

• 论 著 •

AGP、AAT 及 HAP 联合细胞因子检测在活动性肺结核中的诊疗价值*

沈凌筠,王霖[△],马志强,张艳,王晓燕

云南省传染病疾病临床医学中心/昆明市第三人民医院结核三科,云南昆明 650301

摘要:目的 探讨 $\alpha 1$ -酸性糖蛋白(AGP)、 $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶(AAT)及触珠蛋白(HAP)联合细胞因子检测在活动性肺结核中的应用价值,为活动性肺结核的实验室诊断提供参考依据。**方法** 选取 2020 年 3 月至 2021 年 3 月昆明市第三人民医院收治的 96 例结核病患者为研究组,另选同期体检健康者 83 例作为对照组,比较两组 AGP、AAT、HAP 及细胞因子水平,评价其在活动性肺结核中的诊断价值。**结果** 与对照组比较,研究组患者血清中 AGP、AAT、HAP、免疫球蛋白 A(IgA)、白细胞介素-6(IL-6)、人 γ 干扰素(IFN- γ)的水平升高、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)的水平降低,差异均有统计学意义($P < 0.05$);其余免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 M(IgM)、白细胞介素-1(IL-1)等 11 种因子的水平在两组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。对两组差异有统计学意义的 7 种指标进行受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析,结果显示,HAP、AGP、AAT、IgA、IL-6、IFN- γ 、TNF- α 诊断活动性肺结核的曲线下面积(AUC)分别为 0.672、0.678、0.709、0.606、0.664、0.645、0.606,差异有统计学意义($P < 0.05$),AAT 单独检测的诊断效能较高;IL-6 + TNF- α 联合检测的诊断效能最高。Spearman 相关分析显示,HAP 与 AGP、AGP 与 AAT、HAP 与 AAT 之间均呈正相关($P < 0.05$)。**结论** HAP、AGP、AAT 及 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 联合检测诊断活动性肺结核效能较高,值得临床推广应用。

关键词:活动性肺结核; $\alpha 1$ -酸性糖蛋白; $\alpha 1$ -抗胰蛋白酶; 触珠蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2022.06.015

中图法分类号:R521.1

文章编号:1673-4130(2022)06-0705-05

文献标志码:A

The application value of AGP, AAT and HAP combined with cytokines detection in active pulmonary tuberculosis*

SHEN Lingjun, WANG Lin[△], MA Zhiqiang, ZHANG Yan, WANG Xiaoyan

Yunnan Clinical Medical Center for Infectious Diseases/Third Department of Tuberculosis,

The Third People's Hospital of Kunming, Kunming, Yunnan 650301, China

Abstract: Objective To investigate the application value of $\alpha 1$ -acid glycoprotein (AGP), $\alpha 1$ -antiproteinase (AAT) and haptoglobin (HAP) combined with cytokines detection in active pulmonary tuberculosis, and provide reference for the laboratory diagnosis of active pulmonary tuberculosis. **Methods** A total of 96 tuberculosis patients in Third People's Hospital of Kunming from March 2020 to March 2021 were selected as research group. And 83 healthy people in the same period were selected as the control group. Levels of AGP, AAT, HAP and cytokines between the two groups were compared, and their application value in active pulmonary tuberculosis was evaluated. **Results** Compared with the control group, the serum levels of AGP, AAT, HAP, IgA, interleukin (IL)-6 and interferon γ (IFN- γ) in patients with active tuberculosis increased, the level of TNF- α decreased, the differences were statistically significant ($P < 0.05$), the levels of other 11 factors such as IgG, IgM and IL-1 were not statistically different between the two groups ($P > 0.05$). Receiver operating characteristic curve (ROC curve) analysis showed that the AUC values of the 7 indicators of HAP, AGP, AAT, IgA, IL-6, IFN- γ and TNF- α respectively were 0.672, 0.678, 0.709, 0.606, 0.664, 0.645, 0.606, the

* 基金项目:昆明市医药卫生科技计划基金项目(2021-03-02-003)。

作者简介:沈凌筠,男,副主任医师,主要从事结核病学方面的研究。 [△] 通信作者, E-mail: 626182669@qq.com。

本文引用格式:沈凌筠,王霖,马志强,等. AGP、AAT 及 HAP 联合细胞因子检测在活动性肺结核中的诊疗价值[J]. 国际检验医学杂志,

differences were statistically significant ($P < 0.05$), single detection of AAT had higher diagnostic efficiency. In the two-indexes or three-indexes combined test, combined detection of IL-6 + TNF- α had the highest diagnostic efficiency. Spearman correlation analysis showed that HAP and AGP, AGP and AAT, HAP and AAT all had positive correlations ($P < 0.05$). **Conclusion** Combined detection of HAP, AGP, AAT, IL-6, IFN- γ and TNF- α has higher efficiency in diagnosis of active tuberculosis.

Key words: active tuberculosis; α 1-acid glycoprotein; α 1-antiproteinase; haptoglobin

结核病是由结核分枝杆菌感染引起的一种慢性传染性疾病,临床表现以咳嗽、咯血、低热、盗汗等为主。结核病具有发病率高、传染性强及临床症状不典型等特点,机体在感染结核分枝杆菌后,引发细胞免疫介导的变态反应,包括淋巴细胞敏感性增强,细胞吞噬能力提高,机体免疫力下降等^[1]。世界卫生组织(WHO)2018年发布的全球结核病报告中,结核病已成为全球第二大传染性疾病,每年约有400万人死于该病^[2],中国结核病患者数仅次于印度,是结核病30个高负担国家之一^[3-4],因此结核病在我国的防控形势仍十分严峻^[5]。结核病实验室诊断的“金标准”是在患者痰液中找到结核分枝杆菌,其他实验室诊断方法主要有结核分枝杆菌培养、结核菌素试验、聚合酶链反应(PCR)等。这些方法在结核病的诊断中具有重要参考价值,但也存在着较多不足,如灵敏度低、假阴性及假阳性率较高,结核菌素试验易受到患者免疫力因素的影响,临床检测标本不易获得,同时痰培养周期较长、要求较高等^[6-8]。这些缺陷在一定程度上限制了其在结核病诊断中的应用^[9],且临床上部分肺结核患者并无明显症状,多数患者在体检时才发现,因此很容易被漏诊和误诊。活动性肺结核的早期诊治是临床研究的热点^[10],研究表明,活动性结核患者外周血中T淋巴细胞在结核抗原刺激后分泌的白细胞介素(IL)、血管内皮细胞生长因子(VEGF)、干扰素诱导蛋白等细胞因子水平都显著升高^[11-12]。急性时相反应蛋白 α 1-酸性糖蛋白(AGP)、 α 1-抗胰蛋白酶(AAT),触珠蛋白(HAP)均是由肝脏合成,其与机体炎症创伤有关,可用于鉴别急性、亚急性与慢性病理状态,在一定程度上与机体损伤的性质和范围有关。本研究拟通过检测活动性肺结核外周血中AGP、AAT、HAP及细胞因子水平,探索其在活动性肺结核中的应用价值并为临床治疗提供参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年3月至2021年3月昆明市第三人民医院收治的96例结核病患者为研究组,其中男55例,女41例;年龄12~86岁,中位年龄41.5岁。另选同期体检健康者83例作为对照组,其中男43例,女40例;年龄16~80岁,平均(48.18±

16.33)岁。两组研究对象性别构成差异无统计学意义($\chi^2=0.541, P=0.462$),年龄分布差异有统计学意义($U=0.2135, P=0.035$)。本研究通过伦理委员会的审批,所有入组人员均签署知情同意书。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1)所有患者均符合《肺结核诊断标准(WS 288-2017)》^[13];(2)研究组患者均经实验室和组织病理学检查确诊为肺结核。排除标准:(1)非结核分枝杆菌肺病;(2)合并心、肝、肾等重要器官性疾病,凝血功能障碍或免疫系统疾病;(3)患者为妊娠或哺乳期女性。

1.3 仪器及试剂 主要仪器:奥林巴斯全自动生化分析仪(AU680,美国贝克曼库尔特生物科技有限公司),流式细胞仪(BirCyte E6,深圳迈瑞生物医疗电子股份有限公司)。主要试剂:12项细胞因子检测试剂盒(批号210603;青岛瑞斯凯尔生物科技有限公司),AGP、AAT、HAP检测试剂盒(批号0320/04912、0124/05402L1、9033/03246L1;迪亚莱博生物科技有限公司)。

1.4 方法 采集所有研究对象静脉血2 mL于ED-TA-K₂抗凝剂的真空管中,充分混匀送至实验室,对AGP、AAT、HAP、IgG、IgA、IgM、IL-1、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12 p70、IL-17、人 γ 干扰素(IFN- γ)、IFN- α 、肿瘤坏死因子(TNF)- α 进行检测;标本检测严格按照试剂说明书操作,在质量控制合格后,通过全自动生化分析仪AU680,流式细胞仪BirCyte E6完成。

1.5 统计学处理 采用SPSS22.0统计软件对数据进行分析。正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用独立样本 t 检验;非正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验;各指标的诊断效能采用受试者工作特征曲线(ROC曲线)分析;两指标之间的相关性采用Spearman相关进行分析;以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组和对照组AGP、AAT、HAP和细胞因子表达情况 与对照组比较,研究组患者血清中AGP、AAT、HAP、IgA、IL-6、IFN- γ 水平升高,差异有统计学意义($P < 0.05$);TNF- α 水平降低,差异有统计学

意义($P<0.05$);其余指标在两组间比较差异无统计 学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 研究组和对照组 AGP、AAT、HAP 和细胞因子水平比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]

组别	<i>n</i>	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)	HAP(mg/dL)	AGP(mg/dL)	AAT(mg/dL)
对照组	83	12.79±3.64	1.67(1.04,2.57)	1.07(0.79,1.45)	101.3(58.10,185.4)	50.30(32.00,78.40)	126.1(114.9,152.6)
研究组	96	13.90±4.86	2.07(1.50,2.80)	0.95(0.64,1.39)	186.9(90.73,247.8)	77.70(49.13,122.2)	159.9(127.6,200.0)
<i>t/U</i>		1.753	0.236	0.170	0.325	0.338	0.371
<i>P</i>		0.081	0.014	0.151	<0.001	<0.001	<0.001

组别	<i>n</i>	IL-1(pg/mL)	IL-2(pg/mL)	IL-4(pg/mL)	IL-5(pg/mL)	IL-6(pg/mL)	IL-8(pg/mL)
对照组	83	1.77(0.99,3.45)	1.13(0.53,1.88)	1.21(0.32,1.74)	1.11(0.36,1.46)	5.12(3.20,10.92)	52.07(16.29,132.3)
研究组	96	1.52(0.61,2.73)	0.93(0.36,1.45)	1.03(0.06,1.55)	1.08(0.45,1.39)	9.76(4.91,34.03)	36.17(15.89,104.7)
<i>t/U</i>		0.137	0.153	0.102	0.117	0.291	0.162
<i>P</i>		0.370	0.252	0.747	0.581	0.001	0.195

组别	<i>n</i>	IL-10(pg/mL)	IL-12 p70(pg/mL)	IL-17(pg/mL)	IFN-γ(pg/mL)	IFN-α(pg/mL)	TNF-α(pg/mL)
对照组	83	3.33(2.18,4.27)	1.88(1.17,2.79)	11.14(5.16,23.61)	1.85(1.19,3.94)	4.12(2.31,114.5)	1.74(1.34,2.41)
研究组	96	3.31(2.29,4.62)	1.62(0.91,2.50)	8.68(2.86,17.29)	3.16(1.75,7.15)	2.72(1.99,62.74)	1.49(1.07,2.11)
<i>t/U</i>		0.091	0.150	0.134	0.261	0.173	0.207
<i>P</i>		0.857	0.268	0.401	0.005	0.139	0.044

2.2 AGP、AAT、HAP 和细胞因子诊断活动性肺结核的 ROC 曲线分析 为了进一步评价差异有统计学意义的 7 种指标在活动性肺结核中的价值,对其进行 ROC 曲线分析,结果显示,AAT 诊断效能优于 HAP 和 AGP;各细胞因子中 IL-6 诊断效能较高($P<0.05$),见表 2。

2.3 各指标联合检测诊断活动性肺结核的 ROC 曲线分析 对 HAP、AGP、AAT 和细胞因子 IL-6、IFN-γ、TNF-α 进行 2 种指标或 3 种指标联合检测,结果显示,2 种指标或 3 种指标联合检测的 AUC 大于各指标单独检测($P<0.05$)。而在细胞因子 IL-6、IFN-γ、TNF-α 中,IL-6+TNF-α 联合检测的诊断效能最高,

见表 3。

表 2 7 种指标在活动性结核诊断中的 ROC 曲线分析

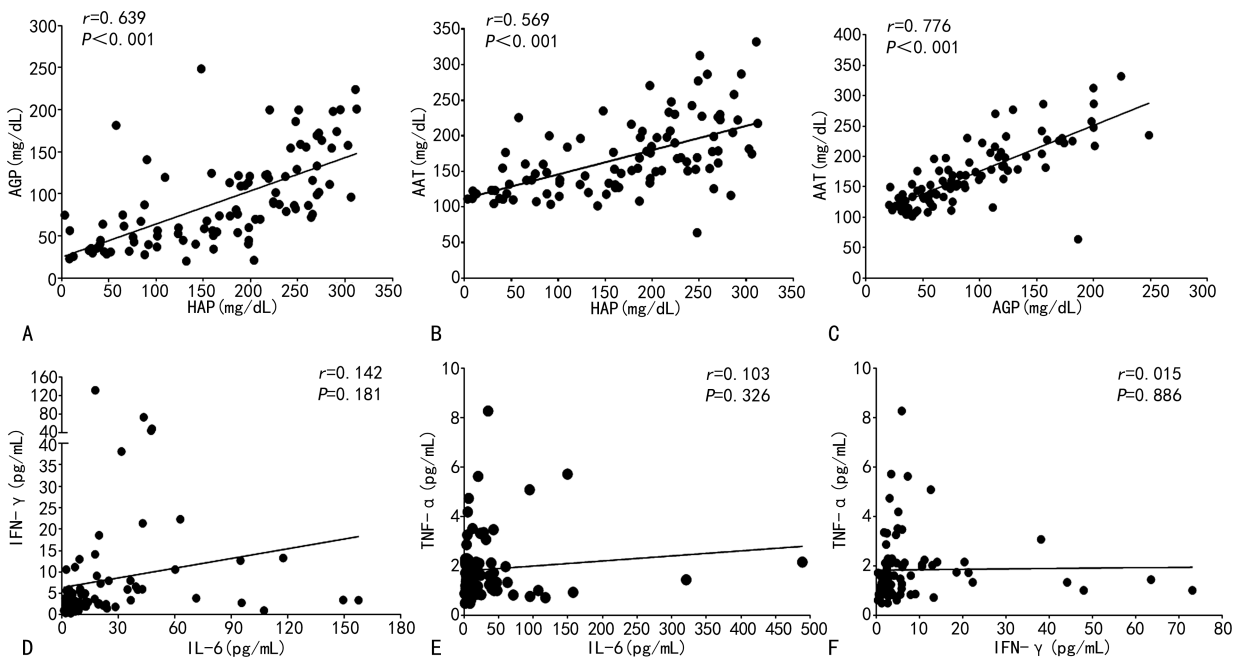
检测指标	AUC	灵敏度(%)	特异度(%)	95%CI	<i>P</i>
HAP	0.672	62.50	68.67	0.59~0.75	<0.001
AGP	0.678	58.33	73.49	0.60~0.76	<0.001
AAT	0.709	67.37	68.67	0.63~0.78	<0.001
IgA	0.606	65.63	53.01	0.52~0.69	0.015
IL-6	0.664	59.38	68.67	0.58~0.74	<0.001
IFN-γ	0.645	69.79	54.22	0.56~0.72	0.001
TNF-α	0.606	58.33	59.04	0.52~0.69	0.015

表 3 AGP、AAT、HAP 及细胞因子联合检测诊断活动性肺结核的 ROC 曲线分析

检测指标	AUC	灵敏度(%)	特异度(%)	95%CI	<i>P</i>
HAP+AGP	0.713	60.58	74.77	0.64~0.79	<0.001
AGP+AAT	0.715	62.85	74.54	0.64~0.79	<0.001
HAP+AAT	0.718	63.14	74.77	0.64~0.79	<0.001
HAP+AGP+AAT	0.723	62.09	75.00	0.65~0.80	<0.001
IL-6+IFN-γ	0.737	72.91	63.95	0.67~0.81	<0.001
IFN-γ+TNF-α	0.714	71.80	64.01	0.64~0.79	<0.001
IL-6+TNF-α	0.740	68.84	67.62	0.67~0.81	<0.001
IL-6+IFN-γ+TNF-α	0.737	77.01	60.47	0.66~0.81	<0.001

2.4 AGP、AAT、HAP 和细胞因子相关性分析 Spearman 相关分析显示,HAP 与 AGP、AGP 与

AAT、HAP 与 AAT 之间均呈正相关($P<0.05$),而 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 之间无相关性($P>0.05$)。见图 1。



注:A 为 HAP 和 AGP 的相关性分析,B 为 HAP 和 AAT 的相关性分析,C 为 AGP 和 AAT 的相关性分析,D 为 IL-6 和 IFN- γ 的相关性分析,E 为 IL-6 和 TNF- α 的相关性分析,F 为 IFN- γ 和 TNF- α 的相关性分析。

图 1 AGP、AAT、HAP 及细胞因子之间的相关性分析

3 讨 论

结核病具有较强的传染性,并可对人类生命及健康造成较大威胁,已成为严重的全球公共卫生问题^[14]。结核病可累及到全身多个组织和器官,其中以肺结核最常见,肺结核不仅可破坏肺组织的实质性结构,还可改变肺部气道解剖结构从而引发严重后果^[15-16]。人体感染结核分枝杆菌后的发病情况与结核分枝杆菌的数量、毒力和机体免疫力等因素相关,大部分人感染结核分枝杆菌后在体内以静止的状态存在^[17]。当机体由于一些原因导致免疫力降低时,结核分枝杆菌可由静止状态转变为活化状态,此时由潜伏感染变为活动性肺结核^[18]。结核病的实验室快速诊断是结核病防控的重点措施之一。结核病诊断的“金标准”为标本中检出结核分枝杆菌。但由于培养周期长、阳性检出率低,寻找结核病的快速诊断检测方法对结核病的临床诊治至关重要^[19]。

机体抗结核过程中引起的免疫反应以细胞免疫为主,其过程受多种细胞因子调节。其中 Th1 型细胞因子能够增加巨噬细胞的活性,对结核病有抑制作用^[20],而 Th2 型细胞因子可降低巨噬细胞的活性,对结核病的发生发展起促进作用^[21]。当发生细胞免疫时,Th1 细胞分泌的 IFN- γ 与 IL-10、IL-6 等细胞因子可激活巨噬细胞从而吞噬结核分枝杆菌^[22-23]。IFN- γ 具有广泛的抗病毒、抗胞内寄生虫及免疫调节等能

力,IFN- γ 释放试验也是确认病原体感染较为可靠的方法,具有早期诊断价值^[24]。

近年来,相关学者对结核病实验室诊断方法的研究较多,细胞因子联合检测为其中之一。本研究活动性肺结核患者血清中 IL-6、IFN- γ 水平明显高于健康体检者,也反映了 Th1 型细胞免疫反应增强。研究组 AGP、AAT、HAP 水平也高于对照组($P<0.05$),其变化机制可能与炎症反应等病理性改变有关,在免疫反应中细胞释放大量的 IL-6、TNF- α 可诱导肝细胞产生大量的 AAT^[25-26]。Spearman 相关分析显示,HAP 与 AGP、AGP 与 AAT、HAP 与 AAT 均呈正相关,提示在结核分枝杆菌感染引起的炎症反应中 AAT 可能伴随着 AGP 和 HAP 的产生而产生。ROC 曲线分析显示 AAT 单独检测诊断活动性肺结核的 AUC 最高,提示 AAT 对活动性肺结核患者的诊断价值优于其他检测指标。通过对数据进行分析发现,HAP、AGP、AAT 和细胞因子 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 联合检测的 AUC 大于各指标单独检测的 AUC。值得注意的是,HAP+AGP+AAT 与 IL-6+TNF- α 联合检测的 AUC 差异较小,表明 HAP+AGP+AAT 与 IL-6+TNF- α 对活动性肺结核的诊断均具有较高价值,同时联合检测可提高单独检测的灵敏度和特异度,因此联合检测能够有效鉴别活动性肺结核和健康人群,也更有助于对活动性肺结核的诊断。

综上所述,活动性肺结核患者血清 HAP、AGP、AAT 和细胞因子 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 水平与健康者存在差异,联合检测诊断效能较高,能够提高活动性肺结核实验室诊断的准确性,具有较高的应用价值。

参考文献

- [1] 杨田田,陈娜,李金玲,等.肺结核患者炎症介质及免疫细胞检验的意义[J]. 医疗装备,2020,33(2):45-46.
- [2] 毛佳斌,孙培英,徐金田.初治肺结核患者药物性肝损伤的危险因素分析及对策[J]. 中华全科医学,2016,14(11):1867-1869.
- [3] ZHANG Q, WU Z, ZHANG Z, et al. Efficacy and effect of free treatment on multidrug-resistant tuberculosis[J]. Exp Ther Med, 2016, 11(3):777-782.
- [4] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等.肺结核基层诊疗指南(2018 年)[J]. 中华全科医师杂志,2019,18(8):709-717.
- [5] 余卫业,谭卫国,罗一婷,等.2018WHO 全球结核报告:全球与中国关键数据分析[J/CD]. 新发传染病电子杂志,2018,3(4):228-233.
- [6] WU Y B, YE Z J, QIN S M, et al. Combined detections of interleukin 27, interferon-gamma, and adenosine deaminase in pleural effusion for diagnosis of tuberculous pleurisy[J]. Chin Med J (Engl), 2013, 126(17):3215-3221.
- [7] HAN M, XIAO H, YAN L. Diagnostic performance of nucleic acid tests in tuberculous pleurisy[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1):242.
- [8] 任甜甜,刘翔.结核感染 T 细胞斑点试验检测对老年活动性肺结核的诊断价值[J]. 河北医学,2017,23(4):623-626.
- [9] 陈大川,王在义.肺结核诊断的研究进展[J]. 临床肺科杂志,2016,21(1):145-148.
- [10] YANG E, WANG F, XU Y, et al. A lentiviral vector-based therapeutic vaccine encoding Ag85B-Rv3425 potentially increases resistance to acute tuberculosis infection in mice[J]. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai), 2015, 47(8):588-596.
- [11] VASIL' EVA E V, VERBOV V N, IVANOVSKII V B, et al. Combined determination of spontaneous and antigen-induced production of cytokines for differential diagnostics of active tuberculosis of lungs and latent tuberculosis infection[J]. Zh Mikrobiol Epidemiol Immunobiol, 2013(4):77-85.
- [12] ZELLWEGER J P, SOTGIU G, CORRADI M, et al. The diagnosis of latent tuberculosis infection (LTBI): currently available tests, future developments, and perspectives to eliminate tuberculosis (TB)[J]. Med Lav, 2020, 111(3):170-183.

- [13] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断标准(WS 288-2017)[J/CD]. 新发传染病电子杂志, 2018, 3(1):59-61.
- [14] 张术敏. 老年肺结核病患者的临床治疗进展分析[J]. 世界最新医学信息文摘, 2019, 19(27):42-49.
- [15] 孙琳. 肺结核合并呼吸衰竭患者的集束化治疗效果观察[J]. 中国医药指南, 2017, 15(8):126-127.
- [16] 匡林芝,周峥珍,张丽琼,等. 荧光定量聚合酶链反应检测在肺结核诊断中的应用价值[J]. 实用检验医师杂志, 2020, 12(1):26-28.
- [17] 沙巍. 结核分枝杆菌潜伏感染的化学预防干预[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2016, 39(1):13-15.
- [18] SETO J, SUZUKI Y, AHIKO T. Comparison of quantiferon[®] TB gold test results before and after endotoxin contamination[J]. Kekkaku, 2016, 91(2):49-52.
- [19] 马志强,王霖,王晓燕,等. 胸水 ADA、TB-DNA 及 BACTEC MGIT 960 快速联合检测在结核性胸膜炎中的诊断价值[J]. 昆明医科大学学报, 2020, 41(7):135-139.
- [20] 孙娜,张丽萍. 初治结核病与复治结核病患者外周血 T 细胞亚群的变化分析[J]. 中国医药指南, 2016, 14(9):183-184.
- [21] MUCHAIDZE R D, DANTSEV V V, BEZNOSIK R V, et al. Importance of social tuberculosis prophylaxis for the Armed Forces in present conditions[J]. Voenn Med Zh, 2016, 337(2):9-12.
- [22] SU W L, PERNG W C, HUANG C H, et al. Association of reduced tumor necrosis factor alpha, gamma interferon, and interleukin-1beta (IL-1beta) but increased IL-10 expression with improved chest radiography in patients with pulmonary tuberculosis[J]. Clin Vaccine Immunol, 2010, 17(2):223-231.
- [23] MILY A, SARKER P, TAZNIN I, et al. Slow radiological improvement and persistent low-grade inflammation after chemotherapy in tuberculosis patients with type 2 diabetes[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1):933.
- [24] ZELLWEGER J P, SOTGIU G, BLOCK M, et al. Risk Assessment of Tuberculosis in Contacts by IFN-gamma Release Assays. A Tuberculosis Network European Trials Group Study[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2015, 191(10):1176-1184.
- [25] TECKMAN J H. Emerging Concepts and Human Trials in Alpha-1-Antitrypsin Deficiency Liver Disease[J]. Semin Liver Dis, 2017, 37(2):152-158.
- [26] MOSTAFAVI B, DIAZ S, TANASH H A, et al. Liver function in alpha-1-antitrypsin deficient individuals at 37 to 40 years of age[J]. Medicine (Baltimore), 2017, 96(12):e6180.