

# 结核病和肺癌患者痰及胸腔积液中结核分枝杆菌 L-型的检测\*

王梅梅<sup>1</sup>, 田艳生<sup>2</sup>, 张淑杰<sup>1</sup>, 熊亚南<sup>1</sup>, 章广玲<sup>1△</sup>, 刘志勇<sup>3</sup> (1. 河北联合大学基础医学院病原生物学与免疫学系, 河北唐山 063000; 2. 华北石油总医院检验科, 河北任丘 062552; 3. 河北联合大学附属医院胸心外科, 河北唐山 063000)

**【摘要】** 目的 探讨结核分枝杆菌 L-型(MTB-L)在结核病和肺癌患者痰、胸腔积液两种临床标本中检出的意义。**方法** 选取华北石油总医院 2007 年 2~11 月门诊及住院确诊为肺癌的患者 110 例为肺癌组, 选择同期该院健康体检者 42 例为健康健康对照组, 选择同期门诊及住院 101 例肺癌胸腔积液患者为结核组, 比较 3 组的 MTB-L 的资料。**结果** 结核组痰液和胸腔积液标本中阳性率分别为 42.9%、34.4%, 均高于肺癌组 (26.8%、21.1%,  $P < 0.05$ ); 结核组痰液和胸腔积液标本中 MTB-L 阳性率分别为 57.1%、40.6%, 均高于肺癌组 (24.4%、26.3%,  $P < 0.05$ )。**结论** MTB-L 感染在肺癌的形成过程中可能起到一定的作用。

**【关键词】** 结核分枝杆菌; 肺癌; 结核病

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.06.001 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)06-0641-02

## Detection of Mycobacterium tuberculosis L-form in sputum and pleural fluid of tuberculosis and lung carcinoma\*

WANG Mei-mei<sup>1</sup>, TIAN Yan-sheng<sup>2</sup>, ZHANG Shu-jie<sup>1</sup>, XIONG Ya-nan<sup>1</sup>, ZHANG Guang-ling<sup>1△</sup>, LIU Zhi-yong<sup>3</sup> (1. Department of Pathogenic Biology and Immunology, Medical College, Hebei United University, Tangshan, Hebei 063000, China; 2. North China Oilfield General Hospital, Renqiu, Hebei 062552, China; 3. Department of Cardiothoracic Surgery, Hebei United University Affiliated Hospital, Tangshan, Hebei 063000, China)

**【Abstract】 Objective** To evaluate the clinical significance of the detection of *Mycobacterium tuberculosis* L-form (MTB-L) from the clinical specimens of sputum and pleural fluid in tuberculosis and lung cancer. **Methods** MTB-L was detected by the intensified Kinyoun's acid fast staining and the germiculture technique in the sputum and pleural fluid samples of 110 patients with lung cancer, 101 patients with tuberculosis and 42 healthy persons as control. The detection results of MTB-L were compared among 3 groups. **Results** The positive rates of MTB-L in sputum and pleural fluid specimens detected by Intensified Kinyoun's acid fast staining were 42.9% and 34.4% in the tuberculosis group, which were higher than 26.8% and 21.1% in the lung cancer group, respectively. The positive rates of control group were 0. The positive rates of sputum and pleural fluid specimens detected by the germiculture technique were 57.1% and 40.6% in the tuberculosis group, which were higher than 24.4% and 26.3% in the lung cancer group, respectively. The positive rates of the control group were 0. **Conclusion** The MTB-L infection is likely to be involved in the occurrence or development of lung carcinoma.

**【Key words】** Mycobacterium tuberculosis; lung cancer; tuberculosis

肺癌是目前世界上恶性肿瘤死亡的主要原因, 发病率和病死率呈逐年上升趋势<sup>[1]</sup>。一些学者在研究肺癌的诱因时注意到, 结核分枝杆菌 L-型(MTB-L)可能类似一些致癌病毒, 通过与其 DNA 整合激活肺泡上皮细胞的原癌基因和(或)抑制抑癌基因失调而致癌。且肺结核和肺癌并存的报道逐年增多, 它们间有无因果关系, 越来越引起人们的重视<sup>[2]</sup>。本研究以结核病、肺癌患者为研究对象, 用 IK 抗酸染色、MTB-L 细菌培养分别对其痰及胸腔积液等标本进行检测, 从病原学角度探寻 MTB-L 感染与肺癌的关系, 并对其临床应用进行评价。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2007 年 2~11 月华北石油总医院门诊及住院确诊为肺癌的患者 110 例为肺癌组, 其中男 77 例, 女 33 例; 年龄 43~78 岁, 平均 61.2 岁; 选择同期该院健康体检者 42 例为非肺癌、非肺结核对照组, 其中男 24 例, 女 18 例; 年龄 35~60 岁, 平均 47.2 岁; 选择同期门诊及住院确诊为肺结

核的患者 101 例为结核组, 其中男 65 例, 女 36 例; 年龄 13~72 岁, 平均 56.2 岁。标本选取: 肺癌组 41 例痰液, 19 例胸腔积液, 另外, 110 例均采用了血液标本, 但血液标本未在本文体现; 结核组 84 例痰液, 32 例胸腔积液; 对照组 9 例痰液, 0 例胸腔积液。

**1.2 标本的制作** 痰: 痰液加 2% NaOH 2~4 倍量, 振荡器振荡 5~10 min 或置室温 30 min, 期间轻轻振荡 2~3 次, 使痰液消化; 较黏稠的痰标本加入 2% NaOH 2~4 倍, 并加入灭菌 0.2% 酚红指示剂 1 滴, 置 37℃ 水浴中作用 15 min, 并不时用滴管轻轻吹打以助其消化, 然后滴加 1 mol/L HCl 中和, 1 500 r/min 离心 30 min 后取沉渣涂片 3 张。胸腔积液: 标本 3 000 r/min 离心 30 min, 取沉渣涂片 3 张。加染色液后置湿盒内, 于室温 48~72 h 后细流水洗。加脱色剂, 脱至无红色为止。加复染剂复染 0.5~2.0 min, 水洗后干燥, 用 95% 乙醇处理数秒, 无水乙醇脱水, 二甲苯透明, 中性树脂胶封固后镜检。

\* 基金项目: 河北省自然科学基金项目(H2013209180); 唐山市科技计划项目(12130213b)。△ 通讯作者, E-mail: zhguangling@yahoo.com.cn。

**1.3 判定标准** IK 抗酸染色 MTB-L(-):每 300 个视野 0 个 MTB-L; MTB-L(+):每 300 个视野 1~2 个 MTB-L; MTB-L(+):每 100 个视野 3~9 个 MTB-L。

**1.4 分离培养与鉴定** 临床标本接种<sup>[3]</sup>,每周观察 1 次。将阳性液体培养物接种于 PNB-MTB-L 液体培养基、TCH-MTB-L 液体培养基继续培养,初步鉴定。将上述阳性管(已证实)培养物沉淀接种于 92-3TB 液体培养基传代(每 2 周传 1 代,至第 5 代),待回复为原菌后,将液体培养物接种于 PNB-MTB 液体培养基、TCH-MTB 液体培养基继续培养,返祖菌型鉴定。

**1.5 统计学方法** 应用 SPSS13.0 统计软件进行数据分析,计数资料采用  $\chi^2$  检验,以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 痰标本中 MTB-L IK 抗酸染色检测肺癌组** 41 例患者痰标本 MTB-L 阳性 11 例,阳性率为 26.8%(原菌型 24.7%);结核组 84 例患者的痰标本 MTB-L 阳性 36 例,阳性率为 42.9%(原菌型 2.4%),两者检测结果相比,差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.0167, P > 0.05$ )。非肺癌、非结核对照组痰标本未检出 MTB-L,肺癌组与其检测结果相比,差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.0957, P > 0.05$ )。培养法检测肺癌组 41 例患者的痰标本阳性 10 例,阳性率为 24.4%,结核组 84 例患者的痰标本阳性 48 例,阳性率为 57.1%,两者检测结果相比,差异有统计学意义( $\chi^2 = 11.884, P < 0.05$ )。非肺癌、非结核对照组痰标本未检出 MTB-L,肺癌组检测结果与其相比,差异无统计学意义( $\chi^2 = 3.5405, P > 0.05$ )。

**2.2 胸腔积液标本中 MTB-L IK 抗酸染色检测肺癌组** 19 例患者胸腔积液标本阳性 4 例,阳性率为 21.1%(原菌型 0%);结核组 32 例患者胸腔积液标本阳性 11 例,阳性率为 34.4%(原菌型 3.1%),两者差异无统计学意义( $\chi^2 = 1.0192, P > 0.05$ )。培养法检测肺癌组 19 例患者胸腔积液标本阳性 5 例,阳性率为 26.3%;结核组 32 例患者的胸腔积液标本阳性 13 例,阳性率为 40.6%,两者差异有统计学意义( $\chi^2 = 7.824, P < 0.05$ )。

**2.3 MTB-L 菌型分布** 肺癌组 41 例痰标本中培养出 10 株 MTB-L,经鉴定,人型 MTB7 株,牛型 MTB3 株;19 例胸腔积液标本中培养出 5 株 MTB-L,经鉴定,人型 MTB4 株,牛型 MTB1 株。结核组 84 例痰标本中培养出 48 株 MTB-L,经鉴定,人型 MTB37 株,牛型 MTB10 株,非 MTB1 株;32 例胸腔积液标本中培养出 13 株 MTB-L,经鉴定,人型 MTB11 株,牛型 MTB2 株。

**2.4 MTB-L 返祖原菌型分布** 肺癌组各标本中培养出的 15 株 MTB-L 恢复典型原菌者 6 株,污染 2 株。结核组各标本中培养出的 61 株 MTB-L 恢复典型原菌者 29 株,污染 8 株。原菌菌型鉴定结果均同 MTB-L 菌型鉴定结果相符。

## 3 讨论

肿瘤是一种基因病,是由于遗传信息发生变化而导致。目前已经公认原癌基因被激活伴有或不伴有抑癌基因失活、沉默是促发细胞转化恶变的重要机制<sup>[4]</sup>。在研究肺癌的诱因时,一些学者注意到<sup>[5-6]</sup>:MTB-L 失去细胞壁后具有可塑性,形态多变,有的仅病毒大小,和病毒一样能进入人体细胞,长期潜伏于肺泡上皮细胞的 MTB-L 可能类似一些致癌病毒,通过与其 DNA 整合激活肺泡上皮细胞的原癌基因和(或)抑制抑癌基因失调而致癌。也有学者通过动物实验观察发现位于吞噬细胞内的 MTB-L 可借助宿主细胞提供营养而赖以生存,并引起炎症灶内巨噬细胞发生呼吸爆发和酶化学反应,产生大量自由基,造成组织或细胞损伤,或使 DNA 发生断裂、错误修复,引

起细胞突变或诱发癌变<sup>[7]</sup>。

近年来,肺癌的发病率呈上升趋势,居各种恶性肿瘤的首位,且肺结核和肺癌并存的报道逐年增多<sup>[2]</sup>,除了年龄因素外,它们之间有无因果关系,越来越引起人们的重视。有学者认为:健康人在感染 MTB 后,由于机体有健全的免疫功能,常不发病,但肺癌是慢性消耗性疾病,肿瘤细胞可产生免疫抑制因子,使机体免疫功能下降,而增加结核病发病的概率,尤其在肺癌患者行放疗和化疗后,机体的免疫功能将会进一步受到损害,进而增加结核病发病概率。

目前,国内外关于 MTB-L 致病性的研究文献较多见<sup>[8-9]</sup>,但 MTB-L 型感染与肺癌的关系,以及肺癌患者各种临床标本(尤其是外周全血)中检测 MTB-L 的报道较少。为此,本研究以肺癌和结核病患者为研究对象,用 IK 抗酸染色、MTB-L 细菌培养分别对其痰及胸腔积液等标本进行检测,从病原学角度探寻了 MTB-L 感染与肺癌的关系。本研究从肺癌患者的痰及胸腔积液中获得较高的 MTB-L 检出率,同国内报道相仿<sup>[3]</sup>。本研究结果提示 MTB-L 感染与肺癌的发生可能有关。

本研究肺癌组中培养出的 15 株 MTB-L,经返祖恢复典型原菌者 6 株;结核组中培养出的 61 株 MTB-L,经返祖恢复典型原菌者 29 株,返祖成功率均较低,是否有的 MTB-L 发生遗传性改变,或细胞壁缺陷较为严重,形成了稳定型 MTB-L,有待于进一步研究。

本研究用病原学方法从肺癌患者的痰及胸腔积液标本中均检出 MTB-L,且阳性率较高,结果提示 MTB-L 的感染与肺癌的发生有关,但绝大多数肺癌患者否认有结核病史,研究人员无法回顾性分析其与肺癌的关系,也无法进行结核病患者发生肺癌概率的前瞻性研究,这有待于在今后的研究中进一步完善。

## 参考文献

- [1] 孙燕. 肺癌流行病学与肺癌预防[J]. 中国肺癌杂志, 2000,3(6):404-405.
- [2] 刘梅枝,韩田. 老年肺结核合并肺癌状况分析[J]. 现代预防医学,2007,34(24):4735.
- [3] 田艳生,张淑杰,崔幸琨,等. 从结核病和肺癌患者外周血中检测结核分枝杆菌及其 L 型[J]. 中华检验医学杂志, 2008,31(12):1353-1357.
- [4] 陈宏,陈复辉,肖金玲. 肺癌患者痰、BALF 及肺癌组织中检测 K-ras 和 p53 基因突变的诊断价值[J]. 哈尔滨医科大学学报,2007,41(4):382-384.
- [5] Onwuamaegbu ME, Belcher RA, Soare C. Cell wall-deficient bacteria as a cause of infections: a review of the clinical significance[J]. J Int Med Res, 2005,33(1):1-20.
- [6] 宋兰英,赵彤,邓敏,等. 结核杆菌阳性女性肺癌的临床病理分析[J]. 中国肿瘤临床,2000,27(11):847-848.
- [7] 黄谷良,林特夫. 细菌 L 型感染的意义和研究进展(二)[J]. 蚌埠医学院学报,2006,31(3):221-225.
- [8] Roth A, Schaberg T, Mauch H. Molecular diagnosis of tuberculosis: current clinical validity and future perspectives[J]. Eur Respir J, 1997,10(8):1877-1891.
- [9] Pan F, Jackson M, Ma Y, et al. Cell wall core galactofuran synthesis is essential for growth of mycobacteria[J]. J Bacteriol, 2001,183(13):3991-3998.