tion of ready-to-bake commercial prepackaged cookie dough--United States, 2009[J]. Clin Infect Dis, 2012, 54(4): 511-518.

[2] Slayton RB, Turabelidze G, Bennett SD, et al. Outbreak of Shiga Toxin-Producing Escherichia coli (STEC) O157: H7 Associated with Romaine Lettuce Consumption, 2011[J]. PLoS One, 2013, 8(2): e55300.

[3] Ateba CN, Mbewe M. Detection of Escherichia coli O157: H7 virulence genes in isolates from beef, pork, water, human and animal species in the northwest province, South Africa: public health implications[J]. Res Microbiol, 2011, 162(3): 240-248.

[4] Ngwa GA, Schop R, Weir S, et al. Detection and enumeration of E. coli O157: H7 in water samples by culture and molecular methods[J]. J Microbiol Methods, 2013, 92(2): 164-172.

[5] Park SH, Ryu S, Kang DH. Improved selective and differential medium for isolation of Escherichia coli O157: H7[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(1): 405-408.

[6] 宋宏新，马冬，薛海燕，等. 双抗夹心 ELISA 法定量检测食品中大肠杆菌 O157: H7 初探[J]. 食品科学，2008，29(10)：528-530.

[7] 王玉金，杨书豪，刘丽，等. 大肠杆菌 O157: H7 胶体金免疫层析快速检测法的建立[J]. 河南科学，2012，3(7)：874-877.

[8] Brunt J, Webb MD, Peck MW. Rapid affinity immunochromatography column-based tests for sensitive detection of Clostridium botulinum neurotoxins and Escherichia coli O157[J]. Appl Environ Microbiol, 2010, 76(13): 4143-4150.

[9] 侯楠楠，谌志强，金敏，等. 基于功能化纳米粒子的大肠杆菌 O157: H7 检测技术研究[J]. 环境与健康杂志，2010，7(5)：410-412.

[10] Shen ZQ, Wang JF, Qiu ZG, et al. QCM immunosensor detection of Escherichia coli O157: H7 based on beacon immunomagnetic nanoparticles and catalytic growth of colloidal gold[J]. Biosens Bioelectron, 2011, 26(7): 3376-3381.

[11] Hermos CR, Janineh M, Han LL, et al. Shiga Toxin-Producing Escherichia coli in Children: Diagnosis and Clinical Manifestations of O157: H7 and Non-O157: H7 Infection[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(3): 955-959.

[12] Wang P, Xiong Y, Lan R, et al. pO157_Sal, a novel conjugative plasmid detected in outbreak isolates of Escherichia coli O157: H7[J]. J Clin Microbiol, 2011, 49(4): 1594-1597.

[13] 吴家林，肖勇，凌霞，等. 肠出血性大肠杆菌 O157 H7 多重 PCR 快速检测研究[J]. 现代预防医学，2009，36(1)：117-119.

[14] 王海河，梁松鹤，林雪松，等. 肠出血型大肠埃希菌免疫 PCR 检测方法的建立[J]. 齐齐哈尔医学院学报，2011，32(6)：865-856.

[15] 徐德顺，沈月华，程平庆. 大肠杆菌 O: H 实时荧光 PCR 快速检测方法的建立[J]. 上海预防医学杂志，2009，21(4)：174-177.

[16] 易海华，赵金伟，徐波，等. 使用环介导等温扩增技术快速检测食品中肠出血性大肠杆菌 O157: H7 的初步研究[J]. 中国食品卫生杂志，2010，22(3)：206-213.

（收稿日期：2013-02-05）

·综　　述·

细胞微粒整体特征的研究进展

李　倩 综述，辛晓敏△，金英玉 审校

（哈尔滨医科大学第一附属医院检验科，黑龙江哈尔滨 150000）

关键词：细胞微粒；　形成过程；　炎症；　凝血反应；　血管形成

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.035　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1673-4130(2013)19-2572-04

细胞微粒(microparticles，MPs)，也称微囊泡，是各类细胞遭受一系列应激(激活或凋亡)时，从细胞浆膜上脱落而释放的一些膜性小囊泡。1967 年，Wolf[1] 首先发现并描述了血小板微粒，称之为“血小板尘埃”。后来的研究证实，红细胞、白细胞、内皮细胞、平滑肌细胞、肿瘤细胞等均可释放细胞微粒，并以其细胞表面标记来分类这些微粒。目前为止微粒没有一个确切的定义，只是普遍的认为它是一种球形结构的、直径在 0.1～1 μm 的异源群体，它是携带有其亲代细胞的特异性抗原的磷脂囊泡，通过出芽方式释放。健康人外周血中也存在一定微粒，其中血小板来源的微粒占总体的 70%～90%。

除具有原始的生物特征外，最新研究表明微粒在循环细胞和血管细胞间的相互交流中起重要作用[2]：他们能够促进细胞-细胞间相互作用、传递细胞信号、传输不同细胞类型的受体。可见微粒在疾病的发生发展中起重要作用。为了更好了解微粒的生理特征和作用机制，本文主要陈述微粒的形成、组成和其在疾病中的病理生理功能，以便为临床提供更好的诊断和治疗措施。

1　微粒的形成

细胞凋亡与细胞活化产生的微粒在大小、磷脂和蛋白的含量、生理作用上是不同的。当然，微粒的形成是一个十分复杂的过程其具体机制并不明确。在正常情况下，细胞膜脂质双层成分的不对称性主要是由三种酶共同作用来维持的：flippases，floppases，scramblases。才能保证磷脂酰胆碱(PC)和鞘磷脂(SM)保持在脂质双层的外侧，磷脂酰丝氨酸(PS)和磷脂酰乙醇胺(PC)在内侧[3]。细胞一旦被激活，流入细胞质的 Ca^{2+} 抑制 flippases，活化 floppases，and scramblases[4]，这种正常的磷脂排列就被打乱，这是微粒产生过程中关键的一步。

1.1　细胞活化途径　微粒可通过激活剂或其他因素激活细胞产生。细胞活化产生的微粒具有时间和 Ca^{2+} 依赖性[5]。激活剂与细胞上受体结合后引起细胞内 Ca^{2+} 浓度增加，尤其在囊泡形成的部位，这是细胞活化的第一个信号。Ca^{2+} 的增加促使细胞内钙激活蛋白激酶的活化并抑制磷脂酶，进而激活钙蛋白酶[3]。EDTA 和细胞外 Ca^{2+} 进行螯合后可阻止细胞内钙的增加进而阻断微粒的释放。细胞骨架的破坏是促进微粒形成的另一因素，细胞骨架由多种蛋白组成其中包括肌动蛋白、黏着斑蛋白、踝蛋白等，活化的钙蛋白酶可以降解细胞骨架中的踝蛋白，引起细胞收缩和细胞膜的破坏，细胞收缩的同时细胞膜向外伸展变形形成伪足，在变形的细胞膜上胞膜以出芽方式

作者简介：李倩，女，在读硕士研究生，主要从事止血与血栓方面的研究。　△　通讯作者，E-mail：xinxiaomin0451@yahoo.com。

形成囊泡脱落,或伪足断裂形成微粒。

血小板微粒(Platelet Microparticles,PMPs)的形成还可以通过纤维蛋白原与活化的血小板糖蛋白 IIb-IIIa 连接来实现,纤维蛋白原的连接位点主要是 arg-gly-asp(RGD)序列,加入人工合成 RGD 序列肽不仅可阻止纤维蛋白原结合活化血小板,也可阻止微粒的释放[5]。

1.2　细胞凋亡的途径　细胞凋亡是以细胞收缩、DNA 碎裂、动态膜皱缩为特征的细胞死亡过程,凋亡诱导物使细胞内半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶活化,活化的半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶激活 ROCK1(Rho 相关激酶),ROCK1 可使细胞骨架上肌动蛋白和肌球蛋白复合物产生强大的收缩力,细胞收缩细胞骨架破坏引起微粒释放。在此过程中凋亡细胞核区的 DNA 碎片可能会随着细胞的收缩进入膜囊泡内,所以细胞凋亡形成的微粒可能含有 DNA[5]。最近研究表明 ROCK-Ⅱ也参与了微粒的释放,并且发现使用 Rho-激酶的抑制剂可减少微粒的形成[6]。

2　微粒的成分

微粒主要由磷脂和蛋白组成,含量的不同主要取决于细胞来源和形成微粒的过程。

2.1　磷脂　微粒由磷脂双分子层构成。静息状态下细胞上磷脂分布是不对称的,但在微粒形成的过程中这种不对称被打破,带负电荷的磷脂外翻,暴露在微粒表面。

研究表明,在健康人群中血小板微粒以磷脂酰胆碱为主,大约占 60%,其余由鞘磷脂、磷脂酰乙醇胺和磷脂酰丝氨酸组成[7]。这与血小板自身的膜结构有显著差别,可能与其他细胞来源微粒的污染或与细胞选择性释放有关。在关节炎患者中,Fourcade 等[8]对关节滑液中的微粒进行研究表明:微粒成分中含有磷脂酰胆碱、磷脂酰乙醇胺、鞘磷脂和溶血磷脂(分别占 20%～25%),还含有少量的磷脂酰丝氨酸。这明显不同于健康人中血小板微粒的组成,这是因为滑液中微粒主要来源于白细胞,由此得出,不同细胞来源的微粒磷脂成分不同。

2.2　蛋白质　已经报道微粒表面有 300 多种蛋白质,分别来自细胞膜和细胞质。微粒表面抗体根据细胞来源和细胞对刺激的反应而有所不同。微粒表面的抗原是来源细胞的特异性标志,无论细胞活化还是凋亡都存在细胞表面,可以鉴别微粒的细胞来源。微粒表面也包含一些分子,这些分子是细胞活化或凋亡时转移到细胞膜上的,例如活化的内皮细胞释放的微粒表达 E 选择素,血小板微粒表达 P 选择素、糖蛋白 53 等。

微粒和其来源细胞的表面抗原也存在差异。T 细胞微粒缺乏的蛋白 CD28 和 CD45 却大量存在于 T 细胞表面。用补体 C5b-9 复合物激活血小板产生的微粒相对于血小板来说含有大量的 C9-肿瘤抗原和 C5b-9,表明微粒可能是在血小板 C5b-9 位点脱落的。

微粒表面成分根据激活剂的不同也有变化。由凝血酶和胶原激活产生的 PMPs 表面 GPIIb-IIIa 可以连接纤维蛋白原,但由 C5b-9 产生的 PMPs 却不能与纤维蛋白原结合[9]。有研究表明即使一种激活剂激活一种细胞也会产生不一样的微粒。

因此,微粒的产生必须是一个非常精细的调节才能保证在特定的条件下产生具有特定功能的微粒。

3　微粒的生理特征

3.1　微粒在炎症方面的作用

3.1.1　微粒促进炎症反应的发生　炎症形成过程中,单核细胞和中性粒细胞通过配体黏附到内皮细胞表面,接着中性粒细胞发生迁徙,这是炎症发生过程中关键的一步。研究发现与内皮细胞黏附分子结合的配体不仅存在于白细胞上,也存在其微粒上。PMPs 在炎症中也起重要作用。PMPs 促进内皮细胞黏附分子的表达和细胞因子的释放,刺激中性粒细胞受体的表达。PMPs 跨细胞间传递的趋化因子 RANTES 可促进单核细胞与内皮细胞的相互作用。微粒还可通过磷脂酶 A2 对自身磷脂的分解产生花生四烯酸(AA),AA 是一个潜在的促炎介质。动脉斑块中的微粒,可通过暴露活化的肿瘤坏死因子-α(TNF-α)转化酶和 ADAM17(TNF-α 转化酶)来增加 TNF-α 的释放,并且加强其受体的裂解防止 TNF-α 灭活[10]。

3.1.2　微粒在抑制炎症反应方面的作用　Gasser 等[11]发现中性粒细胞微粒在炎症早期起抗炎症作用。中性粒细胞微粒通过抑制转化因子 β1 的释放来抑制巨噬细胞活化,阻止巨噬细胞和内毒素的炎症应答。最新发现这些微粒还具有内源性抗炎蛋白即膜联蛋白 A1,通过抑制中性粒细胞和内皮细胞的黏附起到抗炎的作用[12]。

3.2　微粒在血液凝固方面的作用

3.2.1　微粒促进血液凝固　微粒的凝血活性主要来自表面的 PS 和组织因子(TF),并且 PS 可增加 TF 的促凝活性。微粒的凝血活性依靠凝血酶产生实验进行定量[13]。

TF 是启动外源性凝血的重要因子,TF 与 FVⅡ结合形成 TF-FVⅡa 复合物启动外源性凝血瀑布,FVⅡa 进一步激活内源性凝血途径中的 FX、FXI。循环中的 TF 大部分来源于单核和巨噬细胞微粒,白细胞、内皮细胞和血小板微粒表面也表达 TF。微粒表面存在 P-选择素的受体 PSGL-1,不仅可以通过 P-选择素连接活化的血小板,还可以与血小板融合来传递 TF。Del Conde 等发现来自单核、巨噬细胞胆固醇丰富的膜区域的微粒高表达 TF 和 PSGL-1,缺乏 CD45[14]。前瞻性研究表明 TF+MPs 的水平可作为血栓危险因素的生物标志[15]。微粒表面的 PS 为因子Ⅱa、Va、VⅡIa、IXa 等提供了连接位点。在 Ca^{2+} 的存在下,PS 与凝血因子结合形成 tenase 和凝血酶原复合物,促进凝血酶的生成。内皮细胞微粒(endothelial microparticles,EMPs)表达大量的 VWF,能促进血小板与内皮的黏附和血小板自身的聚集。

虽然微粒在体内是否促凝并不是完全清楚,但大量数据表明微粒介导的凝血有重要的临床意义:循环微粒的数量和血栓发生风险具有相关性。例如:健康人体内存在少量的血小板、红细胞 PS+、TF+MP,其含量是不可测到的。但在一些疾病如急性冠脉综合征、糖尿病、尿毒症、癌症等中,白细胞、癌细胞和内皮细胞来源的 PS+、TF+MP 水平非常高[16]。

3.2.2　微粒抗凝血作用　暴露于微粒表面的 α mβ2 通过连接尿激酶型纤溶酶原活化剂、纤溶酶和金属蛋白 MMP-2、MMP-5 引起纤维蛋白溶解和组织重构。EMPs 上的组织因子途径抑制物(TFPI)与 Xa 形成的复合物可抑制 TF:FVⅡa。正常情况下 TFPI 和 TF:FVⅡa 保持相对平衡,但在病理情况下这种相对平衡就会被打破,例如:正常人体中 TF+MP/TFPI+MP 的值为 0.4,在癌症患者中 TF+MP/TFPI+MP 值显著升高为 0.9,说明癌症患者处于一个高凝状态,并可预测血栓形成风险[23]。除此之外 EMPs 也表达内皮细胞蛋白 C 受体(mpEPCR),凝血酶与内皮细胞表面的血栓调节蛋白(TM)形成复合物激活连接在 EPCR 上的蛋白 C(PC)活化的蛋白 C(APC)灭活 FV、FVⅢ,限制 FXa 与血小板结合,增强纤维蛋白的溶解。有研究表明败血症中含有可溶性的 EPCR(sEPCR),其浓度的高低与疾病的严重程度相关。sEPCR 与 mpEPCR 作用相反,sEPCR 钝化 PC 和 APC 的活性。所以 APC 的活性取决于循环中 sEPCR 和 mpEPCR 的浓度[17-18]。

3.3　微粒对血管功能的调节　微粒对血管功能的调节主要体现在两方面：血管形成和血管反应性。

3.3.1　血管形成　在血管功能上，首先发现微粒有促进血管形成的作用。在血管形成过程中，内皮细胞是主要的骨架结构。PMPs 把血小板黏附分子受体转移至造血干细胞可以促进内皮细胞的归巢，使内皮细胞在血管形成部位迁徙、黏附。给心脏缺血的老鼠注射 PMPs 能够促进老鼠心肌层血管再生。而且发现从动脉粥样硬化患者的斑块中分离的 PMPs 通过 CD40L 可增加血管内皮生长因子的产生和新血管的形成[19]。有研究表明 EMPs 调节血管形成的效果与 EMPs 的浓度有关：在生理水平上，EMPs 不具有促进血管再生的性能，但在病理条件下，EMPs 浓度增高了 100 倍，反而具有破坏新生血管、增加细胞凋亡的作用[19]。肿瘤细胞微粒的鞘磷脂和 TF 的胞质区通过上调血管内皮生长因子引起内皮细胞迁徙促进血管再生[20]。

3.3.2　血管反应性　在严重的疾病条件下，如感染性休克、脑外伤等，血液中的 EMPs、PMPs 显著升高。一般认为微粒是第一个把有害信息传达给内皮引起血管反应的物质[21]。

在病理情况下，磷脂酶 A2 分解 PMPs 表面的磷脂产生 AA，AA 在环氧酶作用下转变为前列腺素环内过氧化物（PGG2，PGH2）。PGG2 和 PGH2 在血栓烷合成酶作用下生成血栓烷 A2，促进血小板聚集和血管收缩。这种作用能被血栓素受体抑制剂和血栓素合酶的抑制剂抑制。PGI2 和 NO 是内皮细胞产生的血管松弛舒张物质，EMPs 诱导产生的超氧化自由基影响内皮细胞依赖性舒张和 NO 的产生，降低 NO 的生物利用率[22]。

3.4　微粒介导的生物信息传递　目前对微粒介导的细胞间信息传递的研究越来越多，它主要通过两种机制实现：(1)微粒表面具有生物学活性的脂类物质与靶细胞相互作用，激活信号传导通路，促进细胞的生存与增殖。(2)微粒直接将自身成分其他抗原物质传递给靶细胞，调节靶细胞的生物学效应。两种机制都能实现循环系统中近距离和远距离的信号传递[21]。

PMPs 通过转移 CD41 抗原而增强骨髓来源的造血干细胞对胶原蛋白的黏附能力；通过 PMP 表面 CD40 的配体来增强骨髓来源的造血干细胞的生存能力，促进骨髓移植后免疫系统和造血功能的恢复。PMPs 作为 CD40L 的载体，通过把 CD40L 传递给免疫细胞调节适应性免疫；和 B 细胞表面 CD40 相互作用，促进抗原特异性的 IgG 产生，与 T 细胞表面的 CD40 结合可促进生发中心的形成。PMPs 表面存在具有催化活性的蛋白质二硫化物异构酶（PDI），它参与隐蔽性 TF 的活化，并且可作为血管损伤信号来触发纤维蛋白和血栓形成[23]。

在动脉粥样硬化患者中，携带有 CD40L 的细胞微粒刺激内皮细胞增殖，从而引起斑块内血管生成和斑块的不稳定。斑块内微粒携带有 ADAM-17，通过加速 TNF 和其受体 TNFR-1 的脱落来改变和扩大炎症信号[24]。肿瘤来源的微粒可作为 FasL 的载体，通过与淋巴细胞上 Fas 结合诱导淋巴细胞凋亡[25]。

4　总　　结

大量的研究表明，循环微粒被认为是血管损伤，凝血激活、心血管稳态破坏的标志，但是，在病理生理方面如血管内皮的损伤和功能障碍、斑块新生血管的形成等方面，微粒也是一个执行者，这就对微粒的测定提出高标准，准确的测量循环中的微粒是确定患者在心血管疾病高风险和评估治疗效果的依据。因此，微粒测定的标准化是未来临床医生努力的新方向。

参考文献

[1] Wolf P. The nature and significance of platelet products in human plasma[J]. Br J Haematol, 1967, 13(3): 269-288.

[2] Lynch SF, Ludlam CA. Plasma microparticles and vascular disorders[J]. Br J Haematol, 2007, 137(1): 36-48.

[3] Mackman N. On the trail of microparticles[J]. Circ Res, 2009, 104(8): 925-927.

[4] Burnier L, Fontana P, Brenda R, et al. Cell-derived microparticles in haemostasis and vascular medicine[J]. Thromb Haemost, 2009, 101(3): 439-451.

[5] Van-Wijk MJ, Van-Bavell E, Sturk A, et al. Microparticles in cardiovascular diseases[J]. Cardiovasc Res, 2003, 59(2): 277-287.

[6] Dignat-George F, Boulanger CM. The mang faces of endothelial microparticles[J]. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2011, 31(1): 27-33.

[7] Weerheim AM, Kolb AM, Sturk A, et al. Phospholipid composition of cell-derived microparticles determined by one-dimensional high-performance thin-layer chromatography[J]. Anal Biochem, 2002, 302(2): 191-198.

[8] Fourcade O, Simon MF. Secretory phospholipase A2 generates the novel lipid mediator lysophosphatidic acid in membrane microvesides shed from activated cells[J]. Cell, 1995, 80(6): 919-927.

[9] Mause SF, Von Hundelshausen P, Zernecke A, et al. Platelet microparticles: a transcellular delivery system for RANTES prompting monocyte recruitmrnt on endothelium. Arterioscler [J]. Thromb Vasc Biol, 2005, 25(7): 1512-1518.

[10] Canault M, Leroyer AS, Peiretti F, et al. Microparticles of human atherosclerotic plaques enhance the shedding of tumor necrosis factor alpha converting enzyme/ADAM17 substrates, tumor necrosis factor and tumor necrosis factor receptor-1[J]. Am J Pathol, 2007, 171(5): 1713-1723.

[11] Gasser O, Schifferli JA. Activated polymorphonuclear neutrophils disseminate antiinflammatory microparticles by ectocytosis[J]. Blood, 2004, 104(8): 2543-2548.

[12] Dalli J, Norling LV, Renshaw D, et al. Annexinl medistes the rapid anti-inflammatory effects of neutrophil-derived microparticles [J]. Blood, 2008, 112(6): 2512-2519.

[13] Owen BA, Xue A, Heit JA, et al. Procoagulant activity, but not number, of microparticles increases with age and in individuals after a single venous thromboembolism[J]. Thromb Res, 2011, 127(1): 39-46.

[14] Lacroix R, Digant-George F. Microparticles as a circulating source of procoagulant and fibrinolytic activities in the circulation[J]. Thromb Res, 2012, 129(2): S27-29.

[15] Leroyer AS, Anfosso F, Lacroix R. et al. Endothelial-microparticles: Biological conveyors at the crossroad of inflammation, thrombosis and angiogenesis[J]. Thromb Haemost, 2010, 104(3): 456-463.

[16] Owens AP, Mackmsn N. Microparticles in hemostasis and thrombosis[J]. Circ Res, 2011, 108(10): 1284-1297.

[17] Puddu P, Puddu GM, Cravero E, et al. The involvement of circulaling microparticles in inflammation, coagulation and cardiovascular diseases[J]. Can J Cardiol, 2012, 26(4): e140-145.

[18] Martinez MC, Tesse A, Zobairi F, et al. Shed membrane microparticles from circulating and vascular cells in regulating vascular function[J]. Am J Physiol Heart Circ Physiol, 2005, 288(3): H1004-1009.

[19] Morel O,Toti F,Morel N,et al. Microparticles in endothelial cell and vascular homeostasis:are they really noxious? [J] Haematologica,2009,94(3):313-317.
[20] Brill A,Dashevsky O,Rivo J,et al. Platelet-derived microparticles induce angiogenesis and stimulate post-ischemic revascularization [J]. Cardiovasc Res,2005,67(1):30-38.
[21] Mause SF,Weber C. Microparticles:Protagonists of a novel communication network for intercellular information exchange[J]. Circ Res,2010,107(9):1047-1057.
[22] Meziani F,Delabranche X,Asfar P,et al. Bench-to-bedside review:Circulationg microparticles-a new player in sepsis? [J]Crit Care,2010,14(5):236.
[23] Reihardt C,Von BruhI ML,Manukyan D,et al. Protein disulfide isomerase acts as an injury response signal that enhances fibrin generation via tissue factor activation[J]. J Clin Invest,2008,118(3):1110-1122.
[24] Canault M,Leroyer AS,Peiretei F,et al. Microparticles of human atherosclerotic plaques enhance the shedding of the tumor necrosis factor-alpha converting enzymeladam 17 substrates,tumor necrosis factor and tumor necrosis factor receptor-1[J]. Am J Pathol,2007,171(5):1713-1723.
[25] Aharon A,Brenner B. Microparticles,thrombosis and cancer[J]. Best Pract Res Clin Haematol,2009,22(1):61-69.

(收稿日期:2013-04-02)

·综　　述·

艰难梭菌致病相关研究进展

罗　珊 综述,刘文恩△审校
(湘雅医院检验科,湖南长沙 410008)

关键词:艰难梭菌;　致病机制;　防治
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.036　　**文献标识码**:A　　**文章编号**:1673-4130(2013)19-2575-03

艰难梭菌(Clostridium difficile,Cd)为专性厌氧的革兰阳性杆菌,广泛分布于水、土壤等自然环境以及动物和人的粪便中。其主要致病因子为毒素 A(Clostridium difficile toxin A,CdtA)和毒素 B(Clostridium difficile toxin B,CdtB)。长期接受广谱抗菌药物、免疫抑制剂或化疗药物治疗,可导致肠道菌群失调,艰难梭菌过度生长并释放毒素,引发艰难梭菌感染(Clostridium difficile infection,CDI)相关疾病[1]。近年来,耐药菌株、高毒力菌株不断增多,Cd 已成为医院抗菌药物相关性腹泻的主要原因[2],引起了医学界的广泛重视。本文就 Cd 致病相关研究、CDI 的流行及防治予以简要综述。

1　微生物学性状

Cd 又称难辨梭状芽孢杆菌,由 Hall 等[3]于 1935 年首次从健康新生儿粪便中分离。其营养要求较高,常规厌氧培养法不易生长,分离培养较为困难,故此得名。使用环丝氨酸头孢西丁果糖琼脂(cyeloserine cefoxitin fructose agar,CCFA)选择培养基培养后,在紫外线下观察,可见菌落呈现特异性黄绿色荧光。其菌体粗长,大小约为(1.3～1.6)μm×(3.6～6.4)μm,无荚膜。其芽孢呈卵圆形,位于菌体近极端,抵抗力较强、耐热,可在外界环境存活数周甚至数月[1]。

2　致病机制

Cd 为健康人固有菌群的组成部分,约占 3%以下,属于条件致病菌,致病与否主要取决于是否为产毒菌株以及细菌数量和产毒量。正常情况下,人体肠道中微生物之间相互依赖、又彼此制约,维持着一定数量和比例的微生态平衡。肠道正常菌群具有一定的抵御病原体的能力,可拮抗和制约 Cd 在肠道的定殖,并降解其产生的毒素,使得 Cd 不表现致病性。在长期大量使用广谱抗菌药物、免疫抑制剂及化疗药物时,相对敏感的细菌易被杀死,肠道微生态平衡被破坏,而相对耐药的 Cd 产毒菌株则在肠道定植出芽、过度生长,并通过产生毒素介导致病。

2.1　主要毒素　Cd 产毒菌株主要产生两种外毒素,即 CdtA 和 CdtB。CdtA 为肠毒素,可与肠黏膜受体结合,趋化白细胞,激活巨噬细胞、肥大细胞及中性粒细胞,释放强效的炎症递质和细胞因子,从而引起局部黏膜血管的通透性增加,绒毛损害,黏膜出血、坏死。此外,CdtA 也有一定的细胞毒性作用。CdtB 是一种强烈的细胞毒素,其细胞毒性为 CdtA 的 1 000 倍以上。CdtB 可损害肠黏膜,解聚肌动蛋白,破坏细胞骨架,致细胞团缩、坏死,炎性细胞浸润、纤维素渗出,最终伪膜形成。近年来,BI/ NAP1/ 027 型 Cd(限制性内切酶分型:BI;脉冲场凝胶电泳分型:NAP1;核酸分型:027)被视为欧洲、北美 CDI 发病率、死亡率上升的主要原因之一[4],该高毒力菌株可产生第三种毒素,即二元毒素(binary toxin),该毒素可导致细胞骨架破坏,增强 CdtA 和 CdtB 的作用。

2.2　毒素相关基因与毒素合成调控子

2.2.1　毒素相关基因　编码 CdtA 和 CdtB 的基因(tcdA 和 tcdB)位于长度为 19.6 kb 的致病性决定区(pathogenicity locus,PaLoc),该区还包括:正向调节基因 tcdR、负向调节基因 tcdC 和类噬菌体穿孔素(holins)基因 tcdE[5]。tcdR、tcdC 分别正向、负向调节 CdtA 和 CdtB 的转录水平。以往认为 CdtA、CdtB 的释放依赖于 tcdE 的失活,但近期相关研究对此提出了质疑[6]。二元毒素由 PaLoc 外的 2 个染色体基因编码(cdtA 和 cdtB)[7]。cdtA 可阻断细胞合成肌动蛋白片段从而诱导细胞死亡,cdtB 介导毒素与细胞的结合及进入细胞。

2.2.2　毒素合成调控子　最近发现的毒素合成调控子包括:CcpA、CodY、Spo0A、SigH 及鞭毛调节子(Flagellar Regulon)。为研究碳分解代谢物阻遏(carbon catabolite repression,CCR)与 Cd 毒素合成的关系,Antunes 等[8]通过基因敲除方法构建了 JIR8094 突变株,该菌株无法合成 CCR 信号传导通路中的主要元件,包括:Enzyme I、HPr、HprK/P 和 CcpA。研究结果表明,CcpA 为 Cd 碳源利用和毒力基因表达的连接点,并且可

作者简介:罗珊,女,检验技师,主要从事临床微生物研究。　△　通讯作者,E-mail:liuwenen@gmail.com。