

译,减少非折叠蛋白反应^[16]。且 PERK、eIF2 α 可被释放至细胞外,在循环血液和痰液样本中均可被检测到^[17]。在前期预实验中,我们采用 ELISA 检测,结果发现痰液中 PERK、eIF2 α 水平较外周血清高,可能与血液中存在大量蛋白酶,易降解 PERK、eIF2 α 有关,因此在本研究中我们选择痰液样本。本研究结果显示,吸烟组患者痰液中 PERK 和 eIF2 α 水平均高于非吸烟组,表明内质网应激反应可能是吸烟引起 COPD 的主要机制之一。另外,我们在选取患者时,不仅包含急性发作期患者,还有部分患者处于稳定期,进一步分层分析结果显示,吸烟组中,急性发作期组患者痰液中 PERK 和 eIF2 α 水平均高于稳定期组,而非吸烟组中,急性发作期组和稳定期组患者痰液中 PERK、eIF2 α 水平比较差异均无统计学意义,推测在吸烟的 COPD 患者中,内质网应激可能是疾病进展的重要机制。本研究结果显示,吸烟组中,随着 GOLD 分级增加,COPD 患者痰液中 PERK、eIF2 α 水平逐渐升高,且痰液中 PERK、eIF2 α 水平与 FEV₁%pred 均呈负相关,进一步证实内质网应激反应可反映吸烟的 COPD 患者的疾病严重程度。

综上所述,香烟烟雾中的氧自由基或有害颗粒可能通过激活肺组织上皮细胞内质网应激促进肺组织细胞损伤/凋亡,进而促使并加重 COPD 的发生和发展。检测痰液中 PERK 和 eIF2 α 水平可能反映吸烟 COPD 患者的疾病状态,对于临床诊疗有一定的参考价值。

参 考 文 献

[1] Gülşen A. Bronchoscopic lung volume reduction: a 2018 review and update[J]. Turk Thorac J, 2018, 19(3): 141-149.

- [2] 徐小峰,戴宏宇,夏春伟,等. 吸烟的稳定期慢性阻塞性肺疾病患者血清微小 RNA-34a 的表达及临床意义[J]. 临床内科杂志, 2019, 36(8): 539-542.
- [3] 冯双双,陈刘通,廖晨,等. 吸烟慢性阻塞性肺疾病患者肺组织中 OLA1 表达与氧化应激、内质网应激的相关性分析[J]. 中华肺部疾病杂志(电子版), 2018, 11(6): 654-658.
- [4] 甘桂香,胡瑞成,谭双香. 吸烟 COPD 模型大鼠肺组织内质网相关凋亡蛋白 CHOP 的表达[J]. 中国病理生理杂志, 2018, 34(2): 314-320.
- [5] Zhang K, Wang M, Li Y, et al. The PERK-EIF2 α -ATF4 signaling branch regulates osteoblast differentiation and proliferation by PTH[J]. Am J Physiol Endocrinol Metab, 2019, 316(4): E590-E604.
- [6] Vogelmeier CF, Criner GJ, Martínez FJ, et al. Global Strategy for the Diagnosis, Management, and Prevention of Chronic Obstructive Lung Disease 2017 Report: GOLD Executive Summary[J]. Arch Bronconeumol, 2017, 53(3): 128-149.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会. 肺功能检查指南(第二部分)-肺量计检查[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2014, 37(7): 481-486.
- [8] 张小娥,张彩莲. 慢性阻塞性肺疾病流行病学及疾病经济负担研究进展[J]. 中国慢性病预防与控制, 2017, 26(6): 472-476.
- [9] 丁贤彬,毛德强,唐文革,等. 重庆市慢性阻塞性肺疾病患病率及影响因素[J]. 公共卫生与预防医学, 2018, 29(3): 57-61.
- [10] 李成龙,周玉民. 慢性阻塞性肺疾病的早期发现与早期干预[J]. 临床内科杂志, 2018, 35(11): 725-728.
- [11] 李锋,周新. 慢性阻塞性肺疾病的发病机制研究进展[J]. 中国呼吸与危重症监护杂志, 2019, 18(1): 88-92.
- [12] Olloquequi J, Jaime S, Parra V, et al. Comparative analysis of COPD associated with tobacco smoking, biomass smoke exposure or both[J]. Respir Res, 2018, 19(1): 13.
- [13] Lugea A, Gerloff A, Su HY, et al. The Combination of Alcohol and Cigarette Smoke Induces Endoplasmic Reticulum Stress and Cell Death in Pancreatic Acinar Cells[J]. Gastroenterology, 2017, 153(6): 1674-1686.
- [14] Cnop M, Toivonen S, Igoillo-Esteve M, et al. Endoplasmic reticulum stress and eIF2 α phosphorylation: The Achilles heel of pancreatic β cells[J]. Mol Metab, 2017, 6(9): 1024-1039.
- [15] Qiao Q, Sun C, Han C, et al. Endoplasmic reticulum stress pathway PERK-eIF2 α confers radioresistance in oropharyngeal carcinoma by activating NF- κ B[J]. Cancer Sci, 2017, 108(7): 1421-1431.
- [16] He B, Zhang W, Qiao J, et al. Melatonin protects against COPD by attenuating apoptosis and endoplasmic reticulum stress via upregulating SIRT1 expression in rats[J]. Can J Physiol Pharmacol, 2019, 97(5): 386-391.
- [17] Atkins C, Liu Q, Minthorn E, et al. Characterization of a novel PERK kinase inhibitor with antitumor and antiangiogenic activity[J]. Cancer Res, 2013, 73(6): 1993-2002.

(收稿日期:2020-01-02)

(本文编辑:周三凤)



[DOI] 10.3969/j.issn.1001-9057.2020.12.009

http://www.lcnkzz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2020.12.009

· 论著摘要 ·

抗脂阿拉伯甘露聚糖抗体 IgG、结核感染 T 细胞斑点试验及腺苷脱氨酶对活动性肺结核的诊断价值

黄晨 罗丹霖

【关键词】 抗脂阿拉伯甘露聚糖抗体; 结核感染 T 细胞斑点试验; 腺苷脱氨酶; 活动性肺结核

结核病是一种由结核分枝杆菌感染所导致的慢性传染性疾病,其中以结核分枝杆菌侵犯肺部发生肺结核常见^[1]。肺结

核按病变程度可分为 3 个阶段:进展期、好转期、稳定期。进展期病灶存在活动性变化,痰菌阳性;好转期病灶活动性变化改善,痰菌转阴;稳定期病灶无活动性改变,痰菌阴性达半年以上,其中,进展期和好转期均属于活动性肺结核^[2]。结核分枝杆菌本身不产生毒素,其致病性可能与结核分枝杆菌在组织细

胞内大量繁殖从而引发炎症反应、机体对菌体成分产生免疫损伤等原因有关^[3]。结核分枝杆菌感染细胞后,细胞壁上的脂阿拉伯甘露聚糖(LAM)作为特异性抗原,诱发以T淋巴细胞介导为主的细胞免疫应答,促使机体产生抗LAM抗体IgG(LAM-IgG)^[4]。LAM的免疫原性较强、分泌量较高,使LAM-IgG有成为判断结核杆菌感染指标的可能^[5]。结核感染T细胞斑点试验(T-SPOT.TB)是利用酶联免疫斑点技术检测由抗原致敏后T淋巴细胞所产生的 γ 干扰素(IFN- γ),相当于检测结核效应T淋巴细胞的存在,是在分子水平层面检测结核分枝杆菌感染的新方法^[6]。腺苷脱氨酶(ADA)大量存在于免疫细胞中,结核分枝杆菌感染促使免疫细胞增殖分化,ADA活性升高,检测ADA水平也可应用于肺结核的临床辅助诊断^[7]。本研究主要探讨LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA对活动性肺结核的诊断价值,现报道如下。

对象与方法

1. 对象:2017年3月~2018年5月我院收治的肺结核患者94例,其中明确诊断为痰菌阳性的患者51例(痰菌阳性组),男28例,女23例,年龄18~71岁,平均年龄(48.01±13.66)岁;明确诊断为肺结核且经抗结核治疗有效、痰液反复涂片为阴性的患者43例(痰菌阴性组),男27例,女16例,年龄19~71岁,平均年龄(49.29±14.42)岁。选取同期于我院行结核菌素试验(PPD)、1年内与肺结核患者有直接密切接触且PPD结果为阳性的患者45例(PPD阳性组),其中男24例,女性21例,年龄19~73岁,平均年龄(47.84±14.89)岁。选取同期于我院体检且胸部CT检查结果正常、PPD结果为阴性的健康者45例(对照组),其中男23例,女22例,年龄19~73岁,平均年龄(48.54±13.96)岁。4组受试者性别、年龄比较差异均无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究经我院伦理委员会审核批准,所有患者或家属均签署知情同意书。

2. 方法:分别于清晨抽取各组受试者的空腹静脉血5ml,分离血清后检测LAM-IgG(试剂盒购于南京卡米洛生物工程有限公司)、T-SPOT.TB(试剂盒购于英国Oxford Immunotec公司)、ADA(试剂盒购于南京卡米洛生物工程有限公司),根据试剂盒说明书判断检测结果。敏感度(%)=真阳性例数/(真阳性例数+假阴性例数)×100%;特异度(%)=真阴性例数/(真阴性例数+假阳性例数)×100%。为进一步确定LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA与痰菌阳性组患者肺部CT检查中阴影变化的相关性,根据其肺部CT检查结果将51例痰菌阳性患者分为结节组8例、空洞组(胸部CT检查可见少许厚薄不均、内壁光滑的空洞)24例及多处空洞组(胸部CT检查可见多处厚薄不均或内壁较厚的空洞,部分可见液平)19例。为比较LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA水平检测活动性肺结核的敏感度和特异度,将痰菌阳性组和痰菌阴性组归为结核组(94例),PPD阳性组和对照组归为非结核组(90例)。

3. 统计学处理:应用SPSS 22.0软件进行统计分析。计数资料以例数和百分比表示,组间比较采用 χ^2 检验。相关性分析采用Pearson相关分析,采用受试者工作特征(ROC)曲线分析LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA对活动性肺结核的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

1. 痰菌阳性组、痰菌阴性组、PPD阳性组及对照组受试者LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA阳性情况比较:痰菌阳性组、痰菌阴性组及对照组同组受试者LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA阳性率比较差异均无统计学意义($P>0.05$),而PPD阳性组LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA阳性率比较差异有统计学意义($P<0.05$),其中T-SPOT.TB和ADA阳性率均高于LAM-IgG($P<0.05$)。见表1。

表1 痰菌阳性组、痰菌阴性组、PPD阳性组及对照组LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA阳性情况比较[例,(%)]

组别	例数	LAM-IgG 阳性	T-SPOT.TB 阳性	ADA 阳性	χ^2 值	P值
痰菌阳性组	51	47(92.16)	48(94.12)	46(90.20)	0.543	0.762
痰菌阴性组	43	24(55.81)	29(67.44)	30(69.77)	2.095	0.351
PPD阳性组	45	9(20.00)	21(46.67)	19(42.22)	7.945	0.019
对照组	45	4(8.89)	2(4.44)	4(8.89)	0.864	0.649

2. 3种方法检测活动性肺结核的敏感度和特异度比较:LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA检测活动性肺结核的敏感度分别为75.53%、82.98%、86.17%,差异无统计学意义($P>0.05$);T-SPOT.TB、ADA检测活动性肺结核的特异度分别为74.44%、72.22%,均低于LAM-IgG(85.56%),差异有统计学意义($P<0.05$)。见表2。

表2 结核组和非结核组LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA检测结果比较(例)

组别	例数	LAM-IgG		T-SPOT.TB		ADA	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
结核组	94	71	23	78	16	81	13
非结核组	90	13	77	23	67	25	65

3. 痰菌阳性组患者LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA阳性与肺部CT检查中阴影变化的相关性分析:Pearson相关分析结果显示,痰菌阳性组LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA均与肺部CT检查中阴影变化呈正相关(r 值分别为0.806、0.842、0.715, P 值分别为 <0.001 、 <0.001 、0.005)。结节组、空洞组及多处空洞组LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA阳性情况比较见表3。

表3 结节组、空洞组及多处空洞组LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA阳性情况比较[例,(%)]

组别	例数	LAM-IgG 阳性	T-SPOT.TB 阳性	ADA 阳性
结节组	8	5(62.50)	6(75.00)	5(62.50)
空洞组	24	21(87.50)	20(83.33)	18(75.00)
多处空洞组	19	16(84.21)	17(89.47)	15(78.95)

4. LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA诊断活动性肺结核的ROC曲线:LAM-IgG、T-SPOT.TB、ADA诊断活动性肺结核的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.731(95%CI 0.716~0.745)、0.746(95%CI 0.732~0.761)、0.656(95%CI 0.640~0.672),三者联合诊断活动性肺结核的AUC为0.833(95%CI 0.822~0.845)。见图1。

讨论

肺结核一直是全球备受重视的公共卫生问题。流行病学

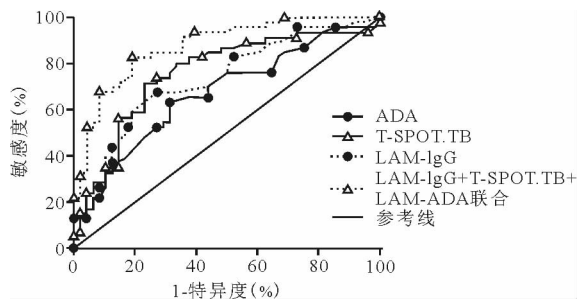


图1 LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 诊断活动性肺结核的 ROC 曲线

调查结果显示,我国肺结核发病率呈逐年上升趋势,新发患者数量位列全球第三,严重影响国民整体身体素质^[8]。目前,针对肺结核的诊断方法包括临床表现鉴别、影像学检查、痰涂片检查等,但均缺乏特异性,尤其对于非典型肺结核,容易漏诊、误诊等,不利于及时治疗及改善患者预后^[9]。因此,寻求敏感性与特异性兼备的快速诊断方法是肺结核临床防治的重点。免疫学检查具有方便、快捷、安全性较高的特点,其中,PPD 已成为结核分枝杆菌感染的基础检查之一,但 PPD 易受到其他因素影响,出现假阳性结果,所以 PPD 一般作为参考指标^[10]。近年来,针对结核抗体的检测逐渐在临床开展,有研究结果显示出结核抗体检测的辅助诊断优势^[11]。LAM-IgG、T-SPOT. TB 检测的 IFN- γ 、ADA 均是结核分枝杆菌感染后机体免疫应答过程中产生的细胞因子,在肺结核的发展中发挥重要作用,对活动性肺结核的诊断具有一定的临床意义^[12]。

本研究中,痰菌阳性组、痰菌阴性组及对照组同一组内 LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 阳性率比较差异均无统计学意义,而 PPD 阳性组 LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 阳性率比较差异有统计学意义,其中 T-SPOT. TB 和 ADA 阳性率均高于 LAM-IgG,原因可能与结核分枝杆菌属于机会性感染有关。虽然 PPD 阳性组患者的结核菌素皮试显示为阳性,但在机体免疫功能正常的情况下,结核分枝杆菌未能引起明显感染,导致 LAM 未被识别为特异性抗原^[13]。在检验特征方面,LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 检测活动性肺结核的敏感度分别为 75.53%、82.98%、86.17%,差异无统计学意义。而 T-SPOT. TB、ADA 检测活动性肺结核的特异性分别为 74.44%、72.22%,均低于 LAM-IgG (85.56%),可能原因为 LAM 具有菌属特性,导致 LAM-IgG 成为结核分枝杆菌的特异性抗原,因此 LAM-IgG 较 IFN- γ 、ADA 能更有效地反映其感染情况^[14]。

机体受到结核分枝杆菌感染后,免疫系统接受到抗原刺激,淋巴细胞分化增殖,致敏 T 淋巴细胞分泌大量细胞因子发挥免疫作用,如 LAM-IgG、IFN- γ ^[15]。结核分枝杆菌是胞内感染菌,T 淋巴细胞需先与感染细胞接触,使感染细胞崩溃后释放病原菌,然后 LAM-IgG、IFN- γ 等细胞因子才能对病原菌造成杀伤^[6]。ADA 作为参与嘌呤代谢的酶,存在于各种体细胞中,当感染细胞破裂后,ADA 进入血液循环,其在血清中的含量升高^[16]。由此可见,LAM-IgG、IFN- γ 、ADA 等细胞因子均随免疫过程发生变化,LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 均能在一定程度上反映病情的发展。本研究结果显示,痰菌阳性组 LAM-IgG、

T-SPOT. TB、ADA 均与肺部 CT 检查中阴影变化呈正相关;ROC 曲线分析结果显示,LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 诊断活动性肺结核的 AUC 分别为 0.731、0.746、0.656,三者联合诊断的 AUC 为 0.833,表明 LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 对活动性肺结核有一定诊断价值,三者联合的诊断价值更高。3 种免疫学检查单独应用时各有优势,也存在不足,如 LAM-IgG 的敏感度不够高,T-SPOT. TB、ADA 的特异性较低,所以三者联合可以更有效地优势互补,提高检测活动性肺结核的敏感度和特异性。

综上,LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 对活动性肺结核有较高的检出率,具有较高的敏感度,T-SPOT. TB、ADA 的特异性低于 LAM-IgG,三者均与活动性肺结核的病情发展相关。LAM-IgG、T-SPOT. TB、ADA 对活动性肺结核具有诊断价值,三者联合诊断效果更佳,可为临床工作提供参考。

参考文献

- [1] 付向倩,王璞. 抗结核药物所致超敏反应综合征的诊治进展[J]. 临床内科杂志,2019,36(5):356-358.
- [2] You J. Research progress on immune response of B lymphocytes and anti-Mycobacterium tuberculosis infection[J]. Int J Infect,2016,5(1):1-4.
- [3] 张迪,孟存仁,王家路. 血清 γ -干扰素诱导蛋白 10 在活动性肺结核患者中的诊断价值[J]. 新疆医科大学学报,2018,41(9):1095-1098.
- [4] 王文平. 脂阿拉伯甘露糖抗体检测对 AIDS 合并肺结核患者的诊断价值[J]. 国际呼吸杂志,2017,37(17):1289-1292.
- [5] Druszczyńska M, Wawrocki S, Szewczyk R, et al. Mycobacteria-derived biomarkers for tuberculosis diagnosis[J]. Ind J Med Res,2017,146(6):700-707.
- [6] 穆丽平,王菊红,温建水,等. 血清腺苷脱氨酶检测联合结核感染 T 细胞斑点试验对肺结核的诊断价值[J]. 实用预防医学,2018,25(10):1249-1251.
- [7] Hsin C, Yu T, Pen F, et al. The assessment of host and bacterial proteins in sputum from active pulmonary tuberculosis[J]. J Microbiol,2016,54(11):761-767.
- [8] 刘婷,向延根,范任华,等. 肺结核病人细胞因子的研究进展[J]. 实用预防医学,2016,23(7):894-897.
- [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] Arya S, Kumar SK, Nath A, et al. Synergy between tuberculin skin test and proliferative T cell responses to PPD or cell-membrane antigens of Mycobacterium tuberculosis for detection of latent TB infection in a high disease-burden setting[J]. PLoS One,2018,13(9):e04429.
- [11] 赵建. 血清结核分枝杆菌 IgG 抗体诊断活动性肺结核的临床结果研究[J]. 检验医学与临床,2019,16(9):1292-1294.
- [12] Lawn SD, Gupta-Wright A. Detection of lipooligosaccharide (LAM) in urine is indicative of disseminated TB with renal involvement in patients living with HIV and advanced immunodeficiency:evidence and implications[J]. Trans R Soc Trop Med Hyg,2016,110(3):180-185.
- [13] 王琪,严晓娟. OPN、IFN- γ 、IL-10 检测对活动性肺结核病情及预后判定的临床意义[J]. 临床肺科杂志,2019,24(8):1463-1465.
- [14] Zhou KL, Li X, Zhang XL, et al. Mycobacterial mannose-capped lipooligosaccharide: a modulator bridging innate and adaptive immunity[J]. Emerg Microbes Infect,2019,8(1):1168-1177.
- [15] Coombes JD, Manka PP, Swiderska-Syn M, et al. Osteopontin Promotes Cholangiocyte Chemokine Secretion and Macrophage Accumulation in Murine Liver Fibrosis[J]. J Hepatol,2016,64(2):514-515.
- [16] 杨泽伟,冯飞,杨颖,等. 脑脊液 ESAT-6、ADA、INF- γ 、MMP-9 检测在结核性脑膜炎诊断及转归中的应用价值[J]. 山东医药,2018,58(18):56-58.

(收稿日期:2019-11-11)

(本文编辑:周三凤)