

骨关节结核患者血清 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 的检测及其临床意义

梁俊卿¹, 农峰², 高子然¹, 涂振阳¹, 姬志祥¹, 姚泉丞¹, 郑川川¹, 蓝常贡³

- (1. 右江民族医学院研究生学院, 广西 百色 533000;
2. 右江民族医学院附属医院心胸血管外科, 广西 百色 533000;
3. 右江民族医学院附属医院脊柱骨病外科, 广西 百色 533000)

摘要:目的 通过分析骨关节结核患者血清中白细胞介素(IL-15)、人单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)和转化生长因子- β (TGF- β)的表达水平,阐明 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 与骨关节结核发生发展的关系,并探讨其临床价值。方法 应用酶联免疫吸附法(ELISA)对 47 例骨关节结核患者(观察组)和 68 名健康者(对照组)外周血血清 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 的表达情况进行测定,并比较其在两组间的表达差异,同时分析三者之间是否存在线性相关。结果 骨关节结核患者血清 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 表达量分别为 (52.99 ± 14.47) pg/ml、 (224.64 ± 47.06) pg/ml 和 (181.78 ± 30.78) pg/ml,健康对照组分别为 (32.74 ± 10.21) pg/ml、 (166.10 ± 27.61) pg/ml 和 (120.66 ± 30.88) pg/ml,两组间 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 表达量差异均具有统计学意义($P < 0.05$);在观察组和对照组中,IL-15、MCP-1、TGF- β 分子水平之间均无线性相关($P > 0.05$)。结论 在骨关节结核患者血清中,IL-15、TGF- β 和 MCP-1 含量升高,可能提示骨关节结核免疫过程的发生,但其具体机制尚未明确,有待进一步研究。

关键词: 结核, 骨关节; IL-15; MCP-1; TGF- β

中图分类号: R529.2

文献标识码: A

文章编号: 1001-5817(2018)06-0537-04

doi:10.3969/j.issn.1001-5817.2018.06.007

Detection and clinical significance of serum IL-15, MCP-1 and TGF- β in patients with bone and joint tuberculosis

Liang Junqing¹, Nong Feng², Gao Ziran¹, Tu Zhenyang¹, Ji Zhixiang¹,
Yao Quancheng¹, Zheng chuanchuan¹, Lan Changgong³

- (1. Graduate School of Youjiang Medical University For Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
2. Cardiothoracic and Vascular Surgery of Affiliated Hospital of Youjiang Medical University For Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China;
3. Department of Spine Orthopedics of Affiliated Hospital, Youjiang Medical University For Nationalities, Baise 533000, Guangxi, China)

Abstract: **Objective** To elucidate the association among interleukin-15 (IL-15), monocyte chemotactic protein-1 (MCP-1), transforming growth factor- β (TGF- β) and the genesis and development of osteoarticular tuberculosis by analyzing the expressions of serum IL-15, MCP-1 and TGF- β in patients with bone and joint tuberculosis, and to explore their clinical significances. **Methods** Forty-seven patients with osteoarticular tuberculosis as observation group and 68 healthy subjects as control group were chosen. The expressions of peripheral blood serum IL-15, MCP-1 and TGF- β were measured by using enzyme-linked immunosorbent assay

基金项目: 2016 年国家自然科学基金项目(81660369); 2015 年国家自然科学基金项目(81541136); 2016 年广西自然科学基金项目(2016GXNSFAA380173)

第一作者简介: 梁俊卿(1986-), 男, 在读硕士研究生, 主治医师, 研究方向: 骨关节结核的基础与临床研究, E-mail: liangjq120@163.com

通信作者简介: 蓝常贡(1973-), 男, 医学硕士, 主任医师, 硕士研究生导师, 研究方向: 骨关节的基础与临床研究, E-mail: land-long120@sina.com

(ELISA) and the expression differences of IL-15, MCP-1 and TGF- β were compared between the two groups, and the linear correlation among IL-15, MCP-1 and TGF- β levels were analyzed in the two groups. **Results** The expressions of serum IL-15, MCP-1 and TGF- β in the observation group and the control group were (52.99 ± 14.47) pg/ml, (224.64 ± 47.06) pg/ml, (181.78 ± 30.78) pg/ml and (32.74 ± 10.21) pg/ml, (166.10 ± 27.61) pg/ml, (120.66 ± 30.88) pg/ml, respectively; and the differences of IL-15, MCP-1 and TGF- β expressions between the two groups had statistical significances ($P < 0.05$). And there were no linear correlations among IL-15, MCP-1 and TGF- β expressions in the two groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The elevated expressions of serum IL-15, TGF- β and MCP-1 in patients with osteoarticular tuberculosis may indicate the occurrence of immune process in osteoarticular tuberculosis, but its specific mechanism is not clear yet and needs further study.

Key words: tuberculosis, osteoarticular; interleukin-15; monocyte chemotactic protein-1; transforming growth factor- β

结核病(tuberculosis, TB)具有高发病率和死亡率的特点,其致病菌为结核分枝杆菌。据估计^[1],全球每年新发的结核病例数800万~1000万,死亡病例数约为300万。由于结核病给患者带来极大的痛苦,给社会造成巨大的经济损失,其已经成为严重威胁社会公共健康的主要疾病之一,亟待学者们的研究和解决。其中,骨关节结核是一种较为常见的肺外结核病,其发生与发展过程受多种细胞因子的调控。目前,骨关节结核的发病机制尚未阐明。研究显示^[2-4],白细胞介素-15(interleukin-15, IL-15)、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein-1, MCP-1)在肺结核病中呈明显升高状态,提示其可能参与肺结核的免疫调节。然而,目前有关于血清IL-15、MCP-1和TGF- β 含量与骨关节结核患者免疫过程发生的关系还未见研究报道。为此,我们采用免疫酶联吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)对47例骨关节结核患者及68名健康体检者血清IL-15、MCP-1和TGF- β 的表达情况进行检测,同时分析其表达水平之间是否有线性相关,旨在初步探讨其临床价值。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择2016年2月—2016年7月在右江民族医学院直属附属医院住院治疗的47例骨关节结核患者作为观察组,包括:脊柱结核35例(胸椎结核12例,腰椎结核23例),临床症状主要表现为:脊柱疼痛及脊柱主被动活动明显受限等;12例关节结核(5例膝关节结核,7例髌关节结核),临床主要表现为:关节肿痛及活动障碍等。其中男性22例,女性25例,年龄18~70岁,平均年龄 (41.97 ± 10.60) 岁;病程为4~22个月,平均病程 (9.77 ± 4.41) 个月。所有患者的临床

症状体征、MRI、CT、X线片等资料及术后病例诊断均符合骨关节结核。本组骨关节结核患者无合并感染性疾病(如艾滋病、肺结核或梅毒等)、自身免疫性疾病(如系统性红斑狼疮)及恶性肿瘤疾病(如骨肿瘤、肝癌或肺癌)等。同期随机在本院体检中心选择68名健康者作为对照组,其中男性31名,女性37名,年龄22~66岁,平均年龄 (42.21 ± 11.67) 岁,所有入选者的各项临床检查指标及影像学检查均正常,且近期无结核病或其他感染性疾病的接触史。观察组和对照组的年龄、性别等一般资料比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。本研究获得右江民族医学院附属医院医学伦理委员会的批准,所有受试者均表示知情,并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 取所有受试者空腹肘正中静脉血4 ml,静置于4℃冰箱1 h,1500 r/min离心5 min,分离血清后放置于-80℃冰箱保存待检测。

1.2.2 血清IL-15、MCP-1及TGF- β 分子水平的检测 检测人血清IL-15、MCP-1及TGF- β 所需的ELISA试剂盒购买于武汉华美生物工程有限公司,应用ELISA技术分别对IL-15、MCP-1及TGF- β 含量进行测定。

1.2.3 统计学方法 应用SPSS 24.0统计软件分析,计量资料用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示,两两比较采用两独立样本 t 检验,线性相关分析应用Pearson相关分析法,检验水准以 $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 观察组与对照组IL-15、MCP-1、TGF- β 水平的比较 与对照组比较,观察组血清IL-15、MCP-1和TGF- β 的表达水平均升高,差异具有统计学意义($P < 0.05$),见表1。

表1 两组受试者血清 IL-15、MCP-1、TGF- β 水平的比较 ($\bar{x} \pm s$, pg/ml)

组别	n	IL-15	MCP-1	TGF- β
对照组	68	32.74 \pm 10.21	166.10 \pm 27.61	120.66 \pm 30.88
观察组	47	52.99 \pm 14.47	224.64 \pm 47.06	181.78 \pm 30.78
t		8.273	7.665	10.457
P		<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组受试者血清 IL-15、MCP-1、TGF- β 水平之间的相关性分析 经 Pearson 线性相关性分析,健康对照组受试者血清 IL-15、MCP-1、TGF- β 水平之间均无线性相关 ($P > 0.05$);骨关节结核患者血清 IL-15、MCP-1、TGF- β 水平之间亦无线性相关 ($P > 0.05$)。见表 2。

表2 两组受试者血清 IL-15、MCP-1、TGF- β 水平的相关性分析

指标	健康对照组		骨关节结核组	
	r	P	r	P
IL-15 与 MCP-1	-0.067	0.588	0.172	0.248
IL-15 与 TGF- β	0.078	0.530	0.097	0.518
MCP-1 与 TGF- β	-0.112	0.361	0.143	0.336

3 讨论

结核病的发生、发展及结局与多种因素有关,包括结核分枝杆菌的数量与毒力和机体的免疫功能^[5]。有相关研究表明^[6],细胞免疫在机体对结核分枝杆菌的免疫调节中扮演至关重要的角色。当结核分枝杆菌侵入机体后,由抗原提呈细胞识别,主要为巨噬细胞激活提呈,进而激活细胞免疫反应,趋化 T 细胞和巨噬细胞聚集于病变部位,释放大量的免疫调节因子而参与机体抗结核的免疫调控。其中,IL-15、MCP-1 和 TGF- β 是机体免疫系统中的重要组成部分,其可能影响结核病的演变和进程。本研究检测骨关节结核患者血清 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 分子的表达情况,对于分析和了解骨关节结核病情及其防治工作具有重要的临床参考意义。

IL-15 是一种与多种细胞和组织具有亲和性的细胞因子,不仅能够促进自然杀伤细胞(NK)及 T 细胞等发生增殖活化,而且还可激活 B 细胞产生抗体。其可由人体多种细胞(单核巨噬细胞、B 淋巴细胞和树突状细胞等)和组织器官(心、肺、肝及骨骼肌等)表达,但主要由单核巨噬细胞分泌为主。近年来,随着 IL-15 与疾病发生的相关研究不断增多,发现其与结核病的演变过程存在紧密联系。国内学者黄健^[7]在研究肺结核患者血清中 IL-15 治疗前后的变化及临床意义的过

程中发现,与健康志愿者相比较,肺结核患者治疗前血清中的 IL-15 呈显著性增高;与治疗 1 个月末相比较,治疗前血清 IL-15 水平无明显差异;而与治疗 2 个月末相比较,治疗前及治疗 1 个月末血清 IL-15 呈明显升高趋势。这与国外学者 Niño 等^[8]的研究结果基本一致,提示 IL-15 可能参与肺结核的演变过程,在机体抗结核的免疫应答中发挥至关重要的作用。本研究采用 ELISA 技术检测健康者和骨关节结核患者血清中 IL-15 的表达量,结果发现,与健康者受试者相比较,IL-15 显著性高表达于骨关节结核患者中,提示其可能参与骨关节结核的发病机制。这与上述两位学者的研究结果相同,因而认为检测血清中 IL-15 水平有助于骨关节结核的诊断,同时其也可用于判断结核病的临床疗效及转归。

MCP-1 是趋化因子 CC 亚族成员中的一种,主要由成纤维细胞和单核巨噬细胞等产生,对单核细胞有较强的趋化功能。研究发现^[9],MCP-1 可通过参与抗原呈递和吞噬、细胞迁徙及调节免疫平衡等途径而发挥抗结核免疫作用,如果其功能不能正常发挥,可能会导致结核分枝杆菌的扩散,从而加重病情的变化。资料显示,MCP-1 在结核病患者中呈现异常表达状态。国内学者曹志红等^[10]在研究 MCP-1 在结核病诊断中的价值过程中发现,活动期肺结核患者 MCP-1 的表达含量显著高于结核潜伏感染患者和非结核感染健康者,从而提示高表达的 MCP-1 可能作为诊断结核病及检测结核病情严重程度的指标之一。这与国外学者 Hilda 等^[11]检测 MCP-1 在结核病患者中的表达情况所得的结果大致相同,进一步表明了 MCP-1 参与机体抗结核的免疫过程。本研究通过 ELISA 技术对骨关节结核患者血清 MCP-1 水平进行测定,结果发现,MCP-1 在骨关节结核患者中的表达含量明显高于健康者,与上述两位研究者的结果一致。因而认为,MCP-1 在结核的致病过程中发挥着重要的作用,检测 MCP-1 水平可用于辅助骨关节结核的预防、诊断及病情监测。

TGF- β 是一种具有多功能的细胞因子,主要由参与损伤、炎症修复的细胞产生。资料显示^[12],TGF- β 在结核病患者中呈现异常表达状态,其可通过抑制淋巴细胞的分化、免疫活性细胞的增殖和细胞因子的产生而发挥免疫调节作用。国内学者张艳^[13]研究巨噬细胞的相关因子在肺结核中的表达及临床意义中发现,与健康对照组比较,肺结核患者血清中 TGF- β 表达量显著增高,随着肺结核的标准化治疗,治疗前、治疗 2 个月、6 个月患者外周血中 TGF- β 的水平不断减

少。国外学者 DiFazio 等^[14] 和国内学者张孝侠等^[15] 研究 TGF- β 分子在肺结核患者中的表达情况亦获得相同的结果。这提示 TGF- β 是参与肺结核患者抗感染免疫的重要调节因子,其水平可作为检测结核病情活动和转归的有用指标。本研究采用 ELISA 技术对 TGF- β 在骨关节结核患者中的表达情况进行检测,结果发现,与健康者相比较,骨关节结核患者血清中的 TGF- β 含量显著升高。这与上述三位学者在肺结核相关研究所得到的结果一致,初步表明了 TGF- β 可能参与骨关节结核的发生与发展。因此认为,TGF- β 可能参与结核病的免疫过程,其水平检测对骨关节结核的诊断有一定临床价值。

同时,本研究还分别对对照组和观察组血清中 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 的表达水平进行两两之间相关性分析,结果均未发现存在线性相关,考虑骨关节结核患者机体内 IL-15、MCP-1、TGF- β 水平之间可能存在各自的调控通路。由于影响 IL-15、MCP-1、TGF- β 水平的因素众多,机制复杂,缺乏有效的参考指标,因此其表达水平之间无线性相关,并不能认为在骨关节结核免疫调节过程中 IL-15、MCP-1 和 TGF- β 之间不存在相关性。

综上所述,骨关节结核在发生与发展的过程中,伴随着机体内多种细胞因子表达水平的变化,IL-15、MCP-1 和 TGF- β 含量显著增高,提示其可能参与骨关节结核的免疫调节过程,但其具体机制尚未明确,有待深入研究。IL-15、MCP-1 和 TGF- β 的表达水平有望成为骨关节结核的预防、诊断、病情监测及判断预后的重要临床参考指标。

参考文献:

[1] Pandey S, Venturino E. A TB model: Is disease eradication possible in India? [J]. *Mathematical Biosciences & Engineering*, 2017, 15(1): 233-254.

[2] Jacobs R, Tshehla E, Malherbe S, et al. Host biomarkers detected in saliva show promise as markers for the diagnosis of pulmonary tuberculosis disease and monitoring of the response to tuberculosis treatment [J]. *Cytokine*, 2016, 81: 50-56.

[3] Xiong W, Dong H, Wang J, et al. Analysis of Plasma Cy-

tokine and Chemokine Profiles in Patients with and without Tuberculosis by Liquid Array-Based Multiplexed Immunoassays [J]. *PLoS One*, 2016, 11(2): e0148885.

- [4] Diaz A, Bongiovanni B, D'Attilio L, et al. The clinical recovery of tuberculosis patients undergoing specific treatment is associated with changes in the immune and neuroendocrine responses [J]. *Pathogens & Disease*, 2017, 75(7). doi:10.1093/femspd/ftx087.
- [5] 陈廷, 聂尚丹, 赵建磊, 等. 肺结核患者免疫功能状态的研究 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2011, 15(5): 381-383.
- [6] Liu CH, Liu H, Ge B. Innate immunity in tuberculosis: host defense vs pathogen evasion [J]. *Cellular & Molecular Immunology*, 2017, 14(2): 963-975.
- [7] 黄健. 肺结核患者血清中 IL-15、IL-2、IFN- γ 治疗前后的变化及临床意义 [D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [8] Niño VE, García LF, Rojas M, et al. Increased percentage of IFN- γ producing CD56⁺ CD3⁺ cells in active tuberculosis patients upon CFP-10 stimulation of peripheral mononuclear cells [J]. *Tuberculosis (Edinb)*, 2014, 94(6): 589-598.
- [9] 解元元, 朱朝敏. 趋化因子在抗结核免疫中的作用 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2008, 31(11): 844-846.
- [10] 曹志红, 曹彦, 程小星. MCP-1 在结核病诊断中的价值 [J]. *临床肺科杂志*, 2015, 20(2): 195-198.
- [11] Hilda JN, Das SD. TLR stimulation of human neutrophils lead to increased release of MCP-1, MIP-1 α , IL-1 β , IL-8 and TNF during tuberculosis [J]. *Hum Immunol*, 2016, 77(1): 63-67.
- [12] 刘萍, 张丽, 庞楠楠, 等. 血清 IFN- γ 、TGF- β 1、IL-10 检测对儿童潜伏性结核感染的诊断价值 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2011, 6(9): 650-652.
- [13] 张艳. 巨噬细胞的相关因子在肺结核中的临床意义 [D]. 乌鲁木齐: 新疆医科大学, 2014.
- [14] DiFazio RM, Mattila JT, Klein EC, et al. Active transforming growth factor- β is associated with phenotypic changes in granulomas after drug treatment in pulmonary tuberculosis [J]. *Fibrogenesis Tissue Repair*, 2016, 9: 6.
- [15] 张孝侠, 赵长峰. 肺结核患者血清 IL-4、IL-6 和 TGF- β 测定及其临床意义 [J]. *中国病原生物学杂志*, 2012, 7(3): 195-196, 219.

收稿日期: 2018-10-10; 修回日期: 2018-11-05