

斯奇康 (BCG-PSN) 临床研讨全国多媒体视频会议
BCG-PSN LINCHUANG YANTAO QUANGUO DUOMEITI SHIPIN HUIYI

论文汇编

中华医学会科技发展中心
2003年8月·广州

目 录

专题报告

全球哮喘发病增加的机制及防治策略——卡介苗相关组分防治哮喘的前景分析 (1)

皮肤免疫系统研究进展 (6)

结核病的流行和免疫治疗 (10)

免疫调节剂的临床应用 (23)

大会交流

CpG DNA 与卡介苗 DNA 的免疫机制、应用 (26)

卡介菌多糖核酸对成人哮喘患者外周血单个核细胞产生 IgE 水平的影响 (31)

卡介菌多糖核酸对哮喘患儿外周血单个核细胞 TH1/TH2 细胞因子分泌的调节作用 (38)

应用卡介菌多糖核酸注射液治疗儿童哮喘的研究 (42)

卡介菌多糖核酸对哮喘小鼠 T 辅助细胞亚群失衡和变应性气道炎症的影响 (45)

卡介菌多糖核酸对 SLE 患者辅助 T 细胞因子和疾病活动性的影响 (49)

卡介菌多糖核酸对尖锐湿疣患者的免疫调节作用及临床疗效 (53)

卡介菌多糖核酸、胸腺肽影响正常和免疫抑制小鼠 T 淋巴细胞亚群的对比研究 (55)

卡介菌多糖核酸（斯奇康）治疗常年性变应性鼻炎的临床观察及免疫学机制探讨 (62)

卡介菌多糖核酸注射液治疗变应性鼻炎 40 例疗效观察 (66)

化学药物联合免疫调节剂治疗复治肺结核的疗效观察 (68)

卡介菌多糖核酸及其对感冒的防治作用 (72)

全球哮喘发病增加的机制及防治策略 ——卡介苗相关组分防治哮喘的前景分析

广州呼吸疾病研究所

钟南山¹ 赖克方²

尽管防治支气管哮喘和过敏性疾病的药物和技术不断进步,哮喘和过敏性疾病的发病率和死亡率不仅未下降,在全球范围内反而逐年增加,特别是在发达国家,过去20年来这些病例增加了一倍以上。我国的哮喘发病率亦同步增高,根据全国部分城市哮喘流行病学调查结果,中国青少年哮喘患病率为3.3-5.1%,较10年前增加了1个百分点,广州地区的哮喘患病率更是在全国的前列。目前全国至少有一千万以上儿童患有哮喘,加上成人哮喘,估计全国哮喘人数高达2500万。从流行病学角度,结合哮喘发病的免疫机制,明确哮喘增加的因素,寻找早期干预措施,减少哮喘的患病率是我们当前需要研究的一个重要课题。

一、感染与支气管哮喘发病

1、卫生学说 全球哮喘增加的原因至今尚未明确,用过敏原接触增加、大气污染、遗传基因变异等均不好解释这一现象。经济发展越是现代化,生活方式越是西方化,该国家或地区的哮喘发病率越高。因此认为,人类居住的环境改变导致了哮喘发病率的增高。根据流行病学的调查结果,有研究者提出哮喘和其它变应性疾病发病的“卫生学说”(Hygiene Hypothesis)。卫生学说认为,由于生活卫生条件的改善,使得人类居住的周围环境过于清洁,人们特别是儿童接触病原微生物的机会明显减少,从而导致哮喘和过敏症发病率增高。

2、流行病学调查

Kramer (1999) 在2471名5-14岁的德国儿童中发现,来自人口少的家庭(≤ 3 人)小儿,若在24个月前入托儿所,其变态反应疾病的发病率较11个月以前入托儿所者高2.72倍;而大家庭中的小儿则无此现象。这是由于在托儿所中或在大家庭中彼此接触,使小儿得呼吸道感染的机会较多。意大利免疫学家Paolo Matricardi带领的研究小组检测了8种病原体的抗体,其中3种经消化道传染,8种经空气传播。调查发现感染空气传播性疾病与哮喘和过敏症发病无明显关系。而那些接触过2至3种经口传染的病原微生物而产生抗体的人员,其哮喘和过敏症发病菌率显著低于其他人员。这些流行病学调查提示,小儿接触感染源或呼吸道感染越少,其变态反应疾病发病率越高。发达国家(英国、美国等)的哮喘发病率大于发展中国家,而在中国,香港地区的哮喘发病率大于广东地区,广东和北京等地区又大于某些内陆地区,这些现象为卫生学说提供了有力的佐证。

3、哮喘 Th1/Th2 反应的变化

为什么感染的减少会导致哮喘和过敏症发病率增高?这与变应性疾病的发病机制有关。CD4+T细胞根据功能的不同分为两种辅助性T细胞亚型(Th1和Th2)。Th1型细胞主要分泌IFN- γ 、IL-2等细胞因子,Th2主要分泌IL-4、IL-5、IL-13和GM-

作者介绍:1 中华医学会理事 中华医学会呼吸病学分会主任委员 中国工程院院士

2 广州呼吸疾病研究所博士后

CSF 等。Th1 主要调节免疫抗感染功能, 促进巨噬细胞吞噬病原微生物及细胞毒性反应。Th2 主要调控变态反应, 促进嗜酸粒细胞、肥大细胞的分化、聚集和激活, 及 IgE 合成。近十余年来, 不仅在动物而且在人身上, 逐渐阐明了 Th1 和 Th2 平衡失调在感染和变态反应疾病发病中的作用。目前研究表明, 支气管哮喘是以 Th2 反应为优势的变态反应性疾病, 即 Th2 细胞数目增多和功能增强。哮喘气道炎症涉及肥大细胞、淋巴细胞和嗜酸粒细胞等多种炎症细胞, 其中表现为 Th2 型的 CD4⁺ 淋巴细胞在哮喘发病过程中起着关键作用。过敏原通过抗原呈递细胞激活淋巴细胞, 使其由 Th0、Th1 型向 Th2 型转化, Th2 型淋巴细胞通过分泌 IL-4、IL-5 和 IL-13 等细胞因子, 导致炎症效应细胞如肥大细胞、嗜酸粒细胞的聚集和激活。哮喘气道粘膜和外周血淋巴细胞表达 IL-4、IL-5 mRNA 的细胞数显著增加, 治疗缓解后下降, 同时表达 IFN- γ mRNA 的细胞增加。表达 Th1 或 Th2 的细胞数量与哮喘严重程度、气道高反应性密切相关。

正常情况下, Th1 与 Th2 型细胞之间处于一种平衡状态, 两者相互约束, 相互消长。例如在由 Th1 调控的疾病, 如多发性硬化症, I 型糖尿病患者中, 其哮喘发病率很低, 这可能是 Th1 占优势, 从而抑制了 Th2 的功能。细菌和病毒自然感染刺激机体免疫系统产生 Th1 反应, 此类感染减少导致机体 Th1 反应减弱, 同时 Th2 反应相对增强, 机体易于发生过敏和变态反应性疾病。

4、Th1/Th2 反应的调节

既然哮喘是一种以 Th1 与 Th2 比例失调为特征的变应性疾病, 研究和寻找抑制 Th2 反应或增强 Th1 反应的药物和方法无疑将给哮喘的防治带来新的前景。目前研究发现通过以下途径可以抑制 Th2 或增强 Th1 反应: (1). 抑制 Th2 细胞因子活性, 如抗 IL-4 和抗 IL-5 抗体。动物实验显示, 抗 IL-5 单抗可以显著减少抗原诱发嗜酸细胞聚集和气道高反应性 (J Allergy Clin Immunol 1999), 但由于人源化问题没有解决而不能用临床。目前已有人源化单抗 (mepolizumab), 临床研究显示能够诱导哮喘患者骨髓嗜酸细胞成熟障碍, 减少支气管粘膜嗜酸性干细胞的数量 (J Allergy Clin 2003)。人源化的抗 IL-4 单抗 (pascolizumab, SB240883) 能够抑制 Th2 细胞激活和 IgE 产生 (Clin Exp Immunol 2002) (2). 应用 Th1 细胞因子如 IFN- γ , 具有减轻气道炎症的作用。剂量较大, 价格昂贵, 作用时间短暂, 同时有明显的副作用。(3). 糖皮质激素, 对 Th2 细胞因子的表达具有显著的抑制作用, 但作用为非特异性, 不能诱导 Th1 细胞因子 IFN- γ 产生, 不能使 Th2 向 Th1 转化。(4). IgE 抗体: 人源化重组抗 IgE 单克隆抗体 (Omalizumab, rhuMab E25) 已成功完成了第四期临床试验。这种人源化的 IgE 单抗 E25 可显著降低病人血清中的 IgE 水平和 IL-13 水平, 减少哮喘患者的糖皮质激素的用量, 某些病例甚至完全停药, 使哮喘症状明显改善, 哮喘急性发作、急诊、住院率均明显下降 (J Allergy Clin Immunol 2003), 生活质量提高 (Eur Respir J 2002)。预期 2003 年底能在美国和欧洲上市。但价格及为昂贵, 且治疗时间长。(5). CTLA4Ig 淋巴细胞激活需要抗原呈递细胞上的 T 细胞受体 (TCR) 和共刺激分子 B7 共同参与。CTLA4Ig 是一种阻断淋巴细胞 CD28 与 B7 分子结合的融合蛋白。在过敏性小鼠模型中, CTLA4Ig 可显著抑制嗜酸细胞气道。(6). BCG 及其相关组分如 DNA、脂多糖、胞外蛋白等。近年来研究表明, 结核分支杆菌 (TB) 及其减毒株 BCG 诱导机体的免疫是一种典型的 Th1 反应。Shirakawa (Science, 1997) 等在 867 名 6-12 岁日本儿童中发现, BCG 迟发反应强度与特应质 (Atopy) 呈负相关, 阳性结核菌素反应提示低哮喘发病率、低血清 IgE 水平。结核菌素阳性者的变应症发生率仅为阴性者的 1/3-1/2, 并且在 7-12 岁时过敏症状的消退

率是阴性反应者的 6-9 倍。对血清总 IgE、sIgE 和 Th2 细胞因子检测发现, 结核菌素阳性者显著低于阴性者, 而 Th2 细胞因子则显著高于阴性者。Shirakawa 的调查报告引起了人们广泛的关注和极大的兴趣, BCG 及其组分能否用于哮喘的预防和治疗? 下面将重点讨论一下 BCG 及其相关组分对 Th1/Th2 反应的免疫调节作用及在哮喘防治中的应用前景。

二、BCG 相关组分的免疫调节作用

BCG 的主要成分包括脂类、多糖、蛋白和核酸。脂类和多糖常结合在一起, 为细胞壁的主要成分, 由肽聚糖、阿拉伯半乳糖聚糖和分支菌酸组成, 其免疫调节作用还未完全明确。脂多糖是细菌被膜的一个关键结构和功能成分, 生物合成时需要大量基因以合成其前体, 它们先在胞浆内合成和组装, 然后转移至细胞表面。

1、完整 BCG 近年来, 关于 BCG 对哮喘 Th1/Th2 反应的调节作用, 国内外已有多篇动物实验的报导, 这些研究均肯定了 BCG 接种对哮喘气道炎症具有肯定的抑制作用。研究发现, BCG 可以抑制小鼠哮喘模型 OVA 特异性 IgE 产生, 防止气道高反应性, BALF 嗜酸细胞计数及 IL-5 水平显著降低, IFN- γ 水平增高, 并且发现这种作用与 BCG 诱导体内 IFN- γ 合成密切相关, 因为敲除 IFN- γ 基因的小鼠, BCG 的作用大部分消失。BCG 对气道炎症的抑制作用还可能与 $\gamma\delta$ T 细胞活化增生有关 (李超乾, 同济医大)。采用高分泌 IgE 的 BP2 小鼠模型, 出生 10 天后感染 BCG, 16 周后 OVA 激发, 发现 OVA 处理组的气道嗜酸粒细胞炎症和气道高反应性均被显著抑制, 伴随淋巴细胞分泌 IFN- γ 水平显著增高。还有研究发现, 不仅 OVA 激发前 BCG 免疫可以抑制气道炎症的发生, OVA 激发后同样能够发挥作用 (沈华浩, 等, 浙江医大)。采用尘螨抗原 Der p2 致敏的气道炎症模型, BCG 通过调节 Th1 型反应亦有抗炎作用。

2、BCG-DNA

Tokunaga 等早在 1984 年发现, 从 BCG 中分离纯化的 DNA 成分 (BCG-DNA) 具有显著的抗癌活性, 进一步研究表明, BCG-DNA 的抗癌活性与自然杀伤细胞 (NK) 的激活和 IFN- α/β 、 γ 等细胞因子的产生有关。经过 DNA 酶消化处理后, BCG-DNA 的上述活性则完全丧失。所有动植物的 DNA 组分则无此功效。这些研究首次证明, 细菌的基因组 DNA 有可能通过其自身的结构特点, 直接触发机体的免疫防御机制。1999 年 Shigeharu 将 BCG-DNA 与哮喘患者外周血单个核细胞 (PBMC) 共同培养, 发现 BCG-DNA 可使 PBMC 产生 IFN- γ 、IL-12 的数量增加, 从而抑制 IgE 的产生。使用 IFN- γ 单抗、IL-12 单抗或 IL-12 受体抗体可拮抗对 IgE 分泌的抑制作用。BCG-DNA 能够抑制由 IL-4 引起的各种细胞系的转录, 从而显示 BCG-DNA 在过敏性哮喘的治疗中具有潜在的应用价值。新近研究发现, Ag85DNA 疫苗经鼻滴入治疗后, 它们的肺部变应性炎症病理变化减轻, BALF 中细胞总数、嗜酸细胞计数均明显减少 (吴健, 广州呼研所)

为明确 BCG-DNA 发挥免疫活性作用所需的碱基序列, Tokunaga 等依据已知的编码各种 BCG 蛋白的 cDNA 序列合成了许多寡核苷酸, 发现含有非甲基化 CpG 的核苷酸序列为诱导 IFN 和激活 NK 细胞所必须。含 CpG 结构的 DNA 的基本特征为一些中间含未甲基化的二核苷酸, 5' 端为 2 个嘌呤, 3' 端为 2 个嘧啶的寡核苷酸序列。Krieg 等将此类特定结构称为 CpG 基序 (CpG-motif), 又称为免疫激活序列 (ISS), 并认为 CpG 侧翼碱基及核酸骨架对其免疫活性有较大影响。研究表明, CpG 具有明显的 Th1 刺激作用, 能促使 Th2 反应向 Th1 反应转变, 提示 CpG 可能在哮喘的预防及治疗中有应用潜

力。采用抗原致敏的哮喘动物模型研究发现, CpG 能显著抑制抗原引起的气道嗜酸细胞增多, 降低气道高反应性, 降低 IL-4 水平及 IgE 合成, IFN- γ 水平增高。尤其在 CpG 与抗原同时使用的情况下, 效果特别明显。便有意义的是, 这种保护作用可以维持 6 周以上。但 CpG 激活序列有严格的种属特异性, 对人和小鼠的免疫激活作用最强的 CpG 基因序列并不完全一样, 一般人免疫细胞对 CpG 基因序列的侧翼碱基、拷贝数及位置有更严格的要求。

3、BCG 细胞壁骨架

BCG 细胞壁中含有多种组分均在免疫反应中起重要作用, 其中的蜡质 D 是一种肽糖脂与分支菌酸的复合物, 具有免疫佐剂作用, 增强机体免疫反应。结核杆菌细胞壁上的另一种硫酸脑苷脂, 可抑制吞噬细胞中吞噬体与溶酶体的结合, 是结核杆菌在巨噬细胞中长时间存活, 延长免疫作用持续时间。Tsuji 等研究发现, BCG 的细胞壁成分可以促进树突状细胞的成熟, 并且诱导 IL-12 的分泌。IL-12 对促进 Th0 细胞向 Th1 细胞亚群转化和 IFN- γ 分泌起着重要作用。胞壁蛋白还能促使与抗感染相关的 hBD-1 的表达(冯云, 等, 华西医大)

4、胞外蛋白

TB 是寄生于单核吞噬细胞内的病原体, 这是 TB 致病和诱导机体免疫的一个重要特点。近年来研究表明, TB 或 BCG 分泌的胞外蛋白是诱导机体产生保护性免疫(Th1 反应)的主要抗原。胞外分泌蛋白主要包括 Ag85B(30kDa)、Ag85A(32kDa)、MPT(16kDa), 约占分泌蛋白总量的 50%, 其中 Ag85B 是含量最丰富的一种胞外蛋白。这些蛋白均有较强的刺激 Th1 反应的免疫调节作用, 目前正在研究能否作为预防结核的疫苗, 动物实验已取得了良好的效果, 推测这些胞外蛋白亦有可能用于哮喘疫苗的制备。我们最近研究发现, 30kd 蛋白可以促进哮喘患者外周血淋巴细胞分泌 IFN- γ , 抑制尘螨抗原的作用(吴健, 等, 广州呼研所)。

5、BCG-PSN

卡介苗素为卡介苗除去蛋白质后提取的有效成分, 也是一种非特异性免疫调节剂。其中主要成分为脂多糖占 70%, 核酸占 25%。国内临床初步研究表明, BCG-PSN 具有广泛的免疫调节作用, 哮喘患者肌肉注射卡介苗素后使 CD4⁺ 细胞百分比下降, CD8⁺ 细胞百分比增高, 血清 IgG 升高, 刺激单核巨噬细胞系统, 使 IL-12、IFN- γ 增多, 并稳定气道壁上的肥大细胞膜, 抑制其脱颗粒, 从而降低气道高反应性。

三、哮喘防治的应用前景

1、流行病学调查

自 1997 年 Shirakawa 等报道了日本的学龄儿童中, 结核菌素的迟发相超敏反应强度与特异质呈负相关后, 引起了人们对 BCG 相关组分治疗哮喘等变应性疾病关系的极大兴趣。因为 BCG 是全世界应用最广泛的疫苗, 如能将其改造成哮喘防治方面的免疫制剂, 前景将十分诱人。Shirakawa 的调查报告发表之后, 诸多国家和地区相继进行了结核或 BCG 与变应症关系的调查, 但结果不尽一致。悉尼、柏林和几内亚三地区的流行病学调查表明, BCG 儿童接种者较未接种者变态反应性疾病发生率明显降低。另有报道, 给变应性鼻炎患者注射 BCG, 4 周后测定血清总 IgE 水平及抗原特异性 IgE 均有明显降低。BCG 接种可使特异质和非特异质患者接受尘螨 Der p II 致敏后外周血单核细胞(PBMC)释放 IgE 水平下降。

也有相反的报导, 认为结核菌感染或 BCG 接种与哮喘等变态反应性疾病的发病没有

关系。中国香港地区对 3110 名 10 岁儿童进行了调查, 其中 2599 名儿童在香港本土出生, 且出生后即进行了 BCG 接种, 从中随机抽取了 980 名儿童行结核菌素试验。比较菌素试验阳性和阴性组哮喘等变应症发生率, 结果二组儿童并无明显差别。且在有变态反应性疾病和无变态反应性疾病的两组儿童中, 结核菌素试验亦无任何差别。英国 Pahari A、瑞典 Alm JS、挪威的 Jentoft HF 等对当地的调查亦显示 BCG 接种并不影响以后变态反应性疾病的发生。

以上研究结果不一的原因尚不清楚, 分析可能的原因: 1) 以上研究均为回顾性调查研究, 影响因素较多; 2) 不同的研究采用的结核菌素试验阳性的标准不一; 3) 不同国家和地区所接种 BCG 的品系、时间和数量有差别; 4) 不同国家和地区自然感染结核的百分率差别较大; 5) 各研究者采用的判断哮喘和变应症的标准和方法不统一。

2、BCG 的临床应用

自然状态下, 机体主要通过细菌感染刺激机体免疫系统产生 Th1 反应, 使 Th1/Th2 反应处于平衡。理论上, 采用增强 Th1 反应的细菌蛋白疫苗或 DNA 疫苗应是最能模拟机体自然感染的一种治疗方法。几乎所有动物实验均显示 BCG 能够显著抑制哮喘气道炎症, 结果令人鼓舞, 但其离临床应用尚有一定差距。首先如用活的 BCG 局部注射副作用大, 剂量小不能诱发有效的免疫反应。采用雾化吸入给药, 有望产生强力和持久的免疫保护作用, 但大量活的 BCG 可能诱发 Th1 细胞介导的严重病理免疫反应, 另外治疗期间或治疗以后机体免疫力下降时, 有可能导致细菌的扩散。

事实上, 中国早在 20 多年前即采用灭活 BCG 用来防治慢性支气管炎和支气管哮喘等疾病。湖南九芝堂斯奇生物制药有限公司通过工艺改进去掉蛋白质成分, 研制成新一代 BCG 提取物 - 卡介菌多糖核酸 (BCG-PSN), 其中主要成分为脂多糖占 70%, 核酸占 25%。生物学检测表明无急慢性毒性, 无致热原性, 肌肉注射无明显副作用。国内临床初步临床研究表明, BCG-PSN 对支气管哮喘、过敏性鼻炎等变应性疾病具有一定的疗效。但国内多数研究设计不够严谨, 如样本例数太少, 检测批标不够客观, 没有采用随机双盲对照方法。因此, 对 BCG-PSN 治疗支气管哮喘的疗效及其免疫调节机制有待进一步验证和研究。广州呼吸疾病研究所目前正在进行一个严格的随机双盲安慰剂对照试验, 观察 BCG-PSN 对支气管哮喘合并过敏性鼻炎的疗效。研究结果初步显示 BCG-PSN 能显著减轻过敏性鼻炎的症状, 减少抗过敏药物的用药剂量, 但停止治疗 2-3 个月后作用消失(李靖, 等. 广州呼研所)。同时有必要进一步研究 BCG 的相关组分的免疫调节作用, 明确具体是那种组分具有刺激 Th1 反应和抑制嗜酸细胞气道炎症的作用, 在此基础上进一步重组、构建亚单位疫苗或基因疫苗, 有望开发出新一代的支气管哮喘和过敏性疾病的防治药物。

皮肤免疫系统研究进展

中国医科大学附属第一医院 110001

陈洪铎

临床医师们早已经注意到,除了湿疹、接触性皮炎等通常限于皮肤外,很多免疫反应性疾病常以皮肤为靶器官。例如药物变态反应主要侵犯皮肤;一些自身免疫性疾病如红斑狼疮、皮炎、天疱疮、大疱性类天疱疮等也通常侵犯皮肤;异体骨髓移植后发生的移植物抗宿主反应也常有皮肤损害。因此,人们多年来已认识到皮肤是发生免疫反应的一个器官。80年代以来逐渐认识了朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LC)、角质形成细胞(Keratinocyte, KC)等的免疫学功能。现已明确皮肤不仅是免疫反应的效应部位并且也可以是免疫反应的启动部位。所谓皮肤免疫系统(skin immune system),主要包括LC、其他抗原递呈细胞(APC)、KC、淋巴细胞、内皮细胞、肥大细胞以及多种体液因子。

朗格汉斯细胞

1868年Langerhans用氯化金染色发现,于表皮内有一种树枝状的细胞,以后被命名为LC。现已明确LC是一种具有特异形态结构和多种表面标志,来源于骨髓和脾脏,分布不均匀,具有摄取、处理和递呈抗原功能,易受内外环境因子影响的细胞。

LC在电镜下可见特征性的Birbeck颗粒;光镜下呈树枝状;能表达ATPase、MHC-I、II类分子、CD1a(T6)、CD1c、CD32(Fc γ R II)、CD33、CD4(T4)、CD40、CD45(T200)、CD45RO、CD49、CD80(B7-1)、CD86(B7-2)、CD83、CD54(ICAM-1)、CD58(LFA-3)、CD50(ICAM-3)、CD68、CD49a~f/CD29(VLA-1~6)、CD11b/CD18(C3b iR)、CD11c/CD18、Fc ϵ RI、S-100、E-cadherin、CD207(Langerin)、CD208(DC-LAMP)、Lag等。这些分子不一定同时表达。例如正常人表皮内LC表达CD1a和CD207;在LC成熟过程中CD1a和CD207的表达逐渐减弱,CD40、CD80、CD86和CD54的表达逐渐增强;而CD83和CD208则仅表达于完全成熟的LC。

LC主要存在于表皮及毛囊上皮内,也存在于真皮、粘膜、淋巴结(于淋巴结内又称为interdigitating cell)等处。LC于体表的分布密度,因部位而异。于正常成年人,面颈部最多,躯干部、四肢、头顶次之,口腔粘膜较少,骶尾部及掌跖更少,角膜中央则无LC;于正常大鼠及小鼠,也呈类似情况(Br J Dermatol, 1985,113:707; J Invest Dermatol, 1983,81:20等)。

我们给新生期Lewis.1N大鼠静脉输注(Lewis $\times$ BN)F1大鼠骨髓细胞,待成年后用抗Ia单克隆抗体检查此种骨髓嵌合体大鼠的表皮内LC的单倍型,证实了大鼠LC起源于骨髓。我们又给C57BL/6及A小鼠致死量照射后静脉注入(A $\times$ C57BL/6)F1小鼠脾脏细胞,然后检查这些脾细胞嵌合体小鼠的表皮内LC的单倍型,发现LC也可来源于脾脏(J Invest Dermatol, 1986,86:630; J Cutan Pathol, 1986,13:95等)。但是存在于

骨髓和脾脏内的 LC 前体, 如何迁徙到并转变成皮肤内的 LC, 尚未完全阐明。Thomas 等最近证实, TGF- β 可促使 LC 前体分化为 LC。

现已明确, LC 具有摄取、处理和递呈抗原的作用。1980 年 Streilein 等首先发现了 LC 在接触性变态反应中的作用, 这说明 LC 能递呈外源性抗原。我们发现, H-Y 不相容性皮肤移植物是否被排斥, 与移植物本身的 LC 密度有关, 密度越高越易被排斥; 用同种异基因 LC 更替移植物内原有的 LC 后, 可明显延长此 H-Y 不相容性移植物的存活期; 于 SKn 不相容性皮肤移植中, LC 也有类似作用 (J Invest Dermatol, 1983,81:20; Transplantation, 1985,40:194)。我们的发现证实了 LC 能递呈内源性抗原。

我们进一步将 BN δ 大鼠皮肤移植于对其耐受的 Lew 或 Lew.1N δ 大鼠宿主 150 天, 使其中多数 LC 被宿主 LC 所更换, 取下后再移植到 BN η 大鼠。结果发现, 当移植体内 LC 与移植物本身的 MHC 不一致时, 移植物存活显著延长。此结果说明了 LC 在移植物排斥过程中作用的 MHC 限制性 (Transplantation, 1985,40:194; Transplantation, 1991, 51:259 等)。现已公认, 不但 LC, 并且其他抗原递呈细胞, 在递呈抗原的过程中都具有 MHC 限制性。

我们用免疫组化技术发现, 在皮肤恶性上皮肿瘤内 LC 显著减少, 在良性上皮肿瘤内则显著增多; 又发现, 在 DMBA 致癌过程中, 恶性肿瘤的发生、发展恰与局部 LC 的减少呈现同步。这也许是恶性肿瘤难以被机体免疫系统排斥的机理之一 (J Am Acad Dermatol, 1989,20:1007)。

多种外界因子可增加、减少或损伤表皮内的 LC。我们于豚鼠观察了 0.5% 8-甲氧补骨脂素涂抹及小剂量长波紫外线 (2.8j/cm²) 照射一次后 LC 的改变, 证实约 5 天后完整的 ATP 酶阳性 LC 在局部几乎全部消失, 2~3 周后才基本恢复正常; 还观察了口服 8-甲氧补骨脂素及小剂量长波紫外线治疗 (PUVA) 期间患者的 LC, 发现治疗 2 周后, 在无皮损区, 表皮内 ATP 酶阳性 LC 的密度减少到治疗前的三分之一左右 (中华医学杂志, 1986,66:668)。

Hosoi 等发现, 表皮内 LC 与 CGRP+ 神经纤维密切接触; 试管内 LC 的抗原递呈作用, 可被 CGRP 抑制。这个发现提供了神经系统作用于免疫系统 (至少是皮肤免疫系统) 的客观证据。我们最近发现, 于银屑病皮损表皮内, 神经纤维与 LC 的接触明显增加 (尚未发表)。

正常表皮内的 LC 能摄取和处理抗原, 但递呈抗原的作用很弱; 当 LC 摄取抗原后在 KC 等分泌的 IL-1、TNF- α 、GM-CSF 等细胞因子的作用下, 就离开表皮, 通过淋巴管而进入局部淋巴结; 在淋巴结内递呈抗原给幼稚 (naive) T 细胞而使后者增殖。谢勇等发现, 正常表皮内 LC 胞浆内含有结合珠蛋白 (haptoglobin), 且结合珠蛋白能抑制 LC 由摄取、处理抗原向递呈抗原这一功能的转变。

角质形成细胞

长期以来 KC 被认为只起到机械的屏障作用。80 年代发现 KC 能分泌 IL-1 后, 各国学者陆续发现尚可能分泌多种细胞因子 (IL-3、IL-6、IL-7、IL-8、IL-10、IL-11、IL-12、IL-13、IL-15、TNF- α 、TGF- α 、TGF- β 、M-CSF、VEGF、bFGF、

NGF[?]、PAF[?]、PDGF、POMC、 α -MSH、MGSA、G-CSF、GM-CSF、RANTES、Gro、ENA-78、IP-10、MIP-2、MCP-1、SCF 等)。我们最近发现,正常 KC 内存在结合珠蛋白的 mRNA;于银屑病、扁平苔藓等病损处 KC 明显表达结合珠蛋白 (Int J Dermatol, in press)。

正常 KC 表达 MHC-I 类抗原,故当 KC 恶变或受病毒感染时有可能被自身的 CD8⁺T 细胞所杀伤。我们观察到, KC 恶变或受病毒感染后, MHC-I 类抗原的表达常消失;这可能是这些病毒感染或恶变的 KC 未被免疫系统清除的机理之一 (Jpn J dermatol, 1996, 106:674; 中华皮肤科杂志, 1993, 26:233 等)。

正常表皮内 KC 并不表达 MHC-II 类抗原。我们及国外同行先后发现了病损处的 KC 不但常表达 MHC-II 类抗原 (包括 DR、DQ、DP) 并且还常表达各种 CD 分子 (包括 CD36、CD57、CD16、CD54、CD44、CD13、CD14、CD68、CD40、CDw60 等) 和 B7-3 等,提示 KC 可能具有递呈抗原的作用 (J Am Acad Dermatol, 1989, 20:1007; J Dermatol, 1991, 18:196 等)。我们最近用转基因技术,使卵白蛋白的一条可与 MHC-I 类分子形成复合物的肽片段表达于 KC,发现此种携带内源性抗原的 KC,不能刺激幼稚的 CD8⁺T 细胞,但能刺激曾接触过该肽片段的 CD8⁺T 细胞,使其增殖。此结果说明 KC 在一定条件下确能递呈抗原。

淋巴细胞、内皮细胞和真皮内其他细胞

正常皮肤内很难找到 B 细胞。正常表皮内的 T 细胞约为皮肤内全部 T 细胞的 2%;多为 CD8⁺T 细胞, CD4⁺T 细胞很少;多为 T α / β 细胞,但也有极少 T γ / δ 细胞。正常真皮内有 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞,常表达 CD45RO 和 CLA-1 抗原。我们检测了数十种非感染性的炎性皮肤证实真皮内浸润的单个核细胞多为激活的 T 细胞。

正常真皮中血管内皮细胞仅低水平表达 ICAM-1、VCAM-1 和 E-selectin;但有炎症时明显表达,从而使炎症细胞得以渗出。我们在一些皮肤炎性病变中,证实血管内皮细胞 ICAM-1 的表达明显增强 (中华皮肤科杂志, 1996, 29:183 等)。

正常真皮内其他有免疫功能的细胞包括肥大细胞、巨噬细胞、真皮树突细胞 (dermal dendrocyte)、面纱细胞 (veiled cell) 等。肥大细胞表面附有 Fc ϵ RI,因而能结合 IgE,在皮肤变态反应中发挥作用。巨噬细胞的吞噬作用比 LC 强;也能处理并递呈抗原,但刺激 T 细胞的作用比 LC 弱得多。真皮内还有其他树枝状的细胞,其表面标志与 LC 有所不同,统称为真皮树突细胞,可能是表皮内 LC 的前身。面纱细胞是摄取抗原后进入淋巴管内的 LC (可能还有真皮树突细胞)。

小结与展望

皮肤免疫系统可被认为是全身免疫系统的窗口。皮肤不仅是免疫反应的效应器官,而且也可作为免疫反应的启动部位。在皮肤免疫系统中,不仅 LC、真皮树突细胞、巨噬细胞、内皮细胞、淋巴细胞、肥大细胞,并且 KC 也常活跃地参与免疫反应。

于免疫反应的启动期 (即致敏期, sensitization phase), LC 摄取抗原后,在 KC 等分泌的 IL-1、TNF- α 、GM-CSF 等细胞因子的作用下被激活,离开表皮; LC 或其他 APC 摄取、处理抗原,通过真皮淋巴管,成熟后在局部淋巴结递呈抗原给幼稚 T

细胞而使后者增殖。增殖后的 T 细胞常表达 CLA-1, 因而能与真皮血管内皮细胞的 E-selectin 等粘附而返回皮肤。

于免疫的效应期 (即激发期, elicitation phase), KC 等接触抗原后表达 ICAM-1 等粘附分子并释放 IL-1、TNF- α 、GM-CSF、IL-12 等前炎症细胞因子 (proinflammatory cytokine)。这些前炎症细胞因子分别能激活局部内皮细胞 (使其表达 ICAM-1、ELAM-1、VCAM-1 等), 上调多种免疫分子的表达, 趋化各种白细胞; 后者中的抗原特异性效应 T 细胞, 可被携带相应抗原的 APC 所激活 (抗原特异性 CD8+ 效应 T 细胞可能被携带相应抗原的 KC 所激活); 被激活的 T 细胞产生多种细胞因子 (如 TH1 产生 IL-2、IFN- γ 、TNF- β 等), 从而大大增强了炎症反应。于某些炎症性皮肤病, KC 产生结合珠蛋白; 后者能抑制 LC 递呈抗原, 从而下调免疫反应。

致敏期或激发期, 都包括十分复杂的过程和多种分子的参与。如能了解某些疾病时皮肤免疫系统的异常, 就可能找到相应的治疗手段。例如银屑病已知为 T 细胞介导, 其主要浸润细胞为真皮内的 TH1 和表皮内的 TC1, 其表皮和真皮中有较多已成熟的 LC, 其内皮细胞可表达 CD31、CD34 和 PNAd。又如异位性皮炎, TH2 明显增加, 病损处可见 CD1a+ CD23+ Fc ϵ RI+ RFD-1+ LC, 病损处 KC 合成 RANTES、GM-CSF、TNF- α 等。在了解一些免疫性皮肤病的分子机理的基础上, 近年来已研制出多种药物, 分别用于以下治疗策略: (1) 针对原发刺激 (primary stimulation); (2) 针对共同刺激 (costimulation); (3) 针对 T 或 B 细胞增殖; (4) 免疫偏离 (immune deviation); (5) 针对某种细胞因子。可以期望, 在了解皮肤免疫系统的基础上, 对各种免疫性皮肤病的治疗, 将有新的突破。

我们的工作与国际先进同行间的差距很大。我们唯有团结友好, 卧薪尝胆, 艰苦实干, 才有可能在世界的医学科技中占有一席之地。

结核病的流行和免疫治疗

北京结核病胸部肿瘤研究所

端木宏谨

一、结核病流行的生物学环节

结核病在人群中流行的三个生物学环节是：① 传染源即结核杆菌传播的来源；② 感染传播的途径；③ 易感人群。这三个环节往复循环，形成了结核病在人群中的流行蔓延，控制结核病的流行就要针对这三个环节，控制传染源，使不再发生结核杆菌的播散；或切断结核杆菌在人群中传播的途径；或保护易感染人群，使不受结核杆菌的感染，或感染后不发生结核病，切断结核病在人群中流行的三个生物学环节或其中任一环节就可有效地阻止人群中结核病的传播流行。

（一）传染源

结核病的传染源是排菌的肺结核病人，当病人咳嗽、喷嚏或大声说话时，肺部病灶中的结核杆菌随呼吸道分泌物排出到空气中，健康人吸入后发生结核感染，形成原发病灶，发生结核病。

1. 结核病的病原 1882年 Koch 发现结核杆菌为结核病的病原菌。1896年 Lehman 和 Neuman 将其命名为结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*)。分枝杆菌属是好氧、无运动能力、缓慢生长的杆菌，有分枝生长的倾向，一般不易着色，一旦着色后可抵抗酒精的脱色，故又称为抗酸杆菌。结核分枝杆菌对外界抵抗力较强，在阴湿处能生存5个月以上；但在阳光下曝晒2小时，5%~12%甲酚皂溶液接触2~12小时，70%酒精接触2分钟，或煮沸1分钟，即可被杀灭。最简便的灭菌方法是直接焚毁带有病菌的容器。结核分枝杆菌生长缓慢，增殖一代需10~20小时，生长成肉眼可见的菌落一般需4~6周，至少需2周。

病灶中菌群常包括数种生长速度不同的结核分枝杆菌。A群：生长繁殖旺盛，存在于细胞外，致病力强，传染性大，多在疾病早期的活动性病灶内、空洞壁内或空洞内，易被抗结核药物所杀灭，尤以异烟肼效果最好，起主要杀菌作用，链霉素及利福平亦有效。B群：为细胞内菌，存在于巨噬细胞内，细菌得到酸性细胞质的保护能够生长，但繁殖缓慢。吡嗪酰胺在 $\text{pH} < 5.5$ 时，杀菌效果较好。C群：为偶尔繁殖菌，存在于干酪坏死灶内，生长环境对细菌不利，结核杆菌常呈休眠状态，偶尔发生短暂的生长繁殖，仅对少数药物如利福平敏感。B群与C群为顽固菌，暂时休眠，可能存活数月、数年，亦称“持续存活菌”，常为日后复发的根源。D群：为休眠菌，病灶内有少量结核杆菌完全处于休眠状态，无致病力及传染性，药物对其无作用。

在繁殖过程中，结核杆菌由于染色体基因突变而产生耐药性，耐药性是结核杆菌的重要生物学特性，耐药菌不断生长繁殖，终致菌群中以耐药菌为主（敏感菌被药物淘汰），抗结核药物即失效。结核杆菌发生耐药性有两种情况，一是由基因突变而出现的极少量天然耐药菌（自然变异），通常不致引起严重后果；另一种发生耐药性的机制是药物与结核杆菌接触后，有的细菌发生诱导变异，逐渐能适应在含药环境中继续生存（继发耐药）。耐INH菌株对动物的致病力显著减弱，耐SM菌的致病力一般不降低，耐RFP菌有不

同程度降低, 对 RFP 及 INH 同时耐药的结核杆菌, 其致病力降低较单一耐 INH 者更显著。

临床上的分枝杆菌培养阳性中约有 5%~10% 为非结核分枝杆菌 (Nontuberculosis mycobacteria, NTM) (除结核分枝杆菌与麻风分枝杆菌以外的分枝杆菌), 广泛存在于自然界, 当机体免疫受损时, 可引起肺内或肺外感染, 其临床表现酷似结核病, 但多数对抗结核药不敏感, 有条件时, 对耐药结核病者可做菌种鉴定以除外非结核分枝杆菌病。2000 年全国结核病流行病学抽样调查中分离非结核分枝杆菌占 11.1%。

2. 影响结核杆菌传播的主要因素 结核病主要是人群之间的传染病, 发生结核杆菌传播取决于传染源的排菌情况:

(1) 排菌量: 肺结核病变进展, 形成空洞的患者痰中含有大量结核杆菌, 这些患者是结核病的主要传染源, 痰中结核杆菌越多, 传播的危险性越大, 这些病人出现痰涂片阳性, 若 1ml 痰液中含菌量为 1000~10 000, 其痰涂片阳性率为 40%~50%, 痰液中含菌量低时, 痰涂片阳性率亦低。

表1 痰涂片与痰标本中结核杆菌数

发现 1 个杆菌需视野数	涂片上的杆菌数	每 ml 标本中杆菌数
100	100	1000
10	1000	10000
1	10000	100000

痰涂片阳性病人的排菌量大, 其密切接触者的结核感染率明显高于痰涂片阴性病人的密切接触者, 英国报告涂阴培阴病人的家庭儿童密切接触者, 结核感染率为 17.6%; 涂阴培阳病人的接触者结核感染率为 26.8%; 涂阳培阳病人的接触者结核感染率高达 65.0%。

表2 不同传染源情况时 15 岁以下密切接触者的感染率 (%)

报告地	报告年 (人数)	涂 (+) 培 (+)	涂 (-) 培 (+)	涂 (-) 培 (-)	无结核 病接触
英国	1956 (709)	65.0	26.8	7.6	22.1
加拿大	1954 (1876)	45.0	26.3	26.1	2.5
荷兰	1969 (148)	50.0	4.7	7.8	1.0
印度	1967 (9376)	41.0	19.0	—	12.0
非洲	1964 (8848)	39.0	11.0	—	7.0

(2) 排出飞沫的大小: 传染源排出的飞沫, 受压力和粘稠度的影响而大小不一, 飞沫核直径为 1~10 μ m 者在空气中漂浮时间长, 可进入人体末梢支气管内, 而飞沫核直径较大者则受地心引力的影响而坠落。

(3) 患者病变与症状: 患者病变广泛, 损害严重, 尤为病变急剧进展, 干酪溶解形成空洞患者的痰中含有大量结核杆菌, 是主要的传染源。患者咳嗽、喷嚏或大声说话时都能产生飞沫, 有报告, 当人体咳嗽时, 每次排出飞沫数约为 3500 个, 一次喷嚏则可排出飞沫达 100 万个, 平常说话 5 分钟所排出的飞沫数相当于一次咳嗽, 咳嗽是肺结核病人产生飞沫的主要方式。每晚记录病人咳嗽次数, 观察其 0~14 岁家庭接触者的结核感染率, 每晚咳嗽 48 次以上患者的家庭接触者感染率为 43.9%, 而咳嗽 12 次以下患者的接触者感染率为 27.5%。

表3 传染源咳嗽次数与接触者感染率

咳嗽次数	接触者人数	结素反应阳性人数 (%)	结素反应阴性人数
< 12	51	14 (27.5)	37 (72.5)
12-47	22	7 (31.8)	15 (68.2)
48-	57	25 (43.9)	32 (56.1)
合计	130	46 (35.4)	84 (64.6)

(4) 接触的密切程度：传染源周围人群与传染源接触越密切，受感染的机会越多，涂片阳性病人的密切接触者感染率明显高于偶尔接触者。

表4 不同接触程度儿童感染率

年龄组 (岁)	接触程度	传染源涂片阳性	传染源培养阳性	病人痰培养阴性
0~4	密切	29.1	6.0	6.5
	偶尔	—	—	—
5~9	密切	35.9	12.4	6.2
	偶尔	10.1	2.5	11.8
10~14	密切	39.5	14.1	19.1
	偶尔	16.1	2.5	16.3

(5) 环境因素：与传染源病人同处于空气不流通的室内的密切接触者受结核感染的可能性增大，第二次世界大战时期曾报告潜艇内官兵大批感染和发病，也有民航客机上结核病传染源使同机乘客受感染的报告。

(二) 传播途径

呼吸道感染是肺结核的主要传染途径，飞沫传染为最常见的方式。传染源主要是排菌的肺结核患者（尤其是痰涂片阳性未经治疗者）。小于 $10\mu\text{m}$ 的飞沫核可被吸入呼吸道，健康人吸入患者咳嗽、打喷嚏时喷出的带菌飞沫而受感染。感染的次要途径是经消化道进入体内，饮用未经消毒的带有牛型结核分枝杆菌的牛乳，可能引起肠道感染。少量、毒力弱的结核杆菌多能被人体免疫防御机制所杀灭，仅当受大量、毒力强的结核杆菌侵袭而机体免疫力不足时才致发病。

(三) 易感者结核杆菌进入人体，引起易感者机体的复杂反应

1 人体的防御反应 人体的防御反应有物理、化学和生物学反应。进入呼吸道的结核杆菌飞沫核可被鼻、咽、喉、气管和支气管的黏液吸着、被酶杀灭并随纤毛运动经咳嗽、喷嚏和咳痰等动作排出体外，或被吞噬细胞吞噬杀灭。当防御功能低下时，结核杆菌进入下呼吸道，引起机体反应。

2 人体的易感性 未受结核感染的人是结核病的易感人群一旦受到结核杆菌传播，具有普遍的易感性，进入人体的结核杆菌可在人体内繁殖，结核杆菌的繁殖周期约为 $14\sim 24\text{h}$ ，一条结核杆菌在体内繁殖一周可达 128 条菌，繁殖 20 天将超过一百万条菌，体内的大量结核杆菌将使人体患病，引起机体的免疫与变态反应。

3 免疫与变态反应 人体对结核杆菌的自然免疫力是非特异性的。接种卡介苗或受结核杆菌感染后所获得的免疫力则具有特异性，能将入侵的结核杆菌杀死或严密包围，制止其扩散，使病灶愈合。结核病的免疫主要是细胞免疫，表现为淋巴细胞的致敏与吞噬细胞功能将抗原信息传递给 T 淋巴细胞，使之致敏。当致敏的淋巴细胞再次接触结核杆菌时可释放出多种淋巴因子（包括趋化因子、巨噬细胞移动抑制因子、巨噬细胞激活因子等），使巨噬细胞聚集在细菌周围，吞噬并杀灭细菌，然后变成类上皮细胞及朗汉斯巨细胞，形成结核结节使病变局限化。

表5 一条结核杆菌在体内的繁殖情况

天数	结核杆菌数	天数	结核杆菌数	天数	结核杆菌数
1	2	9	512	17	131072
2	4	10	1024	18	262144
3	8	11	2048	19	524288
4	16	12	4096	20	1048576
5	32	13	8192	21	2097152
6	64	14	16384	28	268416×10^3
7	128	15	32768	35	34535×10^6
8	256	16	65536	42	4396800×10^6

结核杆菌侵入人体后 4~8 周, 身体组织对结核杆菌及其代谢产物发生免疫反应, 人体对结核杆菌及其代谢产物的细胞免疫反应属于第 IV 型 (迟发型) 变态反应, 与另一亚群 T 淋巴细胞释放的炎性介质、皮肤反应因子及淋巴细胞毒素等有关。局部出现炎性渗出, 甚至干酪坏死, 常伴有发热、乏力及食欲减退等全身症状。此时如作结核菌素皮肤试验, 可呈阳性反应, 注射局部组织充血水肿, 并有大量致敏的 T 淋巴细胞浸润。免疫与变态反应常同时存在, 如接种卡介苗后可产生免疫力, 同时结核菌素反应 (变态反应) 亦转为阳性, 但引起两者的抗原成分不同; 两者的出现亦可能与机体不同 T 淋巴细胞亚群所产生的淋巴因子有关。免疫对人体起保护作用, 而变态反应则通常伴有组织破坏。严重疾病、营养不良、HIV 感染或使用免疫抑制药物, 均可降低免疫力, 变态反应也同时受到抑制, 表现为结核菌素试验的反应减弱或无反应。当全身情况改善或停用抑制免疫的药物后, 随着免疫与变态反应的恢复, 结核菌素反应亦变为阳性。免疫与变态反应有时亦不尽平行, 与人体复杂的内外环境、药物的影响, 以及感染菌量及毒力等因素有关。总之; 入侵结核杆菌的数量、毒力及人体免疫力、变态反应的高低, 决定感染后结核病的发生、发展与转归, 人体抵抗力处于劣势时, 结核病常易于发展; 反之, 感染后不易发病, 即使发病亦较轻, 且易治愈。

4 初感染与再感染 初感染指肺部首次 (常为小儿) 感染结核杆菌后形成原发感染, 细菌被吞噬细胞携至肺门淋巴结 (淋巴结肿大), 并可全身播散 (隐性菌血症), 此时若机体免疫力低下, 可能发展为全身性结核病。但在成人机体已有一定的免疫力, 再感染结核杆菌后, 多不引起局部淋巴结肿大, 亦不易发生全身播散, 而在再感染的局部发生剧烈组织反应, 病灶多为渗出性, 甚至干酪样坏死、液化而形成空洞。

5 原发性与继发性肺结核 肺结核分原发性与继发性两大类。所谓原发性肺结核即原发综合征, 是指结核杆菌初次感染而在肺内形成原发性病灶, 并沿淋巴管扩散到附近的淋巴结。继发性肺结核通常发生在曾受过结核杆菌感染的成年人, 此时人体对结核杆菌具有一定的免疫与变态反应, 潜伏在肺内的结核杆菌重新活跃, 病灶部位多在肺尖附近, 一般不波及淋巴结, 亦很少引起血行播散, 但肺内局部病灶炎症反应剧烈, 容易发生干酪样坏死及空洞, 与原发性肺结核有所不同。

6 肺结核与肺外结核 人体受结核杆菌感染后发病主要为肺结核, 在机体免疫力下降时, 肺结核病人可发生淋巴或血液播散, 出现肺外各组织器官的结核病变, 在参考国际结核病分类的新观点和概念的基础上, 紧密结合我国结核病临床与防治的实践, 2001 年 7 月 20 日卫生部以我国卫生行业标准 (WS196-2001) 发布了《结核病分类》, 将结核病分类为 (1). 原发性肺结核; (2). 血行播散性肺结核; (3). 继发性肺结核; (4). 结核性胸膜炎; (5). 其他肺外结核。

二. 结核菌传播机制

结核病是结核杆菌感染人体后发病而形成的, 没有结核杆菌的传播, 就不会发生结核病, 结核杆菌从病人体内排出, 可通过以下途径进入新的机体:

(一) 飞沫传染

飞沫传染指人在咳嗽、喷嚏(喷嚏时一次可喷出1~4万个飞沫)或说话时向空气中排出大量飞沫, 直径大于100 μm 的飞沫随即落地, 大量较小的飞沫在空气中悬浮, 水份蒸发成为悬浮于空气中的微滴核(飞沫核), 直径1 μm ~10 μm 的飞沫核在空气中可较长时间(数小时)悬浮, 并可扩散至数米外。

1948年Well等报告人体吸入较大的微滴核受阻于上呼吸道、气管、支气管或小支气管, 而不能到达肺泡。1973年Mulir报告直径2 μm 的微滴核才能进入肺泡, 大于10 μm 或小于0.01 μm 的微滴核不能在肺泡内定位。

1921年Flugge证实了肺结核病人在谈话、咳嗽时从呼吸道排出含有结核杆菌的飞沫核, 其中的结核杆菌虽然不能繁殖, 但可存活, 并可以使动物感染结核病, 认为肺结核病人咳嗽时排出的飞沫核是结核病传播的主要方式。1934年Well提出, 肺结核病人咳嗽排出的飞沫核含有结核杆菌, 飞沫核进入健康人体的呼吸道即可引起结核感染。此时离传染源越远飞沫越少, 其数量与距离的平方成反比, 因此距传染源越远者吸入含有结核杆菌飞沫的机会越少。

微滴核中结核杆菌的存活受微滴核中蛋白质含量的影响, 阳光中的紫外线可杀灭微滴核中的结核杆菌。1969年Loudon报告悬浮于空气中微滴核的结核杆菌经6小时后有46.7%~55.8%仍可存活。

1965年美国Byrd号军舰发生一起结核病爆发流行, 该舰各舱为密闭再循环空气装置, 舰上有一名空洞排菌病人, 308名乘员中139人(53%)受感染, 病人所在的第一舱66人中47人(71%)结核菌素反应阳性, 第二舱81人中43人(53%)结素反应阳转。

(二) 再生气溶胶(尘埃)传染

历史上曾认为结核病的呼吸道传染主要是尘埃传染, 在微滴核传染理论被确认后, 认为只有微滴核才能传播结核杆菌, 尘埃中的菌块随空气飘落、干燥形成单个细菌, 在日光直接或间接照射下生活力降低, 以至死亡; 尘埃中的单个细菌生活力低下, 难以使人体受感染, 或即使感染人体, 其形成的病变也较轻, 易于自愈或治愈。1990年王忠仁等研究证明结核杆菌不仅通过微滴核传播, 而且可以通过再生气溶胶(尘埃)传染, 结核杆菌可随尘埃飞扬在空气中, 被人们吸入后也可以发生感染和发病。

曾有报告, 北京街道地面上每100口痰标本中, 有一份能找到结核菌, 南京街道和电影院地面痰中结核菌为4~6%。结核杆菌在干燥的痰中可存活6~8个月, 随尘土飞扬空气中的结核杆菌可保持传染性8~10天。我国部分大城市调查发现传染性肺结核病人在户外随地吐痰者占46.4%。因此, 对尘埃传染的危害性不应淡化。

(三) 消化道传染

结核病的消化道传染多由饮用未经消毒的患结核病牛牛乳引起, 人消化道对结核杆菌有较强抵抗力, 结核杆菌进入胃内后, 易被胃酸杀灭, 但若大量结核杆菌进入, 则有可能受感染。结核病是人畜共患病, 哺乳类动物如牛、鹿、猴、猪、猫、狗等都可以患结核病, 人们和这些动物经常接触, 既可将肺结核病人排出的结核杆菌传播给密切接触的动物, 也可被患结核病的动物所传染。牛结核病曾给人类带来威胁, 在上世纪初, 英

国的奶牛有 40% 受结核感染, 1960 年英国宣布无结核病牛。1897 年日本的牛结核菌素阳性反应率为 4.6%, 1950 年下降至 0.56%。美国结核病人中曾有 10% 为牛型结核杆菌病, 1917 年起杀掉所有结核菌素阳性反应的牛, 1937 年美国的牛结核病得到控制。

三. 结核病流行的自然趋势

(一) 结核病的流行

结核病是人类的灾难之一, 是全世界由单一致病菌引致死亡最多的疾病, 在历史上, 结核病意味着死亡, 到二十世纪的四十年代链霉素等抗结核药物发明之前, 结核病仍然是不治之症。据资料介绍, 自 1882 年柯霍发现结核菌以来, 迄今因结核病死亡人数已达 2 亿, 结核病被称为“白色瘟疫”。

人类经历了与结核病的长期斗争才总结出了控制结核病的经验, 可归纳为五个主要阶段: ①结核杆菌被发现以前。②1882 年发现结核杆菌。③十九世纪二十年代采用卡介苗接种。④1944 年链霉素用于抗结核治疗, 随后多种抗结核药问世, 开始了结核病的化疗时代。⑤世界卫生组织 (WHO) 倡导结核病的短程督导化疗 (DOTS), 开创了控制结核病的新历程。

结核病是伴随人类历史最长的疾病之一, 1904 年在德国 Heidelberg 附近出土的新石器时代 (公元前 5000~10000 年) 人的颈椎骨化石, 被发现有结核病变的存在。金字塔时期埃及 24 王朝的木乃伊中, 发现脊柱结核病。公元前 300 年 Aristotle 提出结核病具有传染性的观念。17 世纪结核病曾随着工业革命的兴起, 在欧洲猖獗蔓延, 在不良的工作和生活条件下, 结核病的发病人数大为增加, 又没有治疗办法, 大批病人死亡。1821~1830 年瑞典结核病死亡率 277/10 万, 首都斯德歌尔摩达 900/10 万, 1851 年英国结核病死亡率 357/10 万, 1876~1890 年丹麦结核病死亡率高达 300/10 万。

在面对疾病束手无策的情况下, 17~18 世纪欧洲国家法律规定在病人死亡后, 其接触物品应予焚烧。经过长期的医学探索, 1882 年 Koch 发现结核杆菌是结核病的病原, 1897 年提出结核病的飞沫传染学说; 1895 年发现 X 线, 1908 年 C.Mantoux 提出结核菌素试验方法, 1931 年 Seibert 制成纯蛋白衍化物 (Purified Protein Derivative, PPD), 1930 年 Lowenstein 氏培养基的出现使结核菌培养生长成功, 为结核病的病因学诊断打下了基础。

二十世纪 40 年代后, 多种抗结核药物相继出现, 结核病已成为可治之症, 在上世纪 80 年代初甚至认为在世纪末可以消灭结核病, 但是, 过度的乐观产生了疏忽, 世界许多地区的结核病防治系统被削弱甚至取消; HIV 的流行使结核病人迅速增加以及耐药性菌株的产生, 结核病的流行成为严重的公共卫生问题。1993 年 4 月世界卫生组织提出“全球结核病紧急状态宣言”。

世界卫生组织 (WHO) 估算全球有 20 亿人已受结核杆菌感染, 每年有约 6500 万人受到结核病感染, 全球结核病发病率每年平均增加 0.4%, 2001 年结核病新病例 846 万人, 涂阳病人 374 万人, 当年 183 个国家报告结核病新病例 381 万人, 占估算结核病新病例之 45%, 报告涂阳结核病新病例 160 万人, 占估算涂阳结核病新病例之 43%。

(二) 结核病自然下降的影响因素

17~18 世纪结核病在欧洲蔓延流行达到高峰后, 结核病的流行缓慢下降, 这种下降趋势在结核杆菌还未被发现之前就已经出现, 是在没有采取针对性措施的情况下的“自然下降”。

Redeker 研究认为近代欧洲结核病流行是随着工业化、人口集中和交通频繁而出现