床症状体征、影像学特点和实验室检查缺乏特异性,临床诊断比较困难,常常难以及时做出诊断,易漏诊或误诊为肺癌、肺结核、肺吸虫等其它肺部疾病,最终确诊常需送病理诊断。有文献报道其误诊率高达 88.6%。现报道临床

诊断为肺癌并行手术切除病灶,送病检后经特殊染色确诊为肺隐球菌病的病例。

#### 1 资料与方法

1.1 临床资料 患者男性,64 岁,以“咳嗽、胸闷,右肺肿块 10d”为主诉入院治疗。患者入院前 2 个月因受凉出现咳嗽,为声声咳,咳少许白色黏液痰,稍有发热,伴有右侧胸闷,无明显胸痛,无咳脓痰及痰中带

作者单位:武警海南省边防总队医院,海南 海口 570208

作者简介:陈恩斌(1980~),男,江苏仪征人,本科,医师,研究方向:内科学。

血,无寒战、高热、咯血、盗汗等症状,偶感双膝关节及肘关节疼痛。入院前多次胸片检查提示“右下肺肺炎”,纤维支气管镜检查示:支气管粘膜轻度充血,右下叶支内前段狭窄,粘膜明显肿胀,镜下未直接见到肿物。活检病理示:见少许细支气管及肺泡组织,灶性间质纤维组织轻度增生,未见异型细胞。涂片中见大量急慢性炎症细胞,未找到异型细胞。“阿奇霉素”静滴效果差。患者 20 年前有“肝炎”病史,无结核病史。入院后胸片显示:右下肺肿块并肺门淋巴结增大。临床诊断为“右肺癌”。

1.2 方法 患者完善相关检查后,全麻下行右下肺下叶切除术,术程顺利,术中见右下肺近肺门处有一约  $4.5 \times 4 \times 4 \text{ cm}^3$  的肿物,质较硬,与膈肌粘连,肺门淋巴结肿大。术后病理检查,大体检查为肺一块,大小为  $18 \times 12 \times 6 \text{ cm}^3$ ,距切端 1.5 cm 处见一直径约 3.5 cm 的肿物,切面灰白色;灰褐色蚕豆大和绿豆大组织 2 粒(膈肌、肺门组织)。镜检 ①(肺)病变区域纤维组织增生,肉芽肿形成,其中无坏死,肺泡腔内及间质见大量隐球菌菌体(图 1,见封 3)。②(膈肌)见隐球菌菌体,(肺门组织)未见隐球菌。特殊染色 隐球菌过碘酸雪夫(PAS)染色(+)(图 2,见封 3)、Grocott 六胺银(GMS)染色(+)(图 3,见封 3)。病理诊断 ①(右下肺)隐球菌病。②(膈肌)隐球菌病。

## 2 结果

根据患者术后病理结果回报,及时更改了治疗方案,给予抗真菌治疗,1 月后患者无明显不适主诉予出院,出院后继续口服抗真菌药治疗,随访未见复发。

## 3 讨论

肺隐球菌病首次由 Sheppe 等在 1924 年报告,临床比较罕见,故常被临床忽视,许多临床医生对此病了解甚少,许多专科院校教材中也未详细介绍此病,只是在微生物学真菌章节中有简单介绍隐球菌,故而临床医生在实际工作中遇到类似情况就很难联想到此病。其病原体新生隐球菌(*C. neoformans*)是外周有双层厚荚膜的圆形酵母型菌,在鸟粪,尤其鸽粪中大量存在<sup>[1]</sup>,人主要通过呼吸道吸入感染,首要感染肺,感染后常在免疫功能降低时发病,并可经血行播散至全身,由于脑脊液中缺乏正常血清中所含有的补体和抗隐球菌生长因子,故极易侵入中枢神经系统。

肺隐球菌病患者的临床表现无特异性,多数病人伴有或不伴有咳嗽、咳痰、发热、咯血、胸痛、头痛、气促、盗汗、纳差、恶心呕吐、体重下降等症状,这些症状与肺癌、肺炎、肺结核等呼吸系统其它疾病的表现极其相似,并发脑脊髓膜炎时,出现脑膜脑炎的症状

和体征。部分病例无任何症状,常在健康体检行胸部 X 线检查时被发现,X 线无特征征象<sup>[2]</sup>,第一思维多数考虑是肺癌、肺结核、细菌性肺炎的可能性大,因此临床极易误诊。临床医生在问诊过程中,如发现病人有鸽子接触史,对诊断非常有意义。

肺隐球菌病的确诊主要依靠实验室检查,病理检查(包括手术标本、经皮肺穿刺标本、纤支镜活检标本、淋巴结活检标本)或痰、胸液、脑脊液、病灶内脓液穿刺及冲洗液等涂片或培养,检出隐球菌时即可诊断,补体结合反应阳性亦有助于诊断。病理 HE 切片上可见大小不一,直径约 4~9 μm 的球形或卵圆形折光小体,着色浅淡,周围可见透亮的空晕,呈簇状或散在分布(图 1,见封 3)。

特殊染色菌体周围空晕着色,过碘酸雪夫(PAS)染色真菌壁被染成深红色,胞质浅红<sup>[3]</sup>(图 2,见封 3);Grocott 六胺银(GMS)染色真菌壁着黑色,轮廓非常清晰(图 3,见封 3)。此两种染色方法临床常用,检出率高达 100%。需要对肺隐球菌病进行鉴别诊断的疾病主要有 ①肺结核,胸片表现极为相似,但结核患者临床上一般有低热、盗汗、咳嗽等症状;②原发性肺癌和转移性肺癌,可行 CT 引导下穿刺活检或电视胸腔镜活检鉴别;③其他真菌病,梅氏粘蛋白卡红(Meyer's mucicarmine)染色隐球菌阳性,其他酵母样真菌不出现这种染色的荚膜,同时,隐球菌荚膜中的多糖类对中性粒细胞的趋向性有抑制作用,固在隐球菌所致病变中,中性粒细胞很少,其它真菌病变,大都有较丰富的中性粒细胞浸润。肺隐球菌病有自愈倾向,目前治疗主要是抗真菌治疗,必要时手术局部切除。

## 参考文献:

- [1] Yang B. Pulmonary cryptococcosis misdiagnosed as tuberculosis or lung cancer 5 cases analysis [J]. Clinical Medicine of China, Sep, 2002, 18(9): 789. (In Chinese)  
(杨彪. 肺隐球菌病误诊为肺结核或肺癌 5 例分析[J]. 中国综合临床杂志, 2002, 18(9): 789.)
- [2] Yi XH, Luo BF, Zhang RX et al. 10 patients with pulmonary cryptococcosis pathology and radiographic contrast analysis [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, September 2000, 23(9): 574. (In Chinese)  
(易祥华, 罗本芳, 张容轩, 等. 10 例肺隐球菌病病理和影像学对照分析[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2000, 23(9): 574.)
- [3] Yi XH, Kong J, Zhu MF et al. Pathological diagnosis and ultrastructure features of primary pulmonary cryptococcosis [J]. Chin J Pathol, October 2004, 33(5): 424-428. (In Chinese)  
(易祥华, 孔洁, 朱美芳, 等. 原发性肺隐球菌病的病理诊断和超微结构观察[J]. 中华病理学杂志, 2004, 33(5): 424-428.)

收稿日期 2012-01-30 编辑 吴中华



# 大鼠脑出血后HIF-1 $\alpha$ 表达与血脑屏障通透性相关分析

Relationship between HIF-1  $\alpha$  expression and blood brain barrier permeability after intracerebral hemorrhage.  
(正文见400页, for text see page 400)

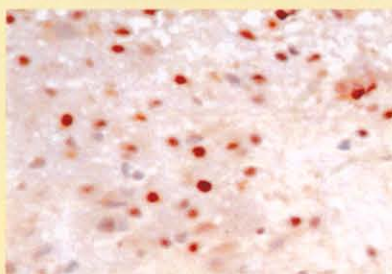
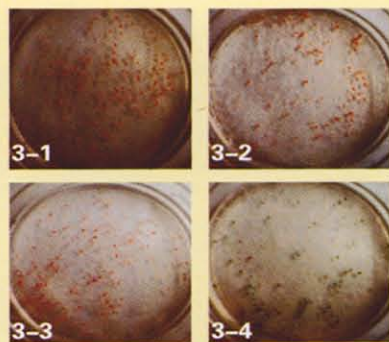


图1 脑出血后HIF-1  $\alpha$  的表达 (SP法,  $\times 400$ )  
Fig 1 The expression of HIF-1  $\alpha$  after ICH (SP,  $\times 400$ )

## 日本脑炎病毒核心蛋白酵母双杂交诱饵载体构建及鉴定

Construction and verification of a bait vector for the gene encoding core protein derived from Japanese encephalitis virus.

(正文见427页, for text see page 427)



3-1、3-2分别为SD/-Trp培养基上转化pGBKT7-JC和pGBKT7的酵母菌落; 3-3为SD/-Trp/X培养基上转化的pGBKT7-JC的酵母菌落; 3-4为阳性对照组pGBKT7-53与pGADT7-T两质粒共转化酵母感受态在SD/-Trp/X/A上长出蓝色酵母菌落。

Fig3-1、fig3-2: The pGBKT7-JC and pGBKT7 were transformed into their respective yeast strain Y2H Glod cells as well, then they were respective spreaded onto the plates containing the SD/-Trp with Agar medium. Fig3-3: The pGBKT7-JC was transformed into the yeast strain Y2H Glod cells and the cells were spreaded onto the plates containing the SD/-Trp/X- $\alpha$ -gal with Agar medium. Fig3-4: The pGBKT7-53 and pGADT7-T were transformed into the yeast strain Y2H Glod cells together and the cells were spreaded onto the plates containing the SD/-Trp/X- $\alpha$ -gal/AbA with Agar medium.

图3 酵母菌落图谱

Fig3 Maps of yeasts cultured in SD with different amino acids defects

## As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>下调KG1a细胞粘附分子CD44、CD49d表达

Down-regulation of CD44 and CD49d expression of KG1a cells by arsenic trioxide.

(正文见423页, for text see page 423)

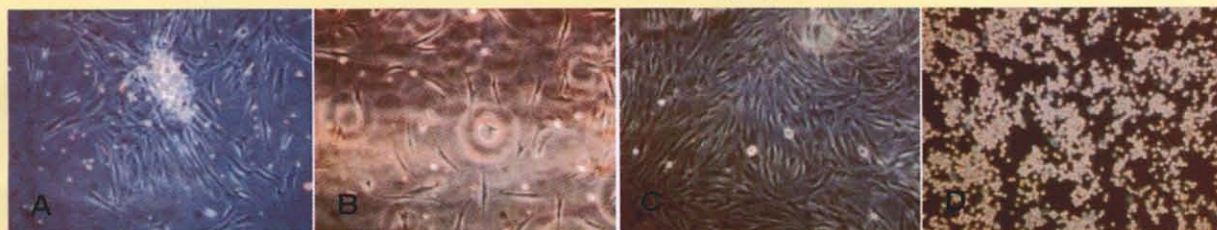


图1 骨髓基质细胞形态学观察 ( $\times 100$ )  
Fig 1 Morphology of primary hBMSCs ( $\times 100$ )

## 1例单纯肺隐球菌病临床诊治分析

Diagnosis and treatment of a pulmonary Cryptococcosi case.

(正文见430页, for text see page 430)

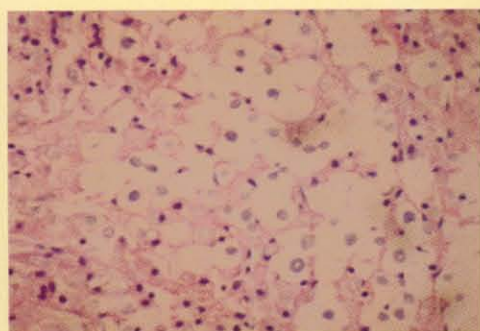


图1 肺组织HE染色切片上可见卵圆形呈空泡状散在分布的隐球菌孢子 (HE染色  $\times 400$ )

Figure 1 There are some ovoid and focally vacuolated Cryptococcus spores's on the chip of the lung tissue slice HE dyeing.

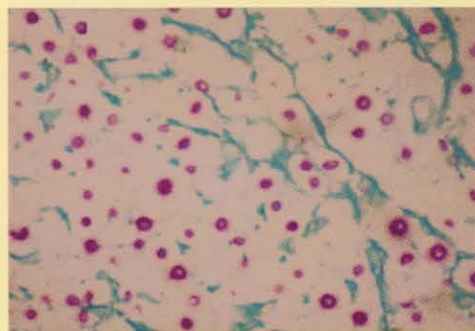


图2 肺组织过碘酸雪夫染色切片上可见卵圆形红染的隐球菌孢子 (PAS染色  $\times 400$ )

Figure 2 There are some ovoid and red dyed Cryptococcus spores's on the chip of the lung tissue slice PAS dyeing.

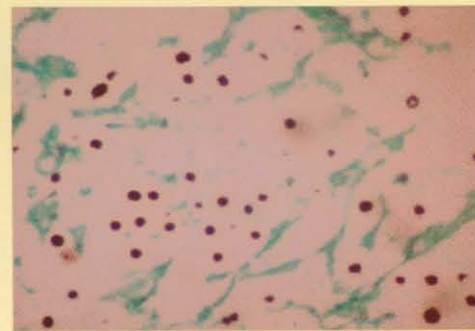


图3 肺组织Grocott六胺银染色切片上可见散在菌壁着黑色的隐球菌孢子 (GMS染色  $\times 400$ )

Figure 3 There are some dyed black Cryptococcus spores's on the chip of the lung tissue slice GMS dyeing.