

· 论 著 · DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2023. 14. 013

脑脊液 TNF- α 和 IFN- γ 检测在新生儿化脓性脑膜炎诊断中的意义^{*}

赵晓芬¹, 杨米凤¹, 郝婷婷¹, 蒋鸿超², 赵朋娜¹, 熊 飞¹, 冯星星^{2 Δ}

昆明市儿童医院:1. 新生儿科;2. 检验科, 云南昆明 650228

摘要:**目的** 探讨脑脊液肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和干扰素- γ (IFN- γ)在新生儿化脓性脑膜炎(NPM)诊断中的意义。**方法** 选取 2021 年 1 月至 2022 年 1 月该院新生儿科收治的疑似 NPM 的 100 例患儿作为研究对象,均在入院后 24 h 内进行脑脊液检测,将脑脊液常规检测及生化检查符合 NPM 诊断的 50 例患儿作为 NPM 组,将脑脊液常规检测及生化检查均正常的 50 例患儿作为对照组。采用流式荧光法检测脑脊液 TNF- α 和 IFN- γ 水平,同时检测外周血白细胞计数(WBC)和血清 C 反应蛋白(CRP)及降钙素原(PCT)水平。采用受试者工作特征曲线评价脑脊液 TNF- α 和 IFN- γ 水平对 NPM 的诊断价值。**结果** NPM 组和对照组 WBC、CRP、PCT 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);NPM 组脑脊液 TNF- α 、IFN- γ 水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** 脑脊液 TNF- α 和 IFN- γ 水平检测对 NPM 的诊断具有一定临床意义,并且有助于对脑脊液培养阴性及经验性使用抗菌药物治疗过的化脓性脑膜炎进行辅助诊断。

关键词:脑脊液; 肿瘤坏死因子- α ; 干扰素- γ ; 化脓性脑膜炎; 新生儿

中图分类号:R512.3

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)14-2045-04

Significance of detection of TNF- α and IFN- γ in cerebrospinal fluid in the diagnosis of neonatal purulent meningitis^{*}

ZHAO Xiaofen¹, YANG Mifeng¹, HAO Tingting¹, JIANG Hongchao²,

ZHAO Pengna¹, XIONG Fei¹, FENG Xingxing^{2 Δ}

1. Department of Neonatology; 2. Department of Clinical Laboratory, Kunming Children's Hospital, Kunming, Yunnan 650228, China

Abstract: Objective To investigate the significance tumor necrosis factor- α (TNF- α) and interferon- γ (IFN- γ) in cerebrospinal fluid in the diagnosis of neonatal purulent meningitis (NPM). **Methods** A total of 100 neonates with suspected NPM admitted to the Department of Neonatology of the hospital from January 2021 to January 2022 were selected as the research objects, and their cerebrospinal fluid was detected within 24 hours after admission. The 50 children whose routine cerebrospinal fluid test and biochemical examination met the diagnosis of NPM were enrolled as NPM group, and the 50 children whose routine cerebrospinal fluid test and biochemical examination were normal were enrolled as control group. The levels of TNF- α and IFN- γ in cerebrospinal fluid, peripheral white blood cell count (WBC) and serum C-reactive protein (CRP) and procalcitonin (PCT) were measured by flow fluorescence assay. Receiver operating characteristic curve was used to evaluate the diagnostic value of TNF- α and IFN- γ levels in cerebrospinal fluid for NPM. **Results** There was no significant difference in WBC, CRP and PCT levels between NPM group and control group ($P>0.05$). The levels of TNF- α and IFN- γ in cerebrospinal fluid of NPM group were significantly higher than those of control group ($P<0.05$). **Conclusion** The detection of TNF- α and IFN- γ levels in cerebrospinal fluid has a certain clinical significance in the diagnosis of NPM, and it is helpful for the auxiliary diagnosis of purulent meningitis with negative cerebrospinal fluid culture and empirical antibiotic treatment.

Key words: cerebrospinal fluid; tumor necrosis factor- α ; interferon- γ ; purulent meningitis; neonatal

新生儿化脓性脑膜炎(NPM)是新生儿期常见的中枢神经系统感染性疾病,其临床表现特异性差,早期因症状不典型容易漏诊,该病对生命具有潜在威胁,可迅速进展为脑损害,甚至死亡。幸存者可留有不同程度的神经系统后遗症,如失听、失明、癫痫、脑积水、智力和(或)运动功能障碍等,给家庭及社会带

^{*} 基金项目:昆明市卫生科技人才培养项目暨“十百千”工程培养计划项目[2021-SW(省)-22];昆明市卫生健康委员会卫生科研课题(2020-11-01-119)。

作者简介:赵晓芬,女,主任医师,主要从事新生儿感染性疾病方面的研究。 ^{Δ} 通信作者, E-mail: fengxingxing@etyy. cn。

来极大的负担。NPM 的总发病率在发达国家已下降至 0.3‰,发展中国家下降至 0.8‰~6.1‰;NPM 病死率在发达国家下降至 10%~15%,发展中国家下降至 40%~60%^[1-2]。目前,脑脊液培养仍然是诊断 NPM 的“金标准”,但由于病原菌阳性检出率低,临床医生经验性使用透过血脑屏障的抗菌药物治疗及心肺功能不稳定的患儿腰椎穿刺延迟,均可影响脑脊液检查,因此,需要寻找具有较高特异度及灵敏度的脑脊液生化指标帮助及时诊断。肿瘤坏死因子-α(TNF-α)是细菌性脑膜炎研究较多的细胞因子之一,已被确定是提高脑膜炎诊断的有效辅助指标,特别是在脑脊液检测不确定的情况下^[3-4]。经验性使用抗菌药物治疗过但脑脊液培养阴性的患儿,干扰素-γ(IFN-γ)可预测化脓性脑膜炎,有利于快速诊断和治疗^[5]。本研究采用前瞻性研究方法,通过检测疑似 NPM 患儿脑脊液中 TNF-α 和 IFN-γ 水平,探讨 TNF-α 和 IFN-γ 水平对 NPM 的诊断临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2021 年 1 月至 2022 年 1 月本院新生儿科收治的疑似 NPM 的 100 例患儿作为研究对象。所有患儿早期临床表现为发热、拒乳、腹胀、皮肤重度黄染等。将脑脊液常规检测及生化检查符合 NPM 诊断的 50 例患儿作为 NPM 组,其中 12 例经验性使用过抗菌药物治疗,脑脊液培养阳性 9 例(大肠埃希菌 6 例,无乳链球菌 2 例,奈瑟菌 1 例),合并肺炎 20 例,新生儿高胆红素血症 15 例,坏死性小肠结肠炎 6 例。将脑脊液常规检测及生化检查均正常的 50 例患儿作为对照组,均诊断为新生儿脓毒症,血培养阳性 3 例(大肠埃希菌 1 例,肺炎克雷伯菌 1 例,人葡萄球菌 1 例),合并肺炎 17 例,新生儿高胆红素血症 12 例,坏死性小肠结肠炎 2 例,尿路感染 4 例。两组患儿出生胎龄、日龄、出生体质量、性别等一般资料比较,差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性,见表 1。纳入标准:(1)日龄 ≤ 28 d;(2)有发热、抽搐等临床表现;(3)血培养阳性;(4)实验室非特异性感染指标 ≥ 2 项阳性^[6]。排除标准:患有可能会影响脑脊液 TNF-α 和 IFN-γ 水平的疾病,如新生儿缺血缺氧性脑病、颅内出血、遗传代谢性疾病等。NPM 诊断标准^[7]:(1)脑脊液细菌培养阳性;(2)脑脊液常规检测及生化检查为①白细胞计数(WBC) $\geq 20\times 10^6$ /L;②蛋白为足月儿 >1.7 g/L;③葡萄糖 <2.2 mmol/L 或低于当时血糖的 40%。所有研究对象的家长均知情同意并签署知情同意书。本研究经本院医学伦理委员会审核批准(2021-03-042-K01)。

1.2 方法 入院后立即进行血常规、C 反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)及血培养等检查。24 h 内进行腰椎穿刺,采集脑脊液 2.5 mL,其中 1.5 mL 用于常规及生化检查,0.5 mL 用于脑脊液培养及药敏试验,另外 0.5 mL 采用 EP 管留取,置于-20℃冰箱保

存待检。采用流式荧光法(试剂盒由成都睿科美医疗科技有限公司提供)检测脑脊液 TNF-α、IFN-γ 水平,严格按照试剂盒说明书进行操作。

表 1 两组患儿一般资料比较 $[\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]						
组别	<i>n</i>	出生胎龄 (周)	日龄 (d)	出生体质量 (g)	性别	
					男	女
NPM 组	50	38.3±0.2	17.1±1.3	3 049±80	33(66.0)	17(34.0)
对照组	50	38.6±0.3	14.4±1.2	3 175±91	27(54.0)	23(46.0)
<i>t</i> / χ^2		0.716	1.518	1.031	1.732	
<i>P</i>		0.401	0.832	0.362	0.083	

1.3 统计学处理 采用 SPSS26.0 统计软件进行数据分析处理。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验;不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25},P_{75})$ 表示,两组间比较采用非参数 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。绘制受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评价诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿血清 WBC、CRP、PCT 水平比较 两组患儿 WBC、CRP、PCT 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。见表 2。

表 2 两组患儿血清 WBC、CRP、PCT 水平比较 $[\bar{x}\pm s$ 或 $M(P_{25},P_{75})$]				
组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9$ /L)	CRP(mg/L)	PCT(ng/mL)
NPM 组	50	13.73±4.32	5.26(0.50,38.14)	0.63(0.25,3.52)
对照组	50	12.34±3.14	1.79(0.50,18.04)	0.25(0.25,1.64)
<i>t</i> / <i>Z</i>		1.159	1.481	1.021
<i>P</i>		0.252	0.224	0.312

2.2 两组患儿脑脊液 TNF-α、IFN-γ 水平比较 NPM 组患儿脑脊液 TNF-α、IFN-γ 水平均明显高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

表 3 两组患儿脑脊液 TNF-α、IFN-γ 水平比较 $[M(P_{25},P_{75}),\text{pg/mL}]$			
组别	<i>n</i>	TNF-α	IFN-γ
NPM 组	50	3.33(1.68,26.53)	2.07(0.95,4.87)
对照组	50	0.99(0.70,1.56)	0.33(0.24,1.03)
<i>Z</i>		3.615	3.232
<i>P</i>		<0.05	<0.05

2.3 脑脊液 TNF-α 和 IFN-γ 水平对 NPM 的早期诊断价值 以 NPM 作为状态变量,以 TNF-α 和 IFN-γ 作为检验变量绘制 ROC 曲线,结果显示,TNF-α、IFN-γ 诊断 NPM 的灵敏度分别为 81.1%、68.4%,特异度分别为 85.1%、74.4%,见图 1、表 4。

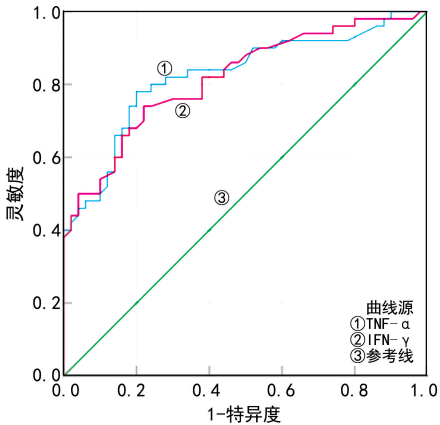


图 1 TNF-α 和 IFN-γ 诊断 NPM 的 ROC 曲线

表 4 TNF-α 和 IFN-γ 对 NPM 的诊断价值

指标	AUC	95%CI	灵敏度(%)	特异度(%)
TNF-α	0.825	0.742~0.907	81.1	85.1
IFN-γ	0.817	0.735~0.900	68.4	74.4

3 讨 论

新生儿免疫功能发育不成熟,血脑屏障功能不完善,感染容易扩散,因此,较其他年龄段的儿童更易发生化脓性脑膜炎。细菌入侵新生儿后,通过血脑屏障进入颅内并大量繁殖,激活免疫反应,致大量炎症因子释放,破坏神经组织并导致血管损伤,使脑脊液循环发生障碍,引起脑水肿和颅内高压。NPM 临床表现无特异性,本研究结果显示,NPM 组和对照组早期 WBC、CRP 及 PCT 水平比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

中枢神经系统感染时,机体识别入侵的病原体引起炎症反应,星形胶质细胞、小胶质细胞、内皮细胞、室管膜细胞和定居的巨噬细胞通过释放细胞因子,如 TNF-α、白细胞介素(IL)-1β、IL-6 对入侵的病原体做出反应^[8]。TNF-α 是一种重要的早期前炎症细胞因子,与细菌性脑膜炎的炎症反应相关并发症有关^[9]。PRASAD 等^[10]研究发现,化脓性脑膜炎患儿脑脊液 TNF-α 水平明显升高,对诊断化脓性脑膜炎具有很高的特异度及灵敏度,同时,较高 TNF-α 水平与化脓性脑膜炎的不良预后有关,其次对不确定的患儿具有辅助诊断作用。SHARMA 等^[11]研究发现,结核性脑膜炎患者血清和脑脊液 TNF-α 水平与增加脑积水严重程度明显相关,提示 TNF-α 在结核性脑膜炎的发病机制和严重程度中发挥重要作用。IFN-γ 是人类先天性免疫与获得性免疫中的重要分子,是多种免疫细胞产生的多效性细胞因子,主要参与刺激巨噬细胞和白细胞的非特异性防御机制^[12-13]。IFN-γ 激活巨噬细胞产生 TNF-α,TNF-α 与 IFN-γ 协同作用,增加巨噬细胞的吞噬作用和杀灭微生物活性。化脓性脑膜炎患者脑脊液 IFN-γ 是由 IL-12 和 TNF-α 作为共刺激因子诱导产生的^[4,12]。有研究表明,IFN-γ 参与肺

炎链球菌脑膜炎的发病机制,是脑脊液中唯一显示较高水平的蛋白且不受腰椎穿刺时间的影响^[4]。检测脑脊液 IFN-γ 水平,可提高结核性脑膜炎的诊断率,而且在结核性脑膜炎患者中,动态监测脑脊液 IFN-γ 水平发现,治疗后 IFN-γ 水平下降^[14]。在脑脊液培养阴性且经验性使用过抗菌药物的细菌性脑膜炎患者中,IFN-γ 可以快速辅助其诊断^[5]。本研究结果显示,NPM 组患儿脑脊液 TNF-α、IFN-γ 水平均明显高于对照组,提示脑脊液 TNF-α、IFN-γ 水平检测有助于 NPM 的诊断,与国内外学者的研究结果一致^[4-5,15]。

综上所述,TNF-α 和 IFN-γ 对诊断 NPM 具有一定临床意义。此外,对脑脊液培养阴性且经验性使用过抗菌药物治疗的脑膜炎患儿,脑脊液中糖和蛋白质联合 TNF-α 及 IFN-γ 检测,可辅助诊断 NPM。本研究的局限性在于未监测治疗后脑脊液细胞因子水平变化情况,未同时检测血清细胞因子水平;其次未对经验性使用过抗菌药物的患儿进行单独研究。计划下一步同时开展 NPM 患儿脑脊液及血清细胞因子水平检测,以及检测治疗后其水平变化情况;对经验性使用过抗菌药物治疗的疑似化脓性脑膜炎患儿进行单独研究,可能更有助于了解细胞因子在 NPM 病程中的变化意义,及时、准确诊断并合理使用抗菌药物,从而尽可能减少不必要的抗菌药物暴露和治疗相关并发症。

参考文献

[1] MAO D H, MIAO J K, ZOU X, et al. Risk factors in predicting prognosis of neonatal bacterial meningitis-a systematic review[J]. Front Neurol, 2018, 9: 929.

[2] HAFFNER D N, MACHIE M, HONE E, et al. Predictors of neurodevelopmental impairment after neonatal bacterial meningitis[J]. J Child Neurol, 2021, 36(11): 968-973.

[3] KALCHEV Y, PETKOVA T, RAYCHEVA R, et al. Combined testing of cerebrospinal fluid IL-12 (p40) and serum C-reactive protein as a possible discriminator of acute bacterial neuroinfections[J]. Cytokine, 2021, 140: 155423.

[4] COUTINHO L G, GRANDGIRARD D, LEIB S L, et al. Cerebrospinal-fluid cytokine and chemokine profile in patients with pneumococcal and meningococcal meningitis[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13: 326.

[5] JAFARI M, JAHANI P M, CHOOPANIZADEH M, et al. Investigating the role of T helper related cytokines in cerebrospinal fluid for the differential diagnosis of bacterial meningitis in pre-treated paediatric patients[J]. Biomarkers, 2020, 25(2): 171-178.

[6] 中华医学会儿科学分会新生儿学组, 中国医师协会新生儿科医师分会感染专业委员会. 新生儿败血症诊断及治疗专家共识(2019 年版)[J]. 中华儿科杂志, 2019, 57(4): 252-257.

(下转第 2052 页)

of DSP30-IL2/TPA for detection of cytogenetic abnormalities in chronic lymphocytic leukaemia/small lymphocytic lymphoma[J]. *Int J Lab Hematol*, 2016, 38(5): 483-489.

[5] RIGOLIN G M, CIBIEN F, MARTINELLI S, et al. Chromosome aberrations detected by conventional karyotyping using novel mitogens in chronic lymphocytic leukemia with “normal” FISH: correlations with clinicobiologic parameters[J]. *Blood*, 2012, 119(10): 2310-2313.

[6] 沈悌, 赵永强. 血液病诊断及疗效标准[M]. 4 版. 北京: 科学出版社, 2018: 978-979.

[7] MATUTES E, OWUSU-ANKOMAH K, MORILLA R, et al. The immunological profile of B-cell disorders and proposal of a scoring system for the diagnosis of CLL[J]. *Leukemia*, 1994, 8(10): 1640-1645.

[8] LIEHR T. International system for human cytogenetic or cytogenomic nomenclature (ISCN): some thoughts [J]. *Cytogenet Genome Res*, 2021, 161(5): 223-224.

[9] DUN K A, RILEY L A, DIANO G, et al. DSP30 and interleukin-2 as a mitotic stimulant in B-cell disorders including those with a low disease burden[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2018, 57(5): 260-267.

[10] MAI D N A, LIU H, WANG Y L, et al. Application of CpG oligodeoxynucleotide immunostimulation in chromosome study of chronic lymphoblastic leukemia[J]. *Zhongguo Shi Yan Xue Ye Xue Za Zhi*, 2020, 28(2): 470-475.

[11] DECKER T, BOGNER C, OELSNER M, et al. Antiapoptotic effect of interleukin-2 (IL-2) in B-CLL cells with low and high affinity IL-2 receptors[J]. *Ann Hematol*, 2010, 89(11): 1125-1132.

[12] STEPANOVSKA K, VANKOVA G, NEMETHOVA V, et al. Chromosome banding analysis of peripheral blood lymphocytes stimulated with IL2 and CpG oligonucleotide DSP30 in patients with chronic lymphocytic leukemia [J]. *Klin Onkol*, 2013, 26(4): 263-270.

[13] MUTHUSAMY N, BREIDENBACH H, ANDRITSOS L, et al. Enhanced detection of chromosomal abnormalities in chronic lymphocytic leukemia by conventional cytogenetics using CpG oligonucleotide in combination with pokeweed mitogen and phorbol myristate acetate [J]. *Cancer Genet*, 2011, 204(2): 77-83.

[14] 王冬梅, 徐卫, 董华洁, 等. CpG 寡脱氧核苷酸联合 IL-2 刺激慢性淋巴细胞白血病细胞的细胞遗传学研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2010, 18(5): 1114-1118.

[15] 买地娜·艾尔肯, 刘虹, 王—林, 等. CpG-寡核苷酸免疫刺激法在慢性淋巴细胞白血病遗传学研究中的应用[J]. *中国实验血液学杂志*, 2020, 28(2): 470-475.

[16] AUTORE F, STRATI P, LAURENTI L, et al. Morphological, immunophenotypic, and genetic features of chronic lymphocytic leukemia with trisomy 12: a comprehensive review[J]. *Haematologica*, 2018, 103(6): 931-938.

[17] PUIGGROS A, VENTURAS M, SALIDO M, et al. Interstitial 13q14 deletions detected in the karyotype and translocations with concomitant deletion at 13q14 in chronic lymphocytic leukemia: different genetic mechanisms but equivalent poorer clinical outcome[J]. *Genes Chromosomes Cancer*, 2014, 53(9): 788-797.

[18] JAROSOVA M, PLEVOVA K, KOTASKOVA J, et al. The importance of complex karyotype in prognostication and treatment of chronic lymphocytic leukemia (CLL): a comprehensive review of the literature[J]. *Leuk Lymphoma*, 2019, 60(10): 2348-2355.

[19] ZENE T, MERTENS D, DOHNER H, et al. Importance of genetics in chronic lymphocytic leukemia [J]. *Blood Rev*, 2011, 25(3): 131-137.

(收稿日期: 2022-12-17 修回日期: 2023-05-11)

(上接第 2047 页)

[7] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 520-523.

[8] GRANDGIRARD D, GAUMANN R, COULIBALY B, et al. The causative pathogen determines the inflammatory profile in cerebrospinal fluid and outcome in patients with bacterial meningitis[J]. *Mediators Inflamm*, 2013, 2013: 312476.

[9] VIVAS M, FORCE E, EL HAJ C, et al. Experimental study of cerebrospinal fluid tumor necrosis factor- α release in penicillin- and cephalosporin-resistant pneumococcal meningitis treated with different antibiotic schedules[J]. *J Microbiol Immunol Infect*, 2017, 50(4): 435-439.

[10] PRASAD R, KAPOOR R, SRIVASTAVA R, et al. Cerebrospinal fluid TNF- α , IL-6, and IL-8 in children with bacterial meningitis [J]. *Pediatr Neurol*, 2014, 50(1): 60-65.

[11] SHARMA S, GOYAL M K, SHARMA K, et al. Cytokines do play a role in pathogenesis of tuberculous meningitis: a prospective study from a tertiary care center in India[J]. *J Neurol Sci*, 2017, 379: 131-136.

[12] SMITH N L, DENNING D W. Clinical implications of interferon-gamma genetic and epigenetic variants[J]. *Immunol*, 2014, 143(4): 499-511.

[13] PETTINI E, FIORINO F, CUPPONE A M, et al. Interferon-gamma from brain leukocytes enhances meningitis by type 4 streptococcus pneumoniae[J]. *Front Microbiol*, 2015, 6: 1340.

[14] LU D, CHEN C, YU S, et al. Diagnosis of tuberculous meningitis using a combination of peripheral blood T-SPOT, TB and cerebrospinal fluid interferon-gamma detection methods[J]. *Lab Med*, 2016, 47(1): 6-12.

[15] 陈峰, 何笑笑, 姜娜, 等. 肿瘤坏死因子 α 和消退素 D1 检测在新生儿化脓性脑膜炎中的意义[J]. *中华新生儿科杂志*, 2020, 35(1): 16-19.

(收稿日期: 2022-07-22 修回日期: 2023-05-05)