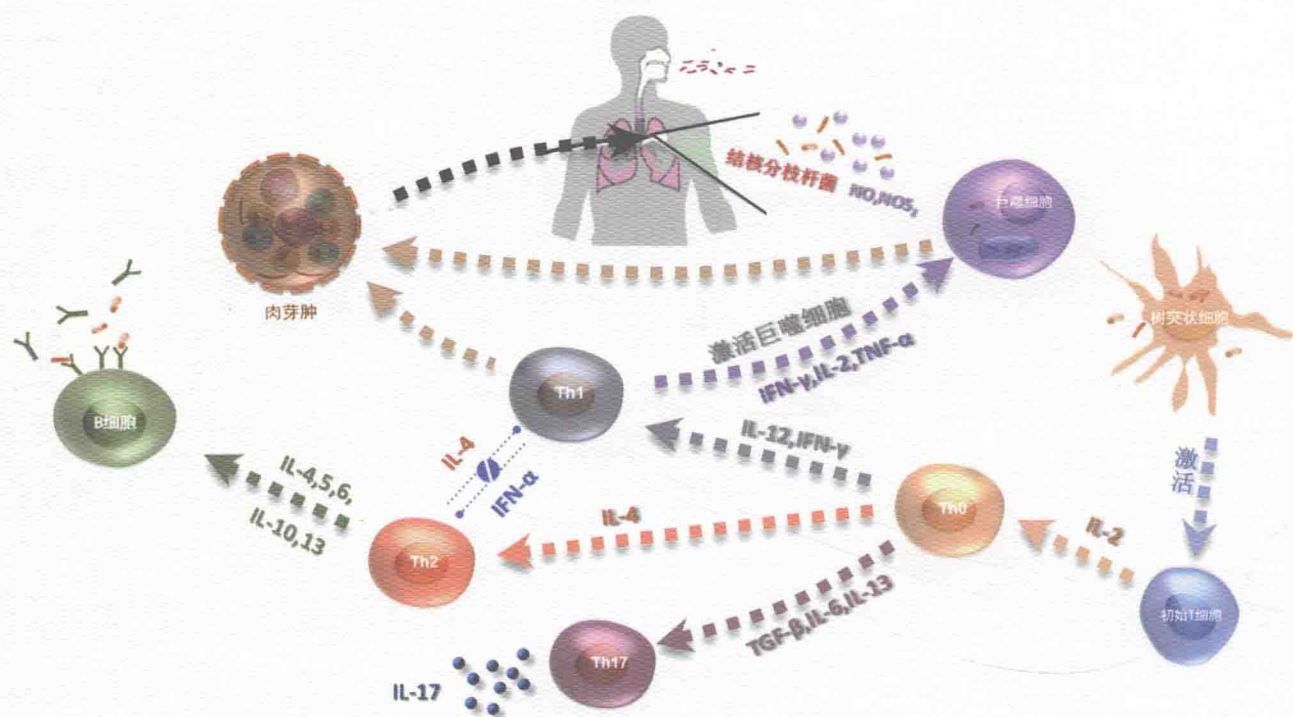


结核病免疫学

Tuberculosis Immunology

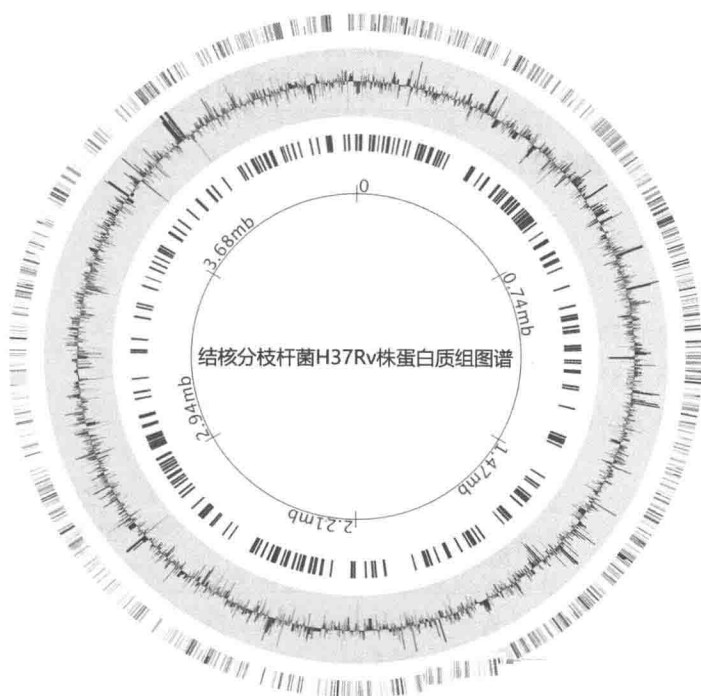
主 编 吴雪琼 吴长有

副主编 梁 艳 谢建平



人民卫生出版社
PEOPLE'S MEDICAL PUBLISHING HOUSE

结核病免疫学



主 编 吴雪琼 吴长有

副主编 梁 艳 谢建平

审 校 吴雪琼 吴长有 龚文平 梁 艳

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

结核病免疫学 / 吴雪琼, 吴长有主编. —北京: 人民卫生出版社, 2016

ISBN 978-7-117-21888-7

I. ①结… II. ①吴… ②吴… III. ①结核病 - 免疫学
IV. ①R520.3

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 310330 号

人卫社官网	www.pmph.com	出版物查询, 在线购书
人卫医学网	www.ipmph.com	医学考试辅导, 医学数据库服务, 医学教育资源, 大众健康资讯

版权所有, 侵权必究!

结核病免疫学

主 编: 吴雪琼 吴长有

出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 010-59780011)

地 址: 北京市朝阳区潘家园南里 19 号

邮 编: 100021

E - mail: pmph@pmph.com

购书热线: 010-59787592 010-59787584 010-65264830

印 刷: 三河市宏达印刷有限公司

经 销: 新华书店

开 本: 787 × 1092 1/16 印张: 21

字 数: 511 千字

版 次: 2016 年 4 月第 1 版 2016 年 4 月第 1 版第 1 次印刷

标准书号: ISBN 978-7-117-21888-7/R · 21889

定 价: 98.00 元

打击盗版举报电话: 010-59787491 E-mail: WQ@pmph.com

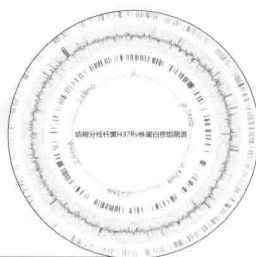
(凡属印装质量问题请与本社市场营销中心联系退换)

编 者

(以姓氏拼音顺序为序)

- 白雪娟 解放军第三〇九医院全军结核病重点实验室
毕丽丽 解放军第三〇九医院移植免疫实验室
陈心春 深圳市东湖医院肝病研究所
崔瑞娜 解放军第三〇九医院全军结核病重点实验室
范小勇 上海市公共卫生临床中心结核实验室
冯永红 上海市肺科医院结核病(肺)重点实验室
龚文平 解放军第三〇九医院全军结核病重点实验室
李忠明 武汉海规生物科技有限公司
李 宁 解放军第三〇九医院病理科
李 莹 沈阳市胸科医院结核病实验室
梁 艳 解放军第三〇九医院全军结核病研究所
梁建琴 解放军第三〇九医院全军结核病研究所
林明贵 解放军第三〇九医院全军结核病研究所
刘映霞 深圳市东湖医院
师长宏 第四军医大学微生物学教研室
孙炳奇 沈阳市胸科医院结核病实验室
吴雪琼 解放军第三〇九医院全军结核病研究所
吴长有 中山大学医学院免疫学教研室
肖 篱 解放军第三〇九医院移植免疫实验室
谢建平 西南大学生命科学学院
徐志凯 第四军医大学微生物学教研室
徐彩红 北京市结核病胸部肿瘤研究所分子生物学实验室
阳幼荣 解放军第三〇九医院全军结核病重点实验室
余卫业 深圳市东湖医院
余 琦 解放军第三〇九医院病理科
乐 军 上海市肺科医院检验科
张宗德 北京市结核病胸部肿瘤研究所
张继增 北京市结核病胸部肿瘤研究所
张 妍 解放军第三〇九医院内分泌科
张俊仙 解放军第三〇九医院全军结核病重点实验室
张 海 第四军医大学微生物学教研室
赵亚静 解放军第三〇九医院全军结核病重点实验室

序



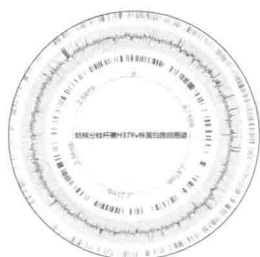
结核病是在感染、免疫、预防和治疗等方面充满矛盾和挑战的慢性呼吸道传染病。人类研究结核分枝杆菌已一百多年,但是迄今为止仍有许多科学问题没能解决,如未感染 HIV 的人群感染结核菌后,为什么只有约 10% 发病,90% 终生不发病;宿主及其免疫系统如何与结核分枝杆菌相互作用;卡介苗为什么不能成功预防成人结核病等。深入研究并破解结核分枝杆菌致病机制、机体免疫保护机制等科学问题是进一步研发新药、新疫苗,预防控制乃至消除结核病的重要基础。研究免疫策略、开发更有效的疫苗、免疫治疗制剂、免疫诊断新技术也已成为全球结核病学研究的前沿。

《结核病免疫学》是我国第一部系统介绍结核病免疫的著作。它内容充实,不仅是反映国内外研究最新进展的基础理论著作,而且本书的作者是长期从事结核分枝杆菌和结核病研究、活跃在实验室和学术一线的科技工作者,他们有深厚的理论基础知识,掌握本领域最新发展动态,又具有丰富的实践经验。本书作者们结合自身研究工作的实践,着重介绍了结核分枝杆菌抗原的最新研究进展,全面、科学地阐述了结核病免疫、免疫保护机制和疫苗研发的研究成果和发展趋势,论述了结核病免疫诊断的新技术、新方法。该书编排合理,内容丰富、新颖,文字顺畅,可读性强,为我国结核病的控制和研究奠定了理论基础,并提供了新的有力的武器。

藉该书出版之际,特作此序,希望该著作的出版能引出更多结核病基础研究方面的佳作,为结核病领域的教育、培训、科研提供有价值的参考,为进一步推动我国结核病基础研究蓬勃发展,为我国防痨事业做出应有的贡献。

中国防痨协会

2015 年 2 月



前言

我国是当前全球结核病高负担国家之一,结核病疫情和耐药情况相当严重,非结核分枝杆菌病也呈上升趋势。HIV 与结核分枝杆菌、非结核分枝杆菌双重感染对结核病控制提出了新的课题。

1890 年 Robert Koch 制备了“旧结核菌素”,并发现了“Koch 现象”;1909 年 Mantoux 结核菌素皮肤试验建立;1921 年法国科学家卡尔梅特(Calmette)和格林(Guerin)发明的结核病预防性疫苗卡介苗(Bacille Calmette-Guerin,简称 BCG)应用于人类,开创了结核病免疫学研究的先河。然而,至今仍有许多基础理论问题尚未解决,尤其是结核分枝杆菌的潜伏感染、致病机制和机体的免疫保护机制一直未能清楚地阐明。免疫机制、免疫诊断、免疫预防和免疫治疗已成为结核病学研究的前沿领域,人们对其发展充满了期望。

目前我国尚无我们自己的著作对该领域的研究成果作一个全方位的展示,因此,《结核病免疫学》这本书是我国第一部专著。经过有关专家认真研讨、搜集国内外资料、悉心设计、并结合自身科研实践和体验,本书将对结核病免疫的基础知识、研究现状、研究进展、研究成果和发展趋势向我国医学基础研究人员、研究生、防痨工作者进行有益的介绍,其中着重介绍结核分枝杆菌抗原的结构与功能、结核病免疫和免疫保护机制、免疫诊断、免疫预防和免疫治疗等方面的研究成果,在某些研究方面发表了独到的见解,使读者在阅读本书时不仅能够全面了解结核病免疫学的基本知识、基本理论和最新进展,还能活跃思想、承接过去,并和我们一齐共悟开展创造性研究的思路和方法,它的出版必将进一步推动我国在该领域的研究工作,为结核病及其他非结核分枝杆菌病的防治提供新的武器。

就本书的内容而言,有以下三个特点:一是全面性,力求全面地介绍结核病免疫学的基本理论和基本知识;二是新颖性,尽可能地反映当代国内外结核免疫学的最新研究成果;三是实用性,重视免疫学理论和技术的实际应用。

《结核病免疫学》是集体合作的结晶。由于编者水平有限,考虑和讨论可能都不够充分,以及当今科学发展的一日千里,疏漏和不妥之处在所难免,敬请同行专家及各界读者批评指正,以便今后修订。

主编 吴雪琼
2015 年 7 月 2 日

目 录



绪论	1
第一章 结核分枝杆菌抗原	4
第一节 结核分枝杆菌抗原概述	4
第二节 结核分枝杆菌 RD1 编码的蛋白抗原及 ESAT6 家族成员	6
一、RD1 蛋白概述	6
二、ESAT6 蛋白	7
三、CFP10 蛋白	9
四、ESAT6 和 CFP10 合成、表达及其应用	9
五、TB27.4 蛋白	18
六、Rv3879c 蛋白	19
七、其他 ESAT6 家族成员 (esat-6 like protein or ESAT6 family protein)	19
八、M. tb9.9 家族蛋白的作用	24
九、问题及展望	25
第三节 结核分枝杆菌 RD2 编码的蛋白抗原	26
一、RD2 蛋白概述	26
二、MPT64 蛋白	27
三、其他 RD2 蛋白概述	28
第四节 结核分枝杆菌 RD4 编码的蛋白抗原	31
一、Rv0221 蛋白抗原	32
二、Rv0222 蛋白抗原	32
第五节 结核分枝杆菌潜伏感染相关抗原	32
一、缺氧相关的潜伏期抗原	33
二、营养缺乏相关潜伏期抗原	36
三、其他	37
四、小结	38
第六节 结核分枝杆菌 PE、PPE 家族蛋白抗原	42
一、PE 家族主要蛋白	44

二、PPE 家族主要蛋白	48
三、展望	56
第七节 结核分枝杆菌部分分泌性蛋白和热休克蛋白	58
一、概述	58
二、结核分枝杆菌部分分泌性蛋白的生物学特性	60
三、热休克蛋白	68
第八节 结核分枝杆菌复苏促进因子	71
一、结核分枝杆菌 Rpf 蛋白的种类及其生物学特性	71
二、结核分枝杆菌 Rpf 蛋白的复苏、促生长作用	73
三、结核分枝杆菌 Rpf 蛋白诱导机体免疫应答的作用	76
第九节 结核分枝杆菌抗原表位	77
一、抗原表位的定义、分类	77
二、B 细胞及 T 细胞抗原表位的特点	78
三、抗原表位的预测及表位多肽的设计	79
四、抗原表位数据库	82
五、结核分枝杆菌抗原表位的研究	82
第二章 结核病的天然免疫应答和免疫保护机制	87
第一节 固有免疫的作用概述	87
一、固有免疫系统的组成及其作用	87
二、小结	88
第二节 模式识别受体的作用及其机制	89
一、TLR 家族	89
二、NLR 家族	90
三、CLR 家族	90
四、RLR 家族	90
第三节 中性粒细胞的免疫作用及其机制	91
一、中性粒细胞在结核分枝杆菌感染早期的保护作用	91
二、中性粒细胞对结核分枝杆菌的吞噬和杀伤活性及其机制	91
三、中性粒细胞在抗结核分枝杆菌感染中的细胞凋亡及其机制	92
四、存在的问题及展望	93
第四节 巨噬细胞的免疫作用及其机制	94
一、肺泡巨噬细胞的特性	94
二、肺泡巨噬细胞摄取结核分枝杆菌相关的受体	95
三、巨噬细胞与结核分枝杆菌有关的模式识别受体	97
四、巨噬细胞内的抗菌机制及结核分枝杆菌的影响	98
五、结核分枝杆菌感染对巨噬细胞表型分化的影响	100
六、结语	102
第五节 自然杀伤细胞的作用及其机制	104

一、自然杀伤细胞的生物学特性	104
二、NK 细胞在结核分枝杆菌感染中的免疫作用机制	104
三、NK 细胞与其他免疫细胞的相互作用	105
第六节 结核病患者红细胞免疫功能	107
一、红细胞免疫黏附功能	107
二、红细胞免疫功能与细胞免疫功能的关系	108
三、展望	108
第七节 补体系统及其在结核病控制中的作用	109
一、补体系统及其功能概述	109
二、补体系统在结核分枝杆菌或者其他分枝杆菌感染免疫应答中的功能	110
三、补体系统在结核病中的作用的研究趋势	114
第三章 结核病的适应性免疫应答和免疫保护机制	117
第一节 适应性免疫应答在结核分枝杆菌感染中的作用概述	117
一、特异性细胞免疫的作用	117
二、特异性体液免疫的作用	119
第二节 树突状细胞在结核分枝杆菌感染的免疫作用机制	120
一、树突状细胞成熟过程与结核病免疫	120
二、树突状细胞亚群与结核病免疫	121
第三节 B 细胞介导的体液免疫应答	123
一、概述	123
二、B 淋巴细胞与 T 淋巴细胞在感染性疾病中的协同作用	123
三、慢性炎症感染性疾病中异位 B 淋巴细胞的聚集	124
四、B 淋巴细胞显著影响 T 淋巴细胞的活化	124
五、抗体对胞内结核分枝杆菌感染的保护作用	125
六、B 细胞在结核分枝杆菌感染中的免疫效应	126
七、小结	127
第四节 T 细胞介导的细胞免疫应答	128
第五节 CD4 ⁺ T 细胞亚群及临床意义	133
一、Th1 细胞在结核中的作用	134
二、Th2 细胞在结核中的作用	135
三、Th17 细胞在结核中的作用	136
四、Treg 细胞在结核中的作用	138
第六节 CD8 ⁺ T 细胞在结核免疫中的作用及其机制	140
一、CD8 ⁺ T 细胞与感染免疫	140
二、CD8 ⁺ T 细胞在结核免疫中的保护作用	141
三、结核抗原特异性 CD8 ⁺ T 细胞的分类和功能	141
第七节 $\gamma\delta$ T 细胞在抗结核分枝杆菌感染中的免疫作用机制	144
一、 $\gamma\delta$ T 细胞对结核分枝杆菌抗原的识别机制	144

二、 $\gamma\delta$ T 细胞对结核分枝杆菌抗原的免疫应答机制	145
三、 $\gamma\delta$ T 细胞在天然免疫和适应性免疫中的连接作用	146
四、结核病患者 $\gamma\delta$ T 细胞免疫应答的变化	147
五、小结	147
第八节 细胞因子的产生及抗结核作用机制	150
一、细胞因子的分类及产生	150
二、细胞因子在结核中的作用	154
第九节 自噬及其在结核病控制中的作用	161
一、自噬及其在结核分枝杆菌感染中作用概述	161
二、自噬在控制分枝杆菌感染的作用	161
三、未来研究方向	163
第十节 结核分枝杆菌感染中免疫记忆细胞的产生及其机制	165
第四章 结核病相关免疫	169
第一节 迟发型变态反应的发生机制	169
一、概念	169
二、发生机制	169
第二节 细胞凋亡	173
一、结核分枝杆菌的毒力与宿主细胞凋亡	173
二、结核病时细胞凋亡的相关调控基因、途径与诱导因素	174
三、细胞凋亡对结核分枝杆菌与宿主本身的影响	177
第三节 结核分枝杆菌感染宿主后细胞内、细胞间的信息传递网络	179
一、JAK/STAT 信号转导通路	179
二、MAPK 信号转导通路	180
三、NF- κ B 信号转导通路	180
四、PI3K/Akt 信号转导通路	180
五、钙离子依赖性信号转导通路	181
第四节 结核病免疫的神经内分泌 - 免疫系统调节网络	183
一、神经 - 内分泌 - 免疫网络概述	183
二、神经 - 内分泌 - 免疫网络与结核病	184
三、展望	186
第五节 结核病免疫应答的遗传控制	188
一、遗传因素在结核病免疫应答中具有重要作用	188
二、研究结核病免疫应答遗传控制因素的主要方法学	189
三、主要发现	191
四、原发性免疫缺陷及其结核病易感性基因的研究	194
五、未来研究方向	195
第六节 结核肉芽肿炎性反应	198
一、慢性肉芽肿	199

二、结核性肉芽肿	199
三、鉴别诊断	202
第七节 结核分枝杆菌潜伏感染者的免疫学反应	206
一、结核分枝杆菌潜伏感染的概念	206
二、结核分枝杆菌潜伏感染的诊断	206
三、结核分枝杆菌潜伏感染的免疫学应答	208
第八节 肺结核病的免疫学反应	210
一、肺结核病的发生机制和病理改变	210
二、结核分枝杆菌菌体成分诱导的免疫应答	212
三、肺结核的免疫反应	212
第九节 肺外结核病的免疫学反应	217
一、结核性胸膜炎的胸腔局部炎症免疫反应	217
二、结核性脑膜炎的免疫学反应	220
第十节 结核分枝杆菌感染、免疫与治疗的实验动物模型	226
一、结核分枝杆菌感染与宿主免疫反应之间的相互作用	226
二、结核分枝杆菌潜伏感染实验动物模型	228
三、利用实验动物模型研发治疗结核病的新药	229
四、结核病治疗性疫苗的实验动物研究	231
五、利用实验动物模型指导预防性新疫苗的设计和评估	231
六、结核分枝杆菌实验动物模型的主要用途和局限性	233
第五章 结核病免疫学的应用	236
第一节 结核病的免疫诊断	236
一、体液免疫诊断	236
二、细胞免疫诊断	240
三、存在的问题及展望	244
第二节 结核病的免疫预防	246
一、卡介苗预防接种的效果	246
二、新的结核预防性疫苗的研究	247
三、结核分枝杆菌感染者的预防治疗	251
四、展望	253
第三节 结核病的免疫治疗	255
一、结核病免疫治疗的基础	256
二、免疫治疗的分类	256
三、展望	264
第四节 结核病与风湿性疾病	265
一、结核病和风湿性疾病	265
二、肌(与)骨骼结核表现	266
三、抗结核分枝杆菌治疗相关的风湿病学情况	267

四、结核相关免疫反应现象	268
五、风湿性疾病导致免疫抑制患者的结核病	269
六、肿瘤坏死因子及抑制剂	270
七、TNF- α 拮抗剂治疗与潜伏结核感染诊断	271
八、卡介苗的风湿病学并发症	271
第五节 HIV/TB 双重感染的免疫反应	274
一、HIV/TB 双重感染现状及带来的免疫学问题	274
二、HIV/TB 双重感染的相互影响及免疫变化	274
三、HIV/TB 双重感染的免疫发病机制	276
第六节 结核分枝杆菌蛋白质组学	279
一、蛋白质组学技术	279
二、结核分枝杆菌蛋白质组学	281
三、结核病血清蛋白指纹图谱	287
四、其他	295
五、结语	296
第六章 常用免疫学技术	299
第一节 酶联免疫吸附试验	299
一、基本原理和方法	299
二、试剂配制	299
三、器材	300
四、操作步骤	300
五、实验条件的选择	300
第二节 斑点免疫试验	301
一、试剂配制	301
二、操作步骤	302
三、影响因素	302
第三节 SDS-PAGE	302
一、试剂配制	303
二、操作步骤	303
第四节 Western blot 试验	305
一、SDS-PAGE	306
二、电转移	306
三、免疫反应	306
四、化学发光、显影、定影	306
第五节 酶联免疫斑点试验	307
一、基本原理	307
二、ELISPOT 技术操作流程	307
三、酶联免疫斑点技术的应用	310

第六节 重组蛋白纯化技术.....	310
一、在大肠埃希菌中可溶性表达的重组蛋白的纯化方案	311
二、在大肠埃希菌中包涵体表达的重组蛋白的纯化方案	311
第七节 流式细胞术在结核病方面的应用.....	312
一、流式细胞仪的基本结构和工作原理	313
二、流式细胞术在结核方面的应用	315

结核(TB)已成为人类三大感染性疾病杀手之一,据世界卫生组织(WHO)2011年报道,全世界有870万结核患者,其中有140万人死于TB,每年新发结核病例还在不断增加。预计从2000年到2020年期间大约有1亿人口感染结核,每年将有800万~900万新增病例,约每1秒钟就有一个人感染结核。如果不进行治疗,一个活动性肺结核患者每年平均可感染10~15人。

在1960至20世纪70年代,由于有效抗TB药物的应用,在某些西方国家,TB的流行得到有效的控制,但是近年来,艾滋病(AIDS)的出现,耐多药(MDR)结核菌株的产生,不同国家和地区之间人口迁移的增加使得结核更易传播。结核菌素实验的调查表明,世界三分之一的人口感染结核,这说明我们的免疫系统在控制病原菌方面极其有效,但是又不能够有效的清除病原菌。令人欣慰的是,在感染人群中只有十分之一的可能性发展为活动性结核。另一方面,世界上有相当大部分的人群一旦免疫系统削弱,将有结核复燃的危险性。这点从人类免疫缺陷病毒和结核的相互关系就可以看出,同时感染这两种病原体将大大增加结核病发病的可能性。同样威胁人类的是MDR结核菌株的迅速产生,2005年,在多个国家十分之一以上的结核病例都是MDR菌的感染,由于需要两轮的强化治疗,极大增加了治疗的成本,一部分甚至失去了治疗的机会。

自19世纪以来,结核研究进展缓慢,因为:①致病菌结核分枝杆菌生长极其缓慢(复制周期需20小时,而其他大多细菌只需30分钟);②结核分枝杆菌导致慢性疾病,经常有一段相当长的潜伏期后发病,潜伏时间通常可以维持几年,甚至根本不发病;③即使免疫系统完全激活,也不能清除所有致病菌,结局是宿主体内仍存在大量结核分枝杆菌;④结核分枝杆菌是一种相当危险的病原菌,需要高度防护措施。

为此,急需对TB开发有效快速的诊断方法。在发达国家,只有大约60%的患者仍能够通过结核分枝杆菌的培养得到确诊;而这一确诊率在贫穷国家更低。目前用于结核感染特异性诊断的最佳方法就是利用TB抗原体外短期刺激淋巴细胞,然后检测抗原特异性淋巴细胞的数量。其应用的方法有ELISA、ELISPOT和流式细胞仪。虽然用TB抗原ESAT-6和CFP-10抗原刺激血液样本能够区别TB感染者和BCG接种者,但是流式细胞仪的检测可以鉴别TB接触者和活动性结核病患者。另外,多参数流式细胞仪的诞生可以用于追踪观察血液中从肺组织来源的CD4⁺T细胞亚群。在活动性TB中,TB特异性记忆CD4⁺T细胞可在血液中检测到,可能是来源于肺组织,而在BCG接种者中没有,这对诊断有重要价值。这些基于细胞因子的试验均是来源于基础免疫学的研究。结核分枝杆菌来源的纯蛋白衍生物(PPD)是第一种在体外培养3~5天后被用于刺激淋巴细胞转化试验的抗原,PPD也能诱导

抗原特异性细胞因子反应。细胞因子的检测较淋巴细胞转化试验从时间上缩短了很多,在 8~16 小时内即可检测到,因此,适合于快速免疫学诊断。

在这些检测方法中,ELISA 和 ELISPOT 不能直接反映细胞因子的细胞来源,而流式检测技术可以检测产生细胞因子的细胞数量和细胞来源。其原理是在刺激的过程中,加入细胞因子分泌抑制剂,使细胞因子停留在细胞质内,用荧光标记的单克隆抗体进行染色,并用流式细胞仪进行检测。此细胞学检测方法与其他检测方法不同,可以与多参数分析相结合,对细胞进行计数,对细胞因子产生的量和复杂性进行分析。

消除结核最好的手段是大范围接种疫苗来预防结核的感染,但目前的问题是缺乏有效的疫苗。尽管针对很多急性感染性疾病有大量的疫苗,但是对慢性感染性疾病如结核和自身免疫缺陷性疾病(AIDS)的有效疫苗的开发仍是非常困难的。有多种原因,其中包括高水平的病原体抗原变异性,低的免疫原性或病原体靶向结合免疫系统必要组分如巨噬细胞或 $CD4^+$ T 细胞的能力低;另外,慢性感染性疾病如 TB 和 AIDS 的特点是在感染与免疫应答的诱导产生之间存在时间的延迟,这就使得感染早期病原体不受控制的生长并且形成持续性感染。应用小鼠模型,已经证实结核病中的时间延迟机制,认为结核分枝杆菌特异性 $CD4^+$ T 细胞的活化依赖于将细菌从肺部运至局部淋巴结,由肺部到抗原呈递部位的播散延迟解释了适应性免疫应答启动滞后的原因。因此,在早期感染的几周,细菌的复制相对来讲是不受抑制的,在适应性免疫应答启动后可抑制细菌的生长但是不能完全清除感染。

WHO 确定的目标是在 2015 年以前研发出一种新的结核疫苗。为此,科学家们仍然在研究预防人体感染结核的免疫因素。目前已有的疫苗 BCG,对于儿童播散型结核具有一定的保护作用,但是对于成人结核和儿童肺结核无保护作用。一方面,科学家们正试图研究结核分枝杆菌是如何逃逸(关闭或抑制)免疫反应,从而使免疫细胞失去功能活性;另一方面,寻找能够诱导免疫应答的蛋白抗原。此外,研究感染结核但未发病个体内的免疫状态也非常重要。另外,目前还缺乏适宜的动物模型和与保护相关的检测方法。

目前所研发的疫苗有两种,第一种是亚单位疫苗,这些亚单位疫苗效果不一定比 BCG 好,因此,这些疫苗一般都是基于 BCG 基础上应用的,即新生儿首先要接受 BCG 免疫。而第二种疫苗是重组活疫苗,一般认为这种疫苗比 BCG 优越,因此,将替代传统 BCG,在新生儿注射。基于两种类型疫苗的互补性,各种初免-加强免疫的疫苗策略,包括初免应用活疫苗来替代 BCG,而加强免疫应用亚单位疫苗,可能会产生很好的保护作用。

对于结核分枝杆菌生物学和机体保护效应的深入研究将为第二代结核疫苗的设计提供重要依据,最终的目标是清除结核分枝杆菌,因此,这种疫苗必须能攻击休眠状态的结核分枝杆菌。休眠状态时,巨噬细胞内的结核分枝杆菌代谢率显著下降,此时巨噬细胞抗结核分枝杆菌能力低,因此,很难彻底清除结核分枝杆菌,某些基因复活时,结核分枝杆菌抵抗力会下降,然而,如果免疫系统不能有效控制复活的结核分枝杆菌,就会有导致疾病复发、细菌扩散的危险。另一种合适的第二代疫苗是终身限制结核分枝杆菌在休眠状态,在这种情况下,疫苗要能够动员免疫机制将结核分枝杆菌限制在肉芽肿内,并终身维持这种状态,或能够增强控制结核分枝杆菌的能力,也就是说,这种疫苗必须在易感者体内能够诱导有效免疫应答,这种免疫应答至少应与终身控制结核分枝杆菌感染耐受个体内的水平相当。第二代疫苗应诱导类似或更有效的免疫应答,从而即便对于高度易感个体也能控制疾病的发生,显然,关于这类疫苗的担心是,一旦免疫系统变得脆弱(如 HIV 感染),还能控制结核分枝杆菌

多久?

此外,新型疫苗应能够诱导交叉呈递,例如,r-BCG Δ ure-Hly 疫苗能够诱导交叉呈递、刺激有效保护效应、安全性高、在机体内存活时间有限,这种疫苗还可以通过加入免疫优势抗原如 Ag85 而增加其效果。此外,还可以通过加强注射亚单位疫苗,如由结核分枝杆菌和 BCG 共同拥有的成分,来增加其保护效应。

虽然有关候选疫苗已获得了一些临床前数据,但这些疫苗都还不能在动物模型内完全清除结核分枝杆菌,其中一些疫苗未必强于 BCG (BCG 在一些动物模型能诱导有效保护效应)。因此,新型疫苗应当诱导更好保护效果,并能同时应用于未接触过或已感染的个体甚至结核患者。此外,有关免疫记忆和免疫调节机制的认识,与保护和病理进展相关的有效生物学指标的确认,其与免疫或疾病进程的相关性,也将为疫苗的成功研发提供指导,这需要基础研究与临床研究的相互交流。

吴长有

2015 年 7 月 3 日

第一章

结核分枝杆菌抗原

第一节 结核分枝杆菌抗原概述

1985年,被誉为生命科学领域“登月计划”的人类基因组计划开启了基因组学研究的大门,随后几年基因组学研究以星火燎原之势蓬勃发展,2001年人类基因组草图的公布更是将基因组学相关研究推向了高潮。

1998年,英国 Sanger 中心和法国 Pasteur 研究所将基因组学研究的浪潮带到了结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, *M. tb*)研究领域,他们联合完成了 *M. tb* H37Rv 菌株的全基因组测序工作。2002年,Camus 等在前人工作的基础上,根据 DNA 序列注释了 3924 个蛋白,两年后他们又完成了 *M. tb* 临床株 CDC1551 的全基因组测序工作,将 *M. tb* 的研究推进到一个崭新的后基因组研究阶段。2011年,随着 *M. tb* 基因组学研究的日臻完善,Anand 等开始从蛋白质组学入手对 *M. tb* H37Rv 菌株蛋白质结构进行了注释,揭示了大约 2877 个蛋白的功能。

如果说基因是编码生命的线性密码,那么蛋白质则是呈现生命的三维载体。相对于单纯的基因序列,蛋白质结构能够更深入反映其功能。因此,*M. tb* 蛋白质生物学特性及其功能的研究与应用已经成为当前的研究热点之一。*M. tb* H37Rv 全基因组序列大小约 441Mbp,含有 4047 个基因,其中 3988 个为蛋白编码基因,72.14% 编码蛋白有功能,其中大部分用于编码脂类代谢酶,10% 编码两大类不相关的富含甘氨酸的酸性蛋白,可能与产生抗原变异、逃逸免疫有关(图 1-1)。

M. tb 蛋白很多,有几种不同的分类法:①根据蛋白分布的位置:如荚膜蛋白、细胞壁蛋白、膜蛋白、分泌蛋白和胞浆蛋白。*M. tb* 荚膜位于细菌的外层,在细胞壁的外面,对 *M. tb* 起保护作用,其主要成分为多糖,含有部分脂质和蛋白质;细胞壁蛋白位于细胞膜的外面;膜蛋白主要存在于细菌细胞外膜、细胞内膜和胞内细胞器上;分泌蛋白质(又称胞外蛋白)是 *M. tb* 在细菌对数生长的早、中期分泌并释放到菌体外的一类蛋白,该类蛋白主要存在于培养基中或感染细胞的吞噬小体内,在菌体内仅有微量存在;而胞浆蛋白出现在细菌对数生长的晚期,主要存在于细菌的细胞质中,待细菌死亡后将其释放到培养基中。②根据蛋白的理化性质:如脂蛋白、糖蛋白等。③根据蛋白的功能:如热休克蛋白、酶、纤维结合素连接蛋白等。

M. tb 蛋白也有多种命名方法:①根据主要蛋白的排列顺序号,该命名法是 Nagai 等创立的,他们将从 *M. tb* 纯化的蛋白命名为 MPT,将从 BCG 培养滤液中纯化的蛋白命名为 MPB,后面再接着一个指示蛋白在非变性聚丙烯酰胺凝胶中相对迁移率的数字。②根据交叉免疫电泳(CIE)结果命名;③其他。