

## 细胞因子测定对结核性脑膜炎诊断价值的若干进展

张帅杰 王满侠 李晓玲 王琪

【中图分类号】 R529.3    【文献标识码】 A    【文章编号】 1007-0478(2016)06-0456-04  
【DOI】 10.3969/j.issn.1007-0478.2016.06.019

结核性脑膜炎(tubercular meningitis, TBM)主要是由于结核分枝杆菌通过血行播散沉积并破坏软脑膜或室管膜而产生的,是结核分枝杆菌感染最严重的表现形式,10%的肺结核患者可能并发结核性脑膜炎,50%患者可致死亡或遗留严重的神经系统后遗症,导致后期生活质量下降<sup>[1]</sup>。如果患者开始治疗时格拉斯哥昏迷评分<10/15,病死率会超过50%,因此早期诊断并治疗对于减少神经系统并发症及病死率是至关重要的。目前结核性脑膜炎的诊断主要有细菌学、免疫学及分子生物学等实验室检查方法。脑脊液抗酸染色和细菌培养是诊断 TBM 的金标准,但是阳性率都较低,而且由于结核分枝杆菌较长的倍增时间,其在液体培养基中常需需 10~14 d,固体培养基中常需 4~6 周,对于早期诊断结核性脑膜炎的临床意义不大<sup>[2-3]</sup>。分子生物学试验方法如核酸扩增试验(NAA)具有较高的假阳性率和较低的特异性,目前主要用于痰涂片阳性需要进一步确诊的患者,并且具有典型临床表现的患者通常可出现阴性结果<sup>[4]</sup>。与细菌学和分子生物学相比,免疫学试验方法具有易操作、低成本、特异性较高等优点。结核分枝杆菌的感染主要是细胞免疫,因此细胞因子在结核性脑膜炎的免疫反应中发挥着重要的作用。本研究现就脑脊液细胞因子的测定对结核性脑膜炎诊断的相关研究进展综述如下。

1 干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )

干扰素- $\gamma$ 在结核分枝杆菌的免疫反应中起主要作用,刺激巨噬细胞的活性和淋巴细胞 Th1 细胞的分化是宿主免疫系统对抗结核分枝杆菌感染时的关键调节因子。干扰素- $\gamma$ 释放试验(IGRA)是在体外检测经 MTB 特异性的 ES-AT-6 和 CFP-10 抗原刺激之后产生和释放干扰素- $\gamma$ 能力的免疫学技术,藉此判断细胞介导的免疫反应,特异性较高,不能被机体自身的免疫状态所影响,可用于结核性脑膜炎的早期和快速诊断<sup>[5]</sup>。国际上广泛使用的 IGRA 有两种,即 QuantiFERONTB Gold In-Tube 试验(QFT-GIT)及 T-SPOT TB。Lai 等通过研究得出,T-SPOT TB 对于诊断不同的肺外结核病的敏感性和特异性均不同,通过检测 6

例 TBM 患者,敏感性和特异性均可高达 100%<sup>[6]</sup>,但由于样本量较少,还需进一步研究。Vidha 等通过 QFT-GIT 试验,得出 TBM 患者全血灵敏度为 44.4%,特异性为 62.5%,而脑脊液中检测结果大多不确定<sup>[7]</sup>,因此脑脊液 QFT-GIT 对 TBM 的诊断价值不大。Vinod 等选取 140 例患者(81%感染艾滋病毒),通过特异性抗原 RD-1 ELIS-POT 试验诊断 TBM,特异性为 94%,敏感性为 58%,而排除细菌性脑膜炎(革兰染色试验)和隐球菌性脑膜炎(隐球菌乳胶凝集试验)后其诊断 TBM 的敏感性为 82%,特异性为 100%,可在艾滋病和结核病流行区域较为快速和相对准确地诊断结核性脑膜炎<sup>[8]</sup>。一直以来 TST 是筛查潜伏性结核菌感染(LTBI)结核的主要方法,但其特异性较低,对于有免疫抑制、全身性感染或者是 2 月内接种过活疫苗等特殊人群敏感性较低,而 T-SPOT 弥补了 TST 的不足,对于特殊人群也可适用,但其对于区分活动性结核和潜伏性结核菌感染(LTBI)结核尚有一定的限制性,还需进一步研究。目前指南建议 T-SPOT 代替或与 TST 联合使用,但在医疗资源相对比较贫乏的地方更重要的是根据患者的临床表现进行诊断,因此由于技术和资金的有限,干扰素- $\gamma$ 在诊断结核性脑膜炎时也会有所限制。

## 2 白细胞介素-8(IL-8)

IL-8 是一种由单核巨噬细胞产生的炎症介质,同时其趋化力明显高于其他趋化因子,可通过诱导炎症细胞浸润,增加血管壁的通透性,同时具有双向免疫调节作用,即在激活免疫效应细胞、清除病原体的同时也可损伤局部脑组织<sup>[9]</sup>。Usha Kant Misra 等研究指出结核性脑膜炎中 IL-8 水平较病毒性脑膜炎高,且通过治疗后其水平下降<sup>[10]</sup>,提示结核分枝杆菌参与了结核性脑膜炎的病理生理过程,并与其发病密切相关,IL-8 水平的升高可能与局部 T 淋巴细胞释放和血脑屏障的破坏导致其进入到脑脊液中有关。国内马江涛等通过检测 57 例结核性脑膜炎患儿脑脊液的 EAST -6、IL-8 和 INF- $\gamma$  水平,得出恢复期水平均明显降低,并且在联合检测时诊断 TBM 的敏感性、特异性均较单一检测时明显升高<sup>[11]</sup>。因此,IL-8 水平与结核性脑膜炎密切相关,检测 IL-8 水平有助于 TBM 的早期诊断,联合检测 EAST -6、INF- $\gamma$  则更能提高阳性率,并且其动态变化有助于判断患者的预后及疗效。

基金项目:甘肃省兰州市城关区科技发展计划项目(2015-3-3)

作者单位:730000 兰州大学第二医院神经内科[张帅杰 王满侠(通信作者) 李晓玲 王琪]

### 3 白细胞介素-6(IL-6)

IL-6 作为一种多功能的细胞因子,与疾病生理和病理的进展过程关系密切,在脑内主要由神经胶质细胞和星形胶质细胞产生,主要与炎症调节和免疫反应有关,在启动炎症级联反应中起到关键性作用。在机体受到 MTB 的感染后 MTB 可刺激单核巨噬细胞合成并释放 IL-6,从而引发一系列的炎症反应过程。IL-6 对结核感染有固有的免疫作用,也参与获得性免疫的启动,是机体与病原体相互作用的关键<sup>[12]</sup>。Usha Kant Misra 等研究表明,结核性脑膜炎脑脊液中 IL-6 水平较病毒性脑膜炎高,急性期高度表达,而且在经过抗结核治疗后其水平明显下降<sup>[10]</sup>。因此,在判断患者的病情和预后时可以依据患者的 IL-6 水平给予准确的诊断,以便于及时应对病情的不良进展。在抗结核治疗过程中对于血清中 IL-6 的水平变化的研究结果不一。有研究证实,在抗结核治疗时在未受 TB 抗原刺激的 IL-6 水平下降<sup>[13]</sup>,而 Wen-Lin Su 则研究得出相反的结果<sup>[14]</sup>,可能是因为使用未经过抗原刺激过的血清样本,跟结核抗原刺激过的样本相比,不可避免地导致较低的特异性细胞因子反应,前者是反映炎症的变化,可以通过一系列其他传染性病原体引起。但目前尚无可靠证据表明脑脊液中 IL-6 的水平可监测抗结核治疗效果,因此可对其进行进一步研究来更好地为临床患者的治疗提供依据。

### 4 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )

TNF- $\alpha$  是一种具有多种生物学活性的细胞因子,同时也是一种炎症介质,能直接损伤血管内皮细胞,使血管通透性增大,诱导炎症反应的发生,在炎症反应中起到关键性的作用,并且由于血管内皮的损伤,引起动脉内膜炎及血管闭塞。Lv S 等 meta 分析显示,严重脓毒症患者(休克前)给予抗 TNF- $\alpha$  单克隆抗体免疫治疗可降低病死率,提示 TNF- $\alpha$  在炎症反应中起到了至关重要的作用<sup>[15]</sup>。结核杆菌临床表现的多样性可能归因于机体的免疫力、结核杆菌的毒力,由于遗传的变异,结核分枝杆菌的毒力也有相当大的变化,因此可能是由于菌株的变异而引起 TNF- $\alpha$  表达的差异性。Nagesh Babu 等通过对 TBM 患者进行 6 个月的抗结核治疗,得出 TNF- $\alpha$  与疾病的严重程度呈正相关<sup>[16]</sup>,而 Usha Kant Misra 等人通过研究细胞因子水平与 TBM 患者的临床表现及脑部核磁共振表现变化的关系,也得出了相同的结论<sup>[10]</sup>。因此,在 TBM 患者体内 TNF- $\alpha$  的水平升高主要是由于炎症部位持续的炎症反应,而且在进行抗结核治疗过程中神经炎症反应持续存在,促进了 TBM 的发生及发展。TNF- $\alpha$  作为监测抗结核治疗效果最有前途的细胞因子<sup>[17]</sup>,其研究结果不一。Chang Ho Kim 等通过用流式细胞仪测定肺结核患者 T 细胞 TNF- $\alpha$  的反应,得出在抗结核治疗过程中血清中 TNF- $\alpha$  水平减低<sup>[18]</sup>,而 Eum 等人则用 ELISA 法检测 TNF- $\alpha$  水平,其作为 TB 抗原刺激的 TNF- $\alpha$  水平的研究得出在抗结核治疗期间 TNF- $\alpha$  的水平增加<sup>[19]</sup>。产生这种分歧的原因可能是由于这两项研究使用不同的抗原刺激

和不同潜伏期,而且使用未经抗原刺激的样本不可避免地导致特异性降低。目前研究虽然可以证明 TNF- $\alpha$  的水平与病情严重程度呈正相关,但是仍不能证明其可以对结核性脑膜炎患者提供 1 个独立的预后指标。

### 5 基质金属蛋白酶(MMPs)

MMPs 是一组钙锌依赖性催化激活的内肽酶,MMP-9 是 MMPs 家族的主要成员之一,其水平的升高可以引起血脑屏障的破坏、神经炎症的形成及脑水肿等的发生。结核分枝杆菌中的 IAM 成分可刺激人单核细胞过度表达 MMP-9<sup>[20]</sup>,而 MMP-9 数量的增加和活化可引起异常组织重塑,使大量脑组织纤维化及肉芽组织的形成,从而使结核性脑膜炎迁延不愈,这提示 MMP-9 参与了 TBM 的病理改变过程。Kyung Yul Lee 等采用酶联免疫吸附试验测定结核性脑膜炎患者脑脊液中的 MMP-9 水平,结果发现结核性脑膜炎组脑脊液中 MMP-9 水平明显较其他 2 组高,并且伴有神经系统并发症的患者显著增高<sup>[21]</sup>。Tushar Patil 等通过对脊椎结核患者血清和脑脊液中细胞因子进行分析和研究得出,MMP-9 水平在血清及脑脊液中均较对照组高,并且脑脊液中 MMP-9 水平与疾病预后密切相关<sup>[22]</sup>。因此,MMP-9 水平的持续升高与神经系统晚期并发症有关,可能与 MMP-9 破坏血脑屏障有关,使脑组织外的其它成分进入脑组织,从而对大脑产生一系列的损害,而无菌性脑膜炎患者的病原体通过周围神经逆行传播至脑,其血脑屏障损害较轻,MMP-9 水平较结核性脑膜炎低。因此,适当的抑制 MMP-9 的活性对结核性脑膜炎的转归有重要作用。

### 6 单核细胞趋化因子蛋白-1(MCP-1)

结核分枝杆菌感染机体后巨噬细胞首先作出反应并分泌多种细胞因子,MTB 入侵部位聚集较多的淋巴细胞及单核细胞,逐渐形成肉芽肿,限制了 MTB 的扩散并杀灭结核分枝杆菌,而 MCP-1 可以直接或间接地向感染部位募集单核细胞和淋巴细胞,与结核的严重程度密切相关,在单核细胞聚集和降低结核严重性中起保护性作用,但也有研究表明大量的 MCP-1 可能损害宿主的免疫系统<sup>[23]</sup>。因此,MCP-1 的保护性作用目前尚有争议。国内张源等的研究证实,MCP-1 在脑损伤的进展中发挥着重要作用,且其血清水平越高,脑损伤越严重<sup>[24]</sup>。Ying Wang 等研究表明,MCP-1 诊断活动性结核病的敏感性为 92.9%,特异性为 80.7%,诊断活动性结核的临界值 389 pg/mL,并且不被机体的免疫状态所影响<sup>[25]</sup>。MCP-1 可能成为活动性结核的辅助诊断指标,在区分儿童和免疫缺陷患者活动性与静止性结核感染中联合检测 IFN- $\gamma$  有很大前途,甚至取代 IFN- $\gamma$ 。

### 7 $\gamma$ -干扰素诱导蛋白-10(IP-10)

IP-10 主要是由单核巨噬细胞产生,属趋化因子 CXC 亚家族,其进入炎症部位主要是通过趋化 T 细胞、NK 细胞等炎性细胞表达 CXCR3 受体,从而介导 Th1 型炎症性疾病。早期研究证实,IP-10 在结核分枝杆菌特异性抗原刺激后表

达,对于感染结核分支杆菌的免疫诊断是一种具有高度敏感性的有前途的标志物<sup>[26]</sup>。国内杨红等通过选取藏族 30 例非结核性脑膜炎和 30 例结核性脑膜炎患者,测定出藏族人群结核性脑膜炎的临界值为 605.62 pg/mL,特异性为 96.7%,敏感性为 86.7%,通过对比 ROC 曲线下的面积,表明 IP-10 在诊断结核性脑膜炎时结果与  $\gamma$ -干扰素相接近,但对于免疫反应较弱的患者可能有更好的诊断价值<sup>[27]</sup>,与 Whittaker 等<sup>[28]</sup>研究结果相同。因此,对于 IFN- $\gamma$  水平升高不明显未达诊断临界值的病例,IP-10 可能会具有更大的诊断作用。Shu-Jin Guo 等的 meta 分析表明,IP-10 在结核病的诊断中灵敏度为 0.73,特异性为 0.83,并且得出 IP-10 与常规测试和其他临床研究的结果并用时可提高结核病诊断的准确性<sup>[29]</sup>。Ruhwald 等通过研究 168 例活动性肺结核患者,得出血清中 IP-10 和 IFN- $\gamma$  水平联合诊断活动性结核时敏感性大大增加(2%~11%)<sup>[30]</sup>。Ji Young Hong 等通过测定 32 例活动性结核病患者血清中 IP-10 水平,在经过抗结核治疗后患者血清中 IP-10 水平明显下降,并且其与监测疾病的活动度、预测治疗效果有关<sup>[31]</sup>。因此,IP-10 在诊断 TBM 中意义重大,并且联合 IFN- $\gamma$  进行诊断会日益成为一个不可或缺的方法。

综上所述,结核性脑膜炎目前仍是致死率最高的结核,早期诊断和治疗对改善预后至关重要,虽然目前结核性脑膜炎的诊断已经取得了很大的成就,诊断方法众多,并且运用细胞因子来诊断结核性脑膜炎日益被研究者重视,今后仍需要寻找最佳的细胞因子来探讨结核性脑膜炎的发病机制,对诊断及治疗结核性脑膜炎有重大意义。

### 参 考 文 献

- [1] Thwaites GE, Van Toorn R, Schoeman J. Tuberculous meningitis: more questions, still too few answers[J]. *The Lancet Neurology*, 2013, 12(10): 999-1010.
- [2] Jain A. Extra pulmonary tuberculosis: a diagnostic dilemma [J]. *Indian J Clin Biochem*, 2011, 26(3): 269-273.
- [3] Dorman SE. New diagnostic tests for tuberculosis: bench, bedside, and beyond[J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(Suppl 3): S173-S177.
- [4] Marx GE, Chan ED. Tuberculous meningitis: diagnosis and treatment overview[J]. *Tuberc Res Treat*, 2011; 798764.
- [5] Sester M, Sotgiu G, Lange C, et al. Interferon- $\gamma$  release assays for the diagnosis of active tuberculosis: a systematic review and meta-analysis[J]. *Eur Respir J*, 2011, 37(1): 100-111.
- [6] Lai CC, Liao CH, Tan CK, et al. Diagnosis of peripheral tuberculous lymphadenitis by enzyme-linked immunospot assay for interferon-gamma[J]. *Am J Med*, 2009, 122(8): e3; author reply e5-6.
- [7] Vidhate MR, Singh MK, Garg RK, et al. Diagnostic and prognostic value of Mycobacterium tuberculosis complex specific interferon gamma release assay in patients with tuberculous meningitis[J]. *J Infect*, 2011, 62(5): 400-403.
- [8] Patel VB, Singh R, Connolly C, et al. Cerebrospinal T-cell responses aid in the diagnosis of tuberculous meningitis in a human immunodeficiency virus- and tuberculosis-endemic population[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2010, 182(4): 569-577.
- [9] Carpagnano GE, Palladino GP, Lacedonia D, et al. Neutrophilic airways inflammation in lung cancer: the role of exhaled LTB-4 and IL-8[J]. *BMC Cancer*, 2011, 11: 226.
- [10] Misra UK, Kalita J, Srivastava R, et al. A study of cytokines in tuberculous meningitis: clinical and MRI correlation[J]. *Neurosci Lett*, 2010, 483(1): 6-10.
- [11] 马江涛, 吴文苑, 张立军, 等. ESAT\_6\_IL\_8 和 INF\_在结核性脑膜炎早期诊断中的应用[J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24(14): 2027-2028.
- [12] Chandrashekara S, Anupama KR, Sambarey A, et al. High IL-6 and low IL-15 levels mark the presence of TB infection: A preliminary study[J]. *Cytokine*, 2016, 81: 57-62.
- [13] Wang JY, Chang HC, Liu JL, et al. Expression of toll-like receptor 2 and plasma level of interleukin-10 are associated with outcome in tuberculosis[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31(9): 2327-2333.
- [14] Su WL, Perng WC, Huang CH, 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.
- [15] Lv S, Han M, Yi R, et al. Anti-TNF- $\alpha$  therapy for patients with sepsis: a systematic meta-analysis[J]. *Int J Clin Pract*, 2014, 68(4): 520-528.
- [16] Nagesh Babu G, Kumar A, Kalita J, et al. Proinflammatory cytokine levels in the serum and cerebrospinal fluid of tuberculous meningitis patients[J]. *Neurosci Lett*, 2008, 436(1): 48-51.
- [17] Clifford V, Zufferey C, Street A, et al. Cytokines for monitoring anti-tuberculous therapy: A systematic review[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2015, 95(3): 217-228.
- [18] Lee J, Choi KJ, Kim MY, et al. Comparative analysis of whole blood interferon-gamma and flow cytometry assays for detecting post-treatment immune responses in patients with active tuberculosis[J]. *Respirology*, 2013, 18(4, SI): 122.
- [19] Eum SY, Lee YJ, Min JH, et al. Association of antigen-stimulated release of tumor necrosis factor-alpha in whole blood with response to chemotherapy in patients with pulmonary multidrug-resistant tuberculosis[J]. *Respiration*, 2010, 80(4): 275-284.
- [20] Price NM, Farrar J, Tran TT, et al. Identification of a matrix-degrading phenotype in human tuberculosis in vitro and in vivo [J]. *J Immunol*, 2001, 166(6): 4223-4230.
- [21] Lee KY, Kim EH, Yang WS, et al. Persistent increase of matrix metalloproteinases in cerebrospinal fluid of tuberculous meningitis[J]. *J Neurol Sci*, 2004, 220(1/2): 73-78.
- [22] Patil T, Garg RK, Jain A, et al. Serum and CSF cytokines and matrix metalloproteinases in spinal tuberculosis[J]. *Inflammation Research*, 2015, 64(2): 97-106.
- [23] Hasan Z, Cliff JM, Dockrell HM, et al. CCL2 responses to Mycobacterium tuberculosis are associated with disease severity in tuberculosis[J]. *PLoS One*, 2009, 4(12): e8459.
- [24] 张源, 张文进, 田毅, 等. 大鼠创伤性颅脑损伤程度与血清 MCP-1、VEGF 及损伤区 CD34 + 细胞表达水平的关系[J]. *中华神经医学杂志*, 2014, 13(3): 224-228.
- [25] Wang Y, Li H, Bao H, et al. Auxiliary diagnostic value of

- 
- monocyte chemoattractant protein-1 of whole blood in active tuberculosis[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(6): 9454-9461.
- [26] Ruhwald M, Bodmer T, Maier C, et al. Evaluating the potential of IP-10 and MCP-2 as biomarkers for the diagnosis of tuberculosis[J]. *Eur Respir J*, 2008, 32(6): 1607-1615.
- [27] 杨红, 杨建蓉, 李明琴. 探讨 IP-10 在藏族人群结核性脑膜炎诊断中的应用[J]. *临床肺科杂志*, 2014, 19(9): 1652-1654, 1655.
- [28] Whittaker E, Gordon A, Kampmann B. Is IP-10 a better biomarker for active and latent tuberculosis in children than IFN-gamma? [J]. *PLoS One*, 2008, 3(12): e3901.
- [29] Guo SJ, Jia LQ, Hu QJ, et al. Diagnostic accuracy of interferon gamma-induced protein 10 for tuberculosis: a meta-analysis [J]. *Int J Clin Exp Med*, 2014, 7(1): 93-100.
- [30] Ruhwald M, Dominguez J, Latorre I, et al. A multicentre evaluation of the accuracy and performance of IP-10 for the diagnosis of infection with *M. tuberculosis* [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2011, 91(3): 260-267.
- [31] Hong JY, Lee HJ, Kim SY, et al. Efficacy of IP-10 as a biomarker for monitoring tuberculosis treatment[J]. *J Infect*, 2014, 68(3): 252-258.
- (2016-08-14 收稿 2016-08-24 修回)