

细胞因子在结核病中的研究新进展*

吴汉霞¹综述,张荣波^{1△},杨 剑²审校(1. 安徽理工大学医学院病原微生物教研室,安徽淮南 232001; 2. 淮南新华医疗集团新华医院内科,安徽淮南 232052)

【关键词】 结核病; 肿瘤坏死因子- α ; 可溶性白细胞介素 2 受体

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.21.069

中图分类号:R52

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2010)21-2414-03

结核病是由结核分支杆菌(MTB)引起的为人畜共患病,是国际上公认的三大传染病之一。据估计,全世界有 1/3 的人口感染 MTB,每年约有 200 万结核病患者死亡^[1]。人体感染结核杆菌后不一定发病,仅在抵抗力降低时发病。从免疫学观点看,结核病是一种与免疫反应密切相关的感染性疾病,感染过程以免疫反应占主导地位,多种细胞因子(CK)参与结核病的免疫应答及免疫发病过程,结核病是一种免疫紊乱性疾病^[2]。细胞因子通过与细胞表面相应受体结合,激活或者抑制淋巴细胞及抗原提呈细胞,在介导机体多种免疫反应如感染免疫、肿瘤免疫、自身免疫等过程中发挥重要的甚至是中心的作用。近年来,随着细胞和分子免疫学的进展,有关细胞因子在结核病免疫发病中的作用有了广泛而深入的研究,已成为当今国内外学者关注的焦点。这些细胞因子是肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素和干扰素(IFN),其中 TNF- α 和可溶性白细胞介素 2 受体(SIL-2R)备受关注,它们是体内细胞因子网络的重要组成部分,本文旨将近几年来有关结核病与相关细胞因子研究作一综述。

1 肿瘤坏死因子- α (TNF- α)

1.1 TNF- α 的生物学性质

TNF 分两大类:主要由活化的巨噬细胞产生的称为 TNF- α ;主要由活化的 T 细胞产生的称为 TNF- β 。巨噬细胞是 MTB 在体内的居留场所,同时也是抵抗 MTB 的第一道防线。TNF- α 是启动抗菌炎症反应的关键细胞因子,是由 157 个氨基酸组成的非糖基化蛋白质,相对分子质量为 17×10^3 ,它同其他细胞因子共同参与维持机体内环境等生理过程,同时又介导感染、创伤及免疫应答反应。在正常情况下,血液中的 TNF- α 水平较低,在外伤、炎症反应及应激条件下产生增加。一般来说,适宜的增加对机体的防御等起保护作用,如果表达下降则会造成 MTB 的大量繁殖,而过度的增加则会引起组织细胞的免疫病理损害,TNF- α 造成组织损伤的机制还不是太清楚^[3]。Price 等^[4]对此进行了研究,发现 TNF- α 能够通过自分泌和旁分泌的方式上调基质金属蛋白酶 9 的分泌,后者会造成组织的破坏。TNF- α 是一类能引起肿瘤组织出血坏死的细胞因子,也是重要的前炎症反应因子和免疫调节因子,同时与发热和恶液质形成有关。TNF- α 的生物学活性主要有:(1)刺激单核细胞,激活巨噬细胞发挥免疫调节作用;(2)通过对 T、B 淋巴细胞调节机体的免疫功能,诱导细胞增殖,(3)激活 IL-8 等细胞因子;(4)上调黏附分子(如 ICAM-1)表达,增加同型和异型细胞间黏附作用,促进巨噬细胞活化,增强其吞噬作用,参与肉芽肿形成等多种免疫效应。TNF- α 在抗结核感染中的作用为^[5]:(1)抵抗结核杆菌的感染;(2)促进结核性肉芽肿的形成;(3)诱导感染结核菌的巨噬细胞凋亡;(4)参与铁介导的结核杆菌生长抑制;(5)可维持结核杆菌的休

眠状态。TNF- α 还是一关键负性调节因子,它通过抑制 T 细胞增殖,限制激活 T 细胞数目,从而控制 I 型免疫激活水平,避免宿主对结核杆菌作出过激反应^[6]。

1.2 TNF 在肺结核中的表达

TNF- α 是重要的前炎症反应因子和免疫调节因子,不仅参与结核病的发病过程,且与结核病炎症反应程度相关^[7]。国内外的研究报道表明,结核病活动期患者 TNF- α 血清中水平明显高于健康对照组。He 等^[8]对 101 人的研究发现,痰培养阳性患者外周血 TNF- α 和 IL-10 的水平明显高于健康人。杨颖乔和彭圣威^[9]对 59 例活动性肺结核患者治疗前血清 TNF- α 和 IL-4 进行检测,并与 63 例非活动性肺结核和 48 例健康人比较,发现活动性肺结核与非活动性肺结核患者血清 TNF- α 和 IL-4 水平显著高于健康对照组,活动性肺结核患者血清 TNF- α 和 IL-4 水平又高于非活动性肺结核患者。许忆新等^[10]对 53 例活动性结核患者、49 例静止期患者以及 50 例健康对照者进行分组,检测其空腹静脉血清的 TNF- α 并进行比较与分析,发现活动性肺结核组和静止期组血清中 TNF- α 水平均高于健康对照组,且活动性肺结核组高于静止期组。孙业富等^[11]和林小田等^[12]发现,肺结核患者血清中的 TNF- α 水平明显高于健康对照组。血清 TNF- α 水平增高与病灶局部大量巨噬细胞的聚集、活化以及释放大量的 TNF- α 有关,血液循环中过量 TNF- α 反过来作用于局部,使病灶更易于播散。血清 TNF- α 可作为判断肺结核病情变化及活动性的重要指标。

结核性胸水中的 TNF- α 的研究也有不少报道,许西琳等^[13]和孙集思等^[14]采用双抗体夹心 ELISA 法对结核性及癌性胸水 TNF- α 测定,结果显示结核性胸膜炎组 TNF- α 与恶性胸腔积液组差异有统计学意义($P < 0.01$),诊断结核性胸水其敏感度为 80.5% 和 85.3%,特异度分别为 82.4% 和 83.3%。结核性胸水中巨噬细胞功能十分活跃,在结核杆菌细胞壁的蛋白——肽多糖复合物和阿拉伯聚糖酯刺激下激发胸液单核细胞引起依赖性肿瘤坏死因子释放。胸水中的 TNF- α 水平不但反映了胸腔中炎症反应的不同状态,而且也有助于结核性胸水的鉴别诊断。

张欣等^[15]对尘肺结核患者血清中的 TNF- α 研究发现尘肺结核组血清 TNF- α 浓度低于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),并且随尘肺期别的增加,TNF- α 水平逐渐降低。原因可能是患者先是在无机粉尘的长期刺激下,引起了肺泡巨噬细胞凋亡,导致 TNF- α 分泌逐渐减少,免疫功能不断下降,进一步并发结核的结果。

2 可溶性白细胞介素 2 受体(SIL-2R)

2.1 SIL-2R 的来源与生物学性质

SIL-2R 由 Rubin 等^[16]于

* 基金项目:安徽省高等学校省级自然科学基金项目(KJ2009A164);淮南市科技计划项目。△ 通讯作者,E-mail:zh-angrb@163.com。

1985 年首次发现并报道,它是一种重要的免疫抑制因子,IL-2 介导的免疫反应密切相关。IL-2 亦称为细胞生长因子,是 1976 年 Morgan 等在激活的淋巴细胞培养的上清液中分离出的一种促 T 淋巴细胞生长和繁殖的细胞活素,各种细胞表面均有能与 IL-2 结合的蛋白,称为 IL-2 受体。IL-2 受体有两种:表达在细胞膜表面的膜结合型 mIL-2R 和游离于血清中的 SIL-2R。白细胞介素 2 受体(IL-2R)主要由活化的 T 淋巴细胞释放,它由 3 个亚单位组成,即 IL-2R- α 、IL-2R- β 和 IL-2R- γ 。SIL-2R 是来源于活化的 T 细胞膜上 IL-2R α 链的成分,它可与 IL-2 相互作用介导体内免疫反应。SIL-2R 由 IL-2 诱导产生,它作为一种低亲和力受体可与 MIL-2R 竞争结合 IL-2,通过中和活化 T 细胞周围的 IL-2 和抑制已活化的 T 细胞克隆扩增,从而抑制机体的免疫反应^[17]。有研究现,不同浓度的 SIL-2 显示不同的效应,浓度高于 5 mg/L 可抑制 IL-2 依赖性增殖,而浓度低于 2.5 mg/L 时则有促进作用。故 SIL-2R 具有双向免疫调控作用^[18]。

2.2 SIL-2R 在肺结核中的表达 机体抗结核免疫主要是细胞免疫,SIL-2R 作为一种细胞免疫因子,在人体免疫应答中起重要的调节作用。SIL-2R 在结核病病灶以及全身的表达是通过调节 IL-2 的水平,致使 Th1 型 CK 产生减少,Th1/Th2 平衡失调,机体防御结核杆菌感染能力下降,所以结核病患者 SIL-2R 水平与机体所处的免疫状态及病情严重程度密切相关。激活的淋巴细胞在膜表面表达 MIL-2R 的同时也向外释放 SIL-2R,使得细胞恢复至静息状态。SIL-2R 可作为循环中单个核细胞活化的敏感定量指标,也有助于肺结核活动病情的判别^[19]。国内外的研究报道表明,结核病活动期患者血清中 SIL-2R 水平明显高于健康对照组。Tabata 等^[20]报道一位 80 岁的老人纵隔癌合并肺结核,SIL-2R 水平显著增高,经过抗结核治疗后,SIL-2R 水平明显下降。Fujiwara 等^[21]也报道了 1 例结核性胸腔积液中 SIL-2R 显著增高,经过抗结核治疗后,SIL-2R 水平明显下降。梁翠铭和黄敏^[22]分别检测 42 例健康对照以及 89 例肺结核患者(包括结核性胸膜炎患者)的血清 SIL-2R 水平,发现肺结核及结核性胸膜炎患者血清 SIL-2R 明显高于健康人,差异有统计学意义($P < 0.01$),与病程长短差异无显著性。汪慧芸和王蓓^[23]对 35 例健康人、44 例患者和 25 例患者恢复期进行 SIL-2R 水平检测,结果分别是(148.2 \pm 104.5)、(511.7 \pm 212.5)和(190.5 \pm 122.6)U/mL,经过统计学分析,健康人与患者组有显著性差异,健康人与患者恢复组有差异。姚勇良^[24]也做了与汪慧芸相同的研究,所得出的结果也相同。SIL-2R 在患者血清和胸腔积液中表达增加,在有些结核患者的脑脊液中的含量也增加,梁翠铭和黄敏^[25]对 21 例结核性脑膜炎患者的血清及脑脊液中的 SIL-2R 浓度进行了测定,发现健康人血清及脑脊液中的 SIL-2R 均处在较低水平,其在结核病患者中会明显升高。进展期肺结核患者血清 SIL-2R 大幅度升高,说明结核菌可以作为抗原刺激机体内和肺组织 T 淋巴细胞激活,释放出大量的 SIL-2R。随着患者病情逐渐好转,血清中 SIL-2R 水平逐渐降低,说明 SIL-2R 水平与肺结核严重程度和预后密切相关。可见,在结核患者的治疗过程中,全程检测血清 SIL-2R 水平,进行疾病动态监测,根据血清 SIL-2R 水平的变化来有效地评价疾病的发展情况和预后。

3 结 语

结核病是一种迟发型的细胞免疫反应,结核菌感染人体后,作为一种特异性抗原,刺激巨噬细胞释放 TNF- α 和多种细

胞因子,同时促进 T 淋巴细胞分化繁殖,释放大量的 SIL-2R 入血,这两种细胞因子在结核病的发展与分期方面起到了非常重要的作用。它们是体内重要的调节因子,特别是在诊断与鉴别诊断方面的研究,有望对结核病的快速诊断提供一项有价值的新指标。TNF 是控制结核杆菌感染的重要前炎性反应细胞因子,它的抗结核作用其他细胞因子无法替代^[26],但研究者发现利用 TNF- α 制剂治疗患者会增加患者患结核病的概率^[27]。SIL-2R 可以间接反映药物治疗效果^[28],但利用 SIL-2R 治疗和预防结核病的研究较少,在这方面,还有很长的路要走。

不过随着研究者对结核杆菌致病机制及其免疫机制的进一步研究,对细胞因子与结核病的关系进一步摸索,随着分子生物学、遗传学、蛋白质组学和基因组学的进一步发展,人类一定能战胜结核病这一顽疾。

参考文献

- [1] Silva BD, da Silva EB, Do Nascimento IP, et al. MPT-51/ CpG DNA vaccine protects mice against Mycobacterium tuberculosis[J]. Vaccine, 2009, 27(33): 4402-4407.
- [2] Yew WW, Leung CC. Update in tuberculosis 2008[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2009, 179(5): 337-343.
- [3] Jacobs M, Togbe D, Fremond C, et al. Tumor necrosis factor is critical to control tuberculosis infection [J]. Microbes and Infection, 2007, 9(5): 623-628.
- [4] Price NM, Gilman RH, Uddin J, et al. Unopposed matrix metallo-proteinase-9 expression in human tuberculous granuloma and the role of TNF-alpha-dependent monocyte networks[J]. J Immunol, 2003, 171(10): 5579-5586.
- [5] 陶昆, 卢贤瑜. 肿瘤坏死因子- α 抗结核免疫作用研究进展 [J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(2): 143-145.
- [6] Zganiacz A, Santosuosso M, Wang J, et al. TNF-alpha is a critical negative regulator of type 1 immune activation during intracellular bacterial infection[J]. J Clin Invest, 2004, 113: 401-413.
- [7] Colebunders R, John L, Huyst V, et al. Tuberculosis immune reconstitution inflammatory syndrome in countries with limited resources [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2006, 10(9): 946-953.
- [8] He XY, Xiao L, Chen HB, et al. T regulatory cells and Th1/Th2 cytokines in peripheral blood from tuberculosis patients[J]. European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Dis, 2010, 29(6): 643-650.
- [9] 杨颖乔, 彭圣威. 肺结核患者细胞因子水平测定的临床研究[J]. 咸宁学院学报: 医学版, 2009, 23(3): 211-212.
- [10] 许忆新, 李爱美, 黄干. 肺结核患者血清 TNF- α 、瘦素、脂联素检测的研究[J]. 实用预防医学, 2007, 14(3): 690-692.
- [11] 孙业富, 李勇, 夏爱萍. 肺结核患者治疗前后血清 NO/NO S、TNF- α 检测的临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2008, 21(2): 142-143.
- [12] 林小田, 谢媛琪, 王昱. 肺结核病患者外周血前炎性因子及细胞亚群凋亡的研究[J]. 华南国防医学杂志, 2009, 23(5): 1-4.
- [13] 许西琳, 李俊岭, 杨军. 胸水中 TB-DNA、TNF- α 、IFN- γ

- 检测对结核性胸水的诊断价值研究[J]. 实用医学杂志, 2007, 23(8): 1151-1153.
- [14] 孙集思, 陈亦洋, 金周德. TNF- α 测定对结核性胸膜炎的诊断价值[J]. 中国社区医师: 医学专业半月刊, 2008, 10(13): 130.
- [15] 张欣, 张荣波, 许礼发. 尘肺结核患者血清中某些免疫指标的表达式及意义[J]. 中国职业医学, 2008, 35(1): 31-32.
- [16] Rubin LA, Tsudo M, Minamoto S, et al. Soluble interleukin-2 receptors are released from activated human lymphoid cell invitro[J]. J Immunol, 1985, 135(5): 3172.
- [17] Ottaiano A, Leonardi E, Simeone E, et al. Soluble interleukin-2 receptor in stage I-III melanoma[J]. Cytokine, 2006, 33(3): 150-155.
- [18] 张建强, 王满侠. 可溶性细胞间黏附分子-1 和可溶性白细胞介素-2 受体与颅内感染[J]. 山东医药, 2009, 49(33): 106-107.
- [19] Shitrit D, Izbicki G, Bar-Gil Shitirt A, et al. Role of Soluble interleukin-2 receptor levels in patients with latent tuberculosis[J]. Lung, 2006, 184(1): 21-24.
- [20] Tabata H, Mochizuki Y, Nakahara Y, et al. Case of pulmonary tuberculosis with miliary granules, mediastinal lymph node enlargement and elevation of soluble interleukin-2 receptor[J]. Kekkaku, 2009, 84(6): 485-489.
- [21] Fujiwara Y, Takahashi N, Koto H. A case of tuberculosis pleuritis with high serum soluble IL-2 receptor[J]. J Japanese Respiratory Society, 2004, 42(2): 191-194.
- [22] 梁翠铭, 黄敏. SIL-2R 测定在肺结核病中的应用[J]. 实用医技杂志, 2008, 15(7): 861-862.
- [23] 汪慧芸, 王蓓. 肺结核患者血清 IL-2、SIL-2R 和 VEGF 水平变化及临床意义[J]. 放射免疫学杂志, 2007, 20(3): 251-252.
- [24] 姚永良. 肺结核患者血清 SIL-2R 和外周血 T 淋巴细胞亚群的相关性探讨[J]. 放射免疫学杂志, 2008, 21(1): 75-76.
- [25] 梁翠铭, 黄敏. 可溶性白细胞介素 2 受体测定在结核性脑膜炎中的应用[J]. 检验医学与临床, 2008, 5(12): 746.
- [26] Quesniaux VF, Jacobs M, Allie N. TNF in host resistance to tuberculosis infection[J]. Curr Dir Autoimmun, 2010, 11: 157-179.
- [27] Lin PL, Myers A, Smith L, et al. Tumor necrosis factor neutralization results in disseminated disease in acute and latent Mycobacterium tuberculosis infection with normal granuloma structure in a cynomolgus macaque mod[J]. Arthritis Rheum, 2010, 62(2): 340-350.
- [28] 乐荣芳, 黄志余. 卡介菌多糖核酸辅助治疗对结核病患者血清可溶性白细胞介素 2 受体的影响[J]. 海峡药学, 2008, 20(9): 79-80.

(收稿日期: 2010-06-08)

蛋氨酸合成酶基因多态性的临床研究新进展

黄庆梅 综述, 蒙开善 审校(广西壮族自治区横县人民医院检验科 530300)

【关键词】 蛋氨酸合成酶; 同型半胱氨酸; 基因多态性

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2010.21.070

中图分类号: R394; R741

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)21-2416-02

近几年研究证实, 高同型半胱氨酸(Hcy)血症是栓塞和心血管疾病的一个独立危险因素, 血浆中 Hcy 水平与经造影而证实的冠心病病死率之间有很强的相关性。蛋氨酸合成酶(MS)是催化 Hcy 复甲基为甲硫氨酸的主要合成酶^[1]。若 MS 发生变异, 可能就会引起 Hcy 的浓度的升高。本文就 MS 的结构、生理功能及其基因多态性在临床中的研究新进展作一综述。

1 MS 的生物特性

MS 是 Hcy 代谢再甲基化途径的一个关键酶, MS 基因定位于染色体 1p43^[2], 靠近长臂端粒区, 编码序列包括 3 795 kb, 编码长度为 1 265 个氨基酸的多肽链, 有 11~29 个残基超过了已知的 MS 序列长度, MS 基因包括 1 个外显子和 1 个内含子。MS 的主要生化功能是催化 Hcy 复甲基为甲硫氨酸。甲硫氨酸是人体必需氨基酸之一, 甲硫氨酸在转甲基前, 与 ATP 作用生成 S-腺苷甲硫氨酸(sadenosl methionine, SAM), SAM 中甲基是高度活化的, 体内约有 50 多种物质需要 SAM 提供甲基, 以生成甲基化合物, 甲基化作用是一种重要的代谢反应, 具有广泛的生理意义。可见 MS 是 Hcy 在甲基化途径中的关

键酶, 如果编码此酶的基因发生突变, 将引起相应的酶缺乏或活性发生改变, 从而导致 Hcy 代谢异常^[2-4]。

2 MS 基因多态性

国内外许多研究已证实, MS 基因突变有十余种, 已知的人类 MS 基因突变中第 2 756 位碱基 A/G 较为常见^[2], 且可导致血清 Hcy 水平的改变。MS 基因突变即 2 756 位 A→G 导致 919 位密码子的缺失突变, 使编码的天冬氨酸置换为甘氨酸。由于该密码子编码的氨基酸位于酶活性区域, 因此该位点突变会通过改变蛋白质的二级结构, 使 MS 活性减弱, 从而影响 Hcy 代谢过程, 导致血浆中 Hcy 处在高水平状态^[2-5]。

2.1 MS 基因多态性在不同种族间的分布 Leclerc 等于 1996 年首先对此基因改变进行系统研究描述, 此后许多研究表明 MS 基因多态性分布具有显著的种族差异性, 白种人 MS A/G 杂合子频率为 32%, G/G 纯合子为 4%。国内的广东、河南、江苏等地亦有学者对当地人群的 MS 基因多态性进行研究, 国内报道 MS A/G 杂合子频率为 17%, G/G 纯合子为 1%^[6-8]。齐华等^[8]研究发现河南汉族人群 MS A2 756G 的等位基因频率为 10.0%, 低于欧洲白人的 20.9%, 但与美国白人