

## 生殖道沙眼衣原体持续性感染研究进展

余慧敏, 陈勇

(广西柳州市柳铁中心医院, 广西 柳州 545007 E-mail: zhwenxin888@163.com)

关键词: 沙眼衣原体; 持续性感染; 综述

中图分类号: R691.3

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2015)02-0309-03

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2015.02.060

沙眼衣原体(*Chlamydia trachomatis*, CT)是引起泌尿生殖道感染性疾病及性传播疾病的一种常见的致病菌。近几年, CT 感染率及 CT 感染引起并发症的发病率不断上升, 其对人类健康造成了严重危害。生殖道 CT“持续性感染”是指在泌尿生殖系统感染 CT 后, 如果病原体未被有效清除, 在不利的环境下, 生物活性降低, 出现形态异常、体积扩大、停止分裂的网状体, 持续时间不定, 从数月数年不等。网状体为 CT 存在的一种特殊状态, 生物活性较低, 新陈代谢处于静止状态, 对抗生素具有一定的耐药性, 易引发该病原体进入慢性持续感染状态。持续感染状态为衣原体在不利环境下存在的一种可逆状态。衣原体持续感染状态具有两大主要特征, 第一, 与衣原体各种并发症的发生密切相关; 第二, 具有耐药性。生殖道 CT“持续性感染”会导致泌尿生殖道炎症的反复发作, 而抗生素治疗 CT 效果不佳甚至有耐药性, 导致炎症趋向慢性, 并可能引起输卵管炎、慢性盆腔炎、宫颈炎、异位妊娠、不孕、宫外孕等一系列的较严重并发症。本文就 CT 病原学、CT 持续性感染的诱发条件、CT 持续性感染的发病机制、CT 形态学改变、预防及诊断技术、治疗等方面进行综述。

### 1 CT 病原学

CT 是一类细胞内寄生的微生物, 主要依赖宿主细胞获取能量, 体积介于细菌和病毒之间, 体内含有 DNA、RNA、核糖体、胞壁酸以及合成糖元、蛋白、类脂的酶系统, 二分裂方式繁殖, 以细胞外和细胞内两种形式存在<sup>[1-2]</sup>。其中细胞外原体具有传染性、代谢不活跃, 受体引导的胞吞作用使得病原体进入宿主细胞内, 形成细胞外原体空泡孵化为网状体或者始体, 进行二分裂增殖。经过 20~72 h 又分化为新的原体, 从宿主细胞内释放出后, 又进行新一轮的感染<sup>[3-4]</sup>。按致病性和形态进行分类, 可以分为两大类, 即可引起人类感染的病原体(性病淋巴肉芽肿衣原体和沙眼衣原体等)和可引起动物疫源感染的病原体(鸬鹚热衣原体等)两类衣原体。衣原体又分 18 个血清型, 其中引起人类生殖道感染的是 CT-D-K 血清型<sup>[5-7]</sup>。

### 2 CT 持续性感染的诱发条件

CT 持续性感染的诱发条件主要包括营养物质缺乏、抗生素、病毒感染等因素。CT 寄生在宿主细胞内, 主要依赖宿主细胞获取能量, 宿主细胞的营养状态对 CT 的生长发育有较大影响。当宿主细胞内缺乏铁元素和色氨酸时, 会引发 CT 持续性感染<sup>[8]</sup>。如果宿主细胞内缺乏铁元素, 会导致 CT 热休克蛋白 60 过度表

达, 导致 CT 形成具有耐药性的网状体或包涵体, 从而进入持续性感染。色氨酸是 CT 生长发育的必需氨基酸, 当宿主细胞内色氨酸不足时, 会导致 CT 包涵体发育不良, 网状体复制和分裂能力下降, 引起 CT 持续性感染<sup>[9]</sup>。

使用抗生素不规范, 包括用药不当、疗程不足、剂量不合适也会诱发 CT 持续性感染。有研究表明, 多种抗生素包括环丙沙星、青霉素、阿奇霉素、氧氟沙星等均会引起 CT 形态异常、体积扩大、停止分裂, 甚至形成生物活性低甚至无生物活性且具有耐药性的畸形网状体, 导致 CT 感染进入持续性状态; 在停止使用抗生素时, CT 恢复活性继续感染周围的细胞, 导致疾病复发<sup>[10]</sup>。早已成功建立抗生素诱发的 CT 持续性感染体外模型, 研究表明, 抗生素使用持续时间过长、使用时间过晚均会诱发 CT 持续性感染, 诱发机制尚不明确。Skilton 等<sup>[11]</sup>研究发现, CT 持续性感染时, 网状体分裂停止、形态改变, 但 DNA 复制不受影响, 这种网状体形态功能异常与 DNA 复制的相互独立性可能是抗生素引起 CT 持续性感染的原因之一。

感染噬菌体病毒和 II 型单纯疱疹病毒也会诱发 CT 持续性感染<sup>[3]</sup>。噬菌体是一种能分解螺旋体、细菌、真菌的病毒, 寄生在宿主细胞内。研究表明, 感染噬菌体病毒后, 阻断 CT 网状体复制, 出现畸形网状体, 引起 CT 持续性感染。临床可见且在体外实验中已得到证实, II 型单纯疱疹病毒和 CT 同时感染<sup>[9, 12]</sup>, 合并 II 型单纯疱疹病毒感染引起 CT 持续性感染, 其机制可能与宿主细胞膜表面受体和 II 型单纯疱疹病毒表面的糖蛋白的作用有关。

### 3 CT 持续性感染的发病机制

CT 感染由泌尿生殖道开始, 沿黏膜至子宫、输卵管及盆腹腔诸脏器的感染, 主要通过性接触传染<sup>[13]</sup>。怀孕期间感染可在子宫内感染胎儿, 产道和产褥期感染可危及新生儿。CT 靶细胞包括女性宫颈上皮细胞、宫腔和输卵管黏膜细胞。当 CT 侵入机体后, 最先引起巨噬细胞、淋巴细胞、嗜酸性粒细胞、浆细胞的浸润及随后发生的中性粒细胞反应<sup>[14-16]</sup>。当急性炎症开始消退时, 形成淋巴滤泡。淋巴滤泡是由黏膜下的巨噬细胞和淋巴细胞聚集而成, 在疾病发生过程中坏死。多数组织损伤和炎症也是由于宿主对衣原体的免疫反应。在免疫反应中 T 淋巴细胞释放干扰素、白介素和肿瘤坏死因子等会引起 IV 型变态反应和局部组织损害。CT 同时还能引起机体产生体液免疫, 通过棉衣抗体抗原的免疫反应造成组织损伤。

CT 是一类细胞内寄生的微生物,主要依赖宿主细胞获取能量来完成新陈代谢。在机体感染 CT 之后,CT 寄生在上皮细胞内,刺激宿主细胞产生髓细胞白血病基因和凋亡抑制蛋白等抗细胞凋亡因子,从而保证网状体的复制、延迟宿主细胞凋亡、形成持续性感染<sup>[17]</sup>。因此,宿主细胞凋亡延迟也会导致 CT 进入持续性感染状态。

与 CT 密切相关的核苷酸结合寡聚化结构域蛋白(nucleotide-binding oligomerization domain protein, NOD)或 Toll 样受体发生基因突变时,受体功能改变或异常,机体免疫系统不能识别 CT,会增加 CT 持续性感染的风险<sup>[18]</sup>。因此,CT 基因具有多样性,个体基因具有可变性和差异性,且基因变异也会导致 CT 进入持续性感染状态。

在复制过程中,包涵体体积逐渐增大,挤压宿主细胞,当包涵体内复制的原体足够多时,包涵体外膜发生破裂,释放大量的原体,并透过宿主细胞膜对其它细胞产生感染。原体释放过程中对宿主细胞膜的损害引起了宿主细胞溶酶体介导的细胞膜修复效应。在肌动蛋白解聚作用下,破损的细胞膜与溶酶体融合,通过保持细胞膜的完整性使细胞继续存活。溶酶体与胞膜融合过程中,未释放完毕的原体遗留在细胞内,形成持续性感染<sup>[19]</sup>。因此,溶酶体介导细胞膜修复也会引发 CT 持续性感染。CT 在包涵体内完成复制增殖过程,通过包涵体寄生在宿主细胞内。

#### 4 CT 形态学改变

CT 的发育阶段分为原体和网状体。CT 进入细胞前为直径 0.2~0.3  $\mu\text{m}$ 、致密的无新陈代谢能力但具有感染性的原体,当 CT 进入细胞后为直径约 0.8  $\mu\text{m}$ 、无感染性但具有新陈代谢活性和复制能力的网状体,并形成特有的包涵体,以二分裂的方式繁殖形成更多的原体释放到细胞外感染邻近细胞<sup>[20]</sup>。

持续性感染时网状体进入一种有形态结构,主要形态学特征为形态异常、体积扩大、停止分裂的网状体及体积变小的包涵体,以上特殊结构具有耐药性。网状体形态发生改变,网状体仍具有较低的生物活性、mRNA 的合成和染色体的复制仍然存在<sup>[1]</sup>。出现这种情况的原因可能是由于网状体的复制分裂被环境中不利于 CT 生长发育的因素影响并中止,网状体无法形成具有感染性的原体来诱导新一轮的感染。网状体的这种结构具有可逆性,当不利因素消除时,网状体可以重新开始复制,开始新的感染。

#### 5 预防及诊断技术

加强 CT 感染筛查力度能够有效预防 CT 持续性感染的发生。50%~80% 的生殖道 CT 感染无明显的症状是 CT 持续性感染发生的潜在危险因素,因此应该加强对 CT 感染的筛查<sup>[1]</sup>。性活跃人群是生殖道 CT 持续性感染的易发病人群,需对这部分人群进行定期筛查<sup>[21]</sup>。以尿液或生殖道分泌物为标本,进行核酸扩增试验,检测是否发生 CT 感染,为了减少漏诊对于泌尿生殖道感染者,将 CT 检测作为常规检查项目。Dean 等<sup>[4]</sup>的研究表明,采用细胞培养进行临床 CT 检

测结果阴性,而连接酶链式反应呈阳性时,可能为 CT 持续性感染。

近年来对 CT 感染的诊断技术有了很大进步,诊断方法主要包括细胞培养法、抗体检查法、抗原检查法<sup>[22-23]</sup>。其中抗体检查法又包括酶联免疫吸附试验(ELISA)、补体结合试验(CF)、间接酶抗体(IDEAB)和间接荧光抗体法(IF&MFA)。其中抗原检查法包括反义技术(antisense technology)、直接荧光抗体法(DFA)、DNA 探针法(DNA probe)、酶免疫法(EIA)、联接酶链反应(LCR)、多聚酶链反应(PCR)和 APPCR(arbitrarily primed PCR)。这些试验方法的特异性和敏感性不同,应该根据标本来源以及实验室设备选择合适临床方法。

#### 6 治疗

色氨酸是 CT 生长发育必需氨基酸,当色氨酸不足时会引起 CT 持续性感染。对 CT 感染可以采用色氨酸进行相关治疗,与色氨酸相关的治疗主要包括色氨酸代谢酶抑制剂和色氨酸增补剂治疗。Singla<sup>[24]</sup>认为如果抗生素和色氨酸联合使用,会使持续性感染中的网状体恢复活性,抗生素能更好地作用于 CT,进而可以达到清除 CT 的目的。使用色氨酸代谢酶抑制剂可以减少色氨酸的分解代谢,进而可以解除 CT 的持续性感染。吡啶胺 2,3-二氧酶(IDO1, indoleamine 2,3-dioxygenase)是色氨酸的主要分解代谢酶,Ibana 等<sup>[25]</sup>通过研究证明,使用吡啶胺 2,3-二氧酶抑制剂作用于 IFN-1 诱发的 CT 持续性感染对寄生细胞无毒性作用,能阻断网状体在持续性感染时的异常发育,原体的感染活性得到限制,持续性感染时 CT 对抗生素的敏感性增加,从而可以达到治疗目的。

对 CT 感染可以采用抗生素治疗。研究表明抗生素使用不正确也会诱发 CT 持续性感染,时有抗生素耐药的报道,但对于一些感染性疾病,抗生素的作用仍不可替代<sup>[26]</sup>。CT 持续性感染对喹诺酮类、大环内脂类及四环素等对细菌蛋白质和 DNA 合成有干扰性的抗生素较敏感<sup>[27]</sup>。目前治疗 CT 持续性感染的抗生素的选择和疗程尚无明确的统一标准,治疗时主要遵循足量、足疗程、联合用药的原则,在必要时可以结合药敏实验<sup>[28]</sup>。可以将抗生素封装在 PLGA 纳米颗粒内,利用纳米颗粒的生物相容性、靶向性、溶解性好和缓释性等优点,增加抗生素在 CT 包涵体内的浓度,提高对 CT 的杀灭效力。

总之,生殖道 CT 持续性感染持续时间较长容易引起严重的并发症,国内外研究者对生殖道 CT 持续性感染进行了大量研究,但对其发病机制、CT 形态学和生物活性改变的内在机制、治疗、防治复发、减轻并发症等方面仍需进一步阐明。

#### 参考文献:

- [1] 谭明秀,胡桂娟. 规范化健康教育在衣原体、支原体生殖道感染者的应用[J]. 右江民族医学院学报, 2008, 30(6): 1087-1088.
- [2] Linhares IM, Witkin SS. Immunopathogenic conse-

- quences of *Chlamydia trachomatis* 60 kDa heat shock protein expression in the female reproductive tract [J]. *Cell Stress Chaperones*, 2010, 15(5): 467–473.
- [3] Vnover J, Kintner J, Whittimore J, et al. Interaction of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) glycoprotein D with the host cell surface is sufficient to induce *Chlamydia trachomatis* persistence [J]. *Microbiology*, 2010, 156(5): 1294–1302.
- [4] Dean D, Suchland RJ, Stamm WE. Evidence for long-term cervical persistence of *Chlamydia trachomatis* by ompI genotyping [J]. *J Infect Dis*, 2000, 182(3): 909–916.
- [5] John H, Carlson, William M Whitmire, Deborah D Crane, 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.
- [6] Xing Gao, Xiang-Sheng Chen, Yue-Ping Yin, et al. Distribution study of *Chlamydia trachomatis* serovars among high-risk women in China performed using PCR-restriction fragment length polymorphism genotyping [J]. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(4): 1185–1189.
- [7] 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 Syst Bacteriol*, 1999, 49 (pt2): 215–244.
- [8] LaRue RW, Dill BD, Giles DK, et al. *Chlamydia trachomatis* Hsp60-2 is iron responsive in *Chlamydia trachomatis* serovar E-infected human endometrial epithelial cells in vitro [J]. *Infect Immun*, 2007, 75(5): 2374–2380.
- [9] Hogan RJ, Mathews SA, Mukhopadhyay S, et al. *Chlamydia trachomatis* persistence: beyond the biphasic paradigm [J]. *Infect Immun*, 2004, 72(4): 1843–1855.
- [10] Dreses-Werringloer U, Padubrin I, Jürgens-Saathoff B, et al. Persistence of *Chlamydia trachomatis* is induced by ciprofloxacin and ofloxacin in vitro [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2000, 44(12): 3288–3297.
- [11] Skilton RJ, Cutcliffen LT, Barlow D, et al. Penicillin induced persistence in *Chlamydia trachomatis*: high quality time lapse video analysis of the developmental cycle [J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7723.
- [12] Deka S, Vanover J, Sun J, et al. An early event in the herpes simplex virus type-2 replication cycle is sufficient to induce *Chlamydia trachomatis* persistence [J]. *Cell Microbiol*, 2007, 9(3): 725–737.
- [13] Li YH, Brauner A, Jonsson B, et al. *Ureaplasma urealyticum* induced production of proinflammatory cytokines by macrophages [J]. *Pediatr Res*, 2000, 48(1): 114–119.
- [14] Gerard HC, Whittum-Hudson JA, Schumacher HR, et al. Differential expression of three *Chlamydia trachomatis* hsp60-encoding genes in active vs. persistent infections [J]. *Microb Pathog*, 2004, 36(1): 35–39.
- [15] Dean D. *Chlamydia trachomatis* today: treatment, detection, immunogenetics and the need for a greater global understanding of chlamydial disease pathogenesis [J]. *Drugs Today (Basc)*, 2009, 45(Suppl B): 25–31.
- [16] Min-Chih Hsu, Pei-Yi Tsai, Kow-Tong Chen, et al. Genotyping of *Chlamydia trachomatis* from clinical specimens in Taiwan [J]. *J Med Microbiol*, 2006, 55 (3): 301–308.
- [17] Rodel J, Grosse C, Yu H, et al. Persistent *Chlamydia trachomatis* infection of HeLa cells mediates apoptosis resistance through a *Chlamydia* protease-like activity factor-independent mechanism and induces high mobility group box 1 release [J]. *Infect Immun*, 2012, 80 (1): 195–205.
- [18] Jose Paolo V Magbanua, Beng Tin Goh, Claude-Edouard Michel, et al. *Chlamydia trachomatis* variant not detected by plasmid based nucleic acid amplification tests: molecular characterisation and failure of single dose azithromycin [J]. *Sex Transm Infect*, 2007, 83(4): 339–343.
- [19] Beatty WL. Lysosome repair enables host cell survival and bacterial persistence following *Chlamydia trachomatis* infection [J]. *Cell Microbiol*, 2007, 9(9): 2141–2152.
- [20] Wyrick PB. *Chlamydia trachomatis* persistence in vitro: an overview [J]. *J Infect Dis*, 2010, 201(2): S88–S95.
- [21] Parra-Sánchez M, Palomares JC, Bernal S, et al. Evaluation of the cobas 4800 CT/NG Test for detecting *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* DNA in urogenital swabs and urine specimens [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012, 74(4): 338–342.
- [22] Morré SA, van Valkengoed IG, de Jong A, et al. Mailed, home-obtained urine specimens: a reliable screening approach for detecting asymptomatic *Chlamydia trachomatis* infections [J]. *J Clin Microbiol*, 1999, 37(4): 976–980.
- [23] Puoca KK, Ainen M, Hiltunen-Back E, et al. Comparison of performance of two commercially available tests, a PCR assay and a ligase [J]. *J Clin Microbiol*, 1998, 36(6): 1489–1493.
- [24] Singla M. Role of Tryptophan supplementation in the treatment of *Chlamydia* [J]. *Med Hypotheses*, 2007, 68(2): 278–280.
- [25] Ibana JA, Belland RJ, Zea AH, et al. Inhibition of indoleamine 2,3-dioxygenase activity by levo-1-methyl tryptophan blocks gamma interferon-induced *Chlamydia trachomatis* persistence in human epithelial cells. [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(11): 4425–4437.
- [26] Wyrick PB, Knight ST. Pre-exposure of infected human endometrial epithelial cells to penicillin in vitro renders *Chlamydia trachomatis* refractory to azithromycin [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2004, 54(1): 79–85.
- [27] Hammersehlag MR, Kohlhoff SA. Treatment of chlamydial infections [J]. *Expert Opin Pharmacother*, 2012, 13(4): 545–552.
- [28] Meyer T. Diagnosis and treatment of *Chlamydia trachomatis* infections [J]. *Hautarzt*, 2012, 63(1): 16–23.