

3.3 DIC DIC 是一种以继发性纤溶亢进为特征的获得性全身血栓出血综合征^[13]。DIC 的发生是多系统疾病严重并发症的表现^[14]。主要表现为微循环阻塞, 出血栓塞和溶血等。当 DIC 发生时, 由于继发性纤溶亢进, 大量的纤维蛋白降解, 交联纤维蛋白的降解产物 D-二聚体就会大量增加^[15]。在 DIC 形成的早期即有 D-二聚体升高, D-二聚体在 DIC 诊断中阳性率是 100 %。如 D-二聚体正常可排除 DIC 诊断^[16]。刁翔文等^[17] 研究结果显示, 血浆 D-二聚体是 DIC 的敏感指标。D-二聚体水平与患者体内的纤溶状况呈正相关, 随着病程的变化而相应增高, 病情越严重预后越差, 因此机体内 D-二聚体水平高低可作为 DIC 病情变化, 疗效评估的指标。

3.4 恶性肿瘤 恶性肿瘤患者大多伴有凝血和纤溶异常, 随着肿瘤病情进展 D-二聚体增高, 体内高凝状态加重。有凝血活性亢进和继发纤溶状态, 易发生血栓和 DIC^[18]。Ay 等^[19] 进行一项前瞻性研究, 结果表明 D-二聚体水平高低与癌症患者死亡风险明显相关, 可作为癌症患者的预后, 因此有学者认为, D-二聚体是一种可能的预后标志物^[20]。动态监测 D-二聚体水平对恶性肿瘤患者的预后和疗效观察有重要意义。

4 小 结

综上所述, D-二聚体是体内高凝状态和纤溶亢进的特异性指标。D-二聚体的检测在临床上得到广泛的应用, 成为临床凝血检查的常规检测项目。随着方法学的提高, D-二聚体检测方法具有高度敏感性和阴性预测能力。对 VTE, 心脑血管疾病, DIC, 恶性肿瘤等许多疾病的诊断、病情监测、疗效评估等具有重要的临床指导作用, 随着认识和研究深入相信 D-二聚体将有更广阔的临床应用价值。

参考文献

[1] Zamagni E, Brioli A, Tacchetti P, et al. Multiple myeloma, venous thromboembolism, and treatment-related risk of thrombosis[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2011, 37(3): 209-219.

[2] 李丹丹, 马聪. D2 聚体检测的临床应用进展[J]. *血栓与止血*, 2011, 17(3): 138-141.

[3] 王梅, 王金良. D2 聚体检测的临床应用进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(1): 82-84.

[4] 熊志刚, 张庆怡. 乳胶凝集法和免疫比浊法检测 D 聚体结果比较[J]. *检验医学与临床*, 2011, 8(2): 219-220.

[5] 李莉. 两种检测 D2 聚体方法的比较[J]. *中外医疗*, 2012, 7(20): 74-75.

[6] 许文荣, 王建中. 临床血液学检验[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012: 313-328.

[7] 封莉, 吴兴福, 王凤平. 浅析提高免疫比浊法测定 D2 聚体的准确性[J]. *血栓与止血学*, 2012, 18(5): 224-226.

[8] King A. Thrombosis; selective D-dimer testing improves efficiency of DVT diagnosis[J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2013, 10(3): 118.

[9] Bates SM, Jaeschke R, Stevens SM, et al. Diagnosis of DVT: antithrombotic therapy and prevention of thrombosis, 9th ed; american college of chest physicians evidence-based clinical practice guidelines[J]. *Chest*, 2012, 141(2): 351-418.

[10] 张健华, 徐丹, 张丽芬, 等. 不同年龄段下肢骨折病人检测血浆 D2 聚体的临床意义[J]. *血栓与止血学*, 2012, 18(5): 227-228.

[11] Charoensri N, Pornratanarangsri S. D-dimer plasma levels in NSTEMI-ACS patient[J]. *J Med Assoc Thai*, 2011, 94(1): 39-45.

[12] Matsumoto M, Sakaguchi M, Okazaki S, et al. Relationship between plasma D-Dimer level and cerebral infarction volume in patients with nonvalvular atrial fibrillation[J]. *Cerebrovasc Dis*, 2013, 35(1): 64-72.

[13] Montaner J, Mendioroz M, Ribó M, et al. A panel of biomarkers including caspase-3 and D-dimer may differentiate acute stroke from stroke-mimicking conditions in the emergency department[J]. *J Intern Med*, 2011, 270(2): 166-174.

[14] 余杏, 姚敏, 魏小斌, 等. 血浆 D2 聚体在临床疾病诊断中的应用[J]. *海南医学*, 2012, 23(6): 129-130.

[15] 王梅, 王金良. D2 聚体检测的临床应用进展[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 2(1): 88-90.

[16] Bates SM. D-dimer assays in diagnosis and management of thrombotic and bleeding disorders[J]. *Semin Thromb Hemost*, 2012, 38(2): 673-682.

[17] 刁翔文, 陈雅莹, 田婧, 等. 弥漫性血管内凝血 98 例临床分析[J]. *医学信息*, 2011, 6(1): 11-13.

[18] Kono T, Ohtsuki T, Hosomi N, et al. Clinical characteristics of ischemic stroke in elderly patients with cancer[J]. *Nihon Ronen Igakkai Zasshi*, 2011, 48(1): 57-62.

[19] Ay C, Dunkler D, Pirker R, et al. High D-dimer levels are associated with poor prognosis in cancer patients[J]. *Haematologica*, 2012, 97(8): 1158-1164.

[20] Nagy Z, Horvath O, Kadas J, et al. D-dimer as a potential prognostic marker[J]. *Pathol Oncol Res*, 2012, 18(3): 669-674.

(收稿日期: 2015-12-04)

• 综 述 •

鸚鵡热衣原体致病机制研究进展*

李 鹏^{1,2} 综述, 宋立华^{2△}, 苗晋华^{1▲} 审校

(1. 中国人民解放军 264 医院检验科, 山西太原 030001; 2. 病原微生物生物安全国家重点实验室/军事医学科学院微生物流行病研究所, 北京 100071)

关键词: 衣原体; 致病机制; 质粒; 三型分泌系统; CT135 基因
DOI:10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 06. 026 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-4130(2016)06-0780-03

鸚鵡热衣原体(Cps)是一种专性真核细胞内寄生, 有独特的二相型发育周期, 可形成具有感染能力的原体(EB)和具有

* 基金项目: “十二五”农村领域国家科技计划课题项目(2012AA101302)。 作者简介: 李鹏, 男, 主治医师, 主要从事微生物鉴定与分子生物学研究。 △ 通讯作者, E-mail: songlihua@gmail. com。 ▲ 通讯作者, E-mail: Miaojh337@163. com。

繁殖能力的网状体(RB),革兰染色阴性的细菌。Cps 归类于衣原体科中的衣原体属,早期 Everett 等^[1]将其归类为嗜衣原体属,国内虽一直沿用这样的分类体系,但国际衣原体委员会已明确 Cps 属于衣原体属,同时取消嗜衣原体属分类。Cps 可感染人和畜,产生多种临床特征。Cps 因为其致病性强,且作为生物战剂的特殊性,少有实验室能进行深入研究,对 Cps 致病机制的阐述更是鲜有报道,本文结合衣原体属其他种的毒力因子,综述了 Cps 可能毒力因子的致病机制。

1 衣原体质粒

衣原体质粒是一个相对分子质量约为 7.5×10^3 , 基因序列高度保守,非整合性的 DNA 分子,广泛存在于衣原体属中^[2]。Cps 中除菌株 GR9 外,都含有该质粒^[3]。衣原体质粒有 8 个开放阅读框(ORFs),其中 ORF5 编码质粒蛋白 Pgp3^[4],相对分子质量约为 28×10^3 ,可引起体液和黏膜的免疫反应。在细胞模型上发现 E. coli 重组 Pgp3 可通过 TLR2 激活 THP-1 细胞或通过 TLR4 激活巨噬细胞,通过 MAPK 途径诱导产生促炎症因子^[5],这些炎症因子正是输卵管积水的决定性因素;Toni Darville 课题组在鼠衣原体感染小鼠模型上发现,质粒缺失的鼠衣原体对细胞的感染能力下降,不能引起小鼠病理性炎症反应,降低的炎症反应与感染位点中性粒细胞的聚集和寿命有关^[6];质粒还可以调控包括 glgA 在内的多个染色体基因,造成质粒缺失株的糖原积累障碍^[7]。虽然没有 Cps 质粒功能研究的报道,但衣原体质粒高度保守,在其他种属中已证明质粒作为毒力因子在病原菌定殖、感染及导致输卵管病变的过程中起到重要的作用。

2 CPAF 是衣原体的关键毒力因子

蛋白酶样活性因子(CPAF)是由华裔学者钟光明教授发现的新型分泌性蛋白酶,被认为是分泌至宿主细胞质中的关键免疫调节蛋白,通过调控各种宿主信号传导通路逃避宿主免疫,其作用靶标及相应机理被广泛研究。CPAF 的酶原无活性,相对分子质量约为 70×10^3 ,酶原自催化切割为 29kDaCPAFn 和 35kDaCPAFc 两个片段,CPAFn/CPAFc 的同源二聚体构成成熟的 CPAF^[8]。已发现的 CPAF 宿主靶标有转录因子 USF1 与 RFX5、NF- κ B、HIF-1、BH-3 蛋白(Bcl-2 家族促凋亡因子)^[9],DNA 修复蛋白 PARP,细胞周期蛋白 B1,各种细胞骨架蛋白如细胞角蛋白-8、-18 和波形蛋白,高尔基体蛋白 84,和细胞表面蛋白 CD1d 与 nectin-1 等^[10]。以上研究提示 CPAF 可能通过多种途径逃避宿主的免疫检测。例如,USF1 与 RFX5 分别作用于 MHC I 类与 MHC II 分子的转录表达,CD1d 是 MHC 样糖蛋白,可提呈脂类抗原至自然杀伤 T 细胞^[11];BH-3 蛋白为促凋亡因子;因此 CPAF 可能通过抑制 MHC 表达、抑制细胞凋亡等介导衣原体的免疫逃逸。

3 衣原体 III 型分泌系统(T3SS)

在革兰阴性菌中,T3SS 是一种进化精制的毒力决定因子,有超过 20 种蛋白形成的一种特殊装置,包括分泌外排装置(T3SA)、效应因子和伴侣蛋白。与其它细菌不同,衣原体 III 型分泌系统效应基因即不位于毒力质粒上也不形成毒力岛,其效应基因分散在衣原体的整个基因组中。在发育周期的早期,效应因子包括 Inc 蛋白开始在 RB 中合成,在发育周期的中期,衣原体包涵体开始分裂的时候,T3SA 基因开始合成^[12],在发育周期的晚期,RB 从包涵体膜分离、RB 转变为 EB 时 T3S 的激

活发生终止。由于 EB 几乎没有代谢活性^[13],但 EB 中包含具有功能的 T3SSs^[14],在与宿主细胞接触时效应因子的分泌活性迅速产生^[15],因此,在 RB 发育为 EB 的晚期阶段外排装置、效应因子和伴侣蛋白已经被预装到 EB 中。与宿主细胞接触后,外排装置被激活效应因子开始分泌。研究表明,衣原体的针状蛋白 CdsF 包含有半胱氨酸残基,这在衣原体 T3SS 中是独特属性^[16],EB 的包膜有高度的二硫键交联,而在 RB 中这些键降低了。因此,位于原体 CdsF 中的二硫键在孢子样发育周期中提供了结构性硬度,也有可能在控制分泌活性中发挥了重要角色^[17]。T3SS 效应因子通过直接联系、酶解改变性质或模仿靶向宿主因子等方式发挥毒力效应^[18]。研究最为广泛的是侵袭相关性和 Inc 类效应因子。

4 衣原体脂多糖(LPS)

LPS 由革兰阴性菌所特有,是外膜的主要组成成分,LPS 在革兰阴性菌发病机制中起着主要作用,引起宿主发热血循环中白细胞骤减、弥散性血管内凝血、循环衰竭、休克死亡等。衣原体的 LPS 是由一个 2-酮基-3-脱氧草酸(KDO)的核心三糖与脂质 A 连接而成^[19]。其脂质 A 更长,同时含有非羟基化的脂肪酸使得衣原体毒素活性大大降低^[20]。LPS 是衣原体的属特异性抗原,对衣原体的感染性至关重要,是重要的衣原体诊断抗原。研究表明,在衣原体 LPS 受抑制的情况下,RB 仍然可以形成包涵体,但不表达发育周期中的晚期蛋白从而不能转化为 EB,LPS 缺失的情况下,衣原体可以存活但不具有感染性^[21]。

5 新发现毒力因子 CT135 基因

Sturdevant 等^[22]通过研究发现,Cel I 酶分析实验室标准 Ct 菌株时,多次传代的血清 A-J 型的 CT135 基因均存在多态性,而 LGV 型和体外传代次数较少的血清 K 型的 CT135 基因不存在多态性。在细胞模型上,非 LGV 型 Ct 在体外传代过程中产生的 CT135 无义突变无疑使 Ct 获得了生长优势;沙眼 D 型不同克隆株感染雌鼠生殖道会产生表型巨大差异,D-LC 克隆株导致输卵管组织增厚、炎症反应更明显等,基因组测序显示 CT135 基因发生了单个碱基的移码突变,很有可能该基因突变表达了具有毒力功能的蛋白,也有可能 CT135 基因本身是抗毒力因子基因,突变导致其失活,具体原因还未知;在比较与质粒毒力感染差异实验中^[23],质粒在于增强衣原体繁殖生长和早期的感染负担加重,而 CT135 的功能则是维持更长期持续和慢性感染。

6 小 结

目前越来越多的研究者对衣原体致病机制进行了深入研究,但很多的研究还处于假说阶段,没有充分的证据予以证实,例如 CPAF 通过分泌到宿主胞质中,切割和水解宿主蛋白来发挥毒力作用,但 Chen 等^[24]研究发现,早先集中研究和报道的 11 种 CPAF 作用底物在衣原体感染细胞中并没有被切割和水解,这一发现对 CPAF 的靶向底物提出质疑,也对 CPAF 是否作为蛋白酶的功能提出了挑战;CT135 基因只是发现在不同感染临床特征的毒株之间存在突变,并没有在蛋白水平验证是如何发挥毒力作用,致病途径、方式和作用靶标都还未知,有待进一步深入探讨^[25-26]。在研究衣原体毒力因子的致病机制方面,鸚鵡热衣原体因为人兽感染,具备小鼠这样的天然动物模型,相比沙眼衣原体和肺炎衣原体具有得天独厚的优势,以

鸚鵡热衣原体作为突破口对进一步深入阐释衣原体致病机制提供了新思路和新策略。

参考文献

- [1] Everett KD, Bush RM, Andersen AA. Emended description of the order Chlamydiales, proposal of Parachlamydiaceae fam. nov. and Simkaniaceae fam. nov., each containing one monotypic genus, revised taxonomy of the family Chlamydiaceae, including a new genus and five new species, and standards for the identification of organisms[J]. Int J Sys Bacteriol, 1999, 49 Pt 2(2): 415-440.
- [2] Noel RTS, Daniel RB, Brian P, et al. Bergey's manual of systematic bacteriology second edition volume four[M]. New York: Springer, 2010.
- [3] Read TD, Joseph SJ, Didelot X, et al. Comparative analysis of Chlamydia psittaci genomes reveals the recent emergence of a pathogenic lineage with a broad host range[J]. Mbio, 2013, 4(2): 49-52.
- [4] Li Z, Chen D, Zhong Y, et al. The chlamydial plasmid-encoded protein pgp3 is secreted into the cytosol of Chlamydia-infected cells[J]. Infect Immun, 2008, 76(8): 3415-3428.
- [5] Zhou H, Huang Q, Li Z, et al. PORF5 plasmid protein of Chlamydia trachomatis induces MAPK-mediated pro-inflammatory cytokines via TLR2 activation in THP-1 cells[J]. Science China Life Sciences, 2013, 56(5): 460-466.
- [6] O'Connell CM, Ingalls RR, Andrews CW, et al. Plasmid-deficient Chlamydia muridarum fail to induce immune pathology and protect against oviduct disease[J]. J Immun, 2007, 179(6): 4027-4034.
- [7] Carlson JH, Whitmire WM, Crane DD, et al. The Chlamydia trachomatis plasmid is a transcriptional regulator of chromosomal genes and a virulence factor[J]. Infect Immun, 2008, 76(6): 2273-2283.
- [8] Dong F, Sharma J, Xiao Y, et al. Intramolecular dimerization is required for the chlamydia-secreted protease CPAF to degrade host transcriptional factors[J]. Infect Immun, 2004, 72(7): 3869-3875.
- [9] Pirbhai M, Dong F, Zhong Y, et al. The secreted protease factor CPAF is responsible for degrading pro-apoptotic BH3-only proteins in Chlamydia trachomatis-infected cells[J]. J Biol Chem, 2006, 281(42): 31495-31501.
- [10] Sun J, Schoborg RV. The host adherens junction molecule nectin-1 is degraded by chlamydial protease-like activity factor (CPAF) in Chlamydia trachomatis-infected genital epithelial cells[J]. Microb Infect, 2009, 11(1): 12-19.
- [11] Kawana K, Quayle AJ, Ficarra M, et al. CD1d degradation in Chlamydia trachomatis-infected epithelial cells is the result of both cellular and chlamydial proteasomal activity[J]. J Biol Chem, 2007, 282(10): 7368-7375.
- [12] Belland RJ, Zhong G, Crane DD, et al. Genomic transcriptional profiling of the developmental cycle of Chlamydia trachomatis [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(14): 8478-8483.
- [13] Omsland A, Sager J, Nair V, et al. Developmental stage-specific metabolic and transcriptional activity of Chlamydia trachomatis in an axenic medium[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2012, 109(48): 19781-19785.
- [14] Fields KA, Mead DJ, Dooley CA, et al. Chlamydia trachomatis type III secretion: evidence for a functional apparatus during early-cycle development[J]. Molec Microb, 2003, 48(3): 671-683.
- [15] Clifton DR, Fields KA, Grieshaber SS, et al. A chlamydial type III translocated protein is tyrosine-phosphorylated at the site of entry and associated with recruitment of actin[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2004, 101(27): 10166-10171.
- [16] Betts HJ, Twigg LE, Sal MS, et al. Bioinformatic and biochemical evidence for the identification of the type III secretion system needle protein of Chlamydia trachomatis[J]. J Bacter, 2008, 190(5): 1680-1690.
- [17] Mueller KE, Plano GV, Fields KA. New frontiers in type III secretion biology: the Chlamydia perspective [J]. Infect Immun, 2014, 82(1): 2-9.
- [18] Dean P. Functional domains and motifs of bacterial type III effector proteins and their roles in infection[J]. FEMS Microb Reviews, 2011, 35(6): 1100-1125.
- [19] Rund S, Lindner B, Brade H, et al. Structural analysis of the lipopolysaccharide from Chlamydia trachomatis serotype L2[J]. J Biol Chem, 1999, 274(24): 16819-16824.
- [20] Heine H, Gronow S, Zamyatina A, et al. Investigation on the agonistic and antagonistic biological activities of synthetic Chlamydia lipid A and its use in in vitro enzymatic assays[J]. J Endot Res, 2007, 13(2): 126-132.
- [21] Nguyen BD, Cunningham D, Liang X, et al. Lipooligosaccharide is required for the generation of infectious elementary bodies in Chlamydia trachomatis[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2011, 108(25): 10284-10289.
- [22] Sturdevant GL, Kari L, Gardner DJ, et al. Frameshift mutations in a single novel virulence factor alter the in vivo pathogenicity of Chlamydia trachomatis for the female murine genital tract[J]. Infect Immun, 2010, 78(9): 3660-3668.
- [23] Sturdevant GL, Zhou B, Carlson JH, et al. Infectivity of urogenital Chlamydia trachomatis plasmid-deficient, CT135-null, and double-deficient strains in female mice[J]. Pathog Dis, 2014, 71(1): 90-92.
- [24] Chen AL, Johnson KA, Lee JK, et al. CPAF: a Chlamydial protease in search of an authentic substrate[J]. PLoS Pathogens, 2012, 8(8): e1002842.
- [25] Van J, Sabajo LO, Grunberg AW. Point-of-care test for detection of urogenital chlamydia in women shows low sensitivity. a performance evaluation study in two clinics in suriname [J]. PloS One, 2012, 7(2): 251-264.
- [26] Manuela D, Antonietta DF, Federica D, et al. Antibody-neutralizing activity against all urogenital Chlamydia trachomatis serovars in Chlamydia suis-infected pigs[J]. Fems Immun Med Microb, 2011, 61(1): 125-128.

(收稿日期: 2015-12-26)