

联合检测 TOLL 样受体 2 和 γ -干扰素对结核性胸腔积液的诊断价值

黄陆颖, 巫艳彬, 冯挺眉, 秦志强, 韦彩周, 陆爱玲

基金项目: 广西自然科学基金资助项目(编号:桂科自 0728081); 广西卫生厅科研课题(编号:Z2013394)

作者单位: 530021 南宁, 广西壮族自治区人民医院呼吸内科(黄陆颖, 秦志强, 韦彩周, 陆爱玲); 530021 南宁, 广西医科大学第一附属医院呼吸疾病研究所(巫艳彬, 冯挺眉)

作者简介: 黄陆颖(1968-), 女, 医学硕士, 副主任医师。研究方向: 胸膜疾病和 COPD 的临床诊治。E-mail: huangluying2601@vip.sina.com

【摘要】 目的 探讨联合测定胸水中 TOLL 样受体 2 (TLR2) 和 γ -干扰素 (IFN- γ) 水平对结核性胸腔积液的诊断价值。**方法** 收集确诊结核性胸腔积液、恶性胸腔积液和细菌性胸腔积液患者的胸水和血清, 应用酶联免疫吸附试剂盒 (ELISA) 测定 TLR2 和 IFN- γ 的浓度, 并对数据进行分析。**结果** (1) 结核组患者胸水 TLR2 (22.19 ± 2.12) ng/L、IFN- γ (2287.20 ± 408.34) ng/L 均比其相应血清水平高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结核组患者胸水的 TLR2 和 IFN- γ 水平均高于恶性组和细菌组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。(2) TLR2 诊断结核性胸腔积液的工作特征曲线 (ROC) 下面积 (ACU) 为 0.696 (95% CI: 0.501 ~ 0.849), 灵敏度为 66.67%, 特异度为 80%。同样, IFN- γ 的 ACU 为 0.945 (95% CI: 0.875 ~ 1.014), 灵敏度为 87.5%, 特异度为 97.9%。**结论** 联合测定 TLR2 和 IFN- γ 指标有助于结核性胸腔积液的诊断。

【关键词】 结核性胸腔积液; TOLL 样受体 2; γ -干扰素

【中图分类号】 R 56 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1674-3806(2013)08-0733-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.08.02

Value of combined detection of Toll-like receptor 2 and interferon- γ in the diagnosis of tuberculous pleural effusion HUANG Lu-ying, WU Yan-bin, FENG Ting-mei, et al. Department of Respiratory Diseases, the People's Hospital of Guangxi Zhuang Autonomous Region, Nanning 530021, China

【Abstract】 Objective To explore the value of the combined detection of Toll-like receptor-2 (TLR2) and interferon- γ (IFN- γ) in pleural effusion in the diagnosis of tuberculous pleural effusion. **Methods** The concentrations of soluble TLR2 and IFN- γ in pleural effusion and serum were determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in patients with tuberculous, malignant and bacterial pleural effusion. **Results** (1) The concentrations of sTLR2 [22.19 ± 2.12] ng/L and IFN- γ [2287.20 ± 408.34] ng/L in pleural effusions were significantly higher than those in serum of the same patients. The levels of sTLR2 and IFN- γ in tuberculous pleural effusion was significantly higher than those in malignant and in bacterial pleural effusion. (2) The ROC analysis for TLR2 and IFN- γ were done. The levels of TLR2 generated an area under the receive operating characteristic (ROC) curve of 0.696 [95% confidence interval (CI): 0.501 ~ 0.849], at a sensitivity of 66.67%, a specificity of 80%. As well as IFN- γ generated an area under the ROC curve of 0.945 (95% CI: 0.875 ~ 1.014), at a sensitivity of 87.5%, a specificity of 97.9%. **Conclusion** The combined detection of TLR2 and IFN- γ in pleural effusion may be helpful in the differential diagnosis of tuberculous pleural effusion and the other pleural effusion, which provides an important information for clinical diagnosis and treatment.

【Key words】 Tuberculous pleural effusion; Toll-like receptor-2; Interferon- γ

结核感染目前仍然是全球性健康问题, 是发展中国家疾病的主要死亡病因^[1]。结核病患者中约 5% 合并有结核性胸腔积液^[2]。胸膜感染结核杆菌

后发生一系列的急性炎症, 产生以淋巴细胞为主的免疫应答, 形成渗出液。Toll 样受体 2 (Toll-like receptor-2, TLR2) 是和果蝇 Toll 蛋白结构同源的蛋白

受体,介导先天免疫和病原体配体的免疫应答^[3],促使淋巴细胞产生各种淋巴细胞因子。文献报道^[4,5],结核性胸腔积液的 TLR2 和 γ -干扰素 (IFN- γ) 水平明显增高。本文采用前瞻性研究方法研究 TLR2 和 IFN- γ 在结核性胸腔积液中的水平,探讨上述指标对结核性胸腔积液的临床诊断价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2007-10 ~ 2009-10 到广西壮族自治区人民医院呼吸内科和广西医科大学第一附属医院呼吸内科住院的胸腔积液患者共 81 例。结核组 32 例,男 24 例,女 8 例;年龄 21 ~ 77 (42.70 $\pm$ 18.34) 岁。恶性肿瘤组 27 例,男 17 例,女 10 例;年龄 35 ~ 75 (54.35 $\pm$ 12.63) 岁。细菌组 22 例,男 14 例,女 8 例;年龄 25 ~ 57 (45.23 $\pm$ 17.25) 岁。三组胸腔积液患者性别、年龄比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 诊断标准 (1) 结核性胸水的诊断至少符合下列条件之一者:①胸水中直接找到抗酸杆菌;②胸膜组织活检发现抗酸杆菌;③胸膜活检为典型的肉芽肿,并排除其他肉芽肿性疾病;④胸腔积液抗结核治疗有效。(2) 恶性胸腔积液诊断标准:胸水细胞学检查找到恶性肿瘤细胞,或胸膜组织活检符合恶性肿瘤病理改变。(3) 细菌性胸腔积液根据以下特点综合诊断:①临床有发热、胸痛等症状,胸水外观混浊或脓性,胸水以中性粒细胞占优势;②胸水培养有细菌生长或严格无菌操作抽取胸水涂片革兰氏染色找到细菌;③抗菌治疗有效。

1.3 排除标准 入院前 3 个月内曾接受侵入性胸腔检查或胸部创伤、手术者,或目前接受糖皮质激素

素、免疫抑制剂、抗肿瘤治疗者剔除在外。

1.4 研究方法

1.4.1 标本采集与处理 患者入院后,采用标准胸腔穿刺术抽取胸水 10 ml,每例研究对象同步采集外周静脉血 (5 ml)。外周静脉血用 EDT 管收集抗凝,胸水用肝素抗凝,分别用离心机 1 200 rpm/min 离心,分离血清和胸水上清液,标记,置于 -70 °C 冰箱保存待测。

1.4.2 可溶性 TLR2 与 IFN- γ 检测 采用 eBioscience 公司生产的酶联免疫吸附试剂盒 (ELISA) 检测胸水 TLR2 的浓度。美国 R&D 公司生产试剂盒用酶联免疫吸附试验检测胸水上清液 IFN- γ 。严格按照试剂产品说明书的指导进行检测,所有标本都一式两份分析。

1.5 统计学方法 应用 SPSS16.0 统计软件进行数据处理。对所有观察指标,符合正态分布的以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。正态分布计量资料的多个组间比较采用单因素方差分析 (One-Way ANOVA)。两组计量资料比较采用配对样本 t 检验 (Paired-Samples T Test)。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同病因胸腔积液患者胸水及血清 TLR2 和 IFN- γ 水平的比较 三组患者胸水 TLR2 和 IFN- γ 水平均比其血清中的水平增高 ($P < 0.05$)。结核组胸水 TLR2 和 IFN- γ 水平均高于恶性胸腔积液组及细菌性胸腔积液组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$);恶性肿瘤组和细菌组间 TLR2 和 IFN- γ 相比较,差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同病因胸腔积液患者胸水及血清 TLR2 与 IFN- γ 水平的比较 [$(\bar{x} \pm s)$, ng/L]

组别	例数	TLR2		IFN- γ	
		胸水	血清	胸水	血清
结核组	32	22.19 $\pm$ 2.12**	3.07 $\pm$ 0.55	2287.20 $\pm$ 408.34**	21.45 $\pm$ 1.71
恶性组	27	14.50 $\pm$ 1.93*	1.12 $\pm$ 0.22	55.89 $\pm$ 3.67*	12.03 $\pm$ 0.39
细菌组	22	13.99 $\pm$ 2.36*	4.47 $\pm$ 0.69	130.04 $\pm$ 19.66*	18.45 $\pm$ 1.30
F	-	4.911	5.643	22.074	14.171
P	-	0.010	0.105	0.000	0.000

注:与其他两组比较 (One-Way ANOVA), * $P < 0.05$; 各组胸水与血清比较 (Paired-Samples T Test), ** $P < 0.05$

2.2 TLR2 和 IFN- γ 对结核性和非结核性胸腔积液的诊断阈值和诊断效能比较 受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 结果显示胸腔积液 TLR2 和 IFN- γ 两种指标对诊断结核性胸腔积液的最佳阈值分别为 31.15 ng/L 和 329.20 ng/L。TLR2 的曲线下面积 (AUC)

为 0.694 (95% 可信区间: 57.5% ~ 81.3%), 相应灵敏度和特异度分别为 28.1% 和 97.9%, 阳性似然比和阴性似然比分别为 13.78 和 0.73 ($P < 0.05$)。IFN- γ 的 AUC 为 0.945 (95% 可信区间: 0.875 ~ 1.014), 灵敏度 87.5%, 特异度 97.9%, 阳性似然比和阴性

似然比分别是 42.87 和 0.13 ($P < 0.001$)。比较 TLR2 和 IFN- γ 的诊断, 前者的诊断灵敏度不如后

者, 但特异度相似。IFN- γ 对结核性胸腔积液的诊断效能优于 TLR2。见表 2 和图 1。

表 2 TLR2 和 IFN- γ 对结核性与非结核性胸腔积液诊断阈值和诊断效能比较(n)

组 别	例数	TLR2		IFN- γ		TLR2 和 IFN- γ		TLR2 或 IFN- γ	
		阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性
结核组	32	9	23	28	4	7	25	31	1
非结核组*	49	1	48	1	48	0	49	2	47
灵敏度(%)	-	28.1		87.5		21.9		93.9	
特异度(%)	-	97.9		97.9		100.0		97.9	

* 非结核, 包括恶性组、细菌感染组

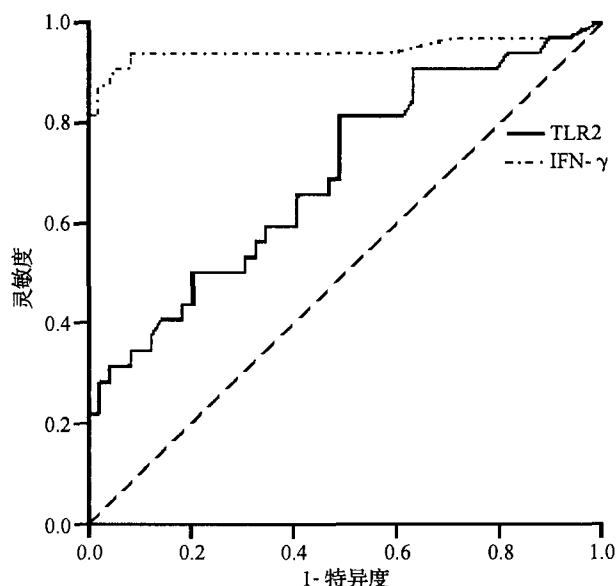


图 1 TLR2 和 IFN- γ 的受试者工作特征曲线(ROC)

2.3 联合检测 TLR2 和 IFN- γ 对结核性胸腔积液的诊断效能 联合检测 TLR2 与 IFN- γ 结果显示, 当两者同时均高于其相应诊断阈值, 得出诊断结核性胸腔积液的灵敏度及特异度分别为 21.9% 和 100%; TLR2 或 IFN- γ 达到其最佳阈值时灵敏度及特异度分别为 93.9% 和 97.9%。

3 讨论

3.1 结核病是临床常见疾病。根据世界卫生组织的报告^[1], 2011 年全球有 870 万人患结核病, 其中有 140 万人死亡。目前中国结核病年发病人数约为 130 万, 占全球发病数的 14.3%, 位居全球第 2 位。结核性胸膜炎通常继发于靠近胸膜的肺结核, 特点是富含淋巴细胞的渗出液, 诊断时需要与同样表现渗出液的肿瘤性胸腔积液等相鉴别。传统的结核性胸腔积液诊断方法常依赖于胸水、胸膜组织培养出结核杆菌, 或胸膜组织病理检查发现结核性肉芽肿。结核菌的培养比较困难, 大约只有 5% 的病例胸水

Ziehl-Neelson 染色找到抗酸杆菌^[6]。由于胸腔镜技术的开展, 胸腔积液确诊率明显提高^[7]。但是, 胸腔镜手术创伤性和花费大, 限制了它的广泛应用。目前结核性胸腔积液主要依靠临床诊断, 确诊率比较低。

3.2 患者感染结核杆菌后, 引起胸膜急性炎症反应,大量淋巴细胞募集到胸膜腔, 出现特殊的淋巴细胞亚群并与胸膜间皮细胞促成局部细胞因子和趋化因子的生成^[8,9]。结核性胸腔积液以 CD4⁺ T 细胞介导的细胞免疫为主, 活化的 T 淋巴细胞释放 IFN- γ 激活巨噬细胞, 提高巨噬细胞对结核杆菌的抑制能力^[4]。

3.3 我们之前研究发现结核性胸腔积液 TLR2 水平增高^[5]。本文研究结果提示胸腔积液中 TLR2 显著高于相应血清水平, 并且结核组的浓度高于其他类型胸腔积液组。TLR2 诊断结核性胸腔积液的最佳阈值为 31.15 ng/L, ROC 曲线下面积为 69.4% (95% 可信区间: 57.5% ~ 81.3%), 相应灵敏度和特异度分别为 28.1% 和 97.9%。有荟萃分析显示了 IFN- γ 诊断结核性胸腔积液的平均灵敏度和特异度分别是 89% 和 97%^[4]。我们的研究发现, 结核性胸腔积液患者的积液 IFN- γ 水平均显著增高, 甚至百倍于相应血清水平, 同时显著高于恶性胸腔积液及细菌性胸腔积液。通过 ROC 分析, 我们得出 IFN- γ 诊断结核性胸腔积液的最佳诊断阈值为 329.2 ng/L。诊断结核性胸腔积液的曲线下面积为 94.5% (95% 可信区间: 0.8751 ~ 1.014), 灵敏度和特异度分别是 87.5% 和 97.9%, 与上述文献报道相似。

3.4 本研究提示 TLR2 和 IFN- γ 在胸膜结核中有重要作用。结核性胸膜炎是一种和免疫相关的感染性疾病, 胸液中主要以淋巴细胞增高为主, 不同于细菌的化脓性感染。本研究发现 TLR2 和 IFN- γ 水平均显著高于其他类型的胸腔积液, 进一步提示 TLR2

和 IFN- γ 与淋巴细胞相关。ROC 分析提示, TLR2 和 IFN- γ 对结核性胸腔积液均具有良好的诊断效能。本研究提示, 在结核性与非结核性胸腔积液鉴别诊断中, 如 TLR2 和 IFN- γ 同时均高于各自的诊断阈值, 得出最佳诊断特异度 100%, 明显高于它们各自的特异度值; 如 TLR2 或 IFN- γ 高于诊断阈值, 得出最佳诊断灵敏度为 93.9%, 均优于单独应用 TLR2 及 IFN- γ 。

3.5 本研究提示单独测定 TLR2 及 IFN- γ 均有助于诊断结核性胸腔积液, 但联合测定更能提高诊断结核性胸腔积液的敏感性和特异性, 具有更高的诊断效能。TLR2 及 IFN- γ 联合检测对结核性胸膜炎的早期临床诊断和治疗提供重要参考价值。

参考文献

- 1 Global Health Observation. Tuberculosis(TB). World Health Organization. Web site: <http://www.who.int/gho/tb/en/index.html>.
- 2 Gopi A, Madhavan SM, Sharma SK, et al. Diagnosis and treatment of tuberculous pleural effusion in 2006[J]. Chest, 2007, 131(3): 880

-889.

- 3 Lemaitre B, Nicolas E, Michaut L, et al. The dorsoventral regulatory gene cassette *spätzle/toll/cactus* controls the potent antifungal response in *Drosophila* adults[J]. Cell, 1996, 86(6): 973-983.
- 4 Jiang J, Shi HZ, Liang QL, et al. Diagnostic value of interferon-gamma in tuberculous pleurisy: a metaanalysis[J]. Chest, 2007, 131(4): 1133-1141.
- 5 巫艳彬, 黄陆颖, 冯挺眉, 等. TLR-2 和 TLR-4 在不同疾病胸腔积液中的水平及临床意义[J]. 中国临床新医学, 2012, 5(8): 696-699.
- 6 Valdés L, Alvarez D, San José E, et al. Tuberculous pleurisy: a study of 254 patients[J]. Arch Intern Med, 1998, 158(18): 2017-2021.
- 7 Tassi GF, Marchetti GP, Pinelli V. Minithoracoscopy: a complementary technique for medical thoracoscopy[J]. Respiration, 2011, 82(2): 204-206.
- 8 Antony VB. Immunological mechanisms in pleural disease[J]. Eur Respir J, 2003, 21(3): 539-544.
- 9 Mutsaers SE. Mesothelial cells: their structure, function and role in serosal repair[J]. Respirology, 2002, 7(3): 171-191.

[收稿日期 2013-05-31][本文编辑 刘京虹 吕文娟]

课题研究·论著

初发 2 型糖尿病患者 GLP-1 水平变化对胰高血糖素及早相胰岛素分泌的影响

吴美芬, 武 革, 蔡晓玲, 陈晓铭, 方 烁, 潘海燕

基金项目: 广东省科技计划资助项目(编号:2011B031800231); 广东省医学科研基金资助项目(编号:B2011243)

作者单位: 524001 湛江, 广东医学院附属医院内分泌科

作者简介: 吴美芬(1980-), 女, 硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 糖尿病的发病机制。E-mail: wmf923@126.com

通讯作者: 武 革(1957-), 女, 大学本科, 医学学士, 硕士研究生导师, 主任医师, 研究方向: 糖尿病及甲状腺疾病的发病机制。

E-mail: wuge427@yahoo.com.cn

[摘要] 目的 探讨初发 2 型糖尿病(T2DM)患者胰高血糖素样肽-1(GLP-1)对胰高血糖素及早相胰岛素分泌的影响。方法 以新发 T2DM 患者(T2DM 组)、健康体检者(对照组)为研究对象, 采用标准馒头餐试验, 观察空腹、进餐后 30 min、120 min 静脉血浆 GLP-1 动态变化及对血浆葡萄糖、胰高血糖素、胰岛素分泌的影响。结果 初发 T2DM 组患者馒头餐各时点 GLP-1 水平平均分别较对照组显著降低, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 馒头餐后 30 min、120 min 胰岛素水平显著降低($P < 0.05$), 但空腹胰岛素无明显差异($P > 0.05$); 而胰高血糖素则较对照组各时点显著升高, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。初发 T2DM 组早相胰岛素分泌指数($\Delta\text{FINS}_{30}/\Delta\text{G}_{30}$)显著低于对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 初发 T2DM 患者存在 GLP-1 分泌减少, GLP-1 缺乏可能是 T2DM 患者胰岛 β 细胞分泌缺乏及胰高血糖素分泌过多的重要因素。

[关键词] 2 型糖尿病; 胰高血糖素样肽-1; 胰高血糖素; 胰岛素分泌指数

[中图分类号] R 587.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1674-3806(2013)08-0736-04

doi:10.3969/j.issn.1674-3806.2013.08.03