

• 综述 •

肺孢子虫肺炎的诊治进展

王婧 阴赓宏 郭增柱

【关键词】肺孢子虫；肺炎

肺孢子虫肺炎(pneumocystis pneumonia, PCP)是一种发生于免疫功能低下患者的肺孢子虫严重肺部机会性感染。肺孢子虫可以称为一种威胁人类健康的“机会致病型”寄生虫。由于最近数十年来广泛应用免疫抑制剂以及对恶性肿瘤患者进行化疗,PCP 较过去多见。尤其自 1989 年获得性免疫缺陷综合征(acquired immuno deficiency syndrome, AIDS)出现后,PCP 更受到广泛关注,与其相关研究也成为一热点,现将 PCP 研究进展综述如下。

1 病原学

肺孢子虫过去被认为属于原虫,1988 年 Edman 等^[1]根据其超微结构和对肺孢子虫核糖体 RNA 种系发育分析认为肺孢子虫属于真菌类。肺孢子虫有耶氏肺孢子虫(PJ)、卡氏肺孢子虫(PC)、卫氏肺孢子虫(PW)等不同种类,寄生于不同哺乳动物肺内,引起 PCP,其中 PJ 主要寄生在人体内,PC 则以大鼠为宿主,PJ 和 PC 的 18S RNA 序列差异达 5%,由此推测不同宿主的肺孢子虫 DNA 序列有差异,且具有宿主种特异性^[2]。但最近有报道称,肺孢子虫的不同种属可同时寄居在哺乳动物肺内,如 PC 和 PW 间存在着竞争与共存的关系^[3]。在历时 6 年多的观察中发现,肺孢子虫在繁殖到 460 代时,呈现稳定的共存关系,聚合酶链反应(PCR)和荧光免疫检验法证明二者可以共存。繁殖 700 余代时,经过 Lotka-Volterra 竞争模型分析,结果提示两种种属间有竞争关系,并预示着其中一种将会排斥掉另外一种。Logistic 回归显示,较大湿度和肺部负担有助于 PC 的生长,较低温度和逐渐增

基金项目:北京市自然科学基金资助项目(7052026)

作者单位:100050 首都医科大学附属北京友谊医院,北京热带医学研究所

通讯作者:阴赓宏 (Email: modscn@yahoo.com.cn)

作者简介:王婧(1981-),女(汉族),山东人,硕士研究生。

加的鼠群密度与 PW 的感染有关。因此,二者竞争和共存的关系受到外界因素的影响。

2 流行病学

肺孢子虫广泛存在于人和其他哺乳动物的肺组织内,大多数正常人都曾有过肺孢子虫感染,只不过健康人感染肺孢子虫后多数为隐性感染,无症状。只有当宿主免疫功能低下时,侵入人体的肺孢子虫才开始进行大量繁殖,并在肺组织内扩散,导致间质性浆细胞性肺炎。这时,肺组织的泡沫状渗出物为肺泡内蛋白性渗出伴脱落变性的肺泡细胞,少量为巨噬细胞、滋养体和包囊等。

2.1 传染源:PCP 患者是重要的传染源。患者的肺组织、支气管和气管分泌物内含有大量肺孢子虫包囊,包囊随患者痰液咳出后,污染空气而感染周围人群。由于虫株具有很强的宿主种特异性,故动物宿主作为传染源的意义不大。

2.2 传播途径:肺孢子虫的传播途径尚未完全明了。推测可由人与人之间的飞沫传播引起。极少数情况下也可能存在胎盘传播。

2.3 易感人群:任何年龄的人群均可感染肺孢子虫,但免疫功能正常的人感染后并不发病。PCP 主要见于早产婴儿和新生儿、先天性免疫功能缺陷或继发性免疫功能低下患儿、恶性肿瘤如白血病患者、器官移植接受免疫抑制剂治疗患儿、AIDS 患者。

3 发病机制与基因相关性

根据动物模型及患者观察证明,PCP 发生与 T 淋巴细胞免疫功能低下关系非常密切。目前国外认为,凡 CD4(辅助性 T 细胞)计数 $\leq 2 \times 10^5/L$ 时,发生 PCP 危险甚大,但此标准对小儿尤其是 1 岁以内者不适用。

寄生虫在体内寄生时,为了能够在肺内较长时间生存,其表面抗原通常有多变性,以躲避机体免疫系统的攻击,肺孢子虫也不例外。Keely 等^[4]研究发现,肺孢子虫的抗原多变性至少与主要表面糖蛋白(major surface glycoprotein,

MSG)、相关 MSG(MSG-related, MSR)以及蛋白酶(protease, PRT1)的 3 个基因家族有关,这些基因集簇聚集在染色体末端,编码微生物表面蛋白。

MSG 存在于肺孢子虫细胞表面,含量丰富,主要控制表面抗原变异。在给定的时间内,只有大约 1/80 的开放读码框架(ORF)能够编码不同的 MSG 亚型。MSG 的 ORF 位于基因组上的特异位点,编码上游保守序列(UCS:编码引导 MSG 至表面的信号肽)。5'末端编码不同的 MSG 蛋白,UCS 可被大量 MSG 基因复制。在 UCS 与 MSG 的 ORF 之间,有 25 bp 的固定序列(固定基因重组连接片段 CRJE,在重组时用来表达位点上安装 ORF)。CRJE 还可以出现在非 UCS 连接的 MSG ORF。

MSR 基因与 MSG ORF 非常相似,但其表达不依赖于 UCS,没有 CRJE,可以被特异内含子中断。根据长度不同,MSR 基因分为两类:长 MSR 基因,长度与 MSR 相似(约 3 kb);短 MSR 基因,比前者缺少 1 kb 片段。MSR 基因表达没有明显特点,但它是原位翻译,而不是转移到特殊表达位点。机体内 MSR 基因数量尚不清楚,在一个肺孢子虫群体(80%的有机体在表达位点上含有相同的 MSG 基因)中观察到 13 个 MSR 基因被转录,MSR 蛋白存在于细胞表面。

PRT1 基因在结构和序列上不同于 MSG 和 MSR,含有很多内含子,其表达也没完全清楚。但有研究证明,PRT1 蛋白存在于细胞表面,在特定时间内可以有多种 PRT1 基因表达。肺孢子虫基因组有 34 个端粒,每一个都有表面抗原基因集簇,端粒上的 MSG、MSR 和 PRT1 基因集簇已经明确,但仍有很多问题有待进一步研究。

Crothers 等^[5]用前瞻性研究方法对人类免疫缺陷病毒(HIV)合并 PCP 患者进行研究,发现感染二氢蝶呤酶(dihydropteroyl synthase, DHPS)基因突变肺孢子虫患者 60 d 存活率为 86%,更需要机械通气,病死率也高于野生型

(14.3%比2.5%;14.3%比7.5%)。亦有报道称 DHPS 基因突变与磺胺类药物的抗药性有关^[5]。

表面活性蛋白 A (surfactant protein A, SP-A) 和 SP-D 在肺部宿主防御中起着重要作用,它们可以绑定肺孢子虫并调整肺泡巨噬细胞对肺孢子虫的作用。研究显示^[6],对 SP-A 基因敲除小鼠和野生型(wild type, WT)小鼠分别使用激素进行免疫抑制,在肺孢子虫感染的中后期出现了显著的差异,基因敲除小鼠的支气管肺泡灌洗液(BALF)中肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和 γ -干扰素(IFN- γ)明显高于对照组,WT 小鼠无此表现。在重度感染组巨噬细胞炎症蛋白-2(MIP-2)明显升高,并与感染程度呈正相关;在感染中期,基因敲除小鼠的中性粒细胞明显高于 WT 组,由此说明,SP-A 在肺孢子虫感染中起到保护作用,其作用程度与机体感染程度呈正相关。此外,利用 SP-D 基因敲除小鼠研究发现,SP-D 也有抵抗肺孢子虫的作用,它可以增强机体清除力、促进一氧化氮(NO)的新陈代谢^[7]。Atochina 等^[8]对 C. B-17 scid/scid 小鼠(重度复合性免疫缺陷病小鼠,无需激素诱导)进行了研究,在肺孢子虫感染 4 周后取 BALF 进行分离,分为沉淀物、大聚合物、小聚合物肺泡 SP。与正常组相比,感染组小鼠 SP 表达有很大变化,其中小聚合物和磷脂含量明显升高,分别为(240 \pm 18)%和(172 \pm 16)%(P 均 $<$ 0.001);而大聚合物肺泡 SP 磷脂含量明显降低,为(53 \pm 5)%(P $<$ 0.001)。蛋白质免疫印迹法(Western blot)实验亦证明,肺泡 SP-A、SP-D 蛋白升高,分别为(720 \pm 115)%和(454 \pm 135)%(P $<$ 0.05)。因此推测,肺孢子虫通过升高 SP-A 和 SP-D 蛋白水平来诱导肺泡胶原聚集素上调。

4 分子生物学检查

病原学检查对诊断 PCP 有价值,通过收集 PCP 患者痰液或支气管分泌物,涂片镜检可以观察到病原体,但阳性率很低;应用支气管冲洗术可提高检出率。另外,影像学检查如胸部 X 线、CT 检查及氟脱氧葡萄糖-正电子发射计算机断层显像(FDG-PET)^[9],可以支持 PCP 诊断。半乳糖甘露聚糖、 β -葡聚糖亦有助于诊断 PCP,并与其预后呈负相关^[10],但是此方法只能判断有真菌感

染,不能确诊病原体是否为肺孢子虫,不能满足临床需求。

DNA 探针、rDNA 探针和 PCR 技术等具有较高的敏感性和特异性,已试用于 PCP 诊断,不仅可以诊断轻度感染,还可检出亚临床型感染和肺外感染。快速实时探针 PCR 技术诊断 PCP 的染色方法与传统一致,但时间可以由原来的 24 h 缩短为 2 h。

用 PCR 方法对肺组织提取出的 cDNA 进行扩增,通过琼脂糖凝胶电泳或酶联免疫吸附法(ELISA)与 Giemsa 染色法进行比较,结果发现,PCR-ELISA 法对诊断 PCP 有较高的灵敏度和特异性,是一种安全简便的方法^[11]。

安亦军等^[12]在对六甲基四胺银(GMS)化学染色和 PCR 两种方法进行比较后发现,GMS 染色方法诊断 PCP 特异性高,但敏感性偏低(阳性率为 35%),其原因是 GMS 方法只能使包囊着色,而包囊与滋养体的比例为 1:10,故漏诊率较高。

PCR 方法检测痰标本中肺孢子虫 DNA,阳性率为 100%,可以检出痰中微量的虫体 DNA,敏感性显著高于 GMS 染色,因此更适于临床筛查和疗效考核。

此外,等位基因 PCR(AS-PCR)、单链构象多态性 PCR(SSCP-PCR)、逆转录-PCR(RT-PCR)等除了用于 PC 的检测外,主要用于 PC 的种型特异性及临床流行病学研究。

5 治疗药物

甲氧苄氨嘧啶-磺胺甲唑(TMP-SMZ)是传统抗 PCP 的一线药物。现在国外已经研制出一种新的方法^[13],即从血浆中提取出 TMP 和 SMZ,进行毛细管区带电泳,简单而快捷地测定血液中的浓度,以评估口服药的效果。但缺点是磺胺类药物可以引起中毒性表皮溶解坏死(TEN),这是一种少见而严重的不良反应;此外,耐药性的产生也使得磺胺类药物失去其原有的疗效。

由于近年来 PCP 的发病率呈增高趋势,对治疗 PCP 的新药研究成果也屡见报道:①North Carolina 大学、Georgia 州立大学、Auburn 大学、Duke 大学联合报道称 DB-289(DB-75 的前体药物)可以治疗 PCP、结核、锥虫病和疟疾^[14]。②近年国内学者用双氢青蒿素进行了大量体外试验,证明对肺孢子虫表膜有损伤作用,可以降低 PCP 大鼠肺泡巨噬细

胞分泌 NO 水平,对大鼠 PCP 有明显的治疗作用^[15,16]。青蒿素是从菊科艾属黄花蒿茎叶中提取的一种含过氧基团的倍半萜内酯,双氢青蒿素是用硼氢化钠还原青蒿素而形成的衍生物,普遍应用于疟疾的临床治疗,但尚未见应用于 PCP 患者的报道。③Disney 等^[17]研究发现,烟酸己可碱(Hoechst 33258)有对抗 PC 的作用,这种复合物能绑定真菌核酸,可以治疗 PC 以及其他真菌,能直接识别正常哺乳动物体内没有的结构,例如自我剪切的内含子。④在大鼠体内已经证实 GW471552 和 GW471558 两种新药物治疗 PCP 的疗效^[18]。在 Wistar 大鼠激素诱导自发 PCP 模型中,两种药物(1 mg/kg,每日 2 次,连续 10 d)均显著减少肺中包囊数量;在裸鼠接种模型中也显示出明确治疗效果(0.25 mg/kg,每日 2 次,连续 10 d)。但目前这些新药尚处于研发阶段,没有进行大规模的临床试验,其应用于人体的效果如何尚待进一步深入研究。

综上所述,随着 AIDS 的蔓延和接受器官移植患者使用免疫抑制剂的增多,导致免疫功能低下,自身抵抗力下降,容易遭受多种病原微生物的侵袭,其中不乏机会致病性病原体,常见的有细菌、真菌和病毒等^[19]。其中 PCP 的感染已经引起国内外的广泛关注,但在预防措施、发病机制、治疗方案等方面还有很多问题有待进一步深入研究和探讨,相关的基础研究和动物实验方面需要加强。由于体外实验大多是针对 PC 进行,与人体致病虫种 PJ 有所差异,因此围绕其进行的致病机制、药物疗效等研究如何应用于人体并推广到临床尚待进一步商榷。另外,应尽快研究出更快速精准的检测方法,可以预见,在未来的医学领域,分子生物学诊断技术会占据重要位置,充分发挥其优势,早期发现、早期诊断、早期治疗、合理用药,解决患者病痛。

参考文献:

- Edman J C, Kovacs J A, Masur H, et al. Ribosomal RNA sequence shows *Pneumocystis carinii* to be a member of the fungi [J]. Nature, 1988, 334: 519-522.
- 张瑞娟. 人肺孢子虫的新命名——耶氏肺孢子虫(*Pneumocystis jiroveci*) [J]. 国外医学寄生虫病分册, 2003, 30: 71-74.
- Keely S P, Renauld H, Wakefield A E, et al. Gene arrays at *Pneumocystis carinii* telomeres [J]. Genetics, 2005, 170: 1589-

- 1600.
- 4 Crothers K, Beard C B, Turner J, et al. Severity and outcome of HIV-associated *Pneumocystis pneumonia* containing *Pneumocystis jirovecii* dihydropteroate synthase gene mutations [J]. AIDS, 2005, 19: 801 - 805.
 - 5 Zimmerli W. Pneumonia in patients with HIV infection [J]. Ther Umsch, 2001, 58: 620 - 624.
 - 6 Linke M, Ashbaugh A, Koch J, et al. Surfactant protein A limits *Pneumocystis murina* infection in immunosuppressed C3H/HeN mice and modulates host response during infection [J]. Microbes Infect, 2005, 7: 748 - 759.
 - 7 Atochina E N, Gow A J, Beck J M, et al. Delayed clearance of *Pneumocystis carinii* infection, increased inflammation, and altered nitric oxide metabolism in lungs of surfactant protein - D knockout mice [J]. J Infect Dis, 2004, 189: 1528 - 1539.
 - 8 Atochina E N, Beck J M, Scanlon S T, et al. *Pneumocystis carinii* pneumonia alters expression and distribution of lung collectins SP - A and SP - D [J]. J Lab Clin Med, 2001, 137: 429 - 439.
 - 9 Win Z, Todd J, Al Nahhas A. FDG - PET imaging in *Pneumocystis carinii* pneumonia [J]. Clin Nucl Med, 2005, 30: 690 - 691.
 - 10 Shimizu A, Oka H, Matsuda T, et al. (1 ->3) - beta - D glucan is a diagnostic and negative prognostic marker for *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with connective tissue disease [J]. Clin Exp Rheumatol, 2005, 23: 678 - 680.
 - 11 陈盛霞, 姜旭淦, 仇锦波, 等. PCR - ELISA 检测大鼠卡氏肺孢子虫 DNA 的研究 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2005, 23: 48 - 50.
 - 12 安亦军, 黄敏君, 郭增柱, 等. PCR 及 GMS 染色法对肺孢子虫肺炎的临床诊断价值 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2005, 18: 262 - 264.
 - 13 Teshima D, Orsubo K, Makino K, et al. Simultaneous determination of sulfamethoxazole and trimethoprim in human plasma by capillary zone electrophoresis [J]. Biomed Chromatogr, 2004, 18: 51 - 54.
 - 14 Yeates C. DB - 289 immtech international [J]. IDrugs, 2003, 6: 1086 - 1093.
 - 15 李文桂, 陈雅棠, 刘成伟, 等. 经双氢青蒿素治疗后卡氏肺孢子虫肺炎大鼠的肺部病理学变化 [J]. 中国人兽共患病杂志, 2004, 20: 223 - 227.
 - 16 李文桂, 陈雅棠, 刘成伟. 双氢青蒿素对卡氏肺孢子虫肺炎大鼠 NO 水平的影响 [J]. 中国寄生虫病防治杂志, 2003, 16: 1 - 3.
 - 17 Disney M D, Stephenson R, Wright T W, et al. Activity of Hoechst 33258 against *Pneumocystis carinii* f. sp. muris, *Candida albicans*, and *Candida dubliniensis* [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2005, 49: 1326 - 1330.
 - 18 Jimenez E, Martinez A, Aliouat el M, et al. Therapeutic efficacies of GW471552 and GW471558, two new azasordarin derivatives, against pneumocystosis in two immunosuppressed-rat models [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2002, 46: 2648 - 2650.
 - 19 卢大乔, 张红金, 陈德昌. 肾移植术后重症肺部真菌感染的诊治分析 [J]. 中国危重病急救医学, 2005, 17: 377 - 378.

(收稿日期: 2006 - 02 - 23)

(本文编辑: 李银平)

• 启事 •

2006 呼吸支持技术高级研修班(第 6 届)报名通知

首都医科大学附属北京朝阳医院北京呼吸疾病研究所将于 2006 年 10 月 13 - 22 日在北京举办国家级继续教育项目“2006 呼吸支持技术高级研修班(第 6 届)”, 项目负责人为王辰教授。研修班以实用技术与最新进展相结合为宗旨, 邀请本领域的知名专家(王辰、刘大为、席修民、陈荣昌、俞森洋、邱海波、杜斌、陈惠德等)对呼吸支持技术及呼吸危重症领域的实用技术和新进展进行讲座。主要内容包括: 呼吸衰竭、心肺交互作用、呼吸力学、呼吸肌疲劳、机械通气模式、无创通气、困难撤机、人工气道的建立与管理、非常规通气技术、多器官功能障碍综合征(MODS)、严重感染、重症监护室(ICU)建设与管理等。此外, 研修班将就大家感兴趣的热点问题专题研讨和病例分析, 如通气模式、无创通气、撤机、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、免疫抑制患者的机械通气等。

报名方法: 将姓名、性别、单位、职务、职称、地址、邮编、电话、传真、Email 地址写明后寄至: 北京市朝阳区白家庄路 8 号, 北京朝阳医院北京市呼吸疾病研究所; 邮编: 100020; 杜敏捷医生收。信封注明“2006 呼吸支持技术高级研修班”。联系电话: 010 - 65060167, 010 - 85231893; 传真: 010 - 65060167。也可通过电子邮件 sunbing@vip.sohu.net 报名, 或登陆 www.birm.com.cn/index.do 或 www.bjcyh.com.cn 网站查询相关更新内容。

研修班学费及资料费每人 1 280 元, 住宿费 100 元/d, 伙食费 50 元/d, 由组委会统一安排, 费用自理。

(首都医科大学附属北京朝阳医院, 北京呼吸疾病研究所)

2006 · 第 2 届世界医学高峰会暨展览会(中国·上海)及国际应急医疗救援和急救医学论坛

暨第 1 届上海瑞金国际急救医学研讨会会议通知

“2006 · 第 2 届世界医学高峰会暨展览会(中国·上海)”将于 2006 年 6 月 18 - 20 日在上海国际会议中心举行。论坛活动以“发展战略、科技创新”为主题, 分为发展战略论坛和系列学术专题论坛两大版块, 包括中外医院院长高峰会, 新时期医学装备配置、利用和管理研讨会以及 5 场系列专题学术研讨会(分别为影像医学研讨会、临床检验医学论坛、医院信息化论坛、应急医疗救援暨急救医学研讨会、活体肾移植学术研讨会暨第 1 届活体肾移植学术班)。

由中华医学会上海急诊学会、上海交通大学医学院附属瑞金医院、美国急救医学会、法国急救医学会共同主办的“国际应急医疗救援和急救医学论坛暨第 1 届上海瑞金国际急救医学研讨会”将于 2006 年 6 月 18 - 19 日同时在上海国际会议中心举办。本次大会的主要议题包括: 急救医学、灾害医学、公共卫生应急、医院急诊科建设与管理、复苏医学、院前急救、创伤急救、急救网络建设、急性中毒救治、危重病医学等。

了解详情内容请登陆大会官方网站: www.wmse.org.cn。

(大会会务组)