

• 综述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.17.046

GeneXpert MTB 技术在肺外结核诊断中的应用进展^{*}彭 荣,王 芳,曲 浩 综述,龚 倩[△] 审校

复旦大学附属中山医院青浦分院检验科,上海 201700

关键词:GeneXpert MTB; 肺外结核; 诊断

中图分类号:R446.5

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)17-2560-03

GeneXpert 结核分枝杆菌(MTB)技术是由美国 Cepheid 公司研发的一套半巢式实时荧光定量 PCR 体外诊断技术。以利福平耐药基因 *rpoB* 基因为靶向基因,可在 2 h 内同时检测 MTB 和对利福平是否耐药^[1],该方法于 2010 年由 WHO 推荐用于肺结核的诊断^[2],2013 年 WHO 又推荐其用于肺外结核的诊断。肺外结核是继发于肺部感染的血源性播散,能使 MTB 出现在任何解剖部位^[3]。我国肺外结核约占全部结核病的 10%~20%^[4],由于肺外结核病灶中 MTB 数量一般较少,同时不易获得人体深部组织的结核病灶的病变标本,造成肺外结核临床诊断极其困难。近年来,国内外学者致力于 GeneXpert MTB 用于肺外结核诊断的研究^[5]。本文就 GeneXpert MTB 技术在骨结核、结核性胸膜炎、泌尿系结核、结核性脑膜炎等肺外结核的应用进展作一综述。

1 GeneXpert MTB 技术在骨结核中的应用

我国骨结核约占肺外结核患者的 11.3%~34.5%^[4]。骨结核病变组织由于处于循环终末端,病灶中 MTB 数量少,病灶比较深取材困难,传统的培养及涂片法面临阳性率低、时效性差等劣势,直至目前骨结核的早期诊断仍然面临挑战。骨结核中又以脊柱结核和关节结核较多。侯婷婷等^[6]以临床诊断影像学为金标准,得出荧光抗酸涂片染色法、MGIT960 MTB 液体培养、GeneXpert MTB 在检测脊柱结核方面的敏感度分别为 26.56%、58.33%和 80.72%;国外也有学者等验证了 GeneXpert MTB 技术在骨关节结核的临床应用价值^[7],GeneXpert MTB 技术对骨关节结核诊断的敏感度是 82.00%,特异度是 100.00%,与唐恺等^[8]研究结果较为一致;董伟杰等^[9]以大样本量研究进一步证实,GeneXpert MTB 技术在骨关节诊断中的必要性和可行性,其中骨关节结核组诊断脊柱结核者 171 例,诊断关节结核者 80 例,涵盖了骨关节结核的所有常见发病部位,应用 GeneXpert MTB 检测的敏感度为 78.09%,特异度为

100.00%;另外,国外有一项研究关注了 GeneXpert MTB 在骨结核耐药方面的价值,在 201 例疑似骨结核患者中,GeneXpert MTB 比培养法多检出 8 例阳性,其中有 2 例是利福平耐药患者,意义重大^[10]。骨结核病程长,很多患者从发病到最终确诊往往需要几个月到几年的时间,严重影响了治疗的及时性。细菌学诊断作为最直接可靠的诊断金标准,但很难得到及时的结果,GeneXpert MTB 的出现和推广有望改变这一局面。

2 GeneXpert MTB 技术在结核性胸膜炎中的应用

结核性胸膜炎作为第二常见的肺外结核^[11],是指机体感染 MTB 后胸膜出现炎症性病变,主要系 MTB 直接侵犯胸膜所致,感染性胸腔积液的各类病因中,MTB 列首位,占 35%~50%^[12]。目前,结核性胸膜炎实验室辅助检查中生化、免疫、细菌学等方法的敏感度和特异度均较低,因而寻求一种理想的结核性胸膜炎诊断方法具有重大意义。王德翠等^[13]采用集菌涂片法、分枝杆菌培养法和 GeneXpert MTB 法 3 种方法检测结核性胸膜炎的胸腔积液,对其阳性率进行比较;并对培养阳性菌株作比例法和基因芯片检测利福平的药敏试验情况,结果与 GeneXpert MTB 法对比。结果 74 例胸腔积液集菌涂片法、分枝杆菌培养法和 GeneXpert MTB 法阳性率分别为 14.9%、17.6%和 81.1%,GeneXpert MTB 法和其他两种方法比较,差异均有统计学意义($P<0.01$),且 GeneXpert MTB 法菌量“低”和“极低”49 例,集菌涂片法抗酸分枝杆菌均为阴性。李成俊等^[14]用 GeneXpert MTB 检测内科胸腔镜活检组织研磨悬液诊断结核性胸膜炎,以最终诊断结果为金标准,GeneXpert MTB 法、MGIT 960 培养法、病理检查诊断的敏感度和特异度分别为 64.7%(22/34)和 100.0%(17/17)、58.8%(20/34)和 100.0%(17/17)、50.0%(17/34)和 100.0%(17/17)。活检组织 GeneXpert MTB 检测的阳性结果明显高于在胸腔积液中的阳性检测结果,对

^{*} 基金项目:上海市青浦区科委项目(QKY2017-05)。[△] 通信作者,E-mail:gongqian39@aliyun.com。

临床诊断意义更大。国外也有学者以结核性胸膜炎和结核性心包炎临床诊断为金标准, GeneXpert MTB 分别表现出高的敏感度(90.0%和 72.0%)和特异度(100.0%和 100.0%)^[15]。另外, 也有学者关注了 GeneXpert MTB 在耐药结核性胸膜炎方面的价值, 在 60 例确诊结核性胸膜炎患者中, GeneXpert MTB 证实利福平 10 例耐药基因的存在; 而比例法只检出 5 例^[16]。

3 GeneXpert MTB 技术在泌尿系结核中的应用

在肺外结核中, 20% 为泌尿系结核病。泌尿系结核的早期诊断难度较大, 易出现误诊、漏诊而导致延误治疗, 最终引起严重泌尿系并发症如肾脏功能损害等, 因而尿 MTB 的检出是诊断泌尿系结核的关键^[17]。尿液涂片找 MTB, 极容易出现菌膜脱落的现象, 培养法又用时太长, 故很多学者都把目光转向了 GeneXpert MTB。陈禹等^[18]研究了 GeneXpert MTB 在 HIV 阴性泌尿系结核中的诊断价值, 收集所有患者的 24 h 尿沉渣标本, 每份标本同时进行涂片查抗酸杆菌、BACTEC MGIT 960 分枝杆菌培养、GeneXpert MTB 检测。以临床诊断为金标准, GeneXpert MTB 检测的敏感度为 64.4%(38/59), 特异度为 100.0%(60/60), 抗酸杆菌涂片法敏感度为 11.9%(7/59), 二者敏感度比较差异有统计学意义($\chi^2 = 25.97, P < 0.001$); MGIT 960 分枝杆菌培养法敏感度为 42.4%(25/59), 与 GeneXpert MTB 检测比较差异有统计学意义($\chi^2 = 11.27, P = 0.001$)。陈子芳等^[19]收集已经确诊的住院肾结核 79 例和健康者 50 例, 采集血液检测血清 MTB 特异度蛋白(TB-SA)抗体和 γ 干扰素释放分析(T-SPOT. TB); 同时留取 24 h 尿沉淀物标本, 利用涂片镜检法、MTB 培养法和 GeneXpert MTB 法检测; 以比较 5 种方法阳性率。结果 79 例肾结核血清检测 TB-SA 抗体、T-SPOT. TB、尿沉淀物涂片、培养以及 GeneXpert MTB 法阳性检出例数分别为 68 例、63 例、12 例、18 例和 57 例; 5 种检测方法的敏感度和特异度依次为 86.1%、82.0%、79.7%、90.0%、15.2%、100.0%、22.8%、100.0% 和 72.2%、100.0%。GeneXpert MTB 法与涂片法和培养法结果比较, 差异均有统计学意义($\chi^2 = 26.05, 19.30$, 均 $P < 0.01$)。

4 GeneXpert MTB 技术在结核性脑膜炎(TBM)中的应用

TBM 是由 MTB 感染引起的中枢神经系统感染性疾病, 占结核病发病的 5%~10%, 具有较高的病死率和致残率^[1-2]。因此, 早期快速、准确的诊断对于 TBM 治疗及预后具有重要的意义。脑脊液的 MTB 涂片和培养阳性率偏低, 在 TBM 诊断中价值不大。

杨元利等^[20]评估了 GeneXpert MTB 技术对成年人结核性脑膜炎诊断价值。GeneXpert MTB 检测离心脑脊液标本阳性 25 例。敏感度为 41.0%(25/61), 特异度为 100.0%(29/29)。GeneXpert MTB 检测未离心脑脊液标本、液体培养法、抗酸染色法检测 TBM 的敏感度分别为 23.0%(14/61)、18.0%(11/61)、4.9%(3/61), 离心后敏感度明显提高。吴小慧等^[21]以临床诊断为标准, GeneXpert MTB、抗酸染色法、培养法 TBM 组检测敏感度分别为 25.5%(13/51)、3.9%(2/51)、17.6%(9/51), 特异度均为 100.0%(73/73)。GeneXpert MTB 敏感度与培养法相比, 差异无统计学意义($P = 0.336$), 但显著高于抗酸染色法($P = 0.002$)。2015 年, 来自全球 10 个国家的 54 位学者, 在越南探讨 TBM, 会议讨论了 WHO 推荐的在脑脊液量很少的情况下, 使用 GeneXpert MTB 代替传统的涂片和培养, 并最终强调了 GeneXpert MTB 在诊断 TBM 有一定的局限性; 而且脑脊液应达到 8~10 mL 为佳^[22]。

综上所述, GeneXpert MTB 在肺外结核比如骨结核、结核性胸膜炎、泌尿系结核、TBM 等肺外结核的诊断中表现比传统的涂片和培养更高的敏感度和特异度, 而且能测出利福平耐药性以及涂阳患者是 MTB 还是非 MTB 致病作初步判断^[23], 非常有意义, 但其在淋巴结核和肠结核还鲜见相关报道。另外, GeneXpert MTB 在时效性方面的具体优势, 以及对患者最终的预后及生存期的影响的相关研究值得期待。最后, 随着其他一线药物及二线药物耐药的结核病例逐渐增多, 比如广为关注的多重耐药结核病 GeneXpert MTB 还不能检出^[24], 因此需对现有系统进行改良, 使其覆盖更多的耐药基因位点。

参考文献

- [1] BOEHME C C, NABETA P, HILLEMANN D, et al. Rapid molecular detection of tuberculosis and rifampin resistance[J]. N Engl J Med, 2010, 363(11): 1005-1015.
- [2] World Health Organization. WHO endorses new rapid tuberculosis test[M]. Geneva: World Health Organization, 2010: 55.
- [3] GOLDEN M P, VIKRAM H R. Extrapulmonary tuberculosis; an overview[J]. Am Fam Physician, 2005, 72(9): 1761-1768.
- [4] KULCHAVENVA E. Extrapulmonary tuberculosis: are statistical reports accurate? [J] Ther Adv Infect Dis, 2014, 2(2): 61-70.
- [5] LAWN S D, ZUMLA A I. Diagnosis of extrapulmonary tuberculosis using the Xpert@ MTB/RIF assay[J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2012, 10(6): 631-635.

- [6] 侯婷婷,侯惺,李远,等. GeneXpert M TB /RIF 在检测脊柱结核患者中的诊断价值[J]. 检验医学与临床,2018,15(21):3268-3270.
- [7] GU Y,WANG G,DONG W,et al. Xpert MTB/RIF and Genotype MTBDRplus assays for the rapid diagnosis of bone and joint tuberculosis[J]. Infect Dis, 2015, 36: 27-30.
- [8] 唐恺,董伟杰,兰汀隆,等. 应用 Xpert MTB/RIF 技术快速诊断膝关节结核[J]. 中国防痨杂志,2016,38(4):300-304.
- [9] 董伟杰,秦世炳,兰汀,等. Xpert MTB/RIF 技术在骨关节结核临床诊断中的应用研究[J]. 中国防痨杂志,2017,39(4):337-341.
- [10] HELD M,LAUBSCHER M,WORKMAN L,et al. Diagnostic accuracy of GeneXpert MTB/RIF in musculoskeletal tuberculosis: High sensitivity in tissue samples of HIV-infected and HIV-uninfected patients [J]. S Afr Med,2017,107(10):854-858.
- [11] CHIHOTA V,GRANT A,FIELDING K,et al. Liquid vs. solid culture for tuberculosis:performance and cost in a resource-constrained setting [J]. Tuberc Lung Dis, 2010,14:1024-1031.
- [12] 张敦华.实用胸膜疾病学[M]. 上海:上海医科大学出版社,1997:152.
- [13] 王德翠,陈子芳,陈琦,等. GeneXpert MTB/RIF 技术在结核性胸膜炎诊断及利福平耐药检测中的价值[J]. 国际呼吸杂志,2015,35(14):1071-1074.
- [14] 李成俊,孙炳奇,孙娇,等. GeneXpert MTB/RIF 检测内科胸腔镜活检组织研磨悬液诊断结核性胸膜炎的价值[J]. 中国防痨杂志,2018,40(8):840-845.
- [15] SAEED M,AHMAD M,IRAM S,et al. A breakthrough for the diagnosis of tuberculous pericarditis and pleuritis in less than 2 hours[J]. Saudi Med J,2017,38 (7):699-705.
- [16] 张海晴,刘成永,周冬青,等. GeneXpert MTB/RIF 系统在结核性胸膜炎快速诊断中应用价值[J]. 北京医学,2016,38(7):739-741.
- [17] 王晓琴,马燕粉,李锐成,等. 尿液结核分支杆菌检测方法在泌尿系结核诊断中的应用研究[J]. 山西医科大学学报,2013,44(8):624-627.
- [18] 陈禹,刘旭晖,付亮,等. GeneXpert MTB/RIF 在 HIV 阴性泌尿系结核中的诊断价值[J]. 中国防痨杂志,2017,39(10):1100-1106.
- [19] 陈子芳,胡立珍,霍丽丽,等. GeneXpert MTB/RIF 技术在肾结核诊断中的应用价值[J]. 国际医药卫生导报,2018,24(3):328-331.
- [20] 杨元利,张永峰,刘元,等. GeneXpert MTB/RIF 技术对成年人结核性脑膜炎诊断价值的研究[J]. 中国防痨杂志,2017,39(9):980-984.
- [21] 吴小慧,刘为勇,汪峰,等. 评估 GeneXpert MTB/ RIF 技术在结核性脑膜炎诊断中的价值[J]. 神经损伤与功能重建,2018,13(7):344-347.
- [22] BAHN C, MARAIS S, CAWS M, et al. GeneXpert MTB/Rif to diagnose tuberculous meningitis: perhaps the first test but not the last[J]. Clin Infect Dis,2016,62(9):1133-1135.
- [23] 陈子芳,劳海黎,李秀华,等. 全自动医用 PCR 分析系统在肺外结核诊断及利福平耐药检测中的应用价值[J]. 中华结核和呼吸杂志,2016,39(7):533-539.
- [24] 李辉,谭耀驹,李洪敏,等. 利福平耐药实时荧光定量核酸扩增检测技术的诊断效果对比研究[J]. 中国防痨杂志,2014,36(6):472-476.

(收稿日期:2019-01-16 修回日期:2019-04-15)

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2019.17.047

肝细胞癌新的治疗靶点与诊断标志物 LncRNA 的研究进展

龚 健¹,胡杰俊²综述,龚建平^{1△},张俊勇²审校

1. 重庆市忠县中医医院外科,重庆 404300;2. 重庆医科大学附属第二医院肝胆外科,重庆 400010

关键词:肝癌; LncRNA; 外泌体; 肿瘤微环境

中图法分类号:R657.3

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2019)17-2562-04

肝细胞癌(HCC)也称为恶性肿瘤,由于其复杂性,手术切除后复发、转移和异质性,是最致命的癌症之一^[1]。HCC 患者临床表现差异很大,患者可以是有症状的,也可以表现为右上腹痛、体质量减轻、阻塞性黄疸和嗜睡。由于疼痛部位的模糊而且缺乏特异性的临床症状,所以早期诊断一般都比较困难^[2]。

在实验室检查中,血清甲胎蛋白(AFP)作为 HCC 的常用标志物,但是 HCC 患者的 AFP 假阴性率约为 50%^[3]。现在最常用的 HCC 诊断标准就是 MRI 或计算机断层扫描血管造影(CTA)扫描的病灶大于 2 cm,AFP 升高超过 400 ng/mL 或在连续测量中持续升高,根据欧洲肝脏研究协会的指导原则,不需要

△ 通信作者,E-mail:gongjianping11@126.com。