

- sion of human alveolar macrophage cathepsin S, an elastolytic cysteine protease[J]. J Biol Chem, 1992, 267(11): 7258-7262.
- [2] McGrath ME, Palmer JT, Brömme D, et al. Crystal structure of human cathepsin S[J]. Protein Science, 1998, 7(6): 1294-1302.
- [3] 王大明, 刘建仁, 胡浩宇, 等. 半胱氨酸组织蛋白 S 在神经系统疾病的病理生理中的应用[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2008, 37(4): 422-426.
- [4] Kim H, Mazumdar B, Bose SK, et al. Hepatitis C virus-mediated inhibition of cathepsin S increases invariant-chain expression on hepatocyte surface[J]. J Virol, 2012, 86(18): 9919-9928.
- [5] Pan L, Li Y, Qin Y, et al. Cathepsin S deficiency results in abnormal accumulation of autophagosomes in macrophages and enhances Ang II-induced cardiac inflammation[J]. PloS One, 2012, 7(4): 35315.
- [6] Stern I, Marc J, Kranjec I, et al. Increased plasma levels of CATS mRNA but not CATB mRNA in patients with coronary atherosclerosis[J]. Clin Biochem, 2010, 43(18): 1427-1430.
- [7] 吴建芳, 金沂, 李国元. 组织蛋白酶 K、S 与动脉粥样硬化及其斑块不稳定性的关系[J]. 临床心血管病杂志, 2008, 24(11): 867-869.
- [8] Lutgens E, Lutgens SP, Faber BC, et al. Disruption of the cathepsin K gene reduces atherosclerosis progression and induces plaque fibrosis but accelerates macrophage foam cell formation[J]. Circulation, 2006, 113(1): 98-107.
- [9] Zhang M, Lu S, Wu X, et al. Multimarker approach for the prediction of cardiovascular events in patients with mild to moderate coronary artery lesions: a 3-year follow-up study[J]. Int Heart J, 2012, 53(2): 85-90.
- [10] Gu FF, Lü SZ, Chen YD, et al. Relationship between plasma cathepsin S and cystatin C levels and coronary plaque morphology of mild to moderate lesions: an in vivo study using intravascular ultrasound[J]. Chin Med J (Engl), 2009, 122(23): 2820-2826.
- [11] Qin Y, Cao X, Zhang Y, et al. Deficiency of cathepsin S attenuates angiotensin II-induced abdominal aortic aneurysm formation in apolipoprotein E-deficient mice[J]. Cardiovasc Res, 2012, 96(3): 401-410.
- [12] Qin Y, Yang Y, Liu R, et al. Combined cathepsin S and hs-CRP predicting inflammation of abdominal aortic aneurysm[J]. Clin Biochem, 2013, 46(12): 1026-1029.
- [13] Pietschmann P, Föger-Samwald U, Sipos W, et al. The role of cathepsins in osteoimmunology[J]. Crit Rev Eukaryot Gene Expr, 2013, 23(1): 11-26.
- [14] Rudensky A, Beers C. Lysosomal cysteine proteases and antigen presentation[J]. Emst Schering Res Found Workshop, 2006, (56): 81-95.
- [15] Schönefuss A, Wendt W, Schattling B, et al. Upregulation of cathepsin S in psoriatic keratinocytes[J]. Exp Dermatol, 2010, 19(8): 80-88.
- [16] Kim N, Bae KB, Kim MO, et al. Overexpression of Cathepsin S induces chronic atopic dermatitis in mice[J]. J Invest Dermatol, 2012, 132(4): 1169-1176.
- [17] Pozgan U, Caglic D, Rozman B, et al. Expression and activity profiling of selected cysteine cathepsins and matrix metalloproteinases in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis[J]. Biol Chem, 2010, 391(5): 571-579.
- [18] Caglic D, Repnik U, Jedeszko C, et al. The proinflammatory cytokines interleukin-1 α and tumor necrosis factor α promote the expression and secretion of proteolytically active cathepsin S from human chondrocytes[J]. Bio Chem, 2013, 394(2): 307-316.
- [19] Würfl P, Taubert H, Meye A, et al. Immunohistochemical and clinical evaluation of cathepsin expression in soft tissue sarcomas[J]. Virchows Arch, 1997, 430(3): 221-225.
- [20] Xu J, Li D, Ke Z, et al. Cathepsin S is aberrantly overexpressed in human hepatocellular carcinoma[J]. Mol Med Rep, 2009, 2(5): 713-718.
- [21] Fan Q, Wang X, Zhang H, et al. Silencing cathepsin S gene expression inhibits growth, invasion and angiogenesis of human hepatocellular carcinoma in vitro[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 425(4): 703-710.
- [22] Chen JC, Uanq BJ, Lyu PC, et al. Design and synthesis of alpha-ketoamides as cathepsin S inhibitors with potential applications against tumor invasion and angiogenesis[J]. J Med Chem, 2010, 53(11): 4545-4549.
- [23] Schechter I, Ziv E. Cathepsins S, B and L with aminopeptidases display β -secretase activity associated with the pathogenesis of Alzheimer's disease[J]. Biol Chem, 2011, 392(6): 555-569.
- [24] Naour N, Rouault C, Fellahi S, et al. Cathepsins in human obesity: changes in energy balance predominantly affect cathepsin s in adipose tissue and in circulation[J]. J Clin Endocrinol Metab, 2010, 95(4): 1861-1868.
- [25] 李文桂, 陈雅棠. 血吸虫 31 $\times 10^3$ 组织蛋白酶疫苗的研究现状[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(4): 351-353.

(收稿日期: 2014-04-08)

• 综 述 •

循环 miRNA 与 2 型糖尿病*

周 强¹综述, 罗建东^{2△}审校

(1. 广州医科大学附属第二医院检验科, 广东广州 510260; 2. 广州医科大学, 广东广州 510182)

关键词: miRNA; mRNA; 2 型糖尿病

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.21.024

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)21-2916-04

近年来, 2 型糖尿病已成为威胁人类健康的最主要疾病之一。糖尿病的病理生理过程及其并发症常伴随调控基因表达

* 基金项目: 广东省科技计划项目资助(2012B061700044); 广东省医学科研基金资助(A2012256)。 作者简介: 周强, 男, 主任技师, 硕士生导师, 主要从事糖尿病的研究。 △ 通讯作者, E-mail: jiangdongluo@hotmail.com。

谱的系列改变而改变。随着分子生物学技术的高速发展,越来越多的研究表明循环 miRNA 在 2 型糖尿病的发病机制及微血管损伤机制中扮演了重要的角色。

1 循环 miRNA 的介绍

1.1 循环 miRNA 的来源 所有的研究资料都证实 miRNA 存在于细胞中并调节该细胞内的活动。然而,近 5 年的研究证实 miRNA 不仅在细胞内,而且存在细胞外,包括各种体液,例如血清、唾液、鼻分泌物等^[1-7]。这一现象提出了关于这种细胞外 miRNA 的生物学功能的问题。它们或是包裹在小囊泡(例如胞外体、类似胞外体的囊泡、微粒子、凋亡小体)中,或是包裹在脂蛋白和 RNA 结合蛋白(Argonaute2 和核仁磷酸蛋白-1)中。后来研究发现,细胞外 miRNA 可能作为死亡细胞的副产物,由于处在蛋白复合物中而稳定存在。

细胞内的 miRNA 主要通过两种途径进入循环系统:一种是从破裂细胞被动渗漏,正常情况下胞内 miRNA 不直接渗漏到循环系统,但在组织损伤、细胞凋亡及坏死等情况下,miRNA 就可以从细胞进入血液;另一种是源自细胞的微囊泡主动分泌,胞外体是直径为 50~150 nm 的膜性囊泡,来自于胞内体系统,在正常和病理条件下,胞外体从变形和诱导的细胞释放出来^[8]。胞内体系统由相互联系的初级胞吞作用的囊泡、早期胞内体、再循环胞内体、后期胞内体和溶酶体组成^[9]。胞内体膜向内出芽导致腔内小囊泡的集聚,这些后期的胞内体被称之为多囊泡胞内体(MVBs),通过释放到细胞外的囊泡,细胞之间能够相互联系。释放到细胞外的囊泡诸如胞外体、微囊泡和类胞外体的囊泡已经被证实。微囊泡来源于细胞膜的直接出芽,然而胞外体形式来自于多囊泡的胞内体。它们能够与产生胞外体的细胞膜融合,或者能直接到溶酶体处进行降解。类似的囊泡可能在其他产生类胞外体的囊泡细胞器形成。通过配体/受体的相互作用,它们能被结合到来自于细胞外环境的其他细胞,或者通过整联蛋白和细胞黏附分子,或者通过内吞作用而依附和融合到其它细胞上^[7]。

微囊泡的表面带有特异性的受体/配体,因此有选择的输送具有生物活性的脂质、mRNA 和蛋白质进入靶细胞,从而调控细胞内相应基因的表达。说明微囊泡可能是运载循环 miRNA 的主要载体,在细胞内 miRNA 先被装入分泌囊泡中,然后伴随囊泡的分泌进入血液循环^[10]。

1.2 循环 miRNA 的稳定性 血清或血浆中存在大量的外切酶,无修饰的 miRNA 在血浆中很快被降解,而循环 miRNA 却相对稳定,具有较强的对抗核糖核酸酶的能力,原因为如上所述,循环 miRNA 存在于细胞脱落的微囊泡内部,避免了核糖核酸酶的直接作用^[7]。不同细胞类型所分泌的细胞外囊泡的多样性和利用目前分离和鉴定程序不容易区分导致了它们命名的困惑^[11]。所谓胞外体,所有囊泡直径均小于或等于 150 nm,来源于 MVBs。微粒子(脱落囊泡/shedding vesicles)直径小于或等于 1 μ m,来源于细胞质膜。类胞外体的囊泡直径在 20~50 nm,来源于 MVBs^[7]。另一个重要的原因是在细胞外存在的 miRNA 被蛋白或脂蛋白包装,以非囊泡的 miRNA 蛋白或脂蛋白复合物存在,也能被复合物保护而免遭核糖核酸酶的降解;有文献报道约 90% 循环 miRNA 被蛋白包装,约 10% 的循环 miRNA 存在于微囊泡^[12]。

Chen 等^[13]对血清中 miRNA 的稳定性进行了详细的研究,他们用包括煮沸等各种极端条件处理血清标本,用定量逆转录聚合酶链反应检测其中 miRNA,发现处理的样本与没有处理的血清样品结果无统计学差异。血清 miRNA 能比大分

子 RNA 抗多次冻融循环。此外,血清 miRNA 在 pH=1 或 pH=13 的溶液中处理 3 h 后仍稳定。

2 循环 miRNA 的检测

检测血中 miRNA 的技术发展迅速,主要方法有:基因芯片技术、高通量测序技术、荧光定量 PCR 技术、Northern blot 技术和表达文库克隆技术。目前主要的技术还是采用荧光定量 PCR 技术,该方法简便、快速,重现性好^[14-16]。高通量测序可以发现新的 miRNA,但是价格昂贵,还需要大量样品来获得 RNA;而基因芯片的方法其准确性和重复性稍差,只适合疾病的初筛。传统的 Northern blot 技术灵敏度低且操作繁琐,不适于大量检测^[13]。

循环 miRNA 谱的检测流程一般如下:(1)血液样品的收集;(2)血清/血浆 miRNA 的抽提;(3)基因芯片技术分析与对照样品差异表达的循环 miRNA;(4)用荧光定量 PCR 技术在大量样本中验证候选 miRNA 的变化趋势是否一致及差异是否显著;(5)统计学分析。还有学者分析疾病候选循环 miRNA 的指纹图谱在诊断某一疾病的特异性、敏感度、诊断正确率等^[14-16]。

3 循环 miRNA 在 2 型糖尿病中的研究进展

2 型糖尿病的两个重要特征是胰岛素抵抗和胰岛 B 细胞不能恰当地分泌胰岛素来降低血中的葡萄糖水平^[17]。胰岛素抵抗是 2 型糖尿病的一个标志,并且与代谢和心血管系列疾病相关,主要表现为葡萄糖耐受不良,血管内皮功能障碍^[18]。近来的研究证实,来自于特定组织的循环 miRNA 能在几种体液中检测到,每一个 miRNA 的表达是特异性的,并且 miRNA 的特异表达谱是与一系列疾病相关的,它们包括一些肿瘤,肝脏、心脏、肾脏和自身免疫性疾病等。如果循环 miRNA 的表达谱与特异的条件强烈相关的话,这些循环 miRNA 的表达谱就可能充当诊断或监测这类疾病的生物标记^[19-20]。近期研究表明循环 miRNA 已逐步在 2 型糖尿病研究中成为热点^[21]。

3.1 细胞外循环 miRNA 能调节血管内皮细胞 2 型糖尿病的特征是代谢异常,这些异常通过减弱内皮细胞介导的血管收缩功能,增强内皮细胞凋亡,刺激内皮细胞活化和内皮细胞-单核细胞的黏附,促进动脉粥样硬化和抑制屏障功能对内皮细胞功能发挥致病的影响^[17]。高糖血症诱导的血管性炎症加强单核细胞-内皮细胞的相互作用是糖尿病性动脉粥样硬化致病机制的关键事件^[22]。近来已经证实:培养的单核细胞系(THP-1)可以选择性地包装 miRNA 成为胞外体或成为微粒子(MP)以应对外界的刺激,并且它们可以作为旁分泌信号^[23-26]。来源于内皮细胞的凋亡小体含有 miRNAs(例如 miR-126),是传递旁分泌报警信号到感受性的血管细胞,从而触发了趋化因子 CXCL12 的生产和内皮祖细胞的聚集^[11]。

3.2 循环 miRNA 结合高密度脂蛋白(HDL)参与了细胞间的通讯 除了与细胞外小囊泡的联系外,在血浆中的脂蛋白上发现 miRNA 能与特异性脂类形成稳定的复合物(比如卵磷脂)。例如,在人类血浆中,内源性的 miRNA 被发现与 HDL 结合在一起^[27]。在健康个体中,约 30% 的血液中胆固醇是由 HDL 所运输的,通过一个称为反向胆固醇运输系统转运, HDL 在胆固醇从外周组织转运到肝脏是十分重要的,高浓度的 HDL 对 2 型糖尿病相关的心血管并发症具有保护作用^[28]。HDL 能运输 RNA,但不能运输胞外体, HDL 仅能结合小的 RNAs 并且是缺乏长链的信使 RNA,而且人类血浆中来源于 HDL 的 miRNA 表达谱在内容上、丰度上和分类上是明显不同于来自于胞外体的 miRNA 表达谱^[27]。

3.3 环 miRNA 可作为诊断 2 型糖尿病和相关疾病的生物学标记物 细胞外 miRNA 具有明确的生理学功能,其功能会随着小囊泡的起源和它们的细胞来源而变化,具体功能包括调节免疫功能、细胞迁移、细胞分化和其它类型的细胞间的联系。细胞外 miRNA 来自于各种体液的微囊泡中,能够作为用于疾病检测和分类的一个新型生物标记物。事实上,所有的胰岛素敏感组织释放包裹的 miRNA,体液的 miRNA 均能够提供 2 型糖尿病患者代谢谱^[29]。然而,文献综述表明,虽然有许多述评建议患者分类使用 miRNA,事实上只有非常少的研究显示相关数据。此外,这些研究多是基于全血 miRNA 表达谱分析,它包括了来自所有细胞外囊泡和游离的 miRNA。不同的颗粒表达具有不同生理功能的 miRNA 模式,把液体细化并且分开评价液体 miRNA 表达谱中的每一个部分,确定哪些可能被隐藏在整体 miRNA 表达谱中特异及相关的 miRNA。

在 2 型糖尿病领域,目前有一些与病理有关的 miRNA 研究。第一个用血液 miRNA 表达谱对 2 型糖尿病进行分类的研究出现在 2008 年,Chen 等^[13]运用 Solexa 测序技术表明,相对于健康人群,罹患 2 型糖尿病的患者有一个显著血清 miRNA 表达谱的改变,且发现 2 型糖尿病患者和肺癌患者甚至共享了 23 个在健康个体血清中没有检测到的血清 miRNA 族,研究人员推测这 23 个 miRNA 可能反映一个通常被各种疾病共享的炎症反应;此外,他们发现在反映糖尿病健康状况时,血清 miRNA 比血细胞 miRNA 更敏感。在 2011 年,三个实验证实 2 型糖尿病患者的血清中有一些 miRNA 水平上发生了改变,且几乎没有重叠部分。Kong 等^[30]对 56 个无并发肥胖和心脏病的 2 型糖尿病患者进行 7 个候选血清 miRNA(miR-9, miR-29a, miR-30d, miR-34a, miR-124a, miR-146a 和 miR-375)表达谱分析时发现,初发的 2 型糖尿病患者 7 个候选 miRNA 水平均比糖耐量正常的 2 型糖尿病易感人群的水平高,各 miRNA 中,miR-34a 在两组间的表达水平差异最大。同年有学者证实 2 型糖尿病患者血清中存在特异的 miRNA 指纹图谱,这些患者还同时罹患动脉粥样硬化^[31]。还有实验研究证实,在 2 型糖尿病症状出现之前,也就是在糖耐量异常阶段,部分 miRNA 已经出现改变了。Kong 等^[30]在糖耐量异常患者的血清中发现:7 个 miRNA 的表达模式更接近糖耐量正常的 2 型糖尿病易感组。在与初发 2 型糖尿病组比较中,5 个 miRNA(miR-9, miR-29a, miR-34a, miR-146a 和 miR-375)表达谱水平显著降低。Zampetaki 等^[31]证实,相对于对照组,在糖尿病症状未出现之前组,其 miR-15a, miR-29b, miR-126 和 miR-223 在基线水平是显著性降低的,而 miR-28-5p 是显著性升高的。据梁国威等^[32]报道,糖尿病患者血清中的 miR-29a 和 miR-375 表达量皆显著高于对照组。血清中 miR-29a 和 miR-375 的表达量与空腹血糖(FPG)、2 h 血糖和糖化血红蛋白皆呈显著正相关($P < 0.05$),与血脂各指标无显著相关性($P > 0.05$),血清 miR-29a 和 miR-375 表达量间呈显著正相关($P < 0.05$)。

在 Karolina 等^[33]有关肥胖和 2 型糖尿病的研究中,证实有 33 个细胞外 miRNA 下调,49 个细胞外 miRNA 上调;Zampetaki 等^[31]证实有 12 个细胞外 miRNA 下调,一个细胞外 miRNA 上调,另外还有 14 个细胞外 miRNA 的表达趋势不清。

4 小 结

miRNA 是动物发育和代谢平衡等方面的重要调节者,最近研究证实 miRNA 作为哺乳动物细胞通讯的重要伙伴而出现,包装成微粒子、胞外体或高密度脂蛋白,与凋亡小体结合在

一起。这些 miRNA 代表了一种新的机制的发现,通过这种机制,供体细胞能够影响受体细胞中基因的表达。然而,无论是细胞内负责管理这些小囊泡的分子机制,还是 miRNA 作为特定人群的分类规则,都没有很好地被理解。此外,细胞外 miRNA 在糖尿病的发展中真正作用也需要通过研究它们在胰岛素敏感组织细胞通信的作用来确定。循环 miRNA 是通过膜结构的小囊泡或者是通过与 RNA 结合蛋白结合在一起而受到保护,所以在体液中非常稳定,因此人们推测循环 miRNA 能够作为一类新的生物标志物。鉴于这一领域的新颖性和对其他疾病的重要意义,为了更好探索循环 miRNA 在 2 型糖尿病发展中的作用,进一步的研究显得尤为重要和迫切^[17]。

参考文献

- [1] Lee RC, Feinbaum RL, Ambros V. The *C. elegans* heterochronic gene *lin-4* encodes small RNAs with antisense complementarity to *lin-14*[J]. *Cell*, 1993, 75(5):843-854.
- [2] Ambros V. The functions of animal microRNAs[J]. *Nature*, 2004, 431(7006):350-355.
- [3] Friedman RC, Farh KKH, Burge CB, et al. Most mammalian mRNAs are conserved targets of microRNAs[J]. *Genome Res*, 2009, 19(1):92-105.
- [4] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function[J]. *Cell*, 2004, 116(2):281-297.
- [5] Guo H, Ingolia NT, Weissman JS, et al. Mammalian microRNAs predominantly act to decrease target mRNA levels[J]. *Nature*, 2010, 466(7308):835-840.
- [6] Treiber T, Treiber N, Meister G. Regulation of microRNA biogenesis and function[J]. *Thromb Haemost*, 2012, 107(4):605-610.
- [7] Rome S. Are extracellular microRNAs involved in type 2 diabetes and related pathologies? [J]. *Clin Biochem*, 2013, 46(10):937-945.
- [8] Théry C, Zitvogel L, Amigorena S. Exosomes: composition, biogenesis and function[J]. *Nat Rev Immunol*, 2002, 2(8):569-579.
- [9] Scita G, Di Fiore PP. The endocytic matrix[J]. *Nature*, 2010, 463(7280):464-473.
- [10] 贾克刚, 刘晓程. 循环微小 RNA 在心血管疾病中应用的研究进展[J]. *中华检验医学杂志*, 2012, 35(010):884-889.
- [11] Van der Pol E, Böing AN, Harrison P, et al. Classification, functions, and clinical relevance of extracellular vesicles[J]. *Pharmacol Rev*, 2012, 64(3):676-705.
- [12] Zhu H, Fan GC. Extracellular/circulating microRNAs and their potential role in cardiovascular disease[J]. *Am J Cardiovasc Dis*, 2011, 1(2):138-139.
- [13] Chen X, Ba Y, Ma L, et al. Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases[J]. *Cell Res*, 2008, 18(10):997-1006.
- [14] Tomé-Carneiro J, Larrosa M, Yáñez-Gascón MJ, et al. One-year supplementation with a grape extract containing resveratrol modulates inflammatory-related microRNAs and cytokines expression in peripheral blood mononuclear cells of type 2 diabetes and hypertensive patients with coronary artery disease[J]. *Pharmacol Res*, 2013, 72:69-82.
- [15] Zampetaki A, Willeit P, Tilling L, et al. Prospective study on circulating microRNAs and risk of myocardial infarction[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2012, 60(4):290-299.
- [16] Yamada H, Suzuki K, Ichino N, et al. Associations between circulating microRNAs(miR-21, miR-34a, miR-122 and miR-451) and

non-alcoholic fatty liver[J]. Clinica Chimica Acta, 2013, 424: 99-103.

[17] Hulsmans M, Howoet P, MicroRNAs as early biomarkers in obesity and related metabolic and cardiovascular disease[J]. Curr Pharm Des, 2013, 19(32): 5704-5717.

[18] DeFronzo RA. Insulin resistance, lipotoxicity, type 2 diabetes and atherosclerosis: the missing links. The Claude Bernard Lecture 2009[J]. Diabetologia, 2010, 53(7): 1270-1287.

[19] Kong YW, Ferland-McCollough D, Jackson TJ, et al. microRNAs in cancer management[J]. Lancet Oncol, 2012, 13(6): 249-258.

[20] Esteller M. Non-coding RNAs in human disease[J]. Nat Rev Genet, 2011, 12(12): 861-874.

[21] Dehwh MA, Xu A, Huang Q. MicroRNAs and type 2 diabetes/obesity[J]. J Genet Genomics, 2012, 39(1): 11-18.

[22] Babu PV, Si H, Fu Z, et al. Genistein prevents hyperglycemia-induced monocyte adhesion to human aortic endothelial cells through preservation of the cAMP signaling pathway and ameliorates vascular inflammation in obese diabetic mice[J]. J Nutr, 2012, 142(4): 724-730.

[23] Zhang Y, Liu D, Chen X, et al. Secreted monocytic miR-150 enhances targeted endothelial cell migration[J]. Mol Cell, 2010, 39(1): 133-144.

[24] Diehl P, Fricke A, Sander L, et al. Microparticles: major transport vehicles for distinct microRNAs in circulation[J]. Cardiovasc Res, 2012, 93(4): 633-644.

[25] Vrijksen KR, Sluijter JPG, Schuchardt MWL, et al. Cardiomyocyte progenitor cell-derived exosomes stimulate migration of endothelial cells[J]. J Cell Mol Med, 2010, 14(5): 1064-1070.

[26] Hergenreider E, Heydt S, Tréguer K, et al. Atheroprotective communication between endothelial cells and smooth muscle cells through miRNAs[J]. Nat Cell Biol, 2012, 14(3): 249-256.

[27] Vickers KC, Palmisano BT, Shoucri BM, et al. MicroRNAs are transported in plasma and delivered to recipient cells by high-density lipoproteins[J]. Nat Cell Biol, 2011, 13(4): 423-433.

[28] Lindström J, Ilanne-Parikka P, Peltonen M, et al. Sustained reduction in the incidence of type 2 diabetes by lifestyle intervention: follow-up of the Finnish Diabetes Prevention Study[J]. Lancet, 2006, 368(9548): 1673-1679.

[29] Guescini M, Guidolin D, Vallorani L, et al. C2C12 myoblasts release micro-vesicles containing mtDNA and proteins involved in signal transduction[J]. Exp Cell Res, 2010, 316(12): 1977-1984.

[30] Kong L, Zhu J, Han W, et al. Significance of serum microRNAs in pre-diabetes and newly diagnosed type 2 diabetes: a clinical study[J]. Acta Diabetol, 2011, 48(1): 61-69.

[31] Zampetaki A, Kiechl S, Drozdov I, et al. Plasma microRNA profiling reveals loss of endothelial miR-126 and other microRNAs in type 2 diabetes[J]. Circ Res, 2010, 107(6): 810-817.

[32] 梁国威, 宋燕, 邵冬华, 等. 初诊 2 型糖尿病患者血清中 miR-29a 和 miR-375 表达变化及其与糖、脂标志物相关性研究[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(3): 475-478.

[33] Karolina DS, Armugam A, Tavintharan S, et al. MicroRNA 144 impairs insulin signaling by inhibiting the expression of insulin receptor substrate 1 in type 2 diabetes mellitus[J]. PLoS One, 2011, 6(8): 228-239.

(收稿日期: 2014-03-18)

• 综 述 •

结核分枝杆菌 L 型生物学特性及其感染现状*

苏汉珍¹综述, 韦善求²审校

(1. 广西南宁市第四人民医院检验科, 广西南宁 530023; 2. 广西艾滋病临床检验中心, 广西南宁 530023)

关键词: 结核分枝杆菌; 感染; 生物学特性

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2014. 21. 025

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)21-2919-03

结核分枝杆菌 L 型(MTB-L)即结核分枝杆菌(MTB)细胞壁缺陷型。近年研究发现, 耐多药肺结核(MDR-TB)较初治无耐药肺结核 MTB-L 培养阳性率显著增高, 并随着耐药种类的增多而增高^[1]。MTB-L 感染者结核病复发率显著高于细菌型结核感染者^[2-3]。由于不规范的抗结核治疗导致耐药及 MDR-TB 的产生与传播是造成全球结核病严峻形式的主要原因, 特别是广泛耐多药结核分枝杆菌(XDR-TB)的出现使得结核病的防控更加棘手^[4]。因此, 加强对 MTB-L 感染的认识, 普及 MTB-L 检测对预防和控制结核病蔓延及科学评价结核病防治效果具有重要意义。

1 生物学特性

1.1 形态学特性 MTB-L 由于细胞壁缺陷, 在分裂时不能按时断裂, 细胞壁部分缺失时菌体通常呈丝形体、棒状或小圆球体, 完全缺失时菌体呈较大体积的圆球体形态, 直径通常为 5~

20 μm , 可在普通光学显微镜的高倍镜下观察。圆球体具有可塑性, 加压下可透过 0.22 μm 孔径的滤菌器。还有一些直径为 0.1 μm 的微小 L 型细胞或原生质体需借助电子显微镜才能观察到, 是造成细菌学常规方法检测或一般 L 型检测漏诊的常见因素。MTB-L 细胞壁部分缺失时抗酸染色可呈红色、紫色或淡红色, 完全缺失时则通常抗酸染色阴性, 细胞壁染色整个菌体浓染呈紫色。

1.2 生长特性 MTB-L 一般需用高渗培养基分离, 对营养要求较苛刻, 需要蛋白胨、血清、氨基酸、蔗糖、琼脂、无机盐等, 最适 pH 为 5.0~9.0, 5%~10% CO_2 有利于生长。MTB-L 在 92-3TBL 液体培养基中 1~2 周即可见颗粒生长, 黏附于管壁或沉于管底, 不形成菌膜, 液体澄清或微混; 在改良 TSA-L 培养基平板上培养 1~5 周, 一般先出现颗粒状幼小菌落, 由十几个到数十个球状体组成, 随着时间延长, 典型“油煎蛋”状菌落

* 基金项目: 2011 年南宁市科学研究与技术开发计划项目(201109047C); 2012 年南宁市科学研究与技术开发计划项目(20123161、2123164)。 作者简介: 苏汉珍, 女, 主管技师, 主要从事艾滋病的临床检验研究。