

loss[J]. Int J Antimicrob Agents, 2008, 31(6): 523-526.

[21] Conejo MC, Hernández JR, Pascual A. Effect of porin loss on the activity of tigecycline against *Klebsiella pneumoniae* producing extended-spectrum β -lactamases or plasmid-mediated AmpC-type β -lactamases[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2008, 61(3): 343-345.

[22] Schneiders T, Amyes SG, Levy SB. Role of AcrR and ramA in fluoroquinolone resistance in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Singapore[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2003, 47(9): 2831-2837.

[23] 彭少华, 聂署萍, 吴琼. 主动外排系统与肺炎克雷伯菌耐药关系研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2006, 16(9): 965-968.

[24] 李娟, 李从荣, 黄俊, 等. 肺炎克雷伯菌中质粒介导耐喹诺酮类耐药基因 *qnr* 的流行现状及耐药特征[J]. 现代检验医学杂志, 2008, 23(4): 28-29.

[25] Zhang F, Pan YH, Lu GZ, et al. Discovery of a *Klebsiella pneumoniae* isolate with multiple quinolone-resistant mechanisms in China[J]. J Hosp Infect, 2010, 76(2): 181-182.

[26] 徐艳, 付英梅, 张文莉, 等. 肺炎克雷伯菌 *gyrA* 基因与 *parC* 基因的突变研究[J]. 中国微生态学杂志, 2008, 20(4): 350-352.

[27] Yu F, Wang L, Pan J, et al. Prevalence of 16S rRNA methylase genes in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a Chinese teaching hospital: coexistence of *rmtB* and *armA* genes in the same isolate[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 64(1): 57-63.

[28] Stokes HW, Hall RM. A novel family of potentially mobile DNA elements encoding site-specific gene-integration functions: integrons[J]. Mol Microbiol, 1989, 3(12): 1669-1683.

[29] Hall RM, Brookes DE, Stokes HW. Site-specific insertion of genes into integrons: role of the 59-base element and determination of the recombination cross-over point[J]. Mol Microbiol, 1991, 5(8): 1941-1959.

[30] Yang CM, Lin MF, Lin CH, et al. Characterization of antimicrobial resistance patterns and integrons in human fecal *Escherichia coli* in Taiwan[J]. Jpn J Infect Dis, 2009, 62(3): 177-181.

[31] 李涛, 卢义柱, 凌华志, 等. 肺炎克雷伯菌 II 类整合子的分布及结构分析[J]. 临床输血与检验, 2007, 9(3): 197-199.

[32] 顾兵, 童明庆, 刘根焰, 等. 整合子介导大肠埃希菌和克雷伯菌多重耐药机制的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(8): 725-729.

[33] Pournaras S, Ikonomidis A, Tzouveleakis LS, et al. VIM-12, a novel plasmid-mediated metallo-beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae* that resembles a VIM-1/VIM-2 hybrid[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49(12): 5153-5156.

[34] Penteado AP, Castanheira M, Pignatari AC, et al. Dissemination of blaIMP-1-carrying integron In86 among *Klebsiella pneumoniae* isolates harboring a new trimethoprim resistance gene *dfr23*[J]. Diagn Microbiol Infect Dis, 2009, 63(1): 87-91.

(收稿日期: 2011-12-09)

γ -干扰素诱导蛋白 10 在结核病诊断中的研究进展

龚春竹 综述, 朱朝敏[△] 审校

(重庆医科大学附属儿童医院感染消化科, 重庆 400014)

关键词: γ -干扰素诱导蛋白 10; 结核; 诊断; 综述

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.06.049

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)06-0738-03

据世界卫生组织估计, 全球有约 20 亿结核分枝杆菌(MT)感染患者, 每年有约 200 万人死于结核病^[1]。结核病的早期诊断对患者预后及疫情控制都至关重要^[2]。传统诊断方法存在较多不足: 痰涂片镜检检出率低, 普通微生物培养法耗时长, 结核抗体检测灵敏度和特异性较低^[3]。结核菌素皮内试验(TST)是结核病快速诊断的惟一方法, 但接种卡介苗以及非结核分枝杆菌的存在均可导致假阳性结果, 其检测灵敏度易受患者年龄、机体免疫及营养状态影响^[4]。 γ -干扰素(IFN- γ)释放试验(IGRAs)亦可用于结核病的诊断, 但受患者年龄的影响大, 对婴幼儿患者的诊断灵敏度较低^[5]。虽有研究显示体液新喋呤水平检测有助于肺结核诊断, 但尚待更多的试验支持^[6]。众多研究证实 INF- γ 诱导蛋白 10(IP-10)是可用于结核病诊断的新的生物标记物。

1 IP-10 诊断结核病的研究概况

1.1 IP-10 生物学特点 Luster 等^[7]于 1985 年在活化的 U937 细胞株中证实 IP-10 的存在, 又名 CXCL10, 被认为是 CXC 家族中惟一能够吸引单核细胞、自然杀伤细胞和 T 淋巴细胞的趋化因子。IP-10 具有多种重要的生物学功能, 参与很多疾病的发生、发展。IP-10 能作为趋化因子介导 Th1 型炎症反应, 与肺结核、系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎等疾病发病

有关, 也可调控肿瘤血管生成。CXCR3 是 IP-10 的惟一受体^[8]。CXCR3 主要表达于髓系白细胞亚群、肺泡细胞、上皮细胞、血管内皮细胞等。IP-10 与靶细胞 CXCR3 结合后, 通过一系列信号转导途径介导免疫细胞的迁移、活化, 而活化的免疫细胞则通过细胞表面受体结合各种抗原, 启动细胞内信号转导, 诱导大量相关细胞因子的表达, 启动细胞因子级联反应, 从而激活先天及特异性免疫应答系统。

1.2 IP-10 用于结核病诊断的原理 人体感染 MT 后可形成结核性肉芽肿, 后者通过在健康组织与 MT 之间形成隔离带而有利于吞噬和杀灭病菌。免疫细胞, 特别是淋巴细胞在结核免疫中有重要作用。IP-10 具有强大的趋化淋巴细胞的能力, 故在结核免疫中发挥重要作用。Walrath 等^[9]的研究表明, 在结核菌素试验阳性患者支气管滴注 0.5 U 的结核菌素后, 滴注局部组织出现淋巴细胞聚集和炎症反应, 聚集的淋巴细胞以 CD4⁺ 淋巴细胞为主, 并高水平表达 INF- γ , 推测可能与结核菌素滴注组织大量分泌的 IP-10 与支气管细胞上的 CXCR3 结合, 趋化活化淋巴细胞至炎症部位并分泌 INF- γ 有关。生理状态下, T 细胞仅分泌少量 IP-10 因此, IP-10 水平检测可辅助诊断结核病。

1.3 IP-10 的检测 就检测标本而言, 多数研究以血液作为

[△] 通讯作者, E-mail: zhuchaomin@yahoo.com.cn。

IP-10 检测标本。也有研究证实结核病患者支气管肺泡灌洗液的上清液中也可检出较高浓度的 IP-10^[10]。Cannas 等^[11]则证实肺结核患者尿液 IP-10 含量显著高于健康者。就检测方法而言,流式细胞术微球阵列法(CBA)优于酶联免疫吸附法(ELISA)。CBA 检测不仅标本用量少,还可同时检测多种免疫介质,从而缩短了最终检测结果的报告时间。但 CBA 检测价格昂贵、仪器设备要求高,难以推广应用。Cannas 等^[11]分别采用 CBA 和 ELISA 检测了 49 例受试者尿液 IP-10 水平,结果表明两种方法检测结果高度相关($r^2=0.82, P<0.0001$),表明以 ELISA 检测 IP-10 也具有可行性。Syed Ahamed Kabeer 等^[12]和 Kabeer 等^[13]学者也认为 ELISA 检测不仅操作简单,精密度也较为理想。Ruhwald 等^[14]以活动性结核病患者为试验组,健康高中生为对照组,采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)建立 IP-10 的临界值为 455 pg/mL,但未能对健康者 IP-10 水平的基线变异及较低的分析内再现率进行分析。Whittaker 等^[15]和 Petrucci 等^[16]用不同的 ELISA 试剂盒检测分别对疑似 MT 潜伏感染儿童进行了检测,发现其 IP-10 水平差异较大(1 402~19 350 pg/mL),可能也与分析间变异性有关。由此可见,IP-10 用于结核病诊断,尚需建立标准的检测体系。

2 IP-10 诊断结核病的研究进展

2.1 IP-10 在诊断活动性结核病中的应用 Syed Ahamed Kabeer 等^[12]在结核病流行地区对 175 例人类免疫缺陷病毒(HIV)阴性肺结核患者进行了检测,结果表明 IP-10 灵敏度为 91.4%,高于试管内定量干扰素-结核金标试验(QFT-IT)和 TST。Ruhwald 等^[14]检测了佩鲁贾、罗马、哥本哈根等地 9 个研究中心共 168 例活动性结核、101 例健康者和 175 例其他疾病患者的血浆 IP-10 和 IFN- γ 水平,结果显示 IP-10 和 QFT-IT 对结核病的诊断一致性较好,且 IP-10 较少受非结核病的其他感染性疾病的影响,表明 IP-10 是可用于结核病诊断的较好的生物标记物。

在免疫力低下的人群中,IP-10 依然能够维持较高的灵敏度。Kibiki 等^[17]采用免疫组化法对 HIV 阳性结核病患者进行了检测,发现 IP-10 主要产生于上皮细胞、单核-巨噬细胞、中性粒细胞,而不是淋巴细胞;考虑可能是因为 HIV 感染导致淋巴细胞减少。Goletti 等^[18]选择了结核病高发区(印度)66 例 HIV 阳性患者(28 例活动性肺结核患者、38 例非结核病患者),研究结果表明,在活动性肺结核患者中,IP-10 的诊断灵敏度(75%)高于 IFN- γ (42.9%),但特异度(57.9%)低于 IFN- γ (78.9%)。另有 2 项研究也表明 IP-10 在 HIV 阳性结核病患者中表达水平高于 IFN- γ ,说明 IP-10 在诊断合并免疫抑制的结核病方面具有一定优势^[13,19]。

Lighter 等^[20]在结核病低发区对 127 例接受结核特异性抗原刺激的儿童进行了检测,结果显示 IP-10 水平不存在年龄差异,小于 5 岁和大于(或等于)5 岁儿童全血 IP-10 含量平均值分别为 2 865、2 097 pg/mL($P=0.51$),但小于 5 岁和 5~17 岁儿童 γ -干扰素含量平均值分别为 269 和 3 080 pg/mL($P<0.0001$);说明与 IFN- γ 相比,全血 IP-10 含量没有年龄依赖性,且绝对含量更高;这项研究还证实卡介苗和非结核分枝杆菌对 IP-10 检测结果无影响。Lighter 等^[20]和 Ruhwald 等^[21]的研究均证实,在免疫系统尚未完善的低龄儿童中,IP-10 诊断结核病的灵敏度高于 IGRAs。IP-10 对结核病,尤其是儿童结核病的诊断价值大于 TST 和 IGRAs。

2.2 IP-10 在诊断结核性胸膜炎中的应用 Souza 等^[22]的体外试验表明,胸膜间皮细胞在结核性胸膜炎的免疫反应中具有

重要作用,结核性胸膜炎患者胸膜间皮细胞高表达细胞间黏附分子-1(ICAM-1),后者与其配体,即淋巴细胞功能相关抗原-1(LFA-1)结合后,可使活化的淋巴细胞向胸膜腔迁移。Okamoto 等^[23]研究了结核性胸膜炎中诱导 IFN- γ 表达的细胞因子、由 IFN- γ 诱导产生的相关细胞因子及这些因子对结核性胸膜炎的诊断价值;该研究检测了 43 例胸腔积液患者(11 例结核性胸膜炎患者、32 例恶性胸腔积液患者)胸水中 IFN- γ 及 IFN- γ 诱导产生的白细胞介素(IL)-12、IL-18、IP-10、IFN- γ 诱导的单核因子(Mig)、干扰素诱导的 T 细胞 α 趋化因子(I-TAC)的水平,结果显示上述细胞因子在结核性胸水中的含量高于恶性胸水,而且与 IFN- γ 及其他细胞因子相比,IP-10 更适用于结核性胸膜炎的诊断。吴静等^[24]采用 ELISA 方法检测了 43 例结核性胸膜炎和 33 例恶性胸腔积液患者胸水 IP-10 水平,结果显示结核性胸膜炎组胸水 IP-10 含量高于恶性胸腔积液组,诊断结核性胸膜炎的灵敏度和特异度分别为 83.7% 和 97.0%。上述研究均证实了以胸水 IP-10 水平诊断结核性胸膜炎的可行性。

2.3 IP-10 在鉴别活动性结核病与潜伏性结核感染中的局限性 Farhat 等^[25]发现 1~14 岁儿童接受结核特异性抗原刺激后,体内 IP-10 水平升高,并证实其水平与结核病暴露危险程度有较好的相关性,IP-10 水平和潜伏性结核感染有较好的相关性。Petrucci 等^[16]的研究也有类似结论。

外周血 IP-10 水平检测诊断活动性结核病灵敏度较高,但在鉴别活动性结核病与潜伏性结核感染中的作用有限。在结核病高发区(如中国),较高的潜伏性结核感染率可能降低 IP-10 协助诊断活动性结核病的临床价值。Whittaker 等^[15]将胃液、痰液或其他体液抗酸杆菌阳性或 MT 培养阳性的患者定义为活动性结核病患者,将 TST 及 QFT-IT 均阳性,但没有症状及影像学改变的患者定义为潜伏性结核感染患者,研究结果表明,在接受结核特异性抗原刺激前后,潜伏性结核感染患者 IP-10 水平平均高于活动性结核病患者,但二者之间的差异并无统计学意义,说明 IP-10 并不能区分潜伏性结核感染和活动性结核病。潜伏性结核感染患者 IP-10 基础水平高于活动性结核病患者,可能是因为潜伏性结核感染患者体内存在慢性持续炎症,使其体内细胞因子及趋化因子水平较高,从而能更有效地控制结核感染,而活动性结核病患者体内的免疫反应被抑制。目前,IP-10 基础水平是否可用于鉴别活动性结核病与潜伏性结核感染尚不清楚,有待进一步的研究证实。

3 结 语

IP-10 是诊断结核病的较好的生物标记物,尤其有利于儿童结核病及免疫抑制患者继发结核病的诊断,但不能用于鉴别活动性结核病与潜伏性结核感染。至今尚未建立 IP-10 诊断结核病的临界值及标准化的检测体系,而且有必要进一步研究以确立在不同人群中诊断结核病的结果分析体系。IP-10 对结核病诊断的诊断价值已得到证实,有望在结核病的早期诊断中发挥重要作用。

参考文献

- [1] World Health Organization. WHO report 2007: global tuberculosis control (Surveillance, Planning, Financing) [R/OL]. Geneva, Switzerland: WHO, 2008-03-27[2012-02-01], http://www.who.int/tb/publications/global_report/2007/pdf/full.pdf.
- [2] 全国结核病流行病学抽样调查技术指导组. 2000 年全国结核病流行病学抽样调查报告[J]. 中国防痨杂志, 2002, 24(2): 65-108.

- [3] 温贵华,薛碧媚. 3 种检测方法诊断结核病结果分析[J]. 国际检验医学杂志, 2007, 28(6): 507-508.
- [4] Jeena PM. The interaction of HIV and tuberculosis in childhood[J]. S Afr Med J, 2007, 97(2): 989-991.
- [5] Detjen AK, Keil T, Roll S, et al. Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis[J]. Clin Infect Dis, 2007, 45(3): 322-328.
- [6] 孙艳,王景阳,朱一堂,等. 体液新蝶呤水平在肺结核诊断及肺部疾病[J]. 国际检验医学杂志, 2008, 29(6): 506-507.
- [7] Luster AD, Unkles JC, Ravetch JV, et al. Gamma-interferon transcriptionally regulates an early-response gene containing homology to platelet proteins[J]. Nature, 1985, 315(6021): 672-676.
- [8] Chang MX, Sun BJ, Nie P. The first non-mammalian CXCR3 in a teleost fish: Gene and expression in blood cells and central nervous system in the grass carp[J]. Mol Immunol, 2007, 44(6): 1123-1134.
- [9] Walrath J, Zukowski L, Krywiak A, et al. Resident Th1-like effector memory cells in pulmonary recall responses to Mycobacterium tuberculosis[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2005, 33(1): 48-55.
- [10] Juffermans NP, Verbon A, van Deventer SJ, et al. Elevated chemokine concentrations in sera of human immunodeficiency virus (HIV)-seropositive and HIV-seronegative patients with tuberculosis: a possible role for mycobacterial lipoarabinomannan[J]. Infect Immun, 1999, 67(8): 4295-4297.
- [11] Cannas A, Calvo L, Chiacchio T, et al. IP-10 detection in urine is associated with lung diseases[J/OL]. BMC Infect Dis, 2010-11-22 [2012-02-11], <http://www.biomedcentral.com/1471-2334/10/333>.
- [12] Syed Ahamed Kabeer B, Raman B, Thomas A, et al. Role of QuantiFERON-TB gold, interferon gamma inducible protein-10 and tuberculin skin test in active tuberculosis diagnosis[J/OL]. PLoS One, 2010-02-04 [2012-02-11], <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0009051>.
- [13] Kabeer BS, Sikhamani R, Raja A, et al. Comparison of interferon gamma and interferon gamma-inducible protein-10 secretion in HIV-tuberculosis patients[J]. AIDS, 2010, 24(2): 323-325.
- [14] Ruhwald M, Dominguez J, Latorre I, et al. A multicentre evaluation of the accuracy and performance of IP-10 for the diagnosis of infection with M. tuberculosis[J]. Tuberculosis, 2011, 91(3): 260-267.
- [15] Whittaker E, Gordon A, Kampmann B, et al. Is IP-10 a better biomarker for active and latent tuberculosis in children than INF gamma[J/OL]. PLoS One, 2008-12-09 [2012-02-11], <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2588495/?tool=pubmed>.
- [16] Petrucci R, Abu Amer N, Gurgel RQ, et al. Interferon gamma, interferon-gamma-induced-protein 10, and tuberculin responses of children at high risk of tuberculosis infection[J]. Pediatr Infect Dis J, 2008, 27(12): 1073-1077.
- [17] Kibiki GS, Myers LC, Kalambo CF, et al. Bronchoalveolar neutrophils, interferon gamma-inducible protein 10 and interleukin-7 in AIDS-associated tuberculosis[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 148(2): 254-259.
- [18] Goletti D, Raja A, Syed Ahamed Kabeer B, et al. Is IP-10 an accurate marker for detecting M. tuberculosis-specific response in HIV-infected persons[J/OL]. PLoS One, 2010-09-07 [2012-02-11], <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0012577>.
- [19] Aabye MG, Ruhwald M, Praygod G, et al. Potential of interferon-gamma-inducible protein 10 in improving tuberculosis diagnosis in HIV-infected patients[J]. Eur Respir J, 2010, 36(6): 1488-1490.
- [20] Lighter J, Rigaud M, Huie M, et al. Chemokine IP-10: an adjunct marker for latent tuberculosis infection in children[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2009, 13(6): 731-736.
- [21] Ruhwald M, Petersen J, Kofoed K, et al. Improving T-cell assays for the diagnosis of latent TB infection: potential of a diagnostic test based on IP-10[J/OL]. PLoS One, 2008-08-06 [2012-02-11], <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0002858>.
- [22] Souza MC, Penido C, Costa MF, et al. Mechanisms of T-lymphocyte accumulation during experimental pleural infection induced by Mycobacterium bovis BCG[J]. Infect Immun, 2008, 76(12): 5686-5693.
- [23] Okamoto M, Kawabe T, Iwasaki Y, et al. Evaluation of interferon-gamma, interferon-gamma-inducing cytokines, and interferon-gamma-inducible chemokines in tuberculous pleural effusions[J]. J Lab Clin Med, 2005, 145(2): 88-93.
- [24] 吴静,徐建,张映铭,等. 干扰素诱导蛋白 10 对结核性胸膜炎的诊断价值[J]. 南京医科大学学报, 2009, 10: 1432-1434.
- [25] Farhat M, Greenaway C, Pai M, et al. False-positive tuberculin skin tests: what is the absolute effect of BCG and non-tuberculous mycobacteria[J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2006, 10(11): 1192-1204.

(收稿日期: 2011-10-08)

• 综 述 •

人乳头瘤病毒分型检测应用于宫颈癌筛查研究进展

潘祖汉^{1,2}, 戈立秀^{1,3} 综述, 吴尚为^{1,3}△ 审校

(1. 广州金域医学检验中心, 广州 510330; 2. 中南大学湘雅医学院, 长沙 410013;

3. 天津医科大学, 天津 300070)

关键词: 宫颈肿瘤; 人乳头瘤病毒; 基因型; 综述

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2012. 06. 050

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)06-0740-04

宫颈癌是女性常见恶性肿瘤之一, 发病率仅次于乳腺癌, 在发展中国家, 宫颈癌发病率位于女性恶性肿瘤之首。据调

查, 全世界每年约有 50 万人罹患宫颈癌, 30 万患者死亡, 其中 80% 发生在发展中国家^[1]; 中国每年新发病例约 10 万, 占世界

△ 通讯作者, E-mail: shangwei10021@yahoo. com.