[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。

抑制毒素的表达。国外学者构建了 Cd CodY 突变株，他们的研究表明，CodY 的失活可抑制 Cd 在对数生长期及稳定生长期时 PaLoc 区的 5 个基因的表达[9]。Spo0A 是 Cd 孢子形成的主要调节子，作者使用基因敲除法使得 Spo0A 基因灭活，检测结果显示突变株毒素水平明显降低[10]。国外学者通过构建 SigH 基因（编码选择性 σ 因子）失活的 Cd 突变株，并培养 10 h，对比突变株与 Cd 630E 菌株的运动、孢子形成及新陈代谢相关基因（由 SigH 调控）表达水平，结果显示 60% 的基因有差异。SigH 失活突变株的 tcdA、tcdB 及 tcdR 表达上调，即突变株毒力增强[11]。国外学者构建了一系列鞭毛基因（fliC、fliF、fliG、fliM、和 flhB-fliR 等）失活的突变株，与 Cd. 630 相比，fliC 突变株培养基上清中的毒素水平显著提高且四个 PaLoc 基因（tCdR、tCdB、tCdE 和 tCdA）转录水平均显著增加，而其他突变株则呈现相反的改变。研究证明，可通过鞭毛调节子来协调 PaLoc 转录水平，进而调控毒素的水平[12]。

3　CDI 流行现状

自 1978 年，Bartlett 等[13]首次证实艰难梭菌是伪膜性结肠炎的病因以来，世界各地 CDI 的发病率、死亡率逐年升高，以美国、加拿大和欧洲地区为甚[14-17]，日本、韩国、科威特等国家和中国台湾地区的研究也支持 CDI 增加的结论[18-21]，CDI 已成为一个严重的公共卫生问题。感染人群趋于年轻化，甚至出现孕妇感染，感染场所也逐步由院内转向院外和社区[22]。目前仍认为，BI/ NAP1/ 027 型 Cd 为主要的高致病性菌株，近年来 078 型 Cd 也逐渐受到关注。以往国内对 CDI 的流行病学研究较少，近年来相关研究日益受到重视。陈冬梅等[23]对 1994～1997 年的 183 例腹泻患者检查，其中 21 例 Cd 检查阳性，患者均曾使用抗菌药物。2007 年，冯云等[24]对 111 例腹泻患儿的粪便进行 Cd 检测，其中 CdtA 阳性而 Cd 培养阴性者 16 例（其中 5 例为新生儿）。2009 年 Cheng 等[25]检测 723 份粪便样本中的 Cd 毒素，其中 37 样本呈阳性（阳性率：5.12%），经 PCR 检测发现其中 12 株为 027 型 Cd。2011 年黄海辉[26]等检测临床分离的 188 株艰难梭菌共包括 25 种核糖型别，其中以核糖型 017 型最为常见（25%），其次为 001 型和 012 型。

4　防　　治

4.1　预防　控制院内感染 Cd 的具体措施包括：(1)根本措施：合理使用抗菌药物，避免肠道菌群失调。(2)接触隔离：对于可疑感染者和患者实施隔离，进行分组护理；医务人员接触可疑感染者和患者时应穿着防护服并戴手套，接触患者后使用葡萄糖酸氯已定消毒手部；重视对可疑感染者和患者粪便进行消毒；持续执行以上措施直到腹泻停止。(3)环境清洁与消毒：对环境表面和重复使用的设备应进行充分清洁和消毒，尤其是可能被污染以及经常接触的环境表面和设备（如内镜以等），避免交叉感染。

4.2　治疗　治疗的第 1 步是停止滥用抗菌药物，如果必须使用抗菌药物，可改用其他相对不易导致 CDI 的药物，如大环内酯类、喹诺酮类，同时注意进行对症支持治疗，如纠正水、电解质紊乱，纠正低蛋白血症等。常规治疗 CDI 的抗菌药物选择甲硝唑和万古霉素，使用时应注意两者的给药途径不同，对于万古霉素采取口服或灌肠，甲硝唑采用口服或静脉注射、一般情况下首选口服给药[27]。目前认为甲硝唑的临床疗效有所下降，但是其对首次治疗和大多数轻、中度患者仍然是有效的。对于严重或暴发性 CDI 和 CDI 复发的治疗推荐使用万古霉素，但是为避免耐万古霉素的肠球菌和葡萄球菌的出现，其使用仍受到限制。

5　小　　结

目前我国除台湾以外，其他地区尚缺乏系统性的 CDI 监控数据。面对国内外 CDI 流行新特点和国内潜在流行趋势，建立、健全系统性预防体系是防控 CDI 的关键。同时，临床医务工作者需强化合理使用抗菌药物的意识，做好控制院内感染的相关工作。期待在不久的未来，对 Cd 及其致病机制的认识能更进一步加深。

参考文献

[1] Kelly CP, LaMont JT. Clostridium difficile——more difficult than ever[J]. N Engl J Med, 2008, 359(18): 1932-1940.

[2] Rupnik M, Wilcox MH, Gerding DN. Clostridium difficile infection: new developments in epidemiology and pathogenesis[J]. Nat Rev Microbiol, 2009, 7(7): 526-536.

[3] Hall IC, O'Toole E. Intestinal flora in newborn infants with a description of a new pathogenic anaerobe, Bacillus difficile[J]. Am J Dis Child, 1935, 49: 390-402.

[4] Heinlen L, Ballard JD. Clostridium difficile infection[J]. Am J Med Sci, 2010, 340(3): 247-252.

[5] Antunes A, Dupuy B. Molecular methods to study transcriptional regulation of Clostridium difficile toxin genes[J]. Methods Mol Biol, 2010, 646: 93-115.

[6] Olling A, Seehase S, Minton NP, et al. Release of TcdA and TcdB from Clostridium difficile cdi 630 is not affected by functional inactivation of the tcdE gene[J]. Microb Pathog, 2012, 52(1): 92-100.

[7] Popoff MR, Rubin EJ, Gill DM, et al. Actin-specific ADP-ribosyltransferase produced by a Clostridium difficile strain[J]. Infect Immun, 1988, 56(9): 2299-2306.

[8] Antunes A, Martin-Verstraete I, Dupuy B. CcpA-mediated repression of Clostridium difficile toxin gene expression[J]. Mol Microbiol, 2011, 79(4): 882-899.

[9] Dineen SS, Villapakkam AC, Nordman JT, et al. Repression of Clostridium difficile toxin gene expression by CodY[J]. Mol Microbiol, 2007, 66(1): 206-219.

[10] Underwood S, Guan S, Vijayasubhash V, et al. Characterization of the sporulation initiation pathway of Clostridium difficile and its role in toxin production[J]. J Bacteriol, 2009, 191(23): 7296-7305.

[11] Saujet L, Monot M, Dupuy B, et al. The key sigma factor of transition phase, SigH, controls sporulation, metabolism, and virulence factor expression in Clostridium difficile[J]. J Bacteriol, 2011, 193(13): 3186-3196.

[12] Aubry A, Hussack G, Chen W, et al. Modulation of toxin production by the flagellar regulon in Clostridium difficile[J]. Infect Immun, 2012, 80(10): 3521-3532.

[13] Bartlett JG, Chang TW, Gurwith M, et al. Antibiotic-associated pseudomembranous colitis due to toxin-producing clostridia[J]. N Engl J Med, 1978, 298(10): 531-534.

[14] McDonald LC, Owings M, Jernigan DB. Clostridium difficile infection in patients discharged from US short-stay hospitals, 1996－2003[J]. Emerg Infect Dis, 2006, 12(3): 409-415.

[15] Redelings MD, Sorvillo F, Mascola L. Increase in Clostridium difficile-related mortality rates, United States, 1999-2004[J]. Emerg Infect Dis, 2007, 13(9): 1417-1419.

[16] Burckhardt F, Friedrich A, Beier D, et al. Clostridium difficile surveillance trends, Saxony, Germany[J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(4): 691-692.

[17] Gravel D, Miller M, Simor A, et al. Health care-associated Clostridium difficile infection in adults admitted to acute care hospitals in Canada: a Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program Study[J]. Clin Infect Dis, 2009, 48(5): 568-576.
[18] Iwashima Y, Nakamura A, Kato H, et al. A retrospective study of the epidemiology of Clostridium difficile infection at a University Hospital in Japan: genotypic features of the isolates and clinical characteristics of the patients[J]. J Infect Chemother, 2010, 16(5): 329-333.
[19] Park HS, Han DS. Is Clostridium difficile infection increasing in Korean[J]. Korean J Gastroenterol, 2010, 55(3): 208-210.
[20] Jamal W, Rotimi VO, Brazier J, et al. Analysis of prevalence, risk factors and molecular epidemiology of Clostridium difficile infection in Kuwait over a 3-year period[J]. Anaerobe, 2010, 16(6): 560-565.
[21] Chung CH, Wu CJ, Lee HC, et al. Clostridium difficile infection at a medical center in southern Taiwan: incidence, clinical features and prognosis[J]. J Microbiol Immunol Infect, 2010, 43(2): 119-125.
[22] Louie TJ, Miller MA, Mullane KM, et al. Fidaxomicin versus vancomycin for Clostridium difficile infection[J]. N Engl J Med, 2011, 364(5): 422-431.
[23] 陈冬梅, 陈求刚, 陈菊香. 艰难梭菌性肠炎 21 例[J]. 广东医学, 2000, 21(6): 519.
[24] 冯云, 王传清, 金嘉琳, 等. 上海部分地区儿童艰难梭菌相关性腹泻的临床分析[J]. 微生物与感染, 2010, 5(3): 151-155.
[25] Cheng VC, Yam WC, Chan JF, et al. Clostridium difficile ribotype 027 arrives in Hong Kong[J]. Int J Antimicrob Agents, 2009, 34(5): 492-493.
[26] 黄海辉, 吴湜, 朱德妹, 等. 临床分离艰难梭菌 188 株的耐药性研究[J]. 中国感染与化疗杂志, 2011, 11(1): 1-5.
[27] Leffler DA, Lamont JT. Treatment of Clostridium difficile-associated disease[J]. Gastroenterology, 2009, 136(6): 1899-1912.

（收稿日期：2013-03-18）

·综　　述·

锌、铁、硒与阿尔茨海默症

张雁翎[1] 综述，赵先英[2] 审校
（1. 四川大学华西药学院，四川成都 610041；2. 第三军医大学药学院，重庆 400038）

关键词：阿尔茨海默症；　痕量元素；　综述
DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.037　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：1673-4130(2013)19-2577-03

阿尔茨海默症（Alzheimer's disease，AD）是一种以进行性智能障碍为主要表现的中枢神经系统退行性疾病，1907 年由德国神经科医生 Alois Alzheimer 发现而得名。其病理表现主要为细胞内神经元纤维缠结（NFTs）和细胞外老年斑沉淀。临床上则主要表现为进行性的记忆力障碍、分析判断能力衰退、情绪改变以及行为失常等。AD 的病因和发病机制尚不明确，因此缺乏有效的治疗手段。随着全球人口老龄化的程度加快，AD 已经给社会和家庭带来了沉重的负担。据统计目前在发达国家 AD 已成为继心脏病、癌症和中风之后第 4 位危害人类健康的致死性疾病，世界各国对 AD 的预防和治疗给予了高度关注。硒、铁、锌是中枢神经系统含量丰富的微量元素，对维持中枢神经正常生理功能具有重要作用。近年来，多项研究表明，硒、铁、锌等微量元素的代谢紊乱在 AD 发病过程中起着重要作用[1-3]。

1　硒代谢紊乱与阿尔茨海默症

1.1　硒的主要生物学功能　硒是人体必需的微量元素，在体内具有重要的生物学功能。自 1973 年美国的 Rotruck 发现第一个硒蛋白谷胱甘肽过氧化物酶（GPx）后，人们陆续发现了多种硒蛋白，如硫氧还蛋白还原酶（TrxR）、脱碘酶（Dio）等。其中绝大多数硒蛋白都具有抗氧化活性，它们通过清除体内的脂质过氧化物和自由基，在维护脑细胞正常功能、抗氧化损伤及防御各种脑病等方面具有重要的作用[4-5]。

1.2　硒代谢紊乱与 β 淀粉样蛋白（amyloid-β，Aβ）的产生与聚集　影像学检测发现在 AD 患者的大脑中，有许多直径高达 200 μm 左右的斑块，经过检测证实斑块中的主要成分是 Aβ 纤维沉淀。随着对 AD 研究的深入，越来越多的证据显示 Aβ 可能是 AD 发生的原发性病理因子，于是在 1992 年 Hardy 正式提出了 Aβ 的级联假说[6]。Aβ 的级联假说认为，Aβ 前体蛋白（APP）有两条代谢途径，正常状态下 APP 的主要代谢途径是 α-分泌途径，即 APP 在 α-分泌酶的作用下，裂解成可溶性的分泌型 APP 和一个含有 Aβ-43 位氨基酸的肽段，对神经具有营养作用；但是对于 AD 患者而言，由于其 α-分泌酶活性受到抑制，由 β-和 γ-分泌酶介导的途径则变为主要途径，此时 APP 在 β-和 γ-分泌酶共同作用下水解生成不溶性 Aβ。Aβ 由 39～43 个不等的氨基酸组成，其中以 42 个氨基酸的 Aβ-42 毒性最强，可以诱导脑神经元产生氧自由基，诱发病理过程的级联反应，使神经细胞膜的结构遭到破坏而功能异常[7]。

有关 AD 的细胞和动物模型实验表明，硒和硒蛋白与 Aβ 产生和脂质过氧化密切相关。Gwona 等[8] 以小鼠为模型研究了硒对减少 Aβ 产生的作用机制，实验发现，硒能使 β-和 γ-分泌酶的活性减少，同时也能使脂质过氧化反应的产物——反式 4-羟基壬烯酸（HNE）的含量降低。许妍姬[9] 采用跳台实验、水迷宫测试和生化学检测等方法，观察了硒对 AD 模型小鼠学习记忆障碍以及脑组织中重要的活性氧和活性氮的代谢产物丙二醛（MDA）、NO 含量改变的影响。结果发现 AD 模型小鼠在跳台实验、水迷宫实验中学习记忆能力发生明显障碍；在给予适量亚硒酸钠后上述现象可以得到缓解，小鼠脑组织中 MDA 和 NO 含量也明显降低。朱志杰等[10] 的最新研究显示，硒化聚甘露糖醛酸能显著提高 AD 模型细胞 N2a-APP695-sw 中的超氧化物歧化酶和谷胱甘肽过氧化物酶的活性，降低细胞

作者简介：张雁翎，女，在读本科生，主要从事阿尔茨海默症研究。