

• 临床检验研究论著 •

肺结核患者血清 IL-23 和 IL-22 检测及临床意义*

叶宁华¹, 曾今诚², 罗勇强³, 林东子³

(1. 东莞市中医院, 广东东莞 523000; 2. 广东医学院广东省医学分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808; 3. 东莞市慢性病防治院, 广东东莞 523008)

摘要:目的 研究肺结核(PTB)患者血清 IL-23 和 IL-22 水平并分析其临床意义。方法 检测 47 例 PTB 患者和 26 名健康志愿者(HV 组)外周血血清 IL-23 和 IL-22 水平, 并分析其相关性。结果 PTB 患者血清 IL-22 水平明显低于 HV 组($P < 0.05$), 常规化疗药物治疗前 PTB 患者血清 IL-22 水平明显低于治疗后($P < 0.05$), 结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-22 水平明显低于阴性患者($P < 0.05$); PTB 患者血清 IL-23 水平明显低于 HV 组($P < 0.05$), 治疗前 PTB 患者 IL-23 水平明显低于治疗后($P < 0.05$), 结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-23 水平明显低于反应阴性患者($P < 0.05$)。Pearson 相关性分析显示, PTB 患者血清 IL-22 水平和 IL-23 水平无明显相关性($P > 0.05$), 但结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-23 水平与 IL-22 水平呈正相关($P < 0.05$)。结论 IL-23 和 IL-22 均在抗结核免疫过程中发挥重要作用。

关键词:肺结核; 白细胞介素 23; 白细胞介素 22

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.07.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)07-0817-03

Expression and clinical significance of serum IL-23 and IL-22 on patients with pulmonary tuberculosis*

Ye Ninghua¹, Zeng Jincheng², Luo Yongqiang³, Lin Dongzi³

(1. Dongguan Hospital of Traditional Chinese Medicine, Dongguan, Guangdong 523000, China; 2. Guangdong Key Laboratory of Medical Molecular Diagnostics, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China; 3. Dongguan Hospital for Prophylaxis and Treatment of Chronic Disease, Dongguan, Guangdong 523008, China)

Abstract: **Objective** To study serum IL-23 and IL-22 levels and analysis its clinical significance in pulmonary tuberculosis (PTB) patients. **Methods** ELISA was used to detect serum IL-23 and IL-22 levels in 47 PTB patients and 26 healthy volunteers (HV group). Pearson correlation analysis was used to analyze the correlation of them. **Results** Serum IL-22 level of PTB group was significantly lower than that in HV group ($P < 0.05$). Serum IL-22 level of PTB group was significantly increased after treatment ($P < 0.05$). Serum IL-22 level of sputum smear-positive PTB group was significantly lower than that in sputum smear-negative PTB group ($P < 0.05$). Serum IL-23 level of PTB group was also significantly lower than that in HV group ($P < 0.05$). And serum IL-23 level of PTB group was significantly increased after treatment ($P < 0.05$). Serum IL-23 level of sputum smear-positive PTB group was significantly lower than that in sputum smear-negative PTB group ($P < 0.05$). The correlation analysis showed that there was no correlated between serum IL-23 and IL-22 levels on PTB patients ($P > 0.05$), but there was positively correlated between serum IL-23 and IL-22 levels on sputum smear-positive PTB patients ($P < 0.05$). **Conclusion** IL-23 and IL-22 may play a more important role in PTB development.

Key words: pulmonary tuberculosis; interleukin 23; interleukin 22

白细胞介素(interleukin)是白细胞与机体免疫细胞之间相互作用的细胞因子,在激活和调节免疫细胞、传递信号及感染性疾病中具有重要作用。近年来发现,白细胞介素 22(interleukin 22, IL-22)和白细胞介素 23(interleukin 23, IL-23)在参与感染性疾病的发病机制中可能处于关键地位。IL-23 能诱导幼稚 CD4⁺ T 细胞分化为高活性的 Th17 细胞^[1]。Th17 细胞通过生成 IL-17A, IL-17F 和 IL-16 等多种细胞因子影响多种疾病的发生、发展^[1-2]。IL-22 可由 Th17 细胞、Th22 细胞及 NK22 细胞产生,在机体抵御微生物感染中发挥重要作用^[3]。本文以肺结核(pulmonary tuberculosis, PTB)患者为研究对象,通过酶联免疫吸附试验(ELISA)检测常规抗结核药物治疗

前和治疗后患者血清 IL-22 和 IL-23 水平的变化,探讨其在肺结核发生、发展中的意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 根据中华人民共和国卫生行业标准 WS 288-2008 肺结核诊断标准,收集 2012 年 6 月至 2013 年 6 月于东莞市慢性病防治院进行治疗的新发 PTB 患者 47 例(PTB 组),年龄 18~65 岁,平均(38.15±1.93)岁;男性 17 例,女性 28 例;其中常规抗结核药物治疗 3 d 以内患者 19 例(治疗前组),常规抗结核药物治疗 28~35 d 患者 28 例(治疗后组);所有患者经痰涂片检查后,结核分枝杆菌反应阳性患者 19 例,阴性患者 28 例。所有患者均无其他免疫相关性或免疫性疾病,且 4 个

* 基金项目:广东省医学科研基金资助项目(B2013427);东莞市医疗卫生科技计划(20131051010139)。 作者简介:叶宁华,女,主管检验师,主要从事感染性疾病研究工作。

假阳性率时 AFP 的检出率为 24%, free β -HCG 的检出率为 50%, uE3 则为 40%。本研究结果显示 uE3 对唐氏综合征的异常检出率为 57.1%(4/7), 与二联筛查的检出率(57.1%)持平, 低于三联筛查(85.7%, 6/7), 可见将 uE3 作为联合筛查指标, 能够明显的提高筛查的检出率。

有研究显示, uE3 在孕中期筛查中对 18-三体综合征的检出效果优于 free β -HCG^[4]。本研究结果显示, 样本中仅有的 1 例 18-三体综合征阳性孕妇的血清 uE3-MOM 为 0.186, 远远低于 uE3-MOM 的截断值(0.73)。

由于 uE3 几乎全部来源于胎儿和胎盘, 故可作为胎儿代谢变化的敏感指标, 如无脑儿和脊柱裂胎儿可能存在肝脏等器官发育不成熟而导致 uE3 合成减少, 从而使母体血清 uE3 水平降低^[5], 胎儿的宫内发育迟缓也可造成孕妇血清 uE3 明显下降^[6], 对胎儿的早产预测有一定价值^[7]。作为单项指标, uE3 在对唐氏综合征的辅助判断中有较好的预示意义, 同时在其他染色体易位、缺失、多态等遗传疾病及先天性心脏病等异常妊娠时 uE3 也有一定的提示作用^[8-10]。本研究的 43 例异常妊娠中, 有 11 例 uE3-MOM 水平降低, 筛查阳性率为 25.6%。

uE3 是在孕中期水平变化较大的指标, 正确核对孕周以及建立本系统人群的中位数值是计算风险值的必要条件。此外, 在检测过程中标本的质量对 uE3 的检测也有不同程度的影响, 如黄疸、脂血等标本。因此在规范操作、减少人为因素影响的前提下, 三联产前筛查及 uE3 单项指标对产前筛查辅助诊断有一定的提示意义。

参考文献

[1] Wright D, Bradbury I, Benn P, et al. Contingent screening for Down's syndrome is an efficient alternative to non-disclosure sequential screening[J]. Prenat Diagn, 2004, 24(10):762-766.

[2] Bestwick JP, Huttly WJ, Wald NJ. Unconjugated estriol values between 14 and 22 weeks of gestation in relation to prenatal

screening for Down syndrome[J]. Prenat Diagn, 2012, 32(3):299-301.

[3] Caniek JA, Kaisht GJ, Palomaki GE, et al. Low second trimester maternal serum unconjugated estriol in pregnancies with Down's syndrome[J]. Br J Obstet Gynecol, 1988, 95(4):330-333.

[4] 袁晖, 王晨虹, 张黎, 等. 孕妇血清 PAPP-A、AFP、free β -HCG、uE3 联合筛查法在产前诊断中的应用[J]. 中国优生与遗传杂志, 2004, 12(4):46-47, 66.

[5] 戴红英, 赵淑萍, 汤秀明, 等. 孕妇血清 AFP、uE₃ 和 β -hCG 水平与严重胎儿缺陷的关系[J]. 齐鲁医学杂志, 2003, 18(1):18-22.

[6] Odibo AO, Sehdev HM, Stamilio DM, et al. Evaluating the thresholds of abnormal second trimester multiple marker screening tests associated with intra-uterine-growth-restriction[J]. Am J Perinatol, 2006, 23(6):363-367.

[7] 李旭明, 郭锡熔, 顾筱琪, 等. 孕晚期血清游离雌三醇水平预测早产的价值[J]. 江苏医药, 2012, 38(6):705-706.

[8] Tongprasert F, Srisupundit K, Luewan S, et al. Second trimester maternal serum markers and a predictive model for predicting fetal hemoglobin Bart's disease[J]. J Matern Fetal Neonatal Med, 2013, 26(2):146-149.

[9] Chen CP, Su YN, Lin SP, et al. Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of a de novo interstitial duplication of 11q (11q22.3-->q23.3) associated with abnormal maternal serum biochemistry[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2013, 52(1):120-124.

[10] Chen CP, Huang KS, Su HY, et al. Prenatal diagnosis and molecular cytogenetic characterization of a de novo interstitial duplication of 14q (14q31.3-->q32.12) associated with abnormal maternal serum biochemistry[J]. Taiwan J Obstet Gynecol, 2013, 52(1):125-128.

(收稿日期:2014-01-08)

(上接第 818 页)

[3] Rutz S, Eidenschenk C, Ouyang W. IL-22, not simply a Th17 cytokine[J]. Immunol Rev, 2013, 252(1):116-132.

[4] Winslow GM, Cooper A, Reiley W, et al. Early T-cell responses in tuberculosis immunity[J]. Immunol Rev, 2008, 225(2):284-299.

[5] Lawn SD, Badri M, Wood R. Tuberculosis among HIV-infected patients receiving HAART: long term incidence and risk factors in a South African cohort[J]. AIDS, 2005, 19(18):2109-2116.

[6] Zhu J, Paul WE. CD4 T cells: fates, functions, and faults[J]. Blood, 2008, 112(5):1557-1569.

[7] Kaufmann SH, Dorhoi A. Inflammation in tuberculosis: interactions, imbalances and interventions[J]. Curr Opin Immunol, 2013, 25(4):441-449.

[8] Croxford AL, Mair F, Becher B. IL-23: one cytokine in control of autoimmunity[J]. Eur J Immunol, 2012, 42(9):2263-2273.

[9] Yen D, Cheung J, Scheerens H, et al. IL-23 is essential for T cell-mediated colitis and promotes inflammation via IL-17 and IL-6[J]. J Clin Invest, 2006, 116(5):1310-1316.

[10] Huang Z, van Velkinburgh JC, Ni B, et al. Pivotal roles of the interleukin-23/T helper 17 cell axis in hepatitis B[J]. Liver Int, 2012, 32(6):894-901.

[11] Tian T, Yu S, Ma D. Th22 and related cytokines in inflammatory and autoimmune diseases[J]. Expert Opin Ther Targets, 2013, 17(2):113-125.

[12] Leung JM, Loke P. A role for IL-22 in the relationship between intestinal helminths, gut microbiota and mucosal immunity[J]. Int J Parasitol, 2013, 43(3/4):253-257.

(收稿日期:2013-11-08)

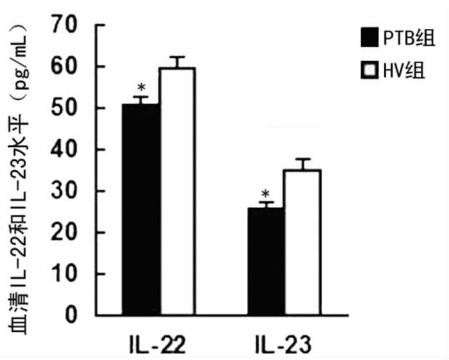
月内未使用过激素及免疫抑制剂。选取同期东莞市慢性病防治院体检科健康志愿者 (healthy volunteers, HV) 26 名 (HV 组), 年龄 18~57 岁, 平均 (35.64±2.47) 岁; 男性 11 例, 女性 15 例。所有标本均采用肝素抗凝管空腹采血 2 mL, 1 500 r/min, 离心 5 min, 收集上清液-80℃冰箱保存备用。

1.2 方法 采用 ELISA 法检测血清 IL-22 和 IL-23 水平, IL-22 和 IL-23 ELISA 检测试剂盒购买于深圳达科为生物公司, 操作步骤按照说明书进行, 检测仪器为 MK3-酶标仪 (芬兰)。

1.3 统计学处理 采用 Graphpad prism 5.0 软件进行统计分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用 *t* 检验, 相关性分析采用 Pearson 相关分析, 以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 血清 IL-22 和 IL-23 水平比较 PTB 组血清 IL-22 水平 [(51.06±1.80) pg/mL] 明显低于 HV 组 [(59.88±2.46) pg/mL], 两组比较差异有统计学意义 (*t*=2.904, *P*=0.005); PTB 组血清 IL-23 水平 [(26.02±1.35) pg/mL] 明显低于 HV 组 [(35.06±2.66) pg/mL], 两组比较差异有统计学意义 (*t*=3.377, *P*=0.001)。见图 1。



* : *P*<0.05, 与 HV 组比较。

图 1 PTB 组和 HV 组之间血清 IL-22 和 IL-23 水平比较

2.2 血清 IL-22 和 IL-23 水平与 PTB 患者临床特征的关系 PTB 患者中治疗前血清 IL-22 水平 [(46.73±2.32) pg/mL] 明显低于治疗后 [(53.99±2.46) pg/mL], 治疗前 IL-23 水平 [(20.68±1.69) pg/mL] 也明显低于治疗后 [(29.65±1.64) pg/mL], 差异均有统计学意义 (*t*=2.044, *P*=0.047; *t*=3.685, *P*=0.001)。结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-22 水平 [(46.44±1.62) pg/mL] 明显低于阴性患者 [(57.86±3.23) pg/mL], 结核分枝杆菌反应阳性患者 IL-23 水平 [(21.81±1.28) pg/mL] 也明显低于阴性患者 [(32.24±2.07) pg/mL], 差异均有统计学意义 (*t*=3.461, *P*=0.001; *t*=4.538, *P*<0.01)。不同性别或年龄 PTB 患者血清 IL-22 和 IL-23 水平比较差异无统计学意义 (*P*>0.05)。

2.3 相关性分析 Pearson 相关性分析显示, PTB 患者血清 IL-22 水平和 IL-23 水平无明显相关性 (*r*=-0.107, *P*=0.476)。结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-23 水平与 IL-22 水平呈正相关 (*r*=0.307, *P*=0.023)。

3 讨 论

PTB 是由结核分枝杆菌感染引起的肺部感染性疾病, 占各器官结核病总数的 80%~90%。大量研究已证实, CD4⁺ T 淋巴细胞在器官结核病感染诱导引起的机体免疫反应中发挥

重要作用, 特别是在机体清除体内结核分枝杆菌过程中至关重要^[4]。CD4⁺ T 淋巴细胞产生的干扰素 (IFN)- γ 可有效控制结核分枝杆菌的持续感染。特别是人类免疫缺陷病毒 (HIV) 携带者 (CD4⁺ T 淋巴细胞严重丢失) 器官结核病发病率很高^[5]。CD4⁺ T 淋巴细胞亚群 (Th1、Th2、Th17、Th22 和 Treg) 产生一系列细胞因子, 协同控制器官结核病^[6]。我国是器官结核病高负担国家, 器官结核病年发病人数约为 130 万, 年死亡人数达 13 万, 远超其他传染病死亡人数的总和。因此, 寻找有效的途径控制器官结核病的发病率和病死率是我国当今亟须面临的问题。近年来研究发现, 白细胞介素家族在参与感染性疾病的发病机制中可能处于关键地位^[7]。IL-23 是 2000 年发现的一种促炎性细胞因子, 由 P19 和 P40 两个异二聚体分子组成。IL-23 主要表达于树突状细胞和巨噬细胞, 在自身免疫性疾病、炎症性疾病及感染性疾病的发病机制中具有重要作用^[1,8-9]。已证实 IL-23/Th17 细胞轴在 HBV 感染的肝病病理发生、发展中起主要调控作用^[10]。本文研究发现 PTB 组血清 IL-23 水平明显低于 HV 组 (*P*<0.05), 特别是结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-23 水平明显低于阴性患者 (*P*<0.05)。经规范化疗药物治疗后 PTB 患者血清 IL-23 水平明显增高 (*P*<0.05)。IL-22 也是 2000 年发现的一种在炎症性疾病及感染性疾病中具有重要作用的细胞因子, 在机体中主要由 Th17 细胞、Th22 细胞及 NK22 细胞分泌产生^[3,11]。当机体发生炎症或感染时, IL-22 在宿主防御体系中扮演第一道防线的作用, 特别在银屑病、异位性皮炎和溃疡性结肠炎患者中尤为突出^[11-12]。有关 IL-22 在抗结核免疫中的作用, 目前国内外均有报道。有学者认为其在抗结核免疫中也具有重要作用, 但也有学者认为其在抗结核免疫中并非处于主导地位。本文发现 PTB 组血清 IL-22 明显低于 HV 组 (*P*<0.05), 特别是结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-22 水平明显低于阴性患者 (*P*<0.05)。PTB 患者经规范化疗药物治疗后血清 IL-22 水平明显增高 (*P*<0.05)。说明 IL-22 在结核病发生、发展中可能具有一定的作用。本研究中 Pearson 相关性分析显示患者血清 IL-23 水平与 IL-22 水平无相关性, 但结核分枝杆菌反应阳性患者血清 IL-23 水平与 IL-22 水平呈正相关。

综上所述, 作者有以下推测: (1) 结核分枝杆菌反应阳性患者 IL-22 的表达受到机体 IL-23 水平的影响, 这可能与结核分枝杆菌反应阳性患者机体抗原递呈细胞活性增高有关。 (2) 当机体结核菌反应受到控制后, 机体 IL-23 表达降低, 但这种降低并不影响 IL-22 的表达。 (3) IL-23 可能在 PTB 患者发病前期发挥重要作用, 而 IL-22 在 PTB 患者整个感染期可能均具有重要作用。因此, 检测 PTB 患者 IL-23 和 IL-22 水平对评估 PTB 患者病情转归具有一定的临床指导意义。然而, 在 PTB 发生、发展过程的不同阶段是否有 Th17 细胞、Th22 细胞或 NK22 细胞参与调控还有待进一步研究。

参考文献

[1] Basu R, Hatton RD, Weaver CT. The Th17 family: flexibility follows function [J]. Immunol Rev, 2013, 252(1): 89-103.
[2] Patel DD, Lee DM, Kolbinger F, et al. Effect of IL-17A blockade with secukinumab in autoimmune diseases [J]. Ann Rheum Dis, 2013, 72 (2): 116-123. (下转第 821 页)