

肺结核患者血清白细胞介素-12水平检测及临床意义

奚莹^{1,2}, 王莉¹

(1 中国医科大学附属第一医院呼吸疾病研究所, 辽宁 沈阳 110001; 2 沈阳市胸科医院, 辽宁 沈阳 110044)

[摘要] 目的 了解白细胞介素(IL)-12在肺结核病中的临床意义。方法 对80例抗结核治疗前肺结核患者血清IL-12,采用酶联免疫法进行检测,并与30例健康志愿者(健康对照组)、20例有效抗结核治疗随访6个月后的患者进行对比,同时依据临床常用结核检测指标分组研究IL-12的临床意义。结果 80例肺结核患者血清IL-12均值为(41.49±34.22)pg/mL,显著低于健康对照组(58.12±44.92)pg/mL,差异有统计学意义($t=2.51, P<0.05$)。20例随访肺结核患者经6个月有效抗结核治疗后,血清IL-12水平由治疗前的(12.93±12.48)pg/mL上升为(66.26±20.97)pg/mL,差异有统计学意义($t=-6.88, P<0.05$)。20例随访肺结核患者经6个月有效抗结核治疗后,血清IL-12水平与健康对照组比较,差异无统计学意义($t=-0.60, P>0.05$)。肺结核患者血清IL-12水平在不同分组中:单纯肺结核/肺结核合并结核性胸膜炎组、空洞组/非空洞组、肺CT病变累及<3叶组/≥3叶组、痰结核菌阳性组/阴性组、结核试验阳性组/阴性组、血沉升高组/正常组、PPD强阳性组/非强阳性组,差异均无统计学意义(均 $P>0.05$)。结论 IL-12与肺结核活动性密切相关,其水平可作为临床工作中了解患者免疫状态,判断肺结核活动性和病情转归的临床参考指标。

[关键词] 肺结核;白细胞介素-12;结核分枝杆菌;细胞免疫;体液免疫

[中图分类号] R521 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2012)02-0109-04

Detection and clinical significance of serum interleukin-12 levels in pulmonary tuberculosis patients

XI Ying^{1,2}, WANG Li¹ (1 Institute of Respiratory Diseases, the First Affiliated Hospital of China Medical University, Shenyang 110001, China; 2 China Shenyang Chest Hospital, Shenyang 110044, China)

[Abstract] **Objective** To understand the clinical significance of interleukin-12(IL-12) in pulmonary tuberculosis (TB). **Methods** Serum IL-12 in 80 TB patients before receiving anti-TB treatment were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and were compared with 30 healthy volunteers (healthy control) and 20 patients with 6-month follow-up after effective anti-TB treatment, significance of IL-12 was studied in patients who were subdivided into several groups according to common clinical indicators of TB. **Results** The average serum IL-12 level in 80 pulmonary TB patients was (41.49±34.22)pg/mL, which was significantly lower than (58.12±44.92)pg/mL in healthy control group($t=2.51, P<0.05$). Serum IL-12 level in 20 followed-up patients increased from (12.93±12.48)pg/mL before treatment to (66.26±20.97)pg/mL after treatment ($t=-6.88, P<0.05$). There was no significant difference in serum IL-12 level between 20 followed-up patients and healthy control group($t=-0.60, P>0.05$). There was no statistical difference in serum IL-12 level between the following groups respectively: simple pulmonary TB/pulmonary TB associated with tuberculous pleurisy, pulmonary cavity/non-pulmonary cavity, lung lesions showed by CT <3 lobes/≥3 lobes, sputum TB positive/negative, tuberculin test positive/negative, elevated erythrocyte sedimentation rate (ESR)/ normal ESR, PPD strongly positive/ non-strongly positive (all $P>0.05$). **Conclusion** IL-12 level is closely related with activity in pulmonary TB, it can reflect the immune state in patients, and judge activity and prognosis of pulmonary TB.

[收稿日期] 2011-08-28

[作者简介] 奚莹(1978-),女(汉族),辽宁省沈阳市人,主治医师,主要从事结核病临床研究。

[通讯作者] 王莉 E-mail:wanglizsb@hotmail.com

[Key words] pulmonary tuberculosis; interleukin-12; *Mycobacterium tuberculosis*; cellular immunity; humoral immunity

[Chin Infect Control, 2012, 11(2): 109-111, 133]

20 世纪 80 年代以来,结核病发病率呈回升趋势。结核病的发生、发展及转归不仅取决于细菌的毒力和数量,在很大程度上取决于机体的免疫状态^[1]。结核病的发生、发展与体内细胞因子及 Th1/Th2 应答失衡密切相关,诸多细胞因子在结核病的保护性免疫反应中起关键作用。白细胞介素(interleukin, IL)-12 具有多种免疫学活性,是一个有效的增强宿主抵御结核分枝杆菌感染的免疫调节细胞因子。笔者对 80 例肺结核患者血清 IL-12 水平进行了检测与分析,以探讨 IL-12 在肺结核病中的临床意义,现报告如下。

1 对象与方法

1.1 研究对象 (1)病例组:沈阳市胸科医院 2010 年 11 月—2011 年 3 月间 80 例肺结核住院患者,剔除了合并其他肺部疾病及(或)心、肝、肾等慢性疾病者,其中男性 52 例,女性 28 例;年龄 17~81 岁,平均年龄 37.48 岁;单纯肺结核 60 例,肺结核合并结核性胸膜炎 20 例。确诊病例:痰结核菌阳性;临床诊断病例:痰查结核菌阴性,但高度怀疑肺结核,经诊断性抗结核治疗有效,并随访 2~6 个月,排除其他肺部疾病。(2)健康对照组:30 例健康志愿者(沈阳市胸科医院门诊健康体检者),男性 18 例,女性 12 例;年龄 23~62 岁,平均年龄 37.14 岁。

1.2 资料收集与整理 根据患者胸部 CT 及实验室检查结果分组:(1)单纯肺结核组/肺结核合并结核性胸膜炎组;(2)空洞组/非空洞组;(3)病变范围累及<3 叶组/≥3 叶组;(4)痰结核菌阳性组/阴性组(采用痰浮游集菌法查抗酸杆菌);(5)结核抗体试验阳性组/阴性组(采用胶体金法检测血结核抗体);(6)血沉升高组/正常组(正常血沉值:男性≤15

mm/h,女性≤20 mm/h);(7)PPD 强阳性组/非强阳性组(以硬结大小作为判断反应的标准,阴性:注射部位无硬结或硬结平均直径<5 mm;阳性:硬结平均直径≥5 mm,其中 5~9 mm 为一般阳性,10~19 mm 为中度阳性,≥20 mm 为强阳性,如果直径<20 mm,但有水泡、坏死、双圈、淋巴管炎等均为强阳性)。

1.3 研究方法 标本的采集和保存:80 例肺结核患者均在抗结核治疗前采血,其中 20 例随访患者(随访组)经 6 个月有效抗结核治疗后再次采血复查。30 例健康志愿者均在检查确定健康后经其同意采血。抽取所有入选者清晨空腹静脉血 4 mL,静置 30 min 后放离心机中,1 000 r/min 离心 15 min,分离血清,置-30℃冰箱中冻存待测。采用酶联免疫法检测 IL-12 血清水平。IL-12 酶联免疫试剂盒购自北京爱迪博生物科技公司,产品号为 SK00295-02;按照试剂盒说明书操作,测定 OD 值,绘制标准曲线求出标本中 IL-12 值。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析。计量数据均以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。随访病例治疗前后血清 IL-12 水平比较,采用配对样本 *t* 检验;余各组比较均采用独立样本 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组别血清 IL-12 水平比较 见表 1。病例组患者血清 IL-12 水平较健康对照组明显偏低,差异有统计学意义(*P*<0.05);随访组患者经 6 个月有效抗结核治疗后,血清 IL-12 水平较治疗前明显升高,差异有统计学意义(*P*<0.05),但与健康对照组差异无统计学意义(*P*>0.05)。

表 1 不同组别血清 IL-12 水平比较
Table 1 Serum IL-12 level in different groups

Group	No. of cases	IL-12($\bar{x} \pm s$, pg/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>
①Healthy control group	30	58.12 ± 44.92	2.51	<0.05
Pulmonary TB group	80	41.49 ± 34.22		
②Follow-up group before treatment	20	12.93 ± 12.48	-6.88	<0.05
Follow-up group after treatment	20	66.26 ± 20.97		
③Healthy control group	30	58.12 ± 44.92	-0.60	>0.05
Follow-up group after treatment	20	66.26 ± 20.97		

2.2 肺结核患者血清 IL-12 水平与胸部 CT 不同病变及常规结核病实验室检查的关系 见表 2。肺

结核患者血清 IL-12 水平在不同分组中(分组方法见 1.2)差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

表 2 肺结核患者血清 IL-12 水平与胸部 CT 不同病变及常规结核病实验室检查的关系

Table 2 Relation between serum IL-12 level and chest CT lesion and routine laboratory test results

Group	No. of cases	IL-12($\bar{x} \pm s$, pg/mL)	<i>t</i>	<i>P</i>
① Simple pulmonary TB	60	45.10 ± 29.07		
Pulmonary TB associated with tuberculous pleurisy	20	48.38 ± 25.19	1.81	>0.05
② pulmonary cavity	39	44.12 ± 31.22		
non-pulmonary cavity	41	38.96 ± 37.30	-0.63	>0.05
③ Lung lesions involving <3 lobes	45	29.19 ± 28.35		
Lung lesions involving ≥ 3 lobes	35	48.68 ± 37.77	-0.88	>0.05
④ Sputum TB positive	29	23.88 ± 21.64		
Sputum TB negative	51	48.18 ± 39.71	-1.59	>0.05
⑤ Tuberculin test positive	36	44.97 ± 36.02		
Tuberculin test negative	44	39.03 ± 32.81	0.33	>0.05
⑥ Elevated ESR	54	42.48 ± 37.66		
Normal ESR	26	38.35 ± 25.38	1.15	>0.05
⑦ PPD strongly positive	24	42.92 ± 42.12		
PPD non-strongly positive	56	41.07 ± 30.61	1.17	>0.05

3 讨论

结核菌感染机体后,引起一系列复杂的细胞免疫和体液免疫反应,多种细胞参与了机体与结核菌间的相互作用,同时激发 γ -干扰素(interferon gamma, IFN- γ)、IL-12、肿瘤坏死因子等多种细胞因子的分泌和释放,形成一个复杂的免疫反应网络。结核病涉及多种类型细胞因子,其中 Th1 型细胞因子包括 IFN- γ 、IL-12 等,主要参与细胞免疫,与结核的保护性免疫反应密切相关;Th2 型细胞因子包括 IL-4、IL-5、IL-10 等,主要参与体液免疫,并拮抗 Th1 型反应。结核病免疫学特征总而言之是细胞免疫功能低下,体液免疫功能增强,Th1/Th2 细胞免疫应答失衡^[2]。结核病表现为以 Th1 细胞优势的细胞免疫抑制,Th1 细胞的抑制程度与疾病严重程度相关。

IL-12 是由二硫键连接的 IL-12p35 和 IL-12p40 亚基组成的分子量为 75 000 的异二聚体单核细胞因子(IL-12p70);结核菌感染机体后产生 IL-12 的细胞主要是单核巨噬细胞^[3]。IL-12 是 Th1 细胞分化的必需因子,对于 Th0 细胞向 Th1 细胞分化起重要作用。IL-12 主要通过与其受体 IL-12R 连接,促进 T 细胞、自然杀伤细胞的活化和增殖,增强其介导的溶细胞反应,并能促使两者分泌 IFN- γ 。IFN- γ 在结核分枝杆菌感染的巨噬细胞部位出现是杀死胞内菌的必要条件,IFN- γ 的主要功能是活化

巨噬细胞,从而上调机体细胞免疫应答。而引起 T 细胞产生 IFN- γ 的最有力的刺激因素是 IL-12。IL-12 也可激活巨噬细胞的杀菌能力并增强细胞免疫功能^[4]。IL-12 还可通过诱导 IFN- γ 的分泌,抑制 IL-4 的分泌来调节结核病患者 Th1/Th2 比值,有效增强机体抵御结核分枝杆菌感染的细胞免疫功能^[5]。

本研究显示,肺结核患者抗结核治疗前血清中 IL-12 水平显著低于健康对照组,经 6 个月有效强化抗结核治疗后,血清 IL-12 水平上升至健康对照组水平,这与杜娟等^[6]研究结果相同。这证明了肺结核患者感染结核菌时因细胞免疫功能低下,不能形成有效免疫反应清除结核菌而发病,而经有效抗结核治疗后,患者细胞免疫功能逐渐恢复至正常。由此可推测,IL-12 与肺结核的活动性密切相关,可作为判断肺结核活动性的临床参考指标。

本研究还显示,在如下分组中:单纯肺结核/肺结核合并结核性胸膜炎组、空洞组/非空洞组、肺 CT 病变累及 <3 叶组/≥3 叶组、痰结核菌阳性组/阴性组、结核试验阳性组/阴性组、血沉升高组/正常组、PPD 强阳性组/非强阳性组,肺结核患者血清 IL-12 水平差异均无统计学意义。由此推测,血清 IL-12 水平与病情严重程度无明显相关性,但这与“Th1 细胞的抑制程度与疾病严重程度相关”不符,分析其原因可能为结核菌感染机体后涉及多种类型细胞和细胞因子,其间相互关系及影响十分复杂,

耐药测定系统的结果完全符合。15 株非敏感葡萄球菌中,纸片扩散法和 E-test 法分别将 8 株和 6 株测定为敏感,Phoenix 系统则将 4 株测定为敏感,MicroScan 和 VITEK 2 耐药测定系统效果较好,只将 1 株测定为敏感。因此,在测定利奈唑胺的耐药性时,最好采用肉汤稀释法。

本院 2010 年产 ESBLs 的大肠埃希菌和肺炎克雷伯菌对所测试的大部分抗生素的耐药率均高于非产 ESBLs 菌株。肠杆菌科细菌对 β -内酰胺类抗生素的耐药性主要由 ESBLs 和 AmpC 酶引起;哌拉西林/他唑巴坦和阿米卡星对其有良好的抗菌活性。上述菌株大多携带包括 TEM 型、SHV 型酶等 ESBLs、AmpC、KPC 及碳青霉烯酶;此外,还可同时携带外膜蛋白缺失、*qnr* 或 *aac(6')-Ib-cr* 等基因,因而成为多重耐药或泛耐药菌^[7-8]。非发酵 G⁻ 菌(如鲍曼不动杆菌和铜绿假单胞菌等)是医院感染的常见病原菌。本院分离的不动杆菌属占非发酵菌的首位,其对阿米卡星的耐药率为 30.83%,对亚胺培南、美罗培南的耐药率较 2009 年(分别为 30.22% 和 18.41%)有上升趋势。该菌对其他测试抗菌药物的耐药率均在 30% 以上,总体较本院 2009 年有下降趋势。此类菌的检出率也不断增多,究其原因可能是近年来各种导管、插管、机械通气等侵入性操作应用的不断增加,在一定程度上增加了患者的感染机会所致。由于铜绿假单胞菌易定植、变异,易形成生物被膜等,并且对多种抗菌药物具有天然耐药的特点,因此临床治疗由铜绿假单胞菌引起的感染,应严格参照细菌药敏试验结果用药。嗜麦芽窄食单胞菌对碳青霉烯类抗生素存在天然耐药,但对复方磺胺甲噁唑、左氧氟沙星敏感率在 80% 以上。而此

菌在本院检出率较低,今后应关注耐药菌的监测。

细菌耐药性已是我国目前临床面临的严峻问题,如何根据药敏结果合理使用抗菌药物,控制细菌耐药性的不断上升,需要临床医生和微生物实验室人员共同努力。

[参 考 文 献]

- [1] Clinical Laboratory Standard Institute. Performance standards for Antimicrobial susceptibility testing[S]. 2009,M100-S19.
- [2] 刘卫,凌宙贵,汪春梅,等. 住院病人中常见病原菌的分布及耐药性分析[J]. 中国感染与化疗杂志,2008,8(6):456-458.
- [3] 郑群,吴劲松,何林,等. 2005—2007 年临床分离细菌耐药性监测与分析[J]. 中国感染控制杂志,2008,7(4):274-279.
- [4] 朱德妹,胡付品,汪复,等. 2009 年中国 CHINET 葡萄球菌属细菌耐药监测[J]. 中国感染与化疗杂志,2010,10(6):414-420.
- [5] Simonsen G S, Smabrekke L, Monnet D L, et al. Prevalence of resistance to ampicillin, gentamicin and vanomycin in *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* isolates from clinical specimens and use of antimicrobials in five Nordic hospitals [J]. J Antimicrob Chemother,2003,51(2): 323-331.
- [6] Tenover F C, Williams P P, Stocker S, et al. Accuracy of six antimicrobial susceptibility methods for testing linezolid against *staphylococci* and *enterococci* [J]. J Clin Microbio, 2007,45(9):2917-2922.
- [7] Yang Q W, Wang H, Sun H L, et al. Phenotypic and genotypic characterization of Enterobacteriaceae with decreased susceptibility to carbapenems: results from large hospital-based surveillance studies in China [J]. Antimicrob Agents Chemother, 2010, 54(1): 573-577.
- [8] 邵良荣,邵杰,缪宇锋,等. 重症监护病房感染常见革兰阴性杆菌产 AmpC 酶、ESBLs 及耐药性的研究[J]. 中华医院感染学杂志,2009,19(1):1-3.

(上接第 111 页)

不能仅从单一一个细胞因子角度来分析病情严重程度。目前国内尚无相关报道,此观点有待今后的研究进一步探讨。

综上所述,IL-12 在结核病发生、发展过程中起重要作用。IL-12 与肺结核的活动性密切相关,可作为我们临床工作中了解患者免疫状态,判断肺结核活动性和病情转归的临床参考指标。

[参 考 文 献]

- [1] 官杰,孙艳,王琪,等. 结核病细胞免疫研究的若干进展[J]. 齐

哈尔医学院学报,2001,22(1):104-105.

- [2] 崔音冈,王英年,张克佳. 辅助性 T 细胞亚群(Th1/Th2)失调与结核病[J]. 中国防痨杂志,2000,22(1):48.
- [3] 李兆娜,申阿东. IL-12 在结核病发病过程中的作用[J]. 中国人兽共患病学报,2008,24(3):272-275.
- [4] Lamont A G, Adorini L. IL-12: a key cytokine in immune regulation[J]. Immunol Today,2006,17(5):214-217.
- [5] 陈敬,董得琼,杨渝浩,等. 白细胞介素 12 对结核病患者 TH1/TH2 平衡的影响[J]. 中华结核和呼吸杂志,2002,25(5):292-295.
- [6] 杜娟,邓冰,桂坤,等. 肺结核患者血清白细胞介素-12、13 水平的临床研究[J]. 临床内科杂志,2005,22(6):409-410.