

## 《疾病监测》审稿意见与作者答复

题目：结核分枝杆菌抗原 Rv2654c、Rv1985c 和 Rv3868 的克隆表达及血清诊断学评价

作者：夏远志，王雪枝，刘海灿，李马超，赵秀芹，楼永良，吕建新，万康林

---

### 审稿专家意见与答复

---

审稿专家 1 意见：

基于理论的研究和实践的结果，WHO 在 2011 年公布的一项政策建议中指出，使用目前市面上/商业性血液（血清学）检测手段诊断活动性结核病，常常导致误诊和不当治疗，进而损害公众健康。可见采用结核抗原蛋白检测宿主的抗体的方法是行不通的。

支持该课题的理论体系是行不通的，建议退稿。

---

审稿专家 2 意见：

本文目的明确，结构清晰，书写规范，建议采用。

---

审稿专家 3 意见：

论文《结核分枝杆菌抗原 Rv2654c、Rv1985c 和 Rv3868 的克隆表达及血清学评价》，其中 Rv1985c 已经有相关的研究，其它两种抗原还未有相关的研究，可见文章确实有一定的创新性。

但是文章也有以下的问题：

Rv3868 被推测是 ESAT-6 分泌系统的保守蛋白，对于 ESAT-6 系统行使其完整的功能是必不可少的，其做血清学研究的意义不是很明确，或者说没有进一步说明其重要性。

另外，论文的参考文献格式不统一。

总的来看，文章提供的数据还是可信的。

---

建议修改后接收。

---

编辑部汇总意见及作者说明：

尊敬的《疾病监测》编辑部，根据审稿提出的修改意见，我们经过认真讨论，对修改问题做出如下回答：

1、基于理论的研究和实践的结果，WHO 在 2011 年公布的一项政策建议中指出，使用目前市面上/商业性血液（血清学）检测手段诊断活动性结核病，常常导致误诊和不当治疗，进而损害公众健康。可见采用结核抗原蛋白检测宿主的抗体的方法是行不通的。支持该课题的理论体系是行不通的，请说明。

答：这个专家可能没有仔细阅读相关文献，因此观点是错误的。

在所有传染病的感染免疫中，抗原抗体反应都是特异的，在传染病的诊断中具有非常重要的作用。由于市面上的一些商品试剂盒的确存在着诊断效能低、特异性差的现象，WHO 在 2011 年公布的一项政策建议是基于当时的一项 META 分析研究结果提出，不建议血清学检测用于活动性肺结核的辅助诊断。造成这一现象的主要原因是研究者对结核分枝杆菌的抗原及其免疫学研究不够全面。

目前的研究显示结核分枝杆菌含有 4000 多种蛋白，机体的免疫反应中，不同个体以及同一个体的不同感染阶段对不同抗原的反应存在较大差异，加上卡介苗的接种、结核分枝杆菌感染率高、以及非结核分枝杆菌感染等因素，在没有充分研究有效、特异的抗原，特别是多组分抗原组合的情况下，其诊断的灵敏度和特异度肯定不会理想。但抗原抗体检测方法和免疫学理论体系是绝对不用质疑的，绝对不能说“采用结核抗原蛋白检测宿主的抗体的方法是行不通的，支持该课题的理论体系是行不通的”。

另一方面，血清学诊断方法由于其快速、廉价的优点，更适用于作为一种辅助诊断的方法和大批量人群的传染病筛查<sup>[1]</sup>。并且随着对结核分枝杆菌特异性抗原研究的深入，越来越多的抗原表现出作为血清诊断抗原的潜力，结核病的血

清学诊断方法也在不断向前发展着。随着多抗原联合诊断的应用，以及抗原检测范围的扩展，血清学检测的灵敏度会逐渐上升，为早期、快速诊断结核病提供参考，因此，血清学诊断方法对于辅助诊断结核病仍有很大的意义。

本论文就是给予这种研究现状开展的“结核分枝杆菌抗原 Rv2654c、Rv1985c 和 Rv3868 的克隆表达及血清诊断学初步评价”。

- 2、Rv3868 被推测是 ESAT-6 分泌系统的保守蛋白，对于 ESAT-6 系统行使其完整的功能是必不可少的，其做血清学研究的意义不是很明确，或者说没有进一步说明其重要性。

答：Rv3868 基因所编码的蛋白即 eccA1，eccA1 属于 ESX-1 分泌系统蛋白，编码该分泌系统的基因位于 BCG 菌株缺失的 RD1 区上。众所周知，致病性分枝杆菌主要通过 ESX-1 蛋白分泌系统输出致病因子，并通过富含脂类的细胞壁保护其免受宿主的免疫系统攻击。关于 eccA1 蛋白结构和功能的研究已有报道<sup>[2-4]</sup>，多数研究者认为它对于 ESX-1 系统分泌多种蛋白具有重要的调节作用，同时它对结核分枝杆菌正确合成分枝杆菌酸、构成完整细胞壁也是必不可少的。

本研究基于 eccA1 蛋白的重要性，通过表位预测得到 eccA1 分别含有 12 个 T 表位和 16 个 B 表位，并通过 ELISA 方法检测血清 IgG，单一抗原的诊断灵敏度和特异度分别达到 53.68%和 89.47%，经本研究验证其在血清诊断学中的具有较好的应用价值。根据专家意见，在论文相关部分进行了修改。

- 3、论文的参考文献格式不统一。

答：已修改。

- [1] Juraj I. Serodiagnosis of tuberculosis: Due to shift track [J]. Tuberculosis, 2011, 92(1): 31-7.
- [2] Wagner JM, Evans TJ, Korotkov KV. Crystal structure of the N-terminal domain of EccA1 ATPase from the ESX-1 secretion system of Mycobacterium tuberculosis [J]. Proteins Structure Function & Bioinformatics, 2014, 82(1): 159&ndash;63.
- [3] Luthra A, Gaur A, Ramachandran R. Rv3868 (EccA1), an essential component of the Mycobacterium tuberculosis ESX-1 secretion system, is thermostable [J]. Biochimica et

Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics, 2013, 1834(6): 1181-6.

- [4] Amit L, Anjum M, Ashish A, et al. Characterization of Rv3868, an essential hypothetical protein of the ESX-1 secretion system in Mycobacterium tuberculosis [J]. Journal of Biological Chemistry, 2008, 283(52): 36532-41.

---

第七次专家定稿会意见与答复

---

定稿会专家意见：

我看了作者对文章的阐述。

1、目前尽管对结核病免疫的研究主要集中在细胞免疫的领域，结核病体液免疫的研究相对很少。但在结核病的整个发生和发展过程中，B 细胞确实扮演者决定性的作用。

2、面对非主流的研究，作者采用严谨的课题设计，发现了三个基因 RV2654C RV1985C 和 RV3868 的蛋白能够与机体的对应抗体产生反应，并有一定的免疫诊断的应用价值。

3、在结核病目前诊断手段匮乏，尤其是免疫诊断方法的敏感性和特异性都有待提高的前提下，本课题有其实际应用价值。

故修改后给予发表。