

# 结合分枝杆菌感染者辅助性 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 的水平变化

杨晓悦,李毓龙,罗仲秋,朱紫衣

(简阳市人民医院实验医学科,四川 简阳 641400)

**摘要:**目的 通过检测结核患者、隐性结核杆菌感染者及健康人群的 Th2 型细胞因子白细胞介素 4(IL-4)、白细胞介素 6(IL-6)、白细胞介素 10(IL-10)的变化,筛选潜伏性感染者,以进行早期治疗和防护。方法 选择简阳市人民医院 2020 年 2 月-2021 年 2 月已确诊的活动性肺结核患者、潜伏性感染者及健康对照者各 30 例,分别作为活动性结核患者组(ATB 组)、结核潜伏感染者组(LTBI 组)、对照组,均进行结核感染 T 细胞检测,使用液相悬浮芯片技术测定血清中 IL-4、IL-6、IL-10 水平,比较三组 IL-4、IL-6、IL-10 水平。结果 ATB 组、LTBI 组、对照组 IL-4 水平依次增高,其中 ATB 组 IL-4 水平低于 LTBI 组和对照组,且 LTBI 组 IL-4 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );TB 组、LTBI 组、对照组 IL-6 水平依次降低,其中 ATB 组 IL-6 水平高于 LTBI 组,但差异无统计学意义( $P>0.05$ );ATB 组和 LTBI 组 IL-6 水平均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );ATB 组、LTBI 组、对照组 IL-10 水平依次增高,其中 ATB 组 IL-10 水平低于 LTBI 组和对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );LTBI 组 IL-10 水平低于对照组,但差异无统计学意义( $P>0.05$ )。结论 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-10 的水平变化可以区分活动性肺结核与潜伏性肺结核,临床可通过监测其水平对潜伏性结核感染者进行早期干预和治疗。

**关键词:**肺结核;结核分枝杆菌;白细胞介素 4;白细胞介素 6;白细胞介素 10

中图分类号:R52

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2023.01.022

文章编号:1006-1959(2023)01-0113-04

## Changes of Helper Th2 Cytokines IL-4, IL-6 and IL-10 Levels in Patients with Mycobacterium Tuberculosis Infection

YANG Xiao-yue,LI Yu-long,LUO Zhong-qiu,ZHU Zi-yi

(Department of Laboratory Medicine,the People's Hospital of Jianyang City,Jianyang 641400,Sichuan,China)

**Abstract: Objective** To study the changes of Th2 cytokines interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6) and interleukin-10 (IL-10) in patients with tuberculosis, latent tuberculosis infection and healthy people, and to screen latent infection for early treatment and protection.**Methods** From February 2020 to February 2021, 30 patients with active pulmonary tuberculosis, 30 patients with latent tuberculosis infection and 30 healthy controls were selected from the People's Hospital of Jianyang City as active tuberculosis group (ATB group), latent tuberculosis infection group (LTBI group) and control group, respectively. The T cells of tuberculosis infection were detected. The levels of IL-4, IL-6 and IL-10 in serum were measured by magnetic luminex screening assay. The levels of IL-4, IL-6 and IL-10 in the three groups were compared.**Results** The levels of IL-4 in ATB group, LTBI group and control group increased in turn, while the level of IL-4 in ATB group was lower than that in LTBI group and control group, and the level of IL-4 in LTBI group was lower than that in control group ( $P<0.05$ ). The levels of IL-6 in TB group, LTBI group and control group decreased in turn, while the level of IL-6 in ATB group was higher than that in LTBI group, but the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ); the levels of IL-6 in ATB group and LTBI group were higher than those in control group ( $P<0.05$ ). The levels of IL-10 in ATB group, LTBI group and control group increased in turn, while the level of IL-10 in ATB group was lower than that in LTBI group and control group ( $P<0.05$ ); the level of IL-10 in LTBI group was lower than that in control group, but the difference was not statistically significant ( $P>0.05$ ).**Conclusion** The changes of Th2 cytokines IL-4 and IL-10 levels can distinguish active pulmonary tuberculosis from latent pulmonary tuberculosis. Early intervention and treatment of latent tuberculosis infection can be carried out by monitoring their levels.

**Key words:** Pulmonary tuberculosis;Mycobacterium tuberculosis;Interleukin-4;Interleukin-6;Interleukin-10

结核病(tuberculosis)是由结核分枝杆菌(myco-bacterium tuberculosis, Mtb)感染引起的一种严重威胁人类健康的传染病,已成为全世界成人因传染

病而死亡的主要疾病之一<sup>[1]</sup>。据统计,2017 年全球约有 1000 万人感染结核分枝杆菌 160 万人死于结核病<sup>[2]</sup>。我国是全球 15 个结核高负担国家之一,结核病人数量位居世界第 2<sup>[3]</sup>。结核病是我国法定乙类传染病之一,2020 年度全国报告发病数位居乙类传染病第 2,报告死亡数位居第 3<sup>[4]</sup>。结核分枝杆菌属于胞内寄生菌,机体抗结核免疫主要是以 T 淋巴细胞免疫为主的细胞免疫。T 淋巴细胞是高度异质性群体,根据

基金项目:简阳市人民医院科研课题(编号:JY202022、JY202135)

作者简介:杨晓悦(1993.4-),女,四川米易县人,本科,检验技师,主要从事临床免疫学检验工作

发育过程中的出现分化抗原不同分为 CD4<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>T。根据表面标志及功能的不同可将 CD4<sup>+</sup>T 细胞分为辅助性 T 细胞、Th17 细胞和调节性 T 细胞<sup>[5]</sup>。CD4<sup>+</sup>Th 细胞按其所产生的细胞因子谱的不同,可分为 Th1 型和 Th2 型细胞。故机体细胞因子可以大致分为两类,一类主要由 Th1 细胞产生包括肿瘤坏死因子  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、干扰素  $\gamma$  (INF- $\gamma$ )、白细胞介素 2 (IL-2) 等促进细胞免疫,称为 Th1 型;另一类主要由 Th2 型细胞产生包括 IL-4、IL-6、IL-10 等促进肥大细胞和嗜酸粒细胞的活化与增殖,主要参与体液免疫反应,称为 Th2 型<sup>[6]</sup>。Th1 型细胞因子主要激活单核巨噬细胞,Th2 型细胞因子抑制 Th1 型细胞因子的产生,前者增加巨噬细胞的抗菌活性,因而对结核杆菌感染起到保护性免疫应答作用,有利于疾病的控制,后者降低巨噬细胞的抗菌活性,使结核病的免疫应答减弱,促进了疾病的发展<sup>[7]</sup>。Th1 型/Th2 型的动态平衡是机体有效控制结核感染的根本保证,若此种平衡一旦被打破,则将导致结核病的发生与发展。对结核病细胞因子的研究不仅在于了解结核免疫发病机制,恰当地对这些细胞因子进行干预,可为结核病的预防和治疗开辟新的途径。为此,本研究通过检测结核患者、隐性结核杆菌感染者及健康人群的 Th2 型细胞因子 IL-4、IL-6、IL-10 的水平,以筛选隐性感染者,旨在早期开展针对性治疗和防护。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取简阳市人民医院 2020 年 2 月—2021 年 2 月收治的结核患者 30 例作为活动性结核患者组(ATB 组)。纳入标准:①痰涂片抗酸染色阳性或结核分枝杆菌培养阳性或结核感染 T 细胞检测阳性(TB-IGRA)且有明确的活动性临床表现及诊断者;②均符合 2001 年中华医学会结核病学分会《肺结核诊断和治疗指南》的诊断标准<sup>[8]</sup>;③年龄、性别、民族不限。排除标准:①肿瘤、HIV 感染、免疫系统功能紊乱、基础代谢障碍的患者;②患有其他基础疾病。ATB 组中男 22 例,女 8 例;年龄 23~78 岁,平均年龄(42.20 $\pm$ 16.87)岁。选取结核潜伏感染者 30 例作为结核潜伏感染者组(LTBI 组):痰涂片抗酸染色阴性或结核分枝杆菌培养实验阴性性、并结核感染 T 细胞  $\gamma$  干扰素释放试验阳性(TB-IGRA)且有无明确的活动性临床表现及诊断者,其中男 19 例,女 11 例;年龄 25~78 岁,平均年龄(49.92 $\pm$ 17.69)岁。选取健康对照者 30 例作为对照组,均为本院体检标本,各实验室检测指标均无异常;无可能干扰实验的

既往疾病,如既往感染结核等;无当前可能干扰实验的疾病,如肺部感染等;TB-IGRA 试验阴性。对照组中男 20 例,女 10 例;年龄 25~72 岁,平均年龄(45.31 $\pm$ 14.14)岁。三组研究对象无血缘关系,性别、年龄比较,差异无统计学意义( $P>0.05$ ),具有可比性。本研究经我院伦理委员会审批通过,患者及其家属均知情同意且已签署知情同意书。

1.2 材料与仪器 血标本:纳入者样本收集于临床“结核感染 T 细胞检测”项目。仪器:台式高速冷冻离心机(5417C):德国 Eppendorf 公司;WH-1 微型漩涡混合器:上海沪西分析仪器厂;液相悬浮芯片仪:Luminex 200analyzer。试剂:Huaman Premixed Multi-Analyte Kit (Lot: LXSAHM) 购置 R&D systems;结核感染 T 细胞检测免疫试剂盒购自北京万泰生物药业股份有限公司;细胞因子检测试剂:MILLIPLEX<sup>®</sup> MAP 多因子检测试剂盒。

## 1.3 方法

1.3.1 标本收集与保存 三组样本收集于临床“结核感染 T 细胞检测”项目,具体步骤如下:取抗凝全血(肝素钠,BD),于采血后 2 h 内分装入 N、T、P 三管各 1 ml(N 管为阴性对照管;T 管为检测管,内有结核特异性抗原即 ESAT-6/CFP-10 复合物;P 管为阳性对照管,内有非特异性抗原植物血凝素即 PHA);37 $^{\circ}$ C 温育(22 $\pm$ 2)h,3500 r/min 离心 10 min,上机做 ELISA 检测 IFN- $\gamma$  水平;收集 N 管和 T 管中剩余的样本,N 管作为结核特异性抗原 ESAT-6/CFP-10 复合物刺激前样本,T 管作为结核特异性抗原刺激后样本。分别吸取 N 管和 T 管中的血浆于 EP 管中,标记,冻存于-80 $^{\circ}$ C 备用。

1.3.2 检测技术 液相悬浮芯片技术(magnetic luminex screening assay):液相芯片的核心技术是微球,微球分别被不同配比的荧光染色(xMAP 技术),然后再把针对不同检测物的寡核苷酸或蛋白质探针以共价结合的方式吸附到不同颜色的微球上。在不同荧光编码的微球上进行抗原-抗体、酶-底物、配体-受体的结合反应及核酸杂交发硬,通过红、绿两束激光分别检测微球编码(Region)和报告荧光来达到定性和定量的目的。使用液相悬浮芯片系统(美国 Luminex 公司)检测血浆中的 IL-4、IL-6、IL-10 的水平(MILLIPLEX<sup>®</sup> MAP 多因子检测试剂盒)。所有操作均按照试剂盒说明书进行,血浆根据待测蛋白浓度进行不同比例的稀释,每个样本均设置复孔,并且同时设置高、低浓度质控对照。读取样本荧光值,根据

标准曲线拟合及稀释比例计算血浆中每种炎症因子的实际浓度。

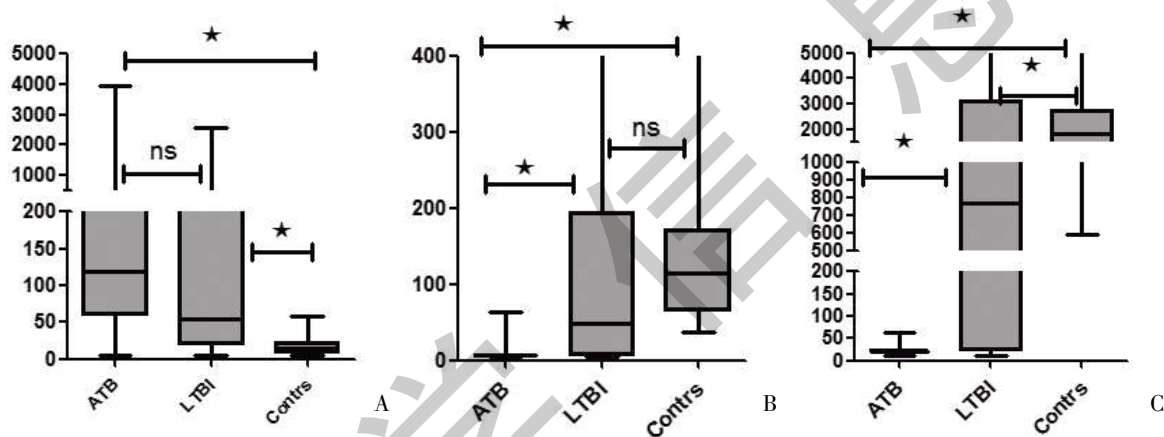
1.4 统计学方法 本研究所有细胞因子的表达水平均不服从正态分布,使用 GraphPad prism 5.0 进行 Kruskal-wallis test 进行检验,使用 ROC 曲线进行灵敏度和特异性的检测,取 95%为置信区间。 $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

2.1 三组各项指标比较 ATB 组、LTBI 组、对照组 IL-4 水平依次增高,其中 ATB 组 IL-4 水平低于 LTBI 组和对照组,且 LTBI 组 IL-4 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P<0.05$ );TB 组、LTBI 组、

对照组 IL-6 水平依次降低,其中 ATB 组 IL-6 水平高于 LTBI 组,但差异无统计学意义( $P>0.05$ );ATB 组和 LTBI 组 IL-6 水平均高于对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );ATB 组、LTBI 组、对照组 IL-10 水平依次增高,其中 ATB 组 IL-10 水平低于 LTBI 组和对照组,差异有统计学意义( $P<0.05$ );LTBI 组 IL-10 水平低于对照组,但差异无统计学意义( $P>0.05$ ),见图 1。

2.2 IL-10、IL-4 鉴别诊断 ATB 和 LTBI 的价值 ROC 曲线显示,IL-4 鉴别诊断 ATB 与 LTBI 的 AUC 值为 0.76,IL-10 鉴别诊断 ATB 与 LTBI 的 AUC 值为 0.80,见图 2。



注: \*表示差异有统计学意义,ns 表示差异无统计学意义;A、B、C 分别表示 IL-4、IL-6、IL-10 变化情况

图 1 三组各项指标比较

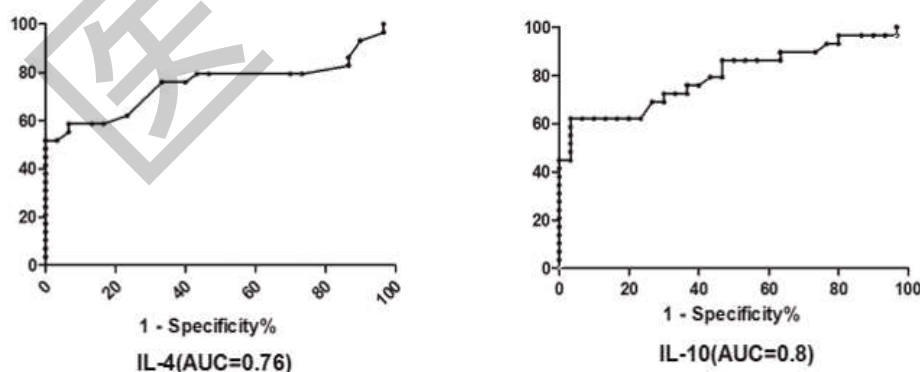


图 2 IL-10、IL-4 鉴别诊断 ATB 和 LTBI 的价值

## 3 讨论

结核病目前是全球最常见和最重要的感染性疾病之一。近年来,由于耐药菌株的出现、流动人口的增加以及艾滋病(AIDS)患者的增多等导致结核病,尤其是耐药结核病难以得到有效治疗,结核病的发

病率和死亡率呈上升趋势,现已成为仅次于 AIDS 最常见的引起死亡的感染性疾病<sup>[9,10]</sup>。

本研究发现,IL-4 在 ATB 组、LTBI 组和对照组中浓度依次升高。大量研究表明<sup>[11-13]</sup>,IL-4 在结核相关性疾病中呈显著性高表达状态,参与机体抗结核

的免疫调节。IL-6 能诱导 B 细胞分化和产生抗体,并诱导 T 细胞活化增殖、分化,参与机体的免疫应答,是炎症反应的促发剂<sup>[14]</sup>。IL-6 的表达一般与肺结核的疾病严重程度及疾病进展显著相关<sup>[15]</sup>。本研究中 ATB 组、LTBI 组、对照组 IL-6 水平依次降低,这可能是由于隐性感染者病变程度低于结核患者,结核患者的病变程度相对较高的缘故<sup>[16]</sup>。IL-10 为有免疫抑制作用的细胞因子,对 Th1 细胞的免疫应答有制约作用,还能促进 IL-2 因子快速合成。IL-10 可降低 Th1 细胞的生物活性,使巨噬细胞的功能降低,同时还能够抑制 IL-6 生成,抑制机体的免疫反应<sup>[17,18]</sup>。本研究中 ATB 组、LTBI 组、对照组 IL-10 水平依次升高。已有研究指出<sup>[19]</sup>,外周血 IL-10 水平表达异常对重症结核患者死亡预后具有一定的预测价值。本研究还通过 ROC 曲线分析 IL-4 和 IL-10 鉴别诊断 ATB 和 LTBI 的价值,其中 IL-4 诊断的 AUC 值为 0.76,IL-10 的诊断 AUC 值为 0.80,两项指标均可用于 ATB 和 LTBI 的鉴别诊断,可见检测 IL-4、IL-10 的水平可作为在细胞因子水平区分活动性结核与潜伏性结核患者的指标。

综上所述,IL-4、IL-10 在活动性结核与潜伏性结核中有差异,可以区分活动性感染者和潜伏性感染者,对辅助鉴别诊断结核现症感染和潜伏性感染有重要的意义,有利于结核病的早发现、早治疗。

#### 参考文献:

- [1] Li M, Chen T, Hua Z, et al. Global, regional, and national prevalence of diabetes mellitus in patients with pulmonary tuberculosis: a systematic review and meta-analysis [J]. *Diabetol Metab Syndr*, 2021, 13(1): 127.
- [2] Bekale RB, Du Plessis SM, Hsu NJ, et al. Mycobacterium tuberculosis and interactions with the host immune system: Opportunities for nanoparticle based immunotherapeutics and vaccines [J]. *Pharm Res*, 2018, 36(1): 8.
- [3] 刘灿灿,董晓峰,梁栋.肺结核误诊为肺炎 1 例 [J]. *甘肃医药*, 2021, 40(11): 1055-1056.
- [4] Wang YS, Zhu WL, Li T, et al. Changes in newly notified cases and control of tuberculosis in China: time-series analysis of surveillance data [J]. *Infect Dis Poverty*, 2021, 10(1): 16.
- [5] 张玉萍,燕美琴,王丽萍,等.辅助性 T 细胞 17 和调节性 T 细胞相关细胞因子在不明原因复发性流产中的变化及意义 [J]. *中国药物与临床*, 2019, 19(8): 1273-1275.
- [6] Rossouw M, Nel HJ, Cooke GS, et al. Association between tuberculosis and a polymorphic NFkappaB binding site in the interferon gamma gene [J]. *Lancet*, 2003, 361(9372): 1871-1872.
- [7] Stenger S, Hanson DA, Teitelbaum R, et al. An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin [J]. *Science*, 1998, 282(5386): 121-125.
- [8] 中华医学会结核病学分会.肺结核诊断和治疗指南 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2001, 24(2): 70-74.
- [9] Guo Z, Xiao D, Wang X, et al. Epidemiological characteristics of pulmonary tuberculosis in mainland China from 2004 to 2015: a model-based analysis [J]. *BMC Public Health*, 2019, 19(1): 219.
- [10] 吴太锋,农峰,陈松强,等.广西骨关节结核患者血清中 IL-4 和 IL-17 水平的检测及临床意义 [J]. *右江医学*, 2016, 44(5): 546-549.
- [11] 武江海,舒敬奎,张剑青,等.结核与肿瘤患者胸腔积液中 TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4 的水平及临床意义 [J]. *昆明医科大学学报*, 2019, 40(12): 103-107.
- [12] Tekwu EM, Sidze LK, Assam JP, et al. Sequence analysis for detection of drug resistance in Mycobacterium tuberculosis complex isolates from the central region of Cameroon [J]. *BMC Microbiol*, 2014, 14(1): 113.
- [13] 胡德新,王敏,张丽娟,等. IFN- $\gamma$  基因多态性与脊柱结核易感性及血清 IL-4 和 IFN- $\gamma$  的关系 [J]. *中华医院感染学杂志*, 2020, 30(4): 568-571.
- [14] 孙海柏,张丽霞.细胞因子检测在结核分枝杆菌感染中的研究进展 [J]. *国际检验医学杂志*, 2018, 39(4): 465-468.
- [15] Verbon A, Juffermans NP, Deventer V, et al. Serum concentrations of cytokines in patients with active (TB) and after treatment [J]. *Clinical & Experimental Immunology*, 1999, 115 (1): 110-113.
- [16] 吕松琴,赵华,宝福凯,等. TNF- $\alpha$  和 IFN- $\gamma$  与 T-SPOT. TB 相结合应用于鉴别结核现症感染与隐性感染 [J]. *昆明医科大学学报*, 2017, 38(4): 93-97.
- [17] Redford PS, Murray PJ, O'garra A. The role of IL-10 in immune regulation during M. tuberculosis infection [J]. *Mucosal Immunology*, 2011, 4(3): 261-270.
- [18] Cyktor JC, Carruthers B, Kominsky RA, et al. IL-10 inhibits mature fibrotic granuloma formation during Mycobacterium tuberculosis infection [J]. *Journal of Immunology*, 2013, 190 (6): 2778-2790.
- [19] 章敏.外周血 IFN- $\gamma$ 、IL-10 水平及红细胞免疫功能对重症肺结核患者死亡预后的预测价值 [J]. *标记免疫分析与临床*, 2020, 27(7): 1161-1165.

收稿日期:2022-02-24;修回日期:2022-04-06

编辑/成森