

脓毒症患者外周血微小 RNA-155 和调节性 T 细胞表达的关系

汪勤 赵春辉 蔡琴 朱华英

【摘要】 目的 探讨微小 RNA-155(miR-155)对脓毒症患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(Treg)的调节作用,从而了解 miR-155 在脓毒症发病中的作用机制。方法 采用回顾性研究方法,选取江苏大学第四附属医院急诊科和重症监护病房(ICU)脓毒症患者 60 例(轻度 20 例、中度 20 例、重度 20 例)及 20 例健康对照者。于确诊后 2 h 内取静脉血,采用流式细胞仪检测外周血 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞表达;采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测 miR-155、Foxp3 mRNA 表达;采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测白细胞介素-10(IL-10)水平。结果 脓毒症患者外周血 Treg 表达率和 miR-155、Foxp3 mRNA 表达以及 IL-10 水平均明显高于健康对照组 [Treg: (2.89 ± 1.13)% 比 (2.32 ± 0.91)%, $t=10.540$, $P=0.002$; miR-155: 1.19 ± 0.48 比 0.80 ± 0.33, $t=8.605$, $P=0.006$; Foxp3 mRNA: 0.18 ± 0.08 比 0.13 ± 0.03, $t=6.862$, $P=0.008$; IL-10(ng/L): 56.89 ± 17.28 比 33.24 ± 11.93, $t=12.742$, $P=0.001$];并且随着急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)评分增加而升高,重度组 [Treg: (3.05 ± 1.21)%, miR-155: 1.36 ± 0.79, Foxp3 mRNA: 0.21 ± 0.10, IL-10(ng/L): 62.82 ± 21.38]、中度组 [Treg: (2.86 ± 0.88)%, miR-155: 1.25 ± 0.56, Foxp3 mRNA: 0.17 ± 0.08, IL-10(ng/L): 56.38 ± 19.65]、轻度组 [Treg: (2.61 ± 0.87)%, miR-155: 0.94 ± 0.52, Foxp3 mRNA: 0.15 ± 0.05, IL-10(ng/L): 45.43 ± 14.40]之间两两比较差异均有统计学意义(均 $P<0.01$)。死亡组各指标明显高于存活组 [Treg: (3.46 ± 1.53)% 比 (2.85 ± 1.03)%, $t=14.250$, $P=0.005$; miR-155: 1.41 ± 0.85 比 1.16 ± 0.76, $t=11.875$, $P=0.006$; Foxp3 mRNA: 0.24 ± 0.11 比 0.17 ± 0.09, $t=8.795$, $P=0.001$; IL-10 (ng/L): 65.47 ± 23.58 比 51.70 ± 16.86, $t=16.313$, $P=0.001$]。miR-155 表达与 Treg 和 Foxp3 mRNA 表达水平均呈正相关 ($r_1=0.635$, $P_1=0.007$, $r_2=0.671$, $P_2=0.005$)。结论 miR-155 参与对 Treg 细胞增殖的调节,在脓毒症免疫失衡机制中发挥一定的作用。

【关键词】 脓毒症; 微小 RNA-155; 调节性 T 细胞

Expression of microRNA-155 and regulative T cell in sepsis patients and their relationship Wang Qin*, Zhao Chunhui, Cai Qin, Zhu Huaying. *Department of Intensive Care Unit, the Fourth Hospital of Jiangsu University, Zhenjiang 212001, Jiangsu, China

Corresponding author: Zhao Chunhui, Email: jyk252@sina.com

【Abstract】 Objective To investigate the adjustment effect of microRNA-155 on CD4⁺CD25⁺ regulative T cell (Treg) in peripheral blood of sepsis patients, and to elucidate the role of miR-155 in the pathogenesis of sepsis. **Methods** A retrospective study was conducted. 60 sepsis patients (mild $n=20$, moderate $n=20$, and severe $n=20$) from emergency room or intensive care unit (ICU) of the Fourth Hospital of Jiangsu University were enrolled. 20 healthy volunteers were enrolled as controls. Real-time fluorescent quantitation polymerase chain reaction (qRT-PCR) was used to detect the levels of miR-155 and Foxp3 mRNA expressions in peripheral blood. CD4⁺CD25⁺ Treg cells in peripheral blood were identified by flow cytometry. Peripheral interleukin-10 (IL-10) was measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** The expressions of miR-155, Treg, Foxp3 mRNA and the level of IL-10 were higher in the patients with sepsis than those in healthy control group [Treg: (2.89 ± 1.13)% vs. (2.32 ± 0.91)%, $t=10.540$, $P=0.002$; miR-155: 1.19 ± 0.48 vs. 0.80 ± 0.33, $t=8.605$, $P=0.006$; Foxp3 mRNA: 0.18 ± 0.08 vs. 0.13 ± 0.03, $t=6.862$, $P=0.008$; IL-10 (ng/L): 56.89 ± 17.28 vs. 33.24 ± 11.93, $t=12.742$, $P=0.001$]. These variables were elevated gradually with the elevation of acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score. The expressions of Treg, miR-155, Foxp3 mRNA and the level of IL-10 were (3.05 ± 1.21)%, 1.36 ± 0.79, 0.21 ± 0.10, (62.82 ± 21.38) ng/L in severe sepsis group; they were (2.86 ± 0.88)%, 1.25 ± 0.56, 0.17 ± 0.08, (56.38 ± 19.65) ng/L in moderate group; they were (2.61 ± 0.87)%, 0.94 ± 0.52, 0.15 ± 0.05, (45.43 ± 14.40) ng/L in mild group. The values showed significant statistical difference among the mild, moderate and severe sepsis groups (all $P<0.01$). Above values were significantly higher in non-survival group than those in survival group [Treg: (3.46 ±

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.011

基金项目:江苏省医药卫生科研基金项目(H201249);江苏省镇江市科技计划项目(SH2013061)

作者单位:212001 镇江,江苏大学第四附属医院 ICU(汪勤),检验科[赵春辉(现在江苏省镇江市精神卫生中心检验科工作)、蔡琴],产科(朱华英)

通信作者:赵春辉,Email:jyk252@sina.com

1.53)% vs. (2.85 ± 1.03)%, $t=14.250$, $P=0.005$; miR-155: 1.41 ± 0.85 vs. 1.16 ± 0.76, $t=11.875$, $P=0.006$; Foxp3 mRNA: 0.24 ± 0.11 vs. 0.17 ± 0.09, $t=8.795$, $P=0.001$; IL-10 (ng/L): 65.47 ± 23.58 vs. 51.70 ± 16.86, $t=16.313$, $P=0.001$]. The expression of miR-155 was positively correlated with the expression of CD4⁺CD25⁺ Treg and Foxp3 mRNA ($r_1=0.635$, $P_1=0.007$; $r_2=0.671$, $P_2=0.005$). **Conclusion** The result of this study suggest that miR-155 is involved in the cell proliferation regulation of CD4⁺CD25⁺ Treg cells, and play some role in the immunological dissonance in sepsis.

【Key words】 Sepsis; MicroRNA-155; Regulative T cell

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征(SIRS),发展到脓毒性休克时病死率很高,是重症监护病房(ICU)的常见死亡原因之一。近年来,微小RNA(miRNA)在脓毒症发病机制中所起的作用日益受到关注。miRNA 是一类长约 22 个核苷酸的非编码小片段 RNA,通过与靶基因 mRNA 的 3' 端非翻译区相互作用,从而调控靶基因的表达,广泛地参与哺乳动物基因的调控^[1-2]。miRNA-155(miR-155)在固有免疫和适应性免疫中发挥了重要的作用,参与了脓毒症的发生和调控,是目前在脓毒症中研究较多的一种 miRNA^[3-6],但其作用机制仍不明确。调节性 T 细胞(Treg)作为一类具有调节功能的成熟 T 细胞亚群,通过影响辅助性 T 细胞 1/2(Th1/2)分化决定着炎症反应的不同结局,在脓毒症发生发展过程中具有重要作用^[7-9]。有研究表明,miR-155 对 Treg 增殖具有调控作用,其异常表达与免疫自稳异常引发的疾病相关^[10]。本研究采用实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测脓症患者外周血 miR-155 的表达,采用流式细胞仪检测 CD4⁺CD25⁺ Treg 的表达,以探讨 miR-155 在脓毒症发病过程中的作用机制。

1 资料与方法

1.1 主要试剂和仪器: ① CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ Treg 一步法流式检测试剂盒(美国 Biologend 公司):包括多甲藻叶绿素蛋白(PerCP)标记的抗人 CD4,藻红蛋白(PE)标记的抗人 CD25,荧光标记染料 Alexa Fluor 488 标记的 Foxp3 及相匹配的鼠 IgG1 同型对照, Foxp3 固定/破膜液和破膜缓冲液;佛波酯、离子霉素均购自美国 Sigma 公司;莫能霉素购自美国 Biologend 公司;流式细胞仪(FACSCalibur 型号及 FACSDiva 软件,美国 BD 公司)。② mRNA 检测: TRIzol 试剂为美国 Invitrogen 公司产品, QRT-PCR 试剂盒为日本 Takara 公司产品;日立 U00800 型紫外分光光度计(日本日立公司);Bio-Rad MyIQ PCR 仪和电泳仪(美国 Bio-Rad 公司);凝胶成像系统(美国 Alpha 公司)。③ 细胞因子检测:酶联免疫吸附试验(ELISA)试剂盒为美国 R&D 公司产品;Bio-Rad

imark 酶标仪(美国 Bio-Rad 公司)。

1.2 研究对象:采用回顾性研究方法,选择 2010 年 1 月至 2013 年 6 月入住本院急诊科和 ICU 的脓症患者 60 例为试验组。按患者急性生理学与慢性健康状况评分系统 II(APACHE II)评分分为轻、中、重度 3 组,每组 20 例。以同期 20 例年龄、性别、体质量构成无统计学差异的本院健康体检人群作为健康对照组。60 例脓症患者均符合 2001 年国际脓毒症会议关于脓毒症的诊断标准^[11]。排除标准:妊娠和哺乳期妇女;烧伤、心脏手术、肿瘤、血液病等疾病者;精神病患者;年龄 < 35 岁或 > 75 岁。

60 例脓症患者中男性 34 例,女性 26 例;平均年龄(56.6 ± 14.1)岁;体质量指数(BMI)为(19.7 ± 2.8) kg/m²。20 例健康对照组体检人群中男性 11 例,女性 9 例;平均年龄(52.8 ± 12.8)岁;BMI 为(20.3 ± 2.6) kg/m²。两组性别、年龄、BMI 等基线资料均衡,差异无统计学意义(均 $P>0.05$),有可比性。

本研究符合医学伦理学标准,获得医院伦理委员会审核批准。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 标本采集:符合诊断标准的患者于诊断成立后 2 h 内取静脉血 6 mL,肝素抗凝。2 mL 用于流式细胞仪检测分析,2 mL 用于检测 miR-155 和 Foxp3 mRNA 表达水平,2 mL 用于细胞因子检测。健康对照组 20 例同期进行试验。

1.3.2 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞的检测:采用 Ficoll 密度梯度法分离出外周血单个核细胞(PBMC),用含 10%胎牛血清的 RPMI1640 重悬提取的 PBMC;取 20 μL 细胞悬液加 20 μL 锥虫蓝,调节细胞密度为 1×10^6 /mL,加入 1 mL Foxp3 固定/破膜液,充分混匀后室温孵育 20 min;洗涤及 1 mL Foxp3 破膜缓冲液重悬细胞,暗处孵育 15 min;加 10 μL 抗人 Foxp3 Alexa Fluor 488 / CD25 PE / CD4 PerCP 抗体混匀后暗处孵育 30 min;0.5 h 内用流式细胞仪检测。

1.3.3 miR-155 表达的测定:采用 TRIzol 一步法提取总 RNA,按说明书步骤操作。用紫外分光光度计测定总 RNA 的吸光度值(A_{260}/A_{280}),结果均在 1.8 ~

2.0,说明提取的 RNA 纯度高。miR-155 PCR 上游引物(5'-3')为:CGTTAATGCTAATCGTGATAG;下游引物(5'-3')为:GCAGGGTCCGAGGT。内参照 U6 PCR 上游引物(5'-3')为:CTCGCTTCGGCAGCACA;下游引物(5'-3')为:AACGCTTCACGAATTTGCGT。引物序列由上海英骏生物技术有限公司合成。在荧光定量 PCR 仪上进行 RT-PCR。总体积 25 μ L; PCR 扩增预混液 (SYBR Green MIX) 12.5 μ L, ddH₂O 9.5 μ L, miR-155 或 U6 上下游引物各 0.5 μ L, cDNA 模板 2 μ L。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 15 min 预变性,95 $^{\circ}$ C 15 s,60 $^{\circ}$ C 60 s,进行 35 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 miR-155 的相对表达量。

1.3.4 Foxp3 mRNA 的检测:用 TRIzol 试剂一步法提取总 RNA,紫外分光光度计检测 RNA 浓度。按照逆转录试剂盒说明书合成 cDNA,于 -20 $^{\circ}$ C 保存。Foxp3 mRNA PCR 上游引物(5'-3')为:CCTGGGCTCCTCGCCTCACC;下游引物(5'-3')为:TCTCTCTGCCCTCAGCCTTGCC。内参照 β -肌动蛋白(β -actin) PCR 上游引物(5'-3')为:GGGACTATCCACCTGCAAGA;下游引物(5'-3')为:CCTCCTTGGCGTAGTAGTCG。引物序列由上海英骏生物技术有限公司合成。PCR 反应总体积 25 μ L;SYBR Green MIX 0.5 μ L, ddH₂O 9.5 μ L, dNTP 1.6 μ L, Foxp3 或 β -actin 上下游引物各 0.5 μ L, cDNA 模板 2 μ L, Taq DNA 聚合酶 (5 U/ μ L) 0.5 μ L, MgCl₂ (25 mmol/L) 0.8 μ L。PCR 反应条件:95 $^{\circ}$ C 15 min 预变性;95 $^{\circ}$ C 30 s,56 $^{\circ}$ C 30 s,72 $^{\circ}$ C 30 s,35 个循环。采用 $2^{-\Delta\Delta C_t}$ 法计算 Foxp3 mRNA 的相对表达量。

1.3.5 白细胞介素 -10(IL-10)的检测:采用 ELISA 检测血浆中 IL-10 含量,严格按试剂盒说明书操作。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。对数据进行正态性检验显示,各组数据为正态分布资料,以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,各组间比较采用 t 检验;相关性采用 Pearson 相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 外周血 Treg 表达率和 miR-155、Foxp3 mRNA 及 IL-10 水平(表 1~3):脓毒症患者外周血 Treg 表达率、miR-155、Foxp3 mRNA、IL-10 均显著高于健康对照组(均 $P < 0.01$);且随 APACHE II 评分增高逐渐升高,轻、中、重度脓毒症组间两两比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.01$)。在所有脓毒症患者中,死亡者均出现在重度组中,死亡组 Treg、miR-155、Foxp3 mRNA、IL-10 均显著高于存活组(均 $P < 0.01$)。

表 1 脓毒症组和健康对照组外周血 Treg 表达率和 miR-155、Foxp3 mRNA 表达及 IL-10 水平比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | Treg (%) | miR-155 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) | Foxp3 mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) | IL-10 (ng/L) |
|-------|----|-----------------|-------------------------------------|--|-------------------|
| 健康对照组 | 20 | 2.32 \pm 0.91 | 0.80 \pm 0.33 | 0.13 \pm 0.03 | 33.24 \pm 11.93 |
| 脓毒症组 | 60 | 2.89 \pm 1.13 | 1.19 \pm 0.48 | 0.18 \pm 0.08 | 56.89 \pm 17.28 |
| t 值 | | 10.540 | 8.605 | 6.862 | 12.742 |
| P 值 | | 0.002 | 0.006 | 0.008 | 0.001 |

注:Treg 为调节性 T 细胞,miR-155 为微小 RNA-155,IL-10 为白细胞介素 -10

表 2 不同病情程度脓毒症患者外周血 Treg 表达率和 miR-155、Foxp3 mRNA 表达及 IL-10 水平比较($\bar{x} \pm s$)

| 脓毒症程度 | 例数 | Treg (%) | miR-155 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) | Foxp3 mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) | IL-10 (ng/L) |
|-------|----|-------------------------------|-------------------------------------|--|---------------------------------|
| 轻度组 | 20 | 2.61 \pm 0.87 | 0.94 \pm 0.52 | 0.15 \pm 0.05 | 45.43 \pm 14.40 |
| 中度组 | 20 | 2.86 \pm 0.88 ^a | 1.25 \pm 0.56 ^a | 0.17 \pm 0.08 ^a | 56.38 \pm 19.65 ^a |
| 重度组 | 20 | 3.05 \pm 1.21 ^{ab} | 1.36 \pm 0.79 ^{ab} | 0.21 \pm 0.10 ^{ab} | 62.82 \pm 21.38 ^{ab} |

注:Treg 为调节性 T 细胞,miR-155 为微小 RNA-155,IL-10 为白细胞介素 -10;与轻度组比较,^a $P < 0.01$;与中度组比较,^b $P < 0.01$

表 3 死亡组和存活组脓毒症患者外周血 Treg 表达率和 miR-155、Foxp3 mRNA 表达及 IL-10 水平比较($\bar{x} \pm s$)

| 组别 | 例数 | Treg (%) | miR-155 ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) | Foxp3 mRNA ($2^{-\Delta\Delta C_t}$) | IL-10 (ng/L) |
|-------|----|-----------------|-------------------------------------|--|-------------------|
| 存活组 | 44 | 2.85 \pm 1.03 | 1.16 \pm 0.76 | 0.17 \pm 0.09 | 51.70 \pm 16.86 |
| 死亡组 | 16 | 3.46 \pm 1.53 | 1.41 \pm 0.85 | 0.24 \pm 0.11 | 65.47 \pm 23.58 |
| t 值 | | 14.250 | 11.875 | 8.795 | 16.313 |
| P 值 | | 0.005 | 0.006 | 0.001 | 0.001 |

注:Treg 为调节性 T 细胞,miR-155 为微小 RNA-155,IL-10 为白细胞介素 -10

2.2 脓毒症患者外周血中 miR-155 与 Treg、Foxp3 mRNA 的相关性分析:miR-155 与 Treg 呈正相关($r = 0.635, P = 0.007$);miR-155 与 Foxp3 mRNA 也呈正相关($r = 0.671, P = 0.005$)。

3 讨论

脓毒症是病原微生物感染引起的 SIRS。1996 年,美国学者 Bone 提出了著名的代偿性抗炎反应综合征(CARS)假说,指出脓毒症的发生发展是机体促炎与抗炎机制失衡所致^[12]。研究发现,miRNA 可通过转录后水平影响炎症因子和炎症因子信号通路来调控失衡的炎症反应^[13-15]。miR-155 位于进化保守的非编码 RNA bic 基因的外显子 2 区,是正常免疫功能所必需的 miRNA 分子^[16]。有研究表明^[17-19],miR-155 能够影响 Th1、Th2 的功能,对活化 T 细胞分泌的细胞因子具有一定的调节作用;miR-155 通过抑制干扰素 -C(INF- γ)通路,以及作用于 IL-2 信号途径的抑制分子细胞因子信号转导抑制蛋白 1(SOCS1),促进 CD4⁺ T 细胞的 Th1 分化;miR-155

还可通过靶基因 PU1(Et3 家族转录因子)调控 B 细胞产生免疫抗体,通过调控免疫功能参加急性炎症反应。本研究显示,脓毒症患者外周血 miR-155 表达明显高于健康对照组。miR-155 升高促进了机体炎症因子、特异性抗体和效应性 T 细胞产生,在固有免疫及特异性免疫中发挥重要作用,参与脓毒症的炎症反应。

miR-155 是 Foxp3 依赖的 miRNA, Foxp3 能够结合在前体 miR-155 的 mRNA 的一个内含子上^[20]。Treg 以表达转录抑制基因 Foxp3 为特征,并分泌 IL-10 和转化生长因子- β (TGF- β),通过接触抑制及释放抗炎因子 IL-10 抑制淋巴细胞反应,发挥抗炎作用,是一个可诱导免疫耐受并有独特免疫调节功能的 T 细胞亚群^[21-22]。Liston 等^[23]和 Zhou 等^[24]建立了 Dicer 酶缺失、Foxp3 基因敲除的小鼠模型,显示 miR-155 缺失小鼠的 Treg 增殖能力减弱,但在体内抑制其他 T 细胞增殖的功能仍相对完整,说明 miR-155 能调控 Treg 的增殖,但对 Treg 的免疫抑制功能可能没有调控作用。

本研究显示,脓症患者外周血 Treg、Foxp3 mRNA 表达及相关细胞因子 IL-10 水平明显高于健康对照组。说明脓毒症发生后机体发生了强烈的促炎反应,但促炎反应过强会导致破坏性增强。Treg 和 IL-10 的代偿性升高可对抗炎症反应,起到一定的保护作用。进一步分析发现,Treg 表达率、miR-155、Foxp3 mRNA 表达、IL-10 水平随病情的加重而升高;死亡组患者各指标较存活组患者显著升高;并且 miR-155 表达与 Treg、Foxp3 mRNA 均呈正相关。表明 miR-155 和 Treg 的过表达与脓毒症疾病的发生发展密切相关。而 IL-10 为主要抗炎因子,高水平的 IL-10 及 IL-10/ 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)是脓毒症死亡的独立危险因素。脓症患者 IL-10 水平可以反映免疫麻痹及疾病危重程度^[25-26]。脓毒症发生早期体内 miR-155 表达升高,此过程对感染有益,促进了机体促炎细胞因子、特异性抗体和效应性 T 细胞产生。但过度激活将导致促炎因子大量释放,免疫细胞过度活化,同时 miR-155 作用于 Treg 细胞,参与免疫抑制。随着病情发展,当 miR-155 调节 Treg 的增殖加强,抗炎反应失控性增强,抗炎反应占优势,发生免疫麻痹,将导致休克甚至死亡。

脓毒症可能存在免疫反应亢进和免疫抑制,同时存在促炎和抗炎反应,二者的强弱处于不断变化之中,机体处于一种复杂的免疫紊乱和动态失衡状态^[27-28]。当机体通过 Toll 样受体(TLR)识别病原体

后,一方面体内 miR-155 升高参与调节急性炎症反应;另一方面 miR-155 升高调控 Treg 的增殖,起到一定的免疫抑制作用。在促炎反应和免疫抑制的双重复杂作用下,促进了脓毒症的发生。由此推测,miR-155 可能是脓症患者免疫失衡的调节网络中的一个节点,但其调节效应在哪些水平和环节上,乃至何种程度上发挥作用仍不清楚,其确切的作用机制及信号通路仍有待深入研究。通过研究 miR-155 在脓毒症发病中的作用,可以丰富人们对脓毒症发病机制的认识,同时可以从基因转录水平早期诊断脓毒症。miR-155 也可能成为脓毒症治疗的一个新靶点,提供一条新的途径。

参考文献

- [1] Bushati N, Cohen SM. microRNA functions[J]. Annu Rev Cell Dev Biol, 2007, 23: 175-205.
- [2] 赵春辉,汪勤,朱华英. 晚发型重度子痫前期患者胎盘中微小 RNA-152 及血清中可溶性人类白细胞抗原 G 蛋白的表达及其关系[J]. 中华围产医学杂志, 2013, 16(1): 57-59.
- [3] Piccinini AM, Midwood KS. Endogenous control of immunity against infection: tenascin-C regulates TLR4-mediated inflammation via microRNA-155[J]. Cell Rep, 2012, 2(4): 914-926.
- [4] 王中华,梁艳冰,唐皓,等. 微小 RNA-155 在脓毒症小鼠肝脏内的表达变化及作用研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2012, 24(3): 154-157.
- [5] Wang HJ, Zhang PJ, Chen WJ, et al. Four serum microRNAs identified as diagnostic biomarkers of sepsis [J]. J Trauma Acute Care Surg, 2012, 73(4): 850-854.
- [6] 薛华,梁璐. 微小 RNA-155 与脓毒症的调控 [J]. 中国急救医学, 2013, 33(5): 470-473.
- [7] Brunialti MK, Santos MC, Rigato O, et al. Increased percentages of T helper cells producing IL-17 and monocytes expressing markers of alternative activation in patients with sepsis [J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37393.
- [8] 邵敏,刘宝,王锦权,等. 脓症患者辅助性 T 细胞 17 和 CD4+ CD25+ 调节性 T 细胞表达及血必净注射液的干预作用[J]. 中国危重病急救医学, 2011, 23(7): 430-434.
- [9] 陆俊杰,葛志军,戴吉. 脓症患者外周血调节性 T 细胞变化及其临床意义 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(4): 242-243.
- [10] Stahl HF, Fauti T, Ullrich N, et al. miR-155 inhibition sensitizes CD4+ Th cells for TREG mediated suppression [J]. PLoS One, 2009, 4(9): e7158.
- [11] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference [J]. Crit Care Med, 2003, 31(4): 1250-1256.
- [12] Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS [J]. Crit Care Med, 1996, 24(7): 1125-1128.
- [13] Wang H, Zhang P, Chen W, et al. Serum microRNA signatures identified by Solexa sequencing predict sepsis patients' mortality: a prospective observational study [J]. PLoS One, 2012, 7(6): e38885.
- [14] Kanwal N, John P, Bhatti A. MicroRNA-155 as a therapeutic target for inflammatory diseases [J]. Rheumatol Int, 2013, 33(3): 557-560.
- [15] 赵春辉,汪周兵,张晓凤,等. 抑郁症患者血浆 miR-155 表达和致炎性细胞因子相关性分析 [J]. 临床检验杂志, 2013, 31(3): 187-189.
- [16] Divekar AA, Dubey S, Gangalum PR, et al. Dicer insufficiency

- and microRNA-155 overexpression in lupus regulatory T cells: an apparent paradox in the setting of an inflammatory milieu[J]. J Immunol, 2011, 186(2):924-930.
- [17] Ferrajoli A, Shanafelt TD, Ivan C, et al. Prognostic value of miR-155 in individuals with monoclonal B-cell lymphocytosis and patients with B chronic lymphocytic leukemia[J]. Blood, 2013, 122(11):1891-1899.
- [18] Li X, Tian F, Wang F. Rheumatoid arthritis-associated microRNA-155 targets SOCS1 and upregulates TNF- α and IL-1 β in PBMCs[J]. Int J Mol Sci, 2013, 14(12):23910-23921.
- [19] 陆永光, 李浪, 陈妍梅, 等. 微小核糖核酸 155 对不稳定性心绞痛患者 CD4⁺ T 淋巴细胞的调控作用 [J]. 中华急诊医学杂志, 2011, 20(9):960-965.
- [20] Lu LF, Thai TH, Calado DP, et al. Foxp3-dependent microRNA155 confers competitive fitness to regulatory T cells by targeting SOCS1 protein[J]. Immunity, 2009, 30(1):80-91.
- [21] Lan Q, Zhou X, Fan H, et al. Polyclonal CD4⁺Foxp3⁺Treg cells induce TGF β -dependent tolerogenic dendritic cells that suppress the murine lupus-like syndrome [J]. J Mol Cell Biol, 2012, 4(6):409-419.
- [22] 黄惠君, 杨军, 王国兵, 等. CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 淋巴细胞与 Th17 细胞在新生儿脓毒症炎症免疫反应中的作用[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2013, 28(9):676-678.
- [23] Liston A, Lu LF, O'Carroll D, et al. Dicer-dependent microRNA pathway safeguards regulatory T cell function[J]. J Exp Med, 2008, 205(9):1993-2004.
- [24] Zhou X, Jeker LT, Fife BT, et al. Selective miRNA disruption in T reg cells leads to uncontrolled autoimmunity [J]. J Exp Med, 2008, 205(9):1983-1991.
- [25] Ouyang L, Lv YD, Hou C, et al. Quantitative analysis of the association between interleukin-10 1082A/G polymorphism and susceptibility to sepsis [J]. Mol Biol Rep, 2013, 40(7):4327-4332.
- [26] 吴铁军, 张丽娜, 亢翠翠. 乌司他丁对严重脓毒症患者炎症免疫失衡的调理作用 [J]. 中国危重病急救医学, 2013, 25(4):219-223.
- [27] 徐杰, 张斌, 于娜, 等. 大黄联合山莨菪碱对严重脓毒症患者免疫功能的影响 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2012, 19(2):65-67.
- [28] 姚咏明. 免疫功能紊乱在脓毒症发病中的作用及意义[J]. 中国危重病急救医学, 2007, 19(3):138-141.

(收稿日期:2013-11-27) (本文编辑:李银平)

· 医学人文 ·

战火中诞生的西南联大(二) ——办学之道

陈德昌

原清华大学校长梅贻琦先生是我国近代教育史上的一位重要人物。他说：“所谓大学者，非谓有大楼之谓也，有大师之谓也。”大学有责任为中国的未来培养人才。他认为“师资为大学第一要素”。他非常重视教师在大学教育中的作用。清华大学对师资人才的遴选和聘请是严格的。当年清华学生有三难：进校门难、读学分难、出校门难，学生没有补考机会，学校对教学质量的要求是严格的。梅贻琦先生这几句名言，值得我们铭记和沉思。

20 世纪初期，中华民族多灾多难。日本军队占领东北以后，1937 年挑起卢沟桥事变，向中国发动进攻。北京、南京、武汉相继失守。为战火所逼，北京大学、清华大学、南开大学三校师生在梅贻琦、蒋梦麟、张伯苓 3 位校长的率领下，经过艰难跋涉，南迁昆明，临时组建国立西南联合大学。“神州遍洒黎元血”，“绝徼移栽楨干”，谱写了中国大学历史上一曲悲壮之歌。

从 1938 年 6 月到 1946 年 6 月，西南联大在云南整整 8 年。学校以昆明城外 124 亩荒地作为校址，修建学生宿舍 36 栋，全是土墙茅草顶结构，雨天漏水。教室、办公室、实验室 56 栋，为土墙铁皮顶结构。大雨敲打铁皮顶，声响干扰学生听课。学生们夜间分散到各街道茶馆自学。只有食堂 2 栋，图书馆 1 栋，为砖木结构。

“师资为大学第一要素”。西南联大荟集教授 300 余人，他们是：陈寅恪、赵元任、吴有训、梁思成、王力、朱自清、冯友兰、沈从文、闻一多、钱穆、钱钟书、周培源、费孝通、朱光亚、华罗庚等人。他们是各学科的顶级学者，是为中华民族争生存的爱国者。西南联大实行“校长负责制”。梅贻琦、蒋梦麟、张伯苓 3 位校长组成校务委员会，由梅贻琦校长主政。西南联大校长和教授是在苦难中挺起的民族脊梁。

西南联大历史短暂，却造就了一批国家建设需要的优秀人才。出身于西南联大的老师和学生中，1949 年担任中央研究院首届院士 27 人、中国科学院院士 154 人、中国工程院院士 12 人，获得两弹一星功勋奖 8 人，获国家最高科学技术奖 4 人。西南联大从军学生前后共 834 人，有的牺牲战场。学生中有杨振宁、李政道 2 人获得诺贝尔奖。“所谓大学者，有大师之谓也。”要有高水平的师资，保证高质量的教学。

“西南联大肇始于国破家亡之秋，在危难中成长，其寿命不过 8 年而已，在我国高等教育史上，西南联大成就了一段历史，实现了一个梦想，奠定了大学之道。”西南联大的历史代表着一种精神，展示了正确的办学之道。在日军大举进犯、战火纷飞的年代里，不惜一切代价，保护和培养人才，教育没有中断，大学没有停办。这是西南联大告诉我们一条深刻的启示，是一份珍贵的遗产。

作者单位:100730 北京协和医院

(收稿日期:2013-12-23)

通信作者:陈德昌, Email: chendechang1932@aliyun.com

(本文编辑:李银平)