

基于组学检测的结核病发病风险研究进展

周崇兴, 林定文

摘要: 结核病严重威胁着人类健康, 防控形势严峻, 研究其发病风险的检测有助于结核病的防治。我国结核感染人数众多, 绝大多数患者为潜伏结核感染(Latent Tuberculosis Infection, LTBI), 是内源性发病的库源, 5%~10%的潜伏感染者会在一生中发生结核病。对 LTBI 患者进行风险性预测和干预治疗, 防止其发展为活动性结核病在结核病防治中具有重要作用。目前尚无诊断 LTBI 的金标准, 也没有权威发布用于预测感染后发病风险的生物学预警指标。本文从转录组学、蛋白质组学和免疫组学 3 方面对 LTBI 进展到活性结核病的研究进展进行综述, 并对结核病发病风险的检测研究方向进行了展望。

关键词: 结核病; 发病风险; 转录组学; 蛋白质组学; 免疫组学

中图分类号: R378.91

文献标识码: A

文章编号: 1002-2694(2020)11-0934-06

Research progress on determining tuberculosis risk through on omics detection

ZHOU Chong-xing, LIN Ding-wen

(Guangxi Zhuang Autonomous Region Center for Disease Control and Prevention, Nanning 530028, China)

Abstract: Tuberculosis is a serious threat to human health, and its prevention and control are critical. Research on detecting tuberculosis risk can aid in its prevention. Tuberculosis infections are highly prevalent in China, and most patients have latent tuberculosis infections (LTBI), which are the source of endogenous disease. Approximately 5%–10% of people with LTBI develop tuberculosis in their lifetime. Tuberculosis risk prediction and drug intervention aid in preventing the development of LTBI into active tuberculosis and play an important role in tuberculosis control. Currently, no gold standard exists for LTBI diagnosis, nor is there an authority publishing biological warning indicators for predicting the risk of progression of LTBI to active tuberculosis. This article reviews the research progress on the development of active tuberculosis from LTBI according to three aspects: transcriptomics, proteomics, and immunomics. In addition, potential research directions for tuberculosis risk detection are described.

Keywords: tuberculosis; risk; transcriptomics; proteomics; immunomics

Supported by the National Natural Science Foundation of China(No.81760603)

Corresponding author: Lin Ding-wen, Email: drldw@163.com

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, *M.tb*)引起的感染性疾病, 严重危害人类健康^[1]。全球估计有 17 亿人感染了结核分枝杆菌, 因此面临罹患该病的危险^[2]。在感染结核分枝杆菌之后, 5%的感染者可发展为原发性结核病, 若同时伴有人类免疫缺陷病毒(HIV)感染, 这种概率可高达 10%, 而近 90%的感染者可无症状长期携带结核分枝杆菌成为潜伏结核感染者

(Latent Tuberculosis Infection, LTBI)^[3]。中国是全球结核病潜伏感染负担最重的国家之一^[4], 结核病防制形势严峻^[5]。近年, 基于统计模型的预测, 中国估计有 3.6 亿人感染结核分枝杆菌^[6]。高磊等^[7]在中国开展的目前全球最大规模的结核分枝杆菌感染的流行病学调查和队列研究表明, IGRA 阳性率为 19%(不同地区为 7%~25%)。相对于结核潜伏感染者, 现症的结核病人只是冰山一角。在短期内疫苗研发难以实现突破的前提下, 消除结核病, 除了目前的提高患者发现, 控制传染源外, 积极开展结核潜伏感染高危人群的预防性治疗是实现发病率快速下降的有效途径。研究证实, 成功的预防性化疗可

国家自然科学基金项目(No.81760603)

通讯作者: 林定文, Email: drldw@163.com;

ORCID: 0000-0002-3609-3451

作者单位: 广西壮族自治区疾病预防控制中心, 南宁 530028

以有效的减少结核潜伏感染人群发病,保护效果可以达到 60%~90%^[8],是直接降低发病率的重要手段。如不对 LTBI 进行治疗,2 年内发展到活动性结核病(Active Tuberculosis, ATB)的机会为 5%,还有 5%~10%可在感染 2 年后任何时间发病^[9]。而抗结核药物有较大副作用,对潜伏感染者实施全程药物干预的治疗依从性一直处于较低水平^[10-12],对所有 LTBI 患者进行治疗干预还不太现实。因此,从众多结核潜伏感染者中快速准确的筛查出可能发病的检测标志物,对结核病防治工作具有重要现实意义。本文从转录组学、蛋白组学和免疫组学三方面对 LTBI 进展到 ATB 的研究进展作一综述。

1 转录组学研究

转录组学是从 RNA 水平研究基因表达情况,主要是通过检测筛选出与疾病相关的特异性差异性基因表达,从而发现可用于疾病诊断或风险预测的生物标志物。近年来,随着高通量测序技术的发展,将测序应用于结核感染人群相关标志物的研究越来越多,全血中检测基因转录组的研究方法成为热点。一些研究小组结合转录组学的方法探索 LTBI 到 ATB 的进展,成功发现不少 LTBI 进展到 ATB 的生物标志物。Berry 等^[13]通过系统深入的研究,报道了一种 86 基因的 TB 标志物检测组合,它主要是中性粒细胞驱动的 1 型干扰素,通过监测血液中干扰素诱导的相关基因表达来评定活动性肺结核患者的治疗效果,发现 LTBI 和 ATB 的差异基因表达,同时验证其可靠性。Kaforou 等^[14]对 TB、LTBI 和其他疾病患者的血液转录生物标志物进行了研究,并在一项病例对照研究中鉴定出 44 个转录本标志物,其敏感性为 100%,特异性为 96%。Costa 等^[15]则发现 GZMA、GBP5 和 FCGR1A (CD64) 基因的表达谱能够将 TB 与非肺结核肺炎及哮喘区分开来,敏感性为 93%,特异性为 95%。Bloom 等^[16]发现 144 份标本转录标志物能将结核与结节病、肺炎、肺癌和健康对照组患者区分开来,其敏感性超过 80%,特异性超过 90%。Sutherland^[17]的研究在比较了 4 个不同非洲国家的患者后发现,CD64 是诊断患者是否感染结核杆菌的一个有用标志物,它与艾滋病毒感染和研究地点无关。Anderson 等^[18]评估了来自南非,肯尼亚和马拉维的疑似结核病儿童的 mRNA 转录特征,并将其与潜伏性结核病感染和其他疾病儿童的概况进行了比较,验证诊断为结核病阳性的 51 份转录本,灵敏度为 82.9%,特异性为 83.6%。Zak DE 等^[19]前瞻性观察研究南非

6 363 例 12~18 岁 LTBI 青春期队列,每 6 个月采血监测比较结核病的进展,通过对 46 例进展为 ATB 和匹配对照 107 列仍然是 LTBI 的全血 RNA 进行测序,鉴定了发展为 ATB 病人的 16 个基因标志物,用于预测从 LTBI 发展为 ATB 的敏感性为 66.1%,特异性为 80.6%;研究者又用独立的 2 个队列进行验证,随访 2 年,分别有 43 例及 30 例进展为 ATB,通过实时荧光定量 PCR 验证转录组的 16 个基因表达,12 个月时该 16 个基因的表达谱用于预测 LTBI 进展到 ATB 的灵敏度为 53.7%,特异度 82.8%^[19]。Sweeney 等^[20]发现 3 个基因(GBP5, DUSP3 和 KLF2)组合用于活动性结核的诊断,然后在 11 个数据库验证该组合在诊断结核病的效能,结果发现该基因组合在鉴别诊断结核患者和健康对照或潜伏感染的效果较好, AUC 分别为 0.9 (敏感性 85%,特异性 93%)和 0.88 (敏感性 80%,特异性 86%)。Sara Suliman 等^[21]人发现,不同地区如南非和冈比亚血液转录组基因表达具有地域特异性结核病进展标志物,进而研究适用于部分非洲地区四基因(RISK4; GAS6, SEPT4, CD1C, BLK)表达谱可以预测结核病高风险人群患病的方法,此法在南非、冈比亚和埃塞耳比亚三个非洲国家验证,结果显示队列中结核病进展的风险预测较好。随后作者将 RISK4 基因表达与 Sweeney 等^[20]发表的转录标志物 DIAG3(3 基因诊断标志物)、Maertzdorf 等^[22]发表的转录组标志物 DIAG4(4 基因诊断标志物,敏感性为 88%,特异性为 75%)和之前发表的 16 个基因标志物^[19]进行比较,这些标志物的准确性接近,差异没有统计学意义,但 DIAG3、DIAG4 和发表的 16 个基因标志物在预测性能上表现出了队列的差异性,且未在不同地区不同人群验证,这表明 RISK4 是一个更大众化更全面的预测标志物。LV L 等^[23]报道了 ATB 与 LTBI 患者血清中外泌体的 RNA 系列,鉴定出 20 个顶端差异性表达基因(DEGS)可提供 ATB 和 LTBI 的鉴别,建立了 LTBI 和 ATB 高表达的 DEGS 6 个表达类型。陈献雄等^[24]在验证所筛选的基因转录组发现 HBB 和 TNFRSF10C 在结核患者比对照组表达高,而且经抗结核治疗后有显著下降,其中 HBB 基因在诊断健康对照和结核患者, AUC 为 0.98,敏感性为 100%,特异性为 95%;在诊断潜伏感染和结核患者, AUC 为 0.985,敏感性为 100%,特异性为 95%。TNFRSF10C 基因在诊断健康对照和结核患者, AUC 为 1.00,敏感性为 100%,特异性为 100%;在诊断潜伏感染和结核患者, AUC 为 0.9775,敏感性为 95%,特异性为

100%。Jennifer R 等^[25]在英国一项队列研究中发现新型三基因转录信号(BATF2、GBP5、SCARF1)用于预测 LTBI 发展为 ATB 的效果,333 个 HIV 阴性结核病患者新队列中,平均随访 346 d 阳性预测值(PPV)为 50%(95%置信区间:15.7%~84.3%),阴性预测值(NPV)为 99.3%(97.5%~99.9%)。这些研究从转录组学的角度阐述了 LTBI 发展为 ATB 的变化过程,也筛选出部分差异表达的基因标记物,这些标记物敏感性和特异性各异,在不同人群和不同地区准确性不同,表明用于预测 LTBI 发展为 ATB 的基因标记物存在人群和地域的差异性。这些结果为将来标记物的进一步研究和临床应用提供了科学依据。

2 蛋白组学研究

蛋白组学是针对生物所能表达的所有蛋白质,是寻找疾病分子标记物有效的方法之一。结核分枝杆菌在进入机体潜伏感染并转化成为 ATB 的过程中,会引发机体内各种细胞因子及相关蛋白发生一系列的动态变化,这些变化的检测就为预测 LTBI 转化成为 ATB 的诊断提供了可能。而且蛋白组学可检测样本类型多样,有血浆、血清、尿液、单细胞、外泌体^[26]等,有利于样本点采集和普及。有研究发现在血清中 LTBI 相较于正常人白介素-2、单核趋化蛋白 2、干扰素诱导蛋白-10、干扰素-10、肿瘤坏死因子超家族成员 14、颗粒酶 B 等蛋白出现显著性差异^[27]。Young BL 等^[28]发现在尿液当中有 10 种分枝杆菌蛋白仅在明确的结核患者的尿液中发现,而有 6 种分枝杆菌蛋白仅在假定的 LTBI 患者的尿液中发现。Xu 等^[29]先对活动性肺结核患者和健康人的血清进行 iTRAQ 技术耦合双向液相色谱与串联质谱技术分析,筛选出 100 个差异蛋白,对其中载脂蛋白 C II、类 CD5 抗原、透明质酸结合蛋白 2、视黄醇结合蛋白 4、血清淀粉样蛋白 A4 和血浆酶原结合蛋白进行 Western Blot 及 Elisa 方法验证。ATB 和 LTBI 外泌体结核分枝杆菌多肽也已经被证实能检测出 20 种^[30]。ATB 相较于 LTBI 和正常对照组的粗血浆总蛋白表达谱在 11 kDa 和在 5 kDa 区域出现明显的上调^[31]。Sigal 等^[32]发现 SAA1、PCT、IL-11、IL-6、CRP、PTX-3、MMP-8 共 7 个蛋白与结核病的疾病进程有密切关系。SunH 等^[33]检测出 LTBI 和 ATB 的 31 个差异显著蛋白,Western Blot 检测其中 8 个蛋白的结果与之 100%一致,有 6 个能够被 ELISA 检验出显著性差异。Li C 等^[34]的研究发现:健康对照组和肺结核病人组的蛋白表达相

比,肺结核病人血清中有 26 种蛋白表达水平发生显著的变化。国内有研究表明 Rv0494 蛋白可能下调了结核杆菌的生理活性相关基因的表达,从而减缓了结核杆菌在压力环境下的生长速率^[35],感染者以潜伏状态存在。Yoon 等^[36]报道的一项即时临床 C 反应蛋白(CRP)试验,用于筛查 HIV 感染者中的结核病人,诊断结果经培养证实的结核病,敏感性为 89%,特异性为 72%。CRP 与其他六种蛋白质结合可在疑似患有肺结核的个体中诊断出肺结核,在 5 个非洲国家研究结果敏感性为 93.8%,特异性为 73.3%。De Groot 等^[37]通过 SOMAScan(定量生物标志物检测)技术发现了 6 种蛋白质生物特征可作为结核病的筛查工具,在来自各种结核病流行地区的 700 多个样本测试中,其敏感性为 90%,特异性为 80%。Chegou NN 等^[38]在非洲 5 个国家的流行病学研究,从 716 名参与者的血清中检测到 7 种宿主血清蛋白生物标志物,可在不同地区用于诊断结核病,不受是否感染 HIV 影响,敏感性为 93.8%,特异性为 73.3%,阳性和阴性预测值分别为 60.6%和 96.4%。这些研究为诊断区分 LTBI 和 ATB 提供了一定的理论基础。

3 免疫组学研究

免疫组学是利用组学技术研究免疫系统的全套分子库及作用的靶分子等。结核杆菌感染后,会诱发机体产生一些列复杂的免疫应答,T 细胞介导的细胞免疫应答在其感染及发病过程中发挥关键作用,T 细胞亚群比例及相关细胞因子是决定细胞免疫强弱的主要因素,了解其致病机制和宿主免疫反应之间的相互作用,有助于找到感染各阶段合适的免疫学标记物。目前公认的 LTBI 的诊断需依靠结核菌素皮试(tuberculin skin test, TST)及 γ -干扰素释放试验(interferon- γ release assay, IGRA),通过体内、体外及离体检测特异性抗原刺激后记忆 T 细胞的免疫应答,但尚无证据表明 TST 及 IGRA 可鉴定结核病从感染到发病的不同阶段和发展趋势,不能鉴别 LTBI 和 ATB,因此 TST 和 IGRA 是当前可接受但不完善的诊断方法。Diel R 等报道 TST 和 IGRA 在感染清除后检测仍可阳性,预测 LTBI 到 ATB 进展能力较差,阳性预测值分别为 1.5%和 2.7%^[39]。有研究发现活动性结核病患者体内分泌 TNF 的特异性 CD₄⁺ T 细胞有助于区分活动性结核病和潜伏结核感染^[40]。部分趋化因子及细胞因子已经被证实和结核病先天性免疫应答相关^[41]。KEGG pathway 分析结果则提示细胞因子在结核

发病起了重要的作用^[42]。La Manna MP 等^[43]研究发现外周血中单核细胞与淋巴细胞的比率是评价感染条件下免疫反应效能的重要指标,其比值增加可能与活动性结核的严重程度有关,可用于预测 ATB 的风险。Barcellini L 等^[44]评估增加刺激 CD₄⁺和 CD₈⁺T 细胞新抗原 TB2 的 QFT-Plus 检测(新型干扰素释放实验 QuantiFERON-TB Gold Plus), QFT-GIT(γ -干扰素释放试验, QuantiFERON-TB gold In-Tube)与 QFT-Plus 总符合率为 80%,CD₈⁺应答与结核杆菌暴露量增加有关,提示可鉴定近期感染。Rozot V 等^[45]发现 LTBI 和 ATB 中,特异 CD₈⁺T 细胞(主要为效应性记忆细胞)功能和表型不同,分别占 15%和 60%。Ruhwald M 等^[46]在 979 例 C-TB 皮试安全性研究中,皮试结果与 QFT 的结果符合率为 94%(785/834),硬结 ≥ 5 mm 时,ATB 阳性率为 67%。Petruccioli E 等^[47]研究检测 6 种细胞因子区分 LTBI 和 ATB,发现 Ag85A-Ab 和 IFN γ 特异性 T 细胞增高与 ATB 风险降低有关,CD27⁻IFN γ ⁺CD₄⁺T 细胞可能是结核病预测的标志物。杨永林等^[48]评价 γ 干扰素诱导蛋白 10(IP-10)可能是鉴别 ATB 和 LTBI 的有效工具,鉴别 ATB 和 LTBI 的敏感度为 80%,特异度为 90%。而 KEGG pathway 分析结果则提示细胞因子在结核发病过程中起了重要的作用^[49],IL-1, IL-2, IL-4, IL-10, IL-12, IL-17, IFN- γ , TNF- α 等细胞因子和结核密切关系已获得证实^[50]。Sen W 等^[51]分析确定了经结核抗原刺激的 IFN- γ , IP-10 和 IL-1Ra 的六细胞因子生物特征,以及未经刺激的 IP-10, VEGF 和 IL-12(p70)的生物特征,并进一步评估,结果显示灵敏度为 85.7%,特异性为 91.3%,总准确度为 88.7%,可以准确区分 ATB 和 LTBI,这种方法有望用于 ATB 的早期快速诊断检测。LTBI 宿主体内的免疫系统能够控制结核杆菌的活跃复制而不发展为结核病,但在免疫力低下时,结核杆菌能够重新复制而发展为结核病人并出现相应的临床症状。对 LTBI 宿主和结核患者体内细胞免疫反应差异深入的分析,将为区分 ATB 和 LTBI 提供可能的标志物,如研究较多的细胞因子、特异性 T 细胞等,均表现出了免疫反应的差异性。

4 LTBI 进展到 ATB 研究展望

综上所述,在研究 LTBI 进展到 ATB 的生物学标志物中,免疫组学和蛋白组学的研究较多,主要是分析组学中各种标志物的差异,但真正用于诊断区分 LTBI 和 ATB 的报道较少。免疫组学主要分析

出 IP-10 等^[52]细胞因子的生物特征,可以区分 LTBI 和 ATB,但没有得到进一步验证和推广。蛋白质组学研究仍停留在一个基础的水平,没有深入探讨差异蛋白在结核病发病机制中的作用,检测出一些差异蛋白但标本量较少,缺乏评估和验证。转录组学的研究最多,也获得了比较重要的标志物,很多标志物很有希望应用于临床(准确性 $> 80\%$),部分标志物也通过 RT-qPCR 方法进行验证^[20-22],局限性在于研究在多个地点进行,只采用了回顾性病例对照研究,均使用了案例控制设计,处于第二阶段的诊断研究,灵敏度和特异度仍有待提高。

现有的研究和进展有一定的局限性,但也为今后更多更加深入的生物标志物研究提供了方向和理论基础。结核杆菌致病机制与宿主免疫反应之间的相互作用关系较为复杂,更好地理解潜伏性结核感染的发病机制是未来重要的研究内容,这些研究有助于发现免疫生物标志物,进而提升发病预测能力。一些免疫因子的变化情况与机体自身免疫状况乃至地域性差异有一定联系,针对多种免疫因子的复合诊断方法或许成为今后研究的方向。蛋白质组学中结核杆菌对人体宿主的致病机制取决于蛋白质或蛋白质-核酸的相互作用,了解差异蛋白质在结核病病程中的变化,有助于探讨机体的病理变化和活动性结核病的发病机制,多种目标蛋白标志物组合建立诊断方法已成为发展趋势。转录组学是基于结核杆菌感染后引起机体的基因表达发生一系列变化,上调或下降,高通量测序技术可以准确的分析基因表达差异,为结核病特异性发病机制提供潜在思路。现有研究发现的差异基因比较多,不同国家不同地区的标志物在性能上表现出了队列差异,联合筛选出适合本地区的基因标志物,采用前瞻性、大样本量的研究方法,并通过整合分析和分子生物学验证其可靠性,建立 LTBI 发展为 ATB 的诊断模型是转录组学的研究方向。

5 结 语

世界卫生组织提出的 2035 年终止全球结核病的流行总目标,我国在结核病防治中还面临着诸多挑战,而筛选出比较明确的生物学标志物用于预测 LTBI 转化成为 ATB,将能从源头精准进行预防性服药,大幅抑制结核病的发展,也将是践行“预防为主”,向终止结核病的流行总目标迈出重要一步。阻断 LTBI 发展为 ATB 是结核病防治努力的方向,我们期待能尽早的研究发现鉴定 LTBI 发展为 ATB 的生物学标志物,并应用于实际的结核病防控工作

中。目前结核病发病风险预测的研究还处在初级阶段,转录组学领域有一定的成果,别的几个领域暂时没有显著的成果报道。而如何提高发病风险生物学标记物的灵敏度和特异度,是今后研究需要改善的地方。

鉴于不同人群不同地区,生物学标志物可能不一样,单一的组学或技术有其局限性。可以考虑多个组学组合的方式进行研究,组学与其他学科交叉应用,多种技术方法整合互补,通过海量数据的统计学和相关性分析,筛选和验证最适合本地区的生物学预警标记物,并且将检测方法优化,寻找出一种更为简便、易于操作和经济的实验方法,从而在临床应用中推广和普及。

利益冲突:无

引用本文格式:周崇兴,林定文.基于组学检测的结核病发病风险研究进展[J].中国人兽共患病学报,2020,36(11):934-939. DOI:10.3969/j.issn.1002-2694.2020.00.153

参考文献:

- [1] 李相威,金奇,高磊.我国结核分枝杆菌潜伏感染流行现状[J].新发传染病电子杂志,2017,2(3):146-150. DOI:10.3877/j.issn.2096-2738.2017.03.006
- [2] World Health Organization.Global tuberculosis report 2019[R]. WHO Report, 2019. https://www.who.int/tb/publications/global_report/en/2019.12.17.
- [3] Tufariello J, Chan J, Flynn J, et al. Latent tuberculosis: mechanisms of host and bacillus that contribute to persistent infection [J]. *Lancet Infect Dis*, 2003, 3(9): 578-590. DOI: 10.1016/S1473-3099(03)00741-2
- [4] Houben RM, Dodd PJ. The Global Burden of Latent Tuberculosis Infection: A Re-estimation Using Mathematical Modelling [J]. *PLoS Medicine*, 2016, 13(10): e1002152. DOI: 10.1371/journal.pmed.1002152
- [5] 林飏,成君.加强结核病实施性研究促进“终止结核病”目标实现[J].中国防痨杂志,2017,39(5):433-434. DOI:10.3969/j.issn.1000-6621.2017.05.001
- [6] 赵飞,杜昕,李涛,等.基于世界卫生组织公共数据库的中国结核病流行趋势与预测[J].临床药物治疗杂志,2018,16(4):1-3. DOI:10.3969/j.issn.1672-3384.2018.04.001
- [7] Gao L, Lu W, Bai L, et al. Latent tuberculosis infection in rural China: baseline results of a population-based, multicentre, prospective cohort study [J]. *Lancet Infect Dis*, 2015, 15(3): 310-319. DOI: 10.1016/S1473-3099(14)71085-0
- [8] 辛赫男,高磊.中国农村结核潜伏感染人群五年发病特征及相关影响因素[J].中国防痨杂志,2019,41(8):892-892. DOI:10.3969/j.issn.1000-6621.2019.08.016
- [9] Koul A, Arnoult E, Lounis N, et al. The challenge of new drug discovery for tuberculosis [J]. *Nature*, 2011, 469(7331): 483-490. DOI: 10.1038/nature09657
- [10] Hirsch-Moverman Y, Daftary A, Franks J, et al. Adherence to treatment for latent tuberculosis infection: systematic review of studies in the US and Canada [J]. *Int J Tuberculosis Lung Dis*, 2008, 12(11): 1235-1254. DOI: 10.1021/cr0200791
- [11] 齐怡,杨连军,王雪梅,等.校园结核潜伏感染者预防性治疗管理方式的研究[J].结核病与肺部健康杂志,2015,4(1):18-22. DOI:10.3969/j.issn.2095-3755.2015.01.004
- [12] 刘二勇,周林,成诗明.结核分枝杆菌潜伏性感染及预防性治疗研究进展的系统评价[J].中国防痨杂志,2013,35(4):231-239.
- [13] Berry MP, Graham CM, McNab FW, et al. An interferon-inducible neutrophil-driven blood transcriptional signature in human tuberculosis [J]. *Nature*, 2010, 466(739): 973-977. DOI: 10.1542/peds.2011-2107LLLL
- [14] Kaforou M, Wright VJ, Oni T, et al. Detection of tuberculosis in HIV-infected and uninfected african adults using whole blood RNA expression signatures: a case-control study [J]. *PLoS Medicine*, 2013, 10(10): e1001538. DOI: 10.1371/journal.pmed.1001538
- [15] Laux da Costa L, Delcroix M, Dalla Costa, et al. A real-time PCR signature to discriminate between tuberculosis and other pulmonary diseases [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2015, 95(4): 421-425. DOI: 10.1016/j.tube.2015.04.008
- [16] Bloom CI, Graham CM, Berry MP, et al. Transcriptional blood-signatures distinguish pulmonary tuberculosis, pulmonary sarcoidosis, pneumonias and lung cancers [J]. *PLoS One*, 2013, 8(8): e70630. DOI: 10.1371/journal.pone.0070630
- [17] Sutherland JS, Loxton AG, Haks MC, et al. Differential gene expression of activating Fcγ receptor classifies active tuberculosis regardless of human immunodeficiency virus status or ethnicity [J]. *Clin Microbiol Infect*, 2014, 20(4): 0230-0238. DOI: 10.1111/1469-0691.12383
- [18] Anderson ST, Kaforou M, Brent AJ, et al. Diagnosis of childhood tuberculosis and host RNA expression in Africa [J]. *The New Eng J Med*, 2014, 370(18): 1712-1723. DOI: 10.1056/NEJMoA1303657
- [19] Zak DE, Penn-Nicholson A, Scriba TJ, et al. A blood RNA signature for tuberculosis disease risk: a prospective cohort study [J]. *Lancet*, 2016, 387(135): 2312-2322. DOI: 10.1016/S0140-6736(15)01316-1
- [20] Sweeney TE, Braviak L, Tato CM. Genome-wide expression for diagnosis of pulmonary tuberculosis: a multicohort analysis [J]. *Lancet Respir Med*, 2016, 4(3): 213-224. DOI: 10.1016/S2213-2600(16)00048-5
- [21] Suliman S, Thompson EG, Sutherland J, et al. Four-gene pan-African blood signature predicts progression to tuberculosis [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2018, 197(9): 1198-1208. DOI: 10.1164/rccm.201711-2340OC
- [22] Maertzdorf J, McEwen G, Weiner I J, et al. Concise gene signature for point-of-care classification of tuberculosis [J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(2): 86-95. DOI: 10.15252/emmm.201505790
- [23] Lv L, Li C, Zhang X, et al. RNA Profiling Analysis of the Serum Exosomes Derived from Patients with Active and Latent Mycobacterium tuberculosis Infection [J]. *Front Microbiol*, 2017, 8(6): e01051-10. DOI: 10.3389/fmicb.2017.01051
- [24] 陈献雄,杨倩婷,邱振刚,等.基于全基因转录组的结核诊断标识研究[J].中国科学:生命科学,2018,48(1):56-64. DOI: 10.1360/N052017-00225

- [25] Jennifer R, Cristina V, Rishi K, et al. Blood transcriptomic stratification of short-term risk in contacts of tuberculosis[J]. Clin Infect Dis, 2020, 70(5): 731-737. DOI:10.1093/cid/ciz252
- [26] Esterhuysen M, Weiner J, Caron E, et al. Epigenetics and proteomics join transcriptomics in the quest for tuberculosis biomarkers[J]. MBio, 2015, 6(5): e01187-15. DOI: 10.1128/mBio.01187-15
- [27] Groote MAD, Higgins M, Hraha T, et al. Highly multiplexed proteomic analysis of quantiferon supernatants to identify biomarkers of latent tuberculosis infection[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(2): 391-402. DOI:10.1128/JCM.01646-16
- [28] Young BL, Mlamla Z, Gqamana PP, et al. The identification of tuberculosis biomarkers in human urine samples[J]. Eur Respir J, 2014, 43(6): 1719-1729. DOI:10.1183/09031936.00175113
- [29] Xu D, Li Y, Li X, et al. Serum protein S100A9, SOD3, and MMP9 as new diagnostic biomarkers for pulmonary tuberculosis by iTRAQ-coupled two-dimensional LC-MS/MS[J]. Proteomics, 2015, 15(1): 58-67. DOI:10.1002/pmic.201400366
- [30] Koomen JM, Kruh-Garcia NA, Wolfe LM, et al. Detection of Mycobacterium tuberculosis Peptides in the Exosomes of Patients with Active and Latent *M. tuberculosis* Infection Using MRM-MS[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e103811. DOI:10.1371/journal.pone.0103811
- [31] Sandhu G, Battaglia F Ely BK, Athanasakis D, et al. Discriminating active from latent tuberculosis in patients presenting to community clinics[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e38080. DOI:10.1371/journal.pone.0038080
- [32] Sigal GB, Segal MR, Mathew A, et al. Biomarkers of Tuberculosis severity and treatment effect: a directed screen of 70 host markers in a randomized clinical trial[J]. EBio Med, 2017, 25(11): 112-121. DOI:10.1016/j.ebiom.2017.10.018
- [33] Sun H, Pan L, Jia H, et al. Label-free quantitative proteomics identifies novel plasma biomarkers for distinguishing pulmonary tuberculosis and latent infection[J]. Front Microbiol, 2018, 9(6): e1267. DOI:10.3389/fmicb.2018.01267
- [34] Li C, He X, Li H, et al. Discovery and verification of serum differential expression proteins for pulmonary tuberculosis[J]. Tuberculosis (Edinb), 2015, 95(5): 547-554. DOI: 10.1016/j.tube.2015.06.001
- [35] 向小洪. 结核分枝杆菌 GntR/FadR 家族转录调控因子 Rv0494 蛋白的功能研究[D]. 重庆: 西南大学, 2015: 1-66. http://med.wanfangdata.com.cn/Paper/Detail/DegreePaper_Y2812186
- [36] Yoon C, Semitala FC, Atuhumuza E, et al. Point-of-care C-reactive protein-based tuberculosis screening for people living with HIV: a diagnostic accuracy study[J]. Lancet Infect Dis, 2017, 7(8): 1285-1292. DOI:10.1016/S1473-3099(17)30488-7
- [37] De Groote MA, Sterling DG, Hraha T, et al. Discovery and validation of a six-marker serum protein signature for the diagnosis of active pulmonary tuberculosis[J]. J Clin Microbiol, 2017, 55(10): 3057-3071. DOI:10.1128/jcm.00467-17
- [38] Chegou NN, Sutherland JS, Malherbe S, et al. Diagnostic performance of a seven-marker serum protein biosignature for the diagnosis of active TB disease in African primary healthcare attendees with signs and symptoms suggestive of TB[J]. Thorax, 2016, 71(9): 785-794. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2015-207999
- [39] Cobelens F, Kik S, Esmail H, et al. From latent to patent: rethinking prediction of tuberculosis[J]. Lancet Respir Med, 2017, 5(4): 243-244. DOI:10.1016/S2213-2600(16)30419-2
- [40] Harari A, Rozot V, Enders FB, et al. Dominant TNF- α Mycobacterium tuberculosis specific CD4⁺ T cell responses discriminate between latent infection and active disease[J]. Nat Med, 2011, 17(3): 372-376. DOI:10.1038/nm.2299
- [41] Dorhoi A, Kaufmann SHE. Perspectives on host adaptation in response to *Mycobacterium tuberculosis*: modulation of inflammation[J]. Semin Immunol, 2014, 26(6): 533-542. DOI: 10.1016/j.smim.2014.10.002
- [42] Mayer-Barber KD, Sher A. Cytokine and lipid mediator networks in tuberculosis[J]. Immunol Rev, 2015, 264(1): 264-275. DOI:10.1111/imr.12249
- [43] La Manna MP, Orlando V, Dieli F, et al. Quantitative and qualitative profiles of circulating monocytes may help identifying tuberculosis infection and disease stages[J]. PLoS One, 2017, 12(2): e0171358. DOI:10.1371/journal.pone.0171358
- [44] Barcellini L, Borroni E, Brown J, et al. First evaluation of QuantiFERON-TB Gold Plus performance in contact screening[J]. Eur Resp J, 2016, 48(5): 1411-1419. DOI:10.1183/13993003.00510-2016
- [45] Rozot V, Vigano S, Mazza-Stalder J, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8⁺ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease[J]. Eur J Immunol, 2013, 43(6): 1568-1577. DOI: 10.1002/eji.201243262
- [46] Ruhwald M, Aggerbeck H, Rafael Vázquez, et al. Safety and efficacy of the C-Tb skin test to diagnose *Mycobacterium tuberculosis* infection, compared with an interferon γ release assay and the tuberculin skin test: a phase 3, double-blind, randomised, controlled trial[J]. Lancet Resp Med, 2017, 5(4): 259-268. DOI:10.1016/S2213-2600(16)30436-2
- [47] Petruccioli E, Scriba TJ, Petrone L, et al. Correlates of tuberculosis risk: predictive biomarkers for progression to active tuberculosis[J]. Eur Resp J, 2016, 48(6): 1751-1763. DOI:10.1183/13993003.01012-2016
- [48] 杨永林, 杨爱玲, 马强. γ 干扰素诱导蛋白 10 对活动性结核和潜伏性结核感染的鉴别诊断价值的系统评价和 meta 分析[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(23): 2832-2840. DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.23.004
- [49] Mayer-Barber KD, Sher A. Cytokine and lipid mediator networks in tuberculosis[J]. Immunol Rev, 2015, 264(1): 264-275. DOI:10.1111/imr.12249
- [50] Chandrashekar S, Anupama KR, Sambarey A, et al. High IL-6 and low IL-15 levels mark the presence of TB infection: a preliminary study[J]. Cytokine, 2016, 81(5): 57-62. DOI:10.1016/j.cyto.2016.02.003
- [51] Sen W, Yang L, Yaojie S, et al. Screening and identification of a six-cytokine biosignature for detecting TB infection and discriminating active from latent TB[J]. J Translational Med, 2018, 16(1): 206. DOI:10.1186/s12967-018-1572-x