

• 临床检验研究论著 •

检测结核性胸膜炎患者抗菌肽药物 Cathelicidin hCAP18/LL-37 浓度的临床价值

曾东晓¹, 汤茂功², 潘林梅¹, 纪晓亭¹, 夏春祥^{1△}

(1. 淮安市第四人民医院检验科, 江苏淮安 223002; 2. 淮安市第四人民医院肺结核病科, 江苏淮安 223002)

摘要:目的 探讨抗菌肽药物(Cathelicidin hCAP18/LL-37)检测在结核性胸膜炎患者中的临床意义。方法 测定 58 例结核患者和 30 例非结核胸膜炎患者血浆及胸腔积液中 hCAP18/LL-37、腺苷脱氨酶(ADA)水平,并以 32 例健康体检者血浆中 hCAP18/LL-37 和 ADA 的水平作为对照分析。结果 结核患者与非结核胸膜炎患者血浆中的 LL-37 水平,与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$);结核患者与非结核胸膜炎患者血浆中 ADA 的浓度水平与对照组比较差异无统计学意义($P>0.05$);结核患者与非结核胸膜炎患者血浆中的 LL-37 水平、ADA 水平之间差异均无统计学意义($P>0.05$)。结核患者胸腔积液 LL-37 水平低于非结核胸膜炎患者,胸腔积液 ADA 浓度高于非结核胸膜炎患者,两组之间差异有统计学意义($P<0.05$);LL-37 与 ADA 呈负相关。结论 检测结核性胸膜炎患者胸腔积液和血浆中 LL-37 的水平及其分布变化,可为结核性胸膜炎临床诊断,提供一定的实验依据。

关键词: 抗菌肽; LL-37; 腺苷脱氨酶; 结核性,胸膜炎

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.12.021

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)12-1539-02

Clinical values of detecting antimicrobial peptide cathelicidin hCAP18/LL-37 in patients with tuberculous pleurisy

Zeng Dongxiao¹, Tang Maogong², Pan Linmei¹, Ji Xiaoting¹, Xia Chunxiang^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Fourth People's Hospital, Huai'an, Jiangsu 223002, China; 2. Department of Pulmonary Tuberculosis, the Fourth People's Hospital, Huai'an, Jiangsu 223002, China)

Abstract: Objective To explore clinical significance of the peptide antimicrobial hCAP18/LL-37 in patients with tuberculous pleurisy. **Methods** Detect the levels of hCAP18/LL-37 and adenosine deaminase enzyme(ADA) in 58 cases of tuberculosis patients and 30 cases of non-TB patients with plasma and pleural effusion, and the 32 healthy persons were control group. **Results** There were significant differences in the level of LL-37 in plasma in the TB and non-TB group compared with control group, while the level of ADA in plasma was just on the opposite. There were no significant differences in the level of LL-37 and ADA in plasma between the TB and non-TB group, while the levels of LL-37 and ADA in pleural effusion were just the opposite. LL-37 was negative correlation with ADA in pleural effusion. **Conclusion** The detection of LL-37 in tuberculosis patients with pleural effusion should be meaningful in clinical diagnosis and prognosis.

Key words: antimicrobial peptide; LL-37; adenosine deaminase; tuberculous pleurisy

胸腔积液是呼吸科常见疾病,其中结核性胸膜炎占较大比例。临床常将检测胸腔积液中腺苷脱氨酶(ADA)含量作为诊断结核性胸膜炎的指标之一,文献报道 ADA 升高在诊断结核性胸膜炎的灵敏度为 89.8%~93.6%,特异度为 86.0%~90.5%^[1]。对结核性胸膜炎具诊断价值是胸腔积液中 ADA 和 IFN- γ 。ADA>45 U/L, IFN- γ >3.7 kU/L 提示结核性胸膜炎^[2]。实际临床中此类患者,住院前多经药物治疗,较多入院后结核性胸膜炎胸腔积液中 ADA<45 U/L。用药不当或治疗不完全可能是导致免疫正常结核性胸膜炎患者胸腔积液中 ADA 活性低表达的主要原因之一。近年来新发现的一类抗菌肽药物 Cathelicidins,其中 hCAP18(human cathelicidin antimicrobial peptide 18, hCAP-18)/LL-37 是目前在人体发现的唯一 Cathelicidins 家族成员^[3],研究表明 LL-37 既有抗微生物特征,又是先天性免疫体系中的调节器和效应分子^[4]。LL-37 是一种多功能的抗菌肽药物,能杀灭病原微生物(包括细菌及部分带包膜的病毒),能调节免疫功能,引起免疫细胞分化、趋化及细胞因子的释放,特别是具有结合和中和内毒素(ET)等功能^[5]。抗菌肽药物特别是 hCAP18/LL-37 与慢性乙型肝炎的关系,文献已有报道^[6],但在结核病等方面鲜有报

道。本文就 58 例结核性胸膜炎患者血浆和胸腔积液中 LL-37 水平检测,通过病例对照研究相关性,以探讨其临床价值,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 58 例(男性 41 例,女性 17 例)患者均为 2010 年 12 月至 2011 年 10 月本院收治结核性胸膜炎患者,年龄 22~71 岁。全部病例符合 2001 年国内制定的《肺结核诊断与治疗指南》^[7]。30 例非结核胸膜炎患者和 32 例健康体检正常者作对照组研究,对照组在年龄、性别等与研究组经方差统计检验,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 仪器与试剂 东芝 120 全自动生化分析仪,ADA 试剂由上海蓝怡科技有限公司提供,进口 LL-37 专用试剂盒(批号:3213K21, Hycult Biotech, 荷兰)。

1.3 方法 患者收治入院后,留取 58 例结核患者及 30 例非结核胸膜炎患者的胸膜积液和血浆各标本 2 份。1 份严格按试剂盒说明书要求使用聚丙烯微量离心管,EDTA 抗凝剂抗凝,皆-86℃超低温冰箱保存,留测胸腔积液和血浆中 LL-37 水平;1 份当日检测胸腔积液和血浆中 ADA 浓度。正常健康体检者 32 例血浆作对照组研究。采用全自动生化分析仪,速率

法测 ADA 浓度,ELISA 法检测胸腔积液和血浆中 LL-37 浓度,具体操作严格按说明书进行并做标准曲线。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件,计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素方差分析及 Kruskal-Wallis 法检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组血浆 LL-37、ADA 水平比较,见表 1。

表 1 各组血浆 LL-37、ADA 分布水平($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	LL-37(ng/mL)	ADA(U/L)
对照组	32	63.26±11.20	9.92±5.89
结核组	58	28.87±10.91 [☆]	12.31±7.86
非结核组	30	33.41±12.52 [☆]	10.31±6.59

☆: $P < 0.01$,与对照组比较。

2.2 LL-37、ADA 水平在结核性胸膜炎患者与非结核胸膜炎患者胸腔积液中比较,见表 2。

表 2 LL-37、ADA 在结核性胸膜炎患者与非结核胸膜炎患者胸腔积液中分布水平($\bar{x} \pm s$)			
组别	<i>n</i>	LL-37(ng/mL)	ADA(U/L)
结核组	58	14.13±10.35	49.60±17.3
非结核组	30	35.17±5.28 [◇]	12.51±4.71 [◇]

◇: $P < 0.01$,与结核组比较。

2.3 LL-37 与 ADA 关系 58 例结核性胸膜炎患者胸腔积液中 ADA 水平为 (49.6 ± 17.3) U/L,LL-37 水平为 (14.13 ± 10.35) ng/mL;其中 ADA ≥ 45 U/L 占 42 例,灵敏度为 72.4%;ADA ≥ 45 U/L 的 42 例中 LL-37 水平为 (10.23 ± 8.62) ng/mL,ADA < 45 U/L 水平 16 例中 LL-37 水平为 (24.38 ± 6.29) ng/mL。LL-37 在结核性胸膜炎患者与非结核胸膜炎患者胸腔积液中分布水平差异具有统计学意义($t = 5.97, P < 0.05$);与 ADA 呈负相关,相关系数为($r = -0.65, P < 0.01$),以 ADA ≥ 45 U/L 的 42 例 LL-37 水平降低尤为明显。

3 讨 论

结核性胸腔积液是结核杆菌通过各种途径直接侵犯胸膜,机体对其蛋白成分处于高敏状态时的胸膜炎炎症反应。已有多篇文献报道结核性胸腔积液 ADA 测定,对诊断结核性胸膜炎具有高灵敏度及特异度,可作为诊断和鉴别诊断结核性胸膜炎的一项客观指标。因细胞免疫受刺激,淋巴细胞明显增多,故在胸腔积液中的 ADA 含量明显增多,并多以胸腔积液中 ADA ≥ 45 U/L,为诊断结核性胸膜炎的标准。

LL-37 是人体固有免疫重要作用因子^[5]。内毒素主要活性成分脂多糖 LPS 首先与其结合蛋白(LBP)结合,LBP 将 LPS 运到 CD14 分子,LPS-LBP-CD14 复合物通过膜蛋白 Toll 样受体结合而激活细胞内信号转导通路。LPS-CD14 复合体激活转录因子 NF- κ B 及各种蛋白激酶介导炎症因子产生如 TNF- α 、IL-6 等。LL-37 结合中和内毒素,降低 LPS 对机体的损伤^[8]。研究表明,LL-37 通过与 LPS 的脂质 A 部分结合而抑制 LPS-CD14 复合物的形成,防止内毒素依赖性细胞因子被诱导而激活巨噬细胞。半乳糖胺致敏小鼠在注射 LPS 24 h 后,90%发生内毒素休克而死亡,而在注射 LPS 后再注射 LL-37,则小鼠生存率上升到 80%^[9]。

LL-37 分子特征及抗菌抗病毒药用功能等实验研究是目前的研究热点,与结核病关系的研究未见报道。笔者通过严格的病例选择,加强质量控制,严格优化实验室条件^[10-11],对 58

例结核性胸膜炎患者与 30 例非结核胸膜炎患者胸腔积液和血浆中 hCAP18/LL-37 水平和 ADA 活性分析同时,以 32 例正常健康体检者血浆中 hCAP18/LL-37 和 ADA 的水平作为对照分析,发现 16 例结核患者胸腔积液 ADA 低表达,为减少漏诊,在检测胸腔积液 ADA 活性同时,检测患者血浆和胸腔积液 LL-37 水平可为相关鉴别诊断提供参考价值。结核性胸膜炎患者血浆 LL-37 含量与对照组比较明显降低。LL-37 于外周血中与血浆脂蛋白结合,研究表明^[12],载脂蛋白 A 的缺乏可引起 LL-37 的下调,而结核患者随病情加重,蛋白质、载脂蛋白含量下降,这可能是 LL-37 血浆含量降低的原因,也可能是患者病程较长造成。临床循证检查证实,患者在恢复过程中血浆 LL-37 含量逐渐上升,LL-37 含量随患者康复而逐渐接近正常健康对照组,这可为临床判断病情预后情况提供新的参考依据。截至目前关于 LL-37 对结核病的临床研究尚未见报道,其对结核患者临床价值及相关性有待进一步研究。

参考文献

[1] Morisson P,Neves DD. Evaluation of adenosine deaminase in the diagnosis of pleural tuberculosis; a Brazilian meta-analysis[J]. J Bras Pneumol,2008,34(4):217-224.

[2] 谢灿茂. 重视胸膜疾病的诊治和研究[J]. 中华结核和呼吸杂志,2001,24(1):6-7.

[3] Dürr UH,Sudheendra US,Ramamoorthy A. LL-37, the only human member of the cathelicidin family of antimicrobial peptides [J]. Biochim Biophys Acta,2006,1758(9):1408-1425.

[4] Bucki R,Leszczyńska K,Namiet A,et al. Cathelicidin LL-37: a multitask antimicrobial peptide [J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz),2010,58(1):15-25.

[5] Rosenfeld Y,Papo N,Shai Y,et al. Endotoxin(lipopolysaccharide) neutralization by innate immunity host-defense peptides. Peptide properties and plausible modes of action[J]. J Biol Chem,2006,281(3):1636-1643.

[6] 夏春祥,曾东晓,陈丽华,等. 慢性乙型病毒性肝炎患者检测肽抗菌药物 Cathelicidin hCAP18/LL-37 的临床意义[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(1):27-28.

[7] 中华医学会结核病学分会. 肺结核诊断和治疗指南[J]. 中华结核和呼吸杂志[J]. 2001,24(2):70-74.

[8] Nagaoka I,Hirota S,Niyonasaba F,et al. Cathelicidin family of antibacterial peptides CAP18 and CAP11 inhibit the expression of TNF-alpha by blocking the binding of LPS to CD14(+) cells [J]. J Immunol,2001,167(6):3329-3338.

[9] Mookherjee N,Brown KL,Bowdish DM,et al. Modulation of the TLR-mediated inflammatory response by the endogenous human host defense peptide LL-37[J]. J Immunol,2006,176(4):2455-2464.

[10] 王娴默,肖林,范文,等. 乙型肝炎病毒 HBsAg 检测假阳性原因分析[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(5):423-424.

[11] 郭翀,张真铭. ELISA 法检测 HBsAg 实验条件的优化[J]. 国际检验医学杂志,2011,32(6):656-657.

[12] Sorci-Thomas MG,Thomas MJ. The effects of altered apolipoprotein A-I structure on plasma HDL concentration[J]. Trends Cardiovasc Med,2002,12(3):121-128.