

• 综 述 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.02.039

结核分枝杆菌感染与细胞因子的关系*

韩 梅¹, 韩 璞^{2#}, 邹静波³综述, 陈耀凯^{1△} 审校

1. 重庆市公共卫生医疗救治中心, 重庆 400036; 2. 武警重庆总队医院, 重庆 400061;
3. 重庆市永川区疾病预防控制中心, 重庆 402160

关键词: 细胞因子; 结核分枝杆菌; 炎症反应; 细胞因子风暴
中图分类号: R52 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2021)02-0270-04

结核病的发生和治疗转归与机体免疫状态有密切关系。细胞因子在结核感染免疫应答过程中发挥重要作用。有研究显示, 细胞因子在结核分枝杆菌(MTB)感染人体时具有重要的免疫介导作用, T 细胞反应性不足将导致宿主不能有效清除病原菌, 从而导致 MTB 的持续感染^[1], 增强 T 细胞免疫反应可提高抗分枝杆菌的免疫力。T 细胞分泌的细胞因子对于结核感染和病情判断具有一定的辅助诊断意义^[1-3]。本文对几种重要的细胞因子与 MTB 感染的关系进行综述。

1 MTB 与细胞因子的关系

MTB 可以作为深入研究细胞因子和趋化因子免疫调节作用的重要指示性探针。在人类和 MTB 的共进化过程中, MTB 更像一个工具和策略用于操控人类的免疫反应以确保有效的传播。上述结论基于 2 个事实: 一是 MTB 作为一种弗氏佐剂的重要组成用于刺激脊椎动物的免疫反应; 二是 MTB 抗原通过皮下接种可引起强烈和敏感的 T 细胞介导的炎症反应进而指示 MTB 感染。正是 MTB 导致了细胞因子和趋化因子的产生进而导致炎症细胞的活化。

2 细胞因子与炎症反应控制

细胞因子是一类由细胞产生的可溶性小分子蛋白, 他们可以通过旁分泌的方式极大地影响其他细胞的活动。目前发现的细胞因子主要包括干扰素类 (IFNs)、白细胞介素类 (IL)、肿瘤坏死因子类 (TNF)、趋化因子类。

当人体感染外界微生物时, 免疫系统会立即自发启动免疫系统进行抵抗。如果免疫反应剧烈, 机体组织液中会出现多种细胞因子水平的异常升高, 从而对人体组织造成病理损伤, 这种现象称为细胞因子风暴。细胞因子风暴会导致患者死于感染性休克。所以, 对于炎症及其引发的剧烈反应, 必须加以控制和调节。但仅通过药物激发机体的免疫力, 反而会增加细胞因子风暴发生的风险。因此, 在感染及其引发的

炎症反应过程中, 通过监测细胞因子的水平, 进而指导医生合理用药, 适度调节机体免疫应答, 可有效避免细胞因子风暴的发生。

3 细胞因子网络对于结核病辅助诊断的意义

3.1 与 MTB 感染相关的细胞因子

3.1.1 IFNs 已知 IFNs 中即使相似的细胞因子对于结核病感染也有保护性和致病性之分。基于其序列同源性和受体的差异, IFNs 可分为 I 型和 II 型。I 型包括 IFN- α 和 IFN- β , II 型包括 IFN- γ 。IFN- γ 具有广泛的抗病毒、抗胞内寄生菌及免疫调节能力^[1]。一旦细胞免疫应答启动, CD4⁺ T 细胞即分泌 IFN- γ 激活巨噬细胞发挥溶菌效应。事实上 IFN- γ 的作用不仅仅在于激活巨噬细胞, 它对于结核病感染的作用更多体现在限制中性粒细胞产生的炎症反应。患者在被 MTB 感染后, IFN- γ 水平会升高, 在强化治疗 2 个月后患者血清中 IFN- γ 水平较治疗前显著降低。但 IFN- γ 只是机体控制感染的必要而非充分因素, 对小鼠模型的研究显示^[4], 如果只有 IFN- γ 而缺乏其他细胞因子如 TNF- α 、粒细胞-巨噬细胞集落刺激因子 (GM-CSF)、IL-1、IL-6 等, 宿主依然会感染 MTB; LI 等^[5]对结核性胸膜炎程序性细胞死亡蛋白 1 (PD-1) 调节的 T 细胞免疫应答研究发现, IL-12 通过选择性地诱导 CD4⁺ PD-1⁺ T-bet⁺ 和 CD8⁺ PD-1⁺ T 细胞中的信号传导及转录激活蛋白 (STAT) 4 磷酸化来增强 PD-1 的表达并恢复强烈的 IFN- γ 反应。

3.1.2 IL IL-1 家族包括 IL-1 α 、IL-1 β 、IL-18。IL-1 在细胞中的存在通过其受体 IL-1R1、IL-18R α 、IL-18R β 被证实, IL-1R1 存在于内皮细胞、单核细胞、巨噬细胞和 T 细胞^[6], IL-18 的活化基于其受体 IL-18R α 、IL-18R β 的存在。IL-1R 和 IL-18R 共用 MyD88 作为信使, 而 MyD88 正是机体受到 MTB 感染后启动免疫反应的必要组成。MTB 感染的牛血浆中 IL-1 β 水平高于非结核分枝杆菌 (NTM) 感染或未感染的动物^[6-7]。IL-1 β 、IL-18 在 MTB 感染患者体内水平明显

* 基金项目: “十三五”国家重大科技专项 (2018ZX10302104)。
共同第一作者。 △ 通信作者, E-mail: yaokaichen@hotmail.com。
本文引用格式: 韩梅, 韩璞, 邹静波, 等. 结核分枝杆菌感染与细胞因子的关系[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(2): 270-272.

低于潜伏感染者,但随着抗结核治疗进程的推进又逐渐上升^[7]。MAMISHI 等^[8]的研究认为 IL-2 可以区分结核潜伏感染与活动期结核,但 SUZUKAWA 等^[9]研究则认为 IL-2 定量在临床上不能进行区分。因此,单一的细胞因子作为 MTB 感染的诊断标志物作用有限,多种细胞因子的联合筛查,可以作为研究 MTB 感染诊断策略的方向之一。IL-6 可以通过激活淋巴细胞参与机体免疫反应。ZAMBUZI 等^[10]通过对活动期肺结核、潜伏期肺结核、非结核感染者进行对照研究显示,IL-6 对活动性肺结核诊断的阳性预测值可达 83%,与新诊断的结核病患者相比,结核病多药耐药组患者的血清 IL-6 水平显著升高。提示 IL-6 是 MTB 感染引起的主要细胞因子,并在病理过程中发挥作用,因此可能作为诊断结核病的有效生物标志物。IL-10 最早被认为是由辅助性 T 淋巴细胞 2 型(Th2)细胞产生的一类“细胞因子合成抑制因子”,但后来发现在其他免疫细胞中也能产生。它通过对促进炎症反应的多种细胞因子如 IL-8、IL-12、IFN- γ 、TNF- α 进行抑制实现对巨噬细胞和树突状细胞的调控。IL-10 在潜伏期结核病患者中的水平高于活动性肺结核感染者^[6,11]。Meta 分析显示,在欧洲人群中,MTB 感染风险与 IL-10 基因-1082G/A 相关,在亚洲人群中与-592A/C 相关^[12]。IL-23 依赖性细胞因子家族包括 IL-17 细胞因子家族和 IL-22。IL-17 细胞因子家族由 IL-17 A~F 组成,其中 IL-17A 和 IL-17F 是被研究得较多的两种。随着机体被 MTB 感染,定居在肺部的 $\gamma\delta$ T 细胞最早产生 IL-17。IL-17 还可调节 MTB 感染诱导的 IL-10。在对卡介苗(BCG)接种效果研究中发现,树突状细胞(DC)会产生前列腺素 2(PGE2),PGE2 是产生 IL-10 和 IL-23 的必要因子,而 IL-23 又会诱导 IL-17 的生成;IL-17 还被认为可通过下调 IL-10 而导致 IL-12 增高,IL-12 又可以刺激 IFN- γ 的产生;同时,IL-17 被认为是能较好区分活动性肺结核的细胞因子标志物^[13]。调节性细胞因子包括 IL-4、IL-5、IL-13。在 MTB 感染过程中,IL-4 的水平受外周血淋巴细胞(PBMC)中信使 RNA(mRNA)水平影响极大,产生 IL-4 的 T 细胞可以从结核病患者体内分离得到,从活动性 MTB 培养阳性患者体内分离到的 PBMC 则表现出 IL-4 表达减少^[14]。

3.1.3 TNF 肿瘤坏死因子 α (TNF- α)是由活化巨噬细胞产生的一种重要免疫调节因子。由于大多数的免疫细胞都表现出对 TNF- α 的反应性,因此 TNF- α 也被认为是一种主要的炎症介导因子。在 MTB 感染的小鼠模型中,TNF- α 受体缺失或者 TNF 被中和的小鼠表现出对 MTB 的极大敏感性^[15]。MTB 侵入机体时,TNF- α 促进肉芽肿的形成,导致组织坏死、空洞形成。国内外研究显示,结核病患者血清中的 TNF- α 水平高于健康人群,治疗有效患者体内 TNF- α 水平低于未治疗者^[16]。

3.2 多种细胞因子检测的临床意义 细胞因子之间通常是相互影响、联合作用的。余艳艳等^[17]研究证明,IFN- γ 与 IL-2 联合检测可提高结核病的检出率。傅雅静等^[18]对我国广西地区艾滋病(HIV)、结核病双重感染、单纯感染及健康对照者血清细胞因子进行直接检测及比较,发现单纯结核病感染者 IL-10 及 TNF- α 水平明显升高,双重感染者上升更加显著,提示结核病患者体内这两种细胞因子的分泌及表达失平衡更为明显。此外,在儿童结核病和潜伏性结核病患者中,IFN- γ 、IL-1ra、IL-2、IL-13、趋化因子-10(IP-10)、巨噬细胞炎性蛋白-1 β (MIP-1 β)和 TNF- α 的中位数水平均显著高于非结核病对照组,IL-18/IL-37/IP-10 可以作为区分活动性和非活动性结核的标志物^[19]。

因此,单一的细胞因子作为感染诊断的标志物功能有限。在疾病诊断和治疗过程中,对机体的多种细胞因子进行监测,进而对免疫状态进行指导性调节尤为重要。在类似结核病这样复杂的疾病进程中,任何一种细胞因子的作用,其导致的保护性或者致病性取决于其他细胞因子的相互影响。多种细胞因子在血浆中的水平可以反映机体是否处于免疫平衡状态。虽然这种联合作用对于结核病的诊断尚不明确,但检测未经特异性抗原刺激的外周血中的多种细胞因子,将是 MTB 感染筛查的一种极有价值的方法。

4 细胞因子水平与淋巴细胞亚群计数的关系

淋巴细胞按照功能可分为 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和自然杀伤细胞(NK)。辅助性 T 淋巴细胞(Th)是 T 细胞的主要亚群,根据其表面标志物不同可分为 Th1、Th2、Th17 共 3 个亚群,各亚群在机体免疫平衡中各具重要作用。

细胞因子表达的增加和降低与疾病病理过程有关,严重感染患者早期血液细胞因子水平可作为衡量患者预后的指标。CD4⁺T/CD8⁺T 淋巴细胞计数检测与细胞因子检测结果具有一定的相关性。有研究显示,在结核合并艾滋病感染者中,与正常组比较,CD4⁺细胞数与 Th1 细胞因子 IFN- γ 水平显著下降,而 Th2 细胞因子 IL-4 水平显著升高,随着艾滋病病情的加重,Th1 细胞因子水平降低与 CD4⁺细胞绝对数降低呈显著正相关,Th2 细胞因子水平增高与 CD4⁺细胞的绝对数降低呈显著负相关^[5]。

虽然 CD8⁺T 在调节免疫系统抵抗 TB 感染中起着重要作用,但 T 细胞的保护作用最初主要是由 CD4⁺T 细胞介导的^[1]。在进行感染和炎症反应监控中,细胞因子比淋巴细胞亚群变化更灵敏,更早监测到。细胞因子变化通常早于降钙素原和 C 反应蛋白,联合降钙素原与 TNF- α 、ICAM-1 等细胞因子联合测定能够更早、准确、灵敏地诊断某些感染发生。

5 小结

综合考虑,除了 IFN- γ ,一系列细胞因子、趋化因子以及其他因子都表现出对机体 MTB 感染后的保护

作用^[6]。细胞因子与结核病的发生、发展关系密切,可通过监测机体血清中的某些细胞因子的水平,判断机体对 MTB 感染后的免疫反应。基于当前 MTB 感染诊断的现状,传统培养耗时长,分子诊断检出率低,受样本类型和样本质量影响大,结果稳定性不够等因素的影响,细胞因子的检测有助于及早发现感染,采取有效治疗,避免发生 MTB 感染合并脓毒症或败血症。调节机体失衡的细胞因子网络,是近年来出现的一种新的免疫治疗方法。检测这些关键的细胞因子是否平衡以及当失去平衡后对疾病的影响对于研究 MTB 致病机制非常重要。

对细胞因子的检测方法除了传统的体外培养检测生物活性外,越来越多的新检测技术提高了细胞因子检测的灵敏度和特异度,包括 Real-Time PCR、流式免疫荧光、单核苷酸多态性分型(SNP-genotyping)、蛋白印迹杂交(WB)、酶联免疫吸附试验(ELISA)。由于细胞因子水平在机体外周血中的水平极其不稳定,而细胞因子痕量水平的变化都将反应机体免疫状态的变化,或者导致机体严重的病理损伤,因此对于细胞因子监测,较好的策略应该具有高灵敏度和高特异度的特点,同时采用多因子进行联合检测。

参考文献

- [1] ZENG G, ZHANG G, CHEN X. Th1 cytokines, true functional signatures for protective immunity against TB? [J]. *Cell Mol Immunol*, 2018, 15(3):206-215.
- [2] DALVI S M, RAMRAJE N N, PATIL V W, et al. Study of IL-6 and vitamin D3 in patients of pulmonary tuberculosis[J]. *Indian J Tuberc*, 2019, 66(3):337-345.
- [3] CROUSER E D, WHITE P, CACERES E G, et al. A Novel In Vitro Human Granuloma Model of Sarcoidosis and Latent Tuberculosis Infection[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2017, 57(4):487-498.
- [4] FERLITA S, YEGIAZARYAN A, NOORI N, et al. Type 2 Diabetes Mellitus and Altered Immune System Leading to Susceptibility to Pathogens, Especially Mycobacterium tuberculosis[J]. *J Clin Med*, 2019, 8(12):2219.
- [5] LI J, JIN C, WU C, et al. PD-1 modulating Mycobacterium tuberculosis-specific polarized effector memory T cells response in tuberculosis pleurisy[J]. *J Leukoc Biol*, 2019, 106(3):733-747.
- [6] GRO O, YAZDI A S, THOMAS C J, et al. Inflammasome Activators Induce Interleukin-1 α Secretion via Distinct Pathways with Differential Requirement for the Protease Function of Caspase-1[J]. *Immunity*, 2012, 36(3):400.
- [7] KATHAMUTHU G R, MOIDEEN K, BHASKARAN D, et al. Reduced systemic and mycobacterial antigen-stimulated concentrations of IL-1 β and IL-18 in tuberculous lymphadenitis[J]. *Cytokine*, 2017, 90:66-72.
- [8] MAMISHI S, POURAKBARI B, SHAMS H, et al. Improving T-cell assays for diagnosis of latent TB infection: Confirmation of the potential role of testing Interleukin-2 release in Iranian patients [J]. *Allergol Immunopath*, 2016, 44(4):314-321.
- [9] SUZUKAWA M, AKASHI S, NAGAI H, et al. Combined Analysis of IFN- γ , IL-2, IL-5, IL-10, IL-1RA and MCP-1 in QFT Supernatant Is Useful for Distinguishing Active Tuberculosis from Latent Infection[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4):e152483.
- [10] ZAMBUZI F A, CARDOSO-SILVA P M, ESPINDOLA M S, et al. Identification of promising plasma immune biomarkers to differentiate active pulmonary tuberculosis [J]. *Cytokine*, 2016, 88:99-107.
- [11] YOU E, KIM M H, LEE W I, et al. Evaluation of IL-2, IL-10, IL-17 and IP-10 as potent discriminative markers for active tuberculosis among pulmonary tuberculosis suspects[J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2016, 99:100-108.
- [12] LIANG B, GUO Y, LI Y, et al. Association between IL-10 gene polymorphisms and susceptibility of tuberculosis: evidence based on a meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2):e88448.
- [13] WOZNIAK T M, SAUNDERS B M, RYAN A A, et al. Mycobacterium bovis BCG-Specific Th17 Cells Confer Partial Protection against Mycobacterium tuberculosis Infection in the Absence of Gamma Interferon [J]. *Infect Immun*, 2010, 78(10):4187-4194.
- [14] SARIKO M, MARO A, GRATZ J, et al. Evaluation of cytokines in peripheral blood mononuclear cell supernatants for the diagnosis of tuberculosis [J]. *J Inflamm Res*, 2018, 12:15-22.
- [15] BARHAM M S, WHATNEY W E, KHAYUMBI J, et al. Activation-Induced Marker Expression Identifies Mycobacterium tuberculosis-Specific CD4 T Cells in a Cytokine-Independent Manner in HIV-Infected Individuals with Latent Tuberculosis [J]. *Immunohorizons*, 2020, 4(10):573-584.
- [16] BACK Y W, BAE H S, CHOI H G, et al. Fusion of Dendritic Cells Activating Rv2299c Protein Enhances the Protective Immunity of Ag85B-ESAT6 Vaccine Candidate against Tuberculosis[J]. *Pathogens*, 2020, 9(11):865.
- [17] 余艳艳, 谭云洪, 朱权, 等. INF- γ 和 IL-2 联合检测在结核病辅助诊断中的价值 [J]. *检验医学与临床*, 2019, 16(11):1477-1479.
- [18] 傅雅静, 张子宁, 刘飞鹰, 等. 我国 HIV/TB 双重感染者血清细胞因子水平的研究 [J]. *中国医科大学学报*, 2015, 43(3):196-200.
- [19] WAWROCKI S, SEWERYN M, KIELNIEWSKI G, et al. IL-18/IL-37/IP-10 signalling complex as a potential biomarker for discriminating active and latent TB [J]. *PLoS One*, 2019, 14(12):e0225556.