

结核病免疫反应的分子标志物

顾章媛 武羿 王奕静 莊志刚*

上海市第一妇婴保健院

DOI:10.12238/fcmr.v6i4.11014

[摘要] 结核病(Tuberculosis, TB)仍是主要的公共卫生问题,也是导致死亡的重要原因之一。潜伏性结核感染(Latent Tuberculosis Infection, LTBI)患者发展为活动性结核病的风险增加,结核病在各阶段的诊断和早期识别问题尚未解决。现有测试(结核菌素皮肤测试和干扰素 γ 释放测定)虽能区分活动性和潜伏感染,但无法预测LTBI患者是否会发展为活动性结核病。本综述分析结核分枝杆菌与免疫细胞相互作用的数据,并确定其分子预测标记和早期标记。

[关键词] 结核病; 潜伏性结核感染; 免疫细胞; 细胞因子; 基质金属蛋白酶

中图分类号: R52 文献标识码: A

Molecular markers of the TB immune response

Zhangyuan Gu Yi Wu Yijing Wang Zhigang Zhuang*

SHANGHAI FIRST MATERNITY AND INFANT HOSPITAL

[Abstract] Tuberculosis (Tuberculosis, TB) is still a major public health problem and one of the important causes of death. Patients with latent TB infection (Latent Tuberculosis Infection, LTBI) have an increased risk of developing active TB, and the issues of diagnosis and early identification of TB at all stages remain unresolved. Existing tests (tuberculin skin test and interferon γ release assay), which distinguish between active and latent infection, do not predict whether LTBI patients will develop active TB. This review analyzed data on the interaction of *M. tuberculosis* with immune cells and identified its molecular predictive markers and early markers.

[Key words] tuberculosis; latent tuberculosis infection; immune cells; cytokines; matrix metalloproteinases

前言

结核病(Tuberculosis, TB)是全球主要的死亡原因之一,结核病在各年龄段中都都很常见。每个排菌的活动性结核病患者可感染10-15人,但仅5-10%的感染者会表现出症状。潜伏性结核感染(Latent Tuberculosis Infection, LTBI)是发展为活动性结核病的危险因素(约10%的患者),即使使用现代方法,早期诊断仍不够有效^[1]。

1 结核感染的病理生理学

结核病通过空气传播:当细菌进入远端呼吸道时,肺泡巨噬细胞(Alveolar Macrophages, AM)将其吞噬并通过肺泡上皮运输。由于早期吞噬体成熟受到抑制,吞噬体不会与溶酶体融合,细菌也不会被降解。在分泌系统蛋白ESX/T7S(Esx-Secretion System/Type VII Secretion System)和剧毒分枝杆菌脂质的作用下,吞噬体破裂,结核分枝杆菌进入细胞质。坏死的巨噬细胞吸引单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞和树突状细胞(Dendritic Cells, DC),免疫细胞在感染灶聚集,形成原发性结核病。DC将抗原递呈给T细胞, T细胞增殖后迁移至感染部位,约

需2-3周。免疫细胞积累导致肉芽肿和干酪样坏死。免疫减弱时,感染可能重新激活,发展为活动性结核病。

2 结核分枝杆菌和免疫系统

当结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb)侵入气道时,第一道防线由肺泡巨噬细胞(Alveolar Macrophages, AM)、胚胎来源的常驻巨噬细胞和1型、2型肺泡上皮细胞(Alveolar Epithelial Cells, AEC)提供。在此阶段,其他先天免疫细胞如中性粒细胞、粘膜相关不变T细胞(Mucosal-associated Invariant T cells, MAIT)、CD1限制性淋巴细胞、自然杀伤T细胞(Natural Killer T cells, NKT)和肥大细胞也与病原体相互作用。这些细胞中有些在结核感染的发病机制中作用明确,另一些尚未完全了解。先天免疫细胞的关键功能是呈递抗原和激活适应性免疫反应。T淋巴细胞在淋巴结内针对Mtb抗原激活并扩增。感染2-6周后, T细胞反应可通过皮内注射结核菌素或PPD的迟发型超敏反应来验证。B细胞不仅产生抗体,还作为抗原呈递细胞,产生细胞因子,影响T细胞、DC、AM和中性粒细胞的功能,调节对病原体的反应。结核的发病机制涉及先天性和适应性免疫

细胞,其中AM和DC亚群通过MHC I和MHC II呈递抗原。一些感染细胞进入凋亡,另一些坏死,导致细菌传播和炎症反应。在淋巴结中,DC呈递抗原给T细胞,随后T细胞增殖、分化并迁移至肉芽肿部位,T杀伤细胞通过穿孔素等机制诱导感染细胞死亡。B细胞除了产生抗体外,还通过释放细胞因子作为T细胞的抗原呈递细胞。

3 IP-10释放试验在结核感染诊断中的应用现状及展望

3.1 干扰素- γ 释放试验

十年前,引进了新一代结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb)感染特异性检测方法。目前市面上有两种测试:基于全血/ELISA的QuantiferON-Gold In Tube测试和基于外周血单个核细胞(Peripheral Blood Mononuclear Cells, PBMC)/ELISPOT的T-SPOT结核检测(由阿宾登的Oxford Immunotec公司开发)。这些干扰素- γ 释放测定(Interferon-Gamma Release Assays, IGRA)实际上是对细胞介导免疫(Cell-mediated Immunity, CMI)应答的检测,依赖于对Mtb特异性肽抗原的体外T细胞应答进行测量。IGRA基于五个基本组分:Mtb特异性抗原、抗原呈递细胞(Antigen-Presenting Cells, APC)、T细胞、孵育步骤及免疫识别的生物标志物。在未接种BCG的健康个体中,IGRA与结核菌素皮肤试验(Tuberculin Skin Test, TST)的表现类似,但在接种BCG疫苗或感染非结核分枝杆菌(Nontuberculous *Mycobacteria*, NTM)的患者中,特异性更高。尽管IGRA在免疫抑制患者中,如HIV感染者以及非常年轻和年长患者,较TST有更高敏感性,但敏感性仍受影响。IGRA的临床应用仍有争议,需要新的方法改进替代生物标志物的评价。

3.2 IP-10作为结核感染生物标志物的研究进展

2006年,有学者筛选了一系列细胞因子和趋化因子,作为QuantiferON-TB Gold In-Tube(QFT-IT)上清液中特定Mtb抗原的CMI应答标志物的潜力。他们发现,在活动性结核患者中,干扰素诱导蛋白-10(Interferon Gamma-Induced Protein 10, IP-10)表达量非常高,而在未暴露的对照中不表达。此后,进一步的证据证实了这一发现,并且已经筛选了超过40个额外的生物标志物用于诊断潜力。在所有研究的标记物中,IP-10在响应抗原刺激时表现出最一致的表达,使其成为干扰素- γ (Interferon-Gamma, IFN- γ)最有希望的替代标志物,并且是改善IGRA的有力手段^[1]。

3.3 IP-10作为CMI读出标记物的免疫学基础

干扰素诱导的蛋白-10(Interferon gamma-induced protein 10, IP-10)是由APC表达的一种小型趋化因子,且是促炎症免疫反应的主要驱动因素。IP-10由病毒和细菌感染的细胞表达,但也可以作为适应性免疫应答的一部分被高水平诱导。在这种情况下,当T细胞识别到APC呈现的特定肽时,IP-10的分泌开始。IP-10的分泌似乎受到多种信号的驱动,主要是来自T细胞的IFN- γ ,以及白介素2(Interleukin-2, IL-2)、干扰素 α (Interferon- α , IFN- α)、干扰素 β (Interferon-beta, IFN- β)、白介

素27(IL-27)、白介素17(IL-17)、白介素23(IL-23),以及自分泌的APC来源的肿瘤坏死因子 α (Tumor Necrosis Factor- α , TNF- α)和白介素1 β (IL-1 β)。TNF- α 本身是一个较弱的IP-10诱导剂,但当与干扰素协同作用时,其成为有效的协同诱导剂。由于有多条不同途径可导致IP-10分泌,IP-10被认为是CMI检测中典型读出标志物(如IL-2和IFN- γ)的下游标志物。

与典型的读出标志物相比,IP-10的一个重要区别在于其表达水平更高。此外,由于IP-10分子的大小明显小于IFN- γ ,分别为7.4kD和18.8kD,在使用固相技术(如酶联免疫吸附试验,ELISA)进行检测时,这种分子差异会更为明显。虽然两者数量上存在显著差异,但信号(抗原反应)与噪声(零水平)之间的倍数变化在这两种标志物中似乎是可比的。因此,IP-10被认为是CMI分析中一个很有前景的替代标记物。

3.4 已发表研究综述

3.4.1 活动性结核病患者、健康对照者和接触者的研究

研究人员筛选并纳入了12项成人研究和7项儿童研究。成人研究包括645名活动性结核病患者和583名对照者,研究对象来自高流行区(如印度、坦桑尼亚、几内亚比绍和南非)及低流行区(如丹麦、瑞典、芬兰、瑞士、希腊、意大利、西班牙及美国)。所有成人研究均显示,与对照组相比,活动性结核患者的结核特异性抗原诱导的IP-10表达显著增加。此外,七项研究设置了特定的临界值来评估IP-10的检测结果,其中五项研究报告了检测结果的分布,并与QuantiferON-TB Gold In-Tube(QFT-IT)进行了比较。

这五项研究涉及435名活动性结核患者,报告显示IP-10检测的阳性率为74%至91%,而QFT-IT的阳性率为79%至100%。两种检测方法总体一致性良好(基于两项研究数据:一致性范围为73%至89%, κ 值为0.43至0.57)。当将IP-10和QFT-IT结果结合分析时,阳性率明显提高(适用于四项研究:阳性率提升至86%至93%)。

三项研究比较了IP-10与QFT-IT在健康对照组中的表现。在低流行区(丹麦和意大利)进行的两项研究中,187名未暴露的健康对照中,仅有2%为IP-10阳性(特异性98%),QFT-IT阳性率为0%(特异性100%),无BCG接种的交叉反应迹象。第三项印度研究包括100名对照者,IP-10阳性率为52%,QFT-IT阳性率为48%,可能反映了潜伏性结核感染的高发病率^[2]。

3.4.2 关于儿童结核病患者研究

结核病是儿童发病率和死亡率的主要原因,尤其是5岁以下儿童风险最高,40-50%的感染婴儿在1-2年内发病。儿童结核病的诊断较为困难,主要由于其病菌性质不常见以及现有工具性能有限。

与成年人不同,虽然IGRA不推荐用于诊断成人活动性结核病,但在儿童中,尤其是涂片阴性和培养结果不明确的情况下,IGRA可作为诊断工具。IGRA阳性表示儿童最近接触过结核病,患活动性结核的风险较高。

关于IGRA在儿童中的表现,敏感性、特异性和不确定结果的

比例不一致,差异可能与研究人群、结核病严重程度、营养状况和合并症有关。

迄今为止,已有7项研究评估了IP-10作为诊断潜伏性或活动性结核工具的表现,这些研究涉及来自高流行国家(如尼泊尔、巴西、尼日利亚和埃塞俄比亚)和低流行国家(如美国、英国和德国)的1408名1-17岁儿童。

与成人类似,抗原刺激后的IP-10水平高于IFN- γ ,未刺激样品中的IP-10水平在活动性或潜伏性结核患儿中也较高。在鉴别结核分枝杆菌和NTM感染时,IP-10与IFN- γ 表现一致,在8名NTM感染的儿童中,两者检测结果均为阴性^[2]。

4 利用IP-10改进IGRA

IGRA在结核感染管理中的应用仍存争议,尤其是无法区分活动性和潜伏性结核,并在免疫功能低下的个体和儿童中表现不佳,这些群体最易发展为活动性结核。

为克服这些局限,研究探索了多种方法。IP-10被证明对结核抗原有特异性反应,并可能改善IGRA的敏感性,区分活动性与潜伏性结核。

通过联合检测IP-10和IFN- γ ,诊断敏感性得以提高且保持特异性稳定。其他细胞因子如IL-2、TNF- α 等也表现出诊断潜力,但尚需进一步评估。

此外,调整培养步骤,如提高培养温度、延长潜伏期、改善营养条件或添加促炎细胞因子(如IL-12),也显示了增强抗原特异性免疫应答的潜力^[3]。

5 结论

综上所述,结核病仍然是全球主要的健康威胁,特别是在儿童和免疫功能低下人群中。IP-10作为新的生物标志物在诊断潜伏性和活动性结核方面显示出较大潜力,特别是与干扰素- γ 的联合检测显著提高了敏感性。未来的研究应重点评估其他潜在的细胞因子,并优化现有诊断方法,以便更有效地区分不同类型的结核感染并提高早期诊断的准确性。

[课题]

课题: 21ZR1451000 PIPK1 γ 调节SWI/SNF染色质重塑酶构象促进三阴性乳腺癌转移的分子机制研究。

[参考文献]

[1] Singh S, Tanwar P, Kumar S, et al. Primary tuberculosis of the tongue in an immunocompetent patient: A case report [J]. *Asia Pacific Journal of Human Resources*, 2012, 2(1): 78-9.

[2] Ruhwald M, Bodmer T, Maier C. Evaluating the potential of IP-10 and MCP-2 as biomarkers for the diagnosis of tuberculosis [J]. *European Respiratory Journal*, 2008, 2008.

[3] 罗建业, 邓菲丹. 血清IL-12、IL-10及IL-18与肺结核的相关性研究 [J]. *现代诊断与治疗*, 2015(7): 1443-1445.

作者简介:

顾章媛(1995--),女,汉族,江苏扬中人,博士,上海市第一妇婴保健院,住院医师,研究方向: 结核病免疫反应在外科诊疗中的应用研究。