

单核细胞群落VCS参数诊断 活动性肺结核的价值

沈甜¹ 施军卫² 顾德林¹ 张海云¹ 喻禹³ 朱易华⁴ 陶国华⁴ 蔡慧慧¹ 曹兴建⁴

【摘要】目的 回顾性分析初治活动性肺结核 (APT_B) 患者外周血单核细胞群落VCS参数的变化, 探讨其诊断APT_B的临床应用价值。**方法** 选取2015年10月至2016年1月南通市第六人民医院确诊的APT_B患者83例为APT_B组和2015年9月至12月于南通市第一人民医院体检的健康者79例为对照组, 应用美国Coulter LH 750血液分析仪检测APT_B组和对照组的外周血常规指标, 记录单核细胞的各项VCS参数; 同时测定并比较两组患者血清白细胞介素-1 β (IL-1 β)、IL-6及肿瘤坏死因子 (TNF- α) 表达水平, 并对VCS参数和细胞因子浓度进行相关性分析。**结果** APT_B组患者外周血单核细胞平均体积 (MMV) 及平均体积分布宽度 (MDW) 较对照组显著升高, 差异具有统计学意义 ($t = 7.616$ 、 $P < 0.001$, $t = 7.349$ 、 $P < 0.001$); MMV与IL-1 β 表达水平呈正相关 ($r = 0.417$ 、 $P < 0.001$); MMV的ROC曲线下面积为0.899, 且当其临界值取172.6 fl时, 诊断APT_B的敏感性和特异性分别为80.7%和86.1%。**结论** APT_B患者外周血单核细胞群落VCS参数发生改变, MMV显著增大并产生异质性, 对临床辅助诊断APT_B有一定价值。

【关键词】 VCS参数; 单核细胞; 肺结核; 细胞因子

Value of monocyte VCS parameters for predicting active pulmonary tuberculosis Shen Tian¹, Shi Junwei², Gu Delin¹, Zhang Haiyun¹, Yu Yu³, Zhu Yihua⁴, Tao Guohua⁴, Cai Huihui¹, Cao Xingjian⁴.
¹Department of Laboratory, ²Department of Tuberculosis, ³Department of Information, The Sixth People's Hospital of Nantong, Nantong 226011, China; ⁴Department of Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Nantong University, Nantong 226001, China

Corresponding author: Cao Xingjian, Email: ntcaoxh@163.com

【Abstract】Objective To investigate the changes of VCS parameters of peripheral blood monocyte community in patients with newly diagnosed active pulmonary tuberculosis (APT_B), retrospectively, and to explore the clinical value of APT_B diagnosis. **Methods** Total of 83 patients with APT_B diagnosed by The Sixth People's Hospital of Nantong from October 2015 to January 2016 were selected as APT_B group and 79 healthy persons examined in The First People's Hospital of Nantong City from September to December 2015 were selected as control group. The peripheral blood routine indexes of APT_B group and control group were detected by Coulter LH 750 blood analyzer, and the monocytes were recorded. The expression levels of interleukin-1 β (IL-1 β), IL-6 and tumor necrosis factor- α (TNF- α) were measured and compared between the two groups, and the correlation between VCS parameters and cytokine concentration was analyzed. **Results** The mean volume (MMV) and mean volume distribution width (MDW) of peripheral blood monocytes in APT_B group were significantly higher than those of the control group ($t = 7.616$, $P < 0.001$; $t = 7.349$, $P < 0.001$). There was a positive correlation between MMV and IL-1 β expression ($r = 0.417$, $P < 0.001$). The area under the ROC curve of MMV was 0.899, and when the critical value was 172.6 fl, the sensitivity and specificity of diagnosing APT_B were 80.7% and 86.1%, respectively. **Conclusions** The VCS parameters of peripheral blood monocyte community in patients with APT_B have been changed, MMV has been increased

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2018.05.011

基金项目: 南通市卫生和计划生育委员会科研项目 (No. WKZL2018068)

作者单位: 226011 南通市, 南通市第六人民医院检验科¹、结核科²、信息科³; 226001 南通市, 南通大学附属第二医院检验科⁴

通信作者: 曹兴建, Email: ntcaoxh@163.com

significantly, and some heterogeneity has been produced, which has certain diagnostic value for clinical auxiliary diagnosis of APTB.

【Key words】 VCS parameter; Monocyte; Active pulmonary tuberculosis; Cytokine

结核病 (tuberculosis, TB) 是一种由结核分枝杆菌 (*Mycobacterium tuberculosis*, Mtb) 感染引起的严重危害人类健康和生命的慢性传染病, 以肺结核最为常见^[1]。研究表明TB的发生与机体免疫密切相关, 多种免疫细胞及其细胞因子参与结核病的免疫应答与发病过程^[2-4]。随着Mtb感染的进行性发展, 外周血中的单核细胞 (monocytes, Mo) 迁移至结核结节, 在Mtb介导下, 经多种免疫机制的调节, 衍变为巨噬细胞 (macrophages, M ϕ), 从而发挥吞噬作用^[5-8]。外周血Mo体积 (V)、高频电导率 (C) 及激光散射值 (S) 发生相应变化, 可通过白细胞群落VCS参数得到体现^[9-11]。本文回顾性分析初治肺结核患者外周血单核细胞VCS参数的变化, 探讨其与血清细胞因子的相关性及其临床应用价值, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

1. 活动性肺结核组 (active pulmonary tuberculosis, APTB组): 收集2015年10月至2016年1月南通市第六人民医院确诊的初治活动性肺结核住院患者共83例, 其中男性42例、女性41例, 年龄40 (18~72) 岁。所有患者均符合以下诊断标准之一: ①2次痰涂片抗酸杆菌 (+) 或痰培养结核分枝杆菌 (+), 胸X线片有肺结核特征病灶; ②痰涂片或培养2次以上 (-), 胸X线片有活动性肺结核征象, 伴有临床表现^[12]。所选病例均未经抗结核治疗, 无长期应用糖皮质激素史, 无血液系统疾病史及肝脏病史, 治疗前血常规以及肝功能指标均正常。本研究经南通第六人民医院伦理委员会批准, 患者对研究内容均知情同意。

2. 对照组: 选79名2015年9至12月于南通市第一人民医院健康体检合格的企事业单位职工, 经实验室检查、超声、心电图等检查排除血液疾病和感染性疾病。其中男性42名、女性438名, 年龄41 (20~70) 岁。

两组研究对象间性别比和年龄差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05), 具有可比性。

二、仪器与试剂

美国Coulter LH750全自动血细胞分析仪和原装配试剂、定标液、校准液; MK3全自动酶标仪; 人白细胞介素-1 β (interleukin-1 β , IL-1 β)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 以及肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 酶联免疫分析试剂, 试剂购自南京森贝伽生物技术有限公司。

三、标本采集及测定

采集对照组和APTB组用药前空腹静脉血2 ml, 置含依地酸二钾盐 (edetate dipotassium, EDTA-K2) 真空采血管中, 颠倒混匀, 在2 h内上机进行血常规检测并进行单核细胞VCS参数分析, 包括单核细胞平均体积 (mean monocyte volume, MMV)、单核细胞体积分布宽度 (mean monocyte volume distribution width, MDW)、单核细胞平均高频传导率 (mean monocyte conductivity, MMC)、单核细胞平均平均激光散射值 (mean monocyte scatter, MMS); 另采集2~3 ml静脉血置促凝血试管中, 分离血清, 存放于-20 °C冰箱并于2个月内用MK3全自动酶标仪完成两组研究对象IL-1 β 、IL-6以及TNF- α 的血清浓度的检测。操作严格按照操作规程进行, 仪器定期进行规范校正、保养、维护; 且检测结果的质量控制均在控。

四、统计学处理

采用SPSS 11.5软件进行统计分析。两组VCS参数为计量资料且呈正态分布, 以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 两组间比较采用 t 检验; 血清细胞因子浓度为偏态分布, 以中位数 (25%、75%) 表示。VCS参数与细胞因子浓度相关性分析选用Spearman分析; 项目间诊断性能比较采用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、APTB组和对照组VCS参数

83例活动性肺结核患者外周血单核细胞平均体积 (MMV) 及平均体积分布宽度 (MDW) 较79例正常对照显著增大, 差异具有统计学意义 ($t =$

7.616、 $P < 0.001$ ， $t = 7.349$ 、 $P < 0.001$ ），提示结核分枝杆菌感染机体后，可能在各种免疫机制如细胞因子分泌等^[13-15]介导下，外周血单核细胞发生形态学变化，主要表现为体积增大，同时产生一定的异质性，见表1。

二、单核细胞VCS参数与细胞因子水平相关性

APT_B组83例患者外周血单核细胞平均体积(MMV)与IL-1 β 表达水平[9.20 (1.48~19.45) ng/L]呈中等正相关($r = 0.417$ 、 $P < 0.001$)，MMV与IL-6表达水平[5.76 (2.13~11.99) ng/L]呈弱相关($r = 0.297$ 、 $P = 0.006$)，MMV与TNF- α 表达水平[138.47 (78.74~195.45) ng/L]无显著相关性

($r = -0.052$ 、 $P = 0.640$)，表明细胞因子在Mo平均体积增大过程中可能起到一定的促进作用，见图1。

三、各VCS参数诊断APT_B性能分析

项目间诊断性能分析显示，参数MMV、MDW的ROC曲线下面积分别为0.899和0.819（见图2），均高于其他VCS参数（MMC的AUC_{ROC} = 0.559，MMS的AUC_{ROC} = 0.626），且当MMV临界值取172.6 fl时，其敏感性达80.7%，特异性为86.1%，与IL-6敏感性（84.3%）和特异性（87.3%）有一定的可比性（见表2），IL-6诊断APT_B性能佳^[16-18]。研究表明，Mtb感染机体活化外周血Mo，增大的MMV可辅助临床诊断APT_B。

表 1 APT_B 组和健康对照组 VCS 参数 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	MMV (fl)	MDW	MMC	MMS
健康对照组	79	167.63 \pm 5.52	18.25 \pm 2.18	116.03 \pm 5.95	87.68 \pm 5.43
APT _B 组	83	176.69 \pm 8.79	20.97 \pm 3.07	117.68 \pm 8.21	86.70 \pm 6.33
<i>t</i> 值		7.616	7.349	1.829	-1.272
<i>P</i> 值		< 0.001	< 0.001	0.071	0.207

注：MMV：单核细胞平均体积、MDW：单核细胞体积分布宽度、MMC：单核细胞平均高频传导率、MMS：单核细胞平均平均激光散射值

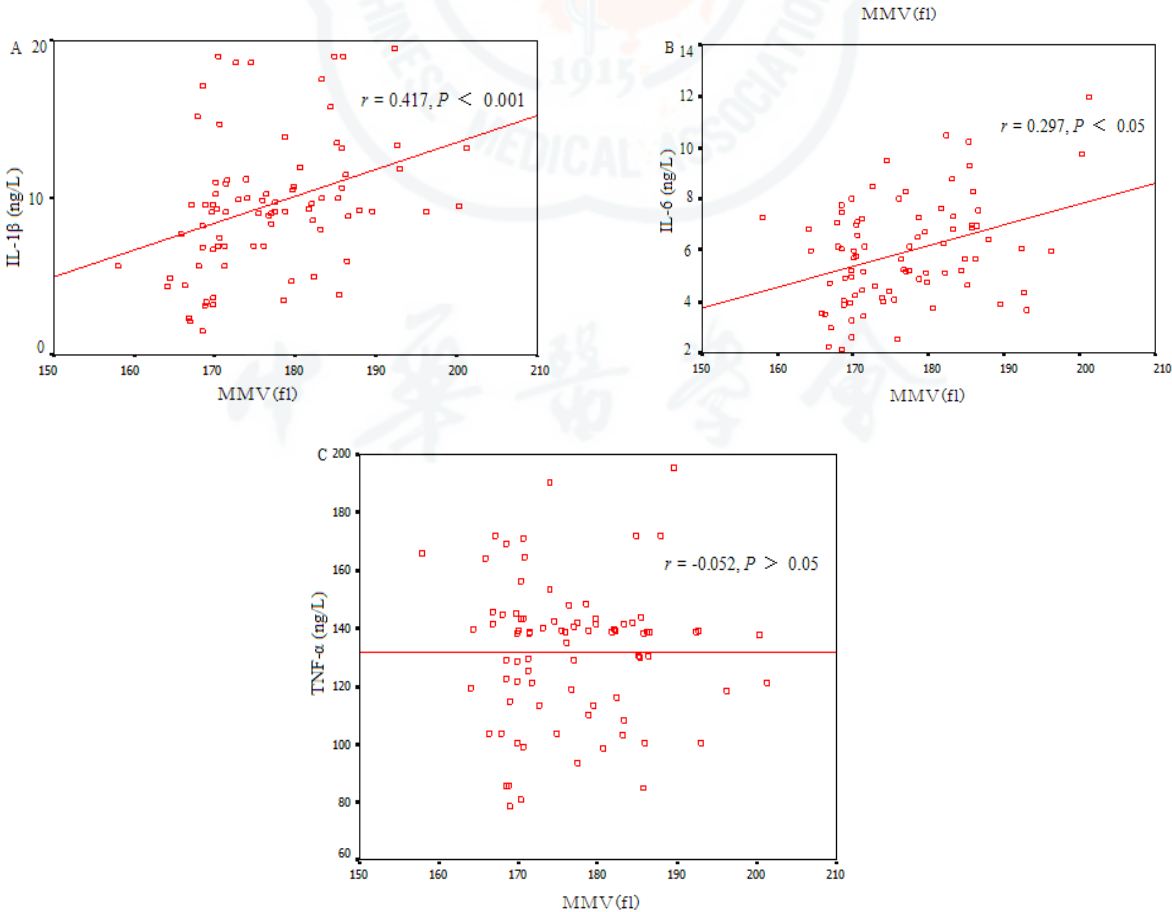


图1 外周血单核细胞平均体积与血清细胞因子IL-1 β 、IL-6及TNF- α 表达水平相关性

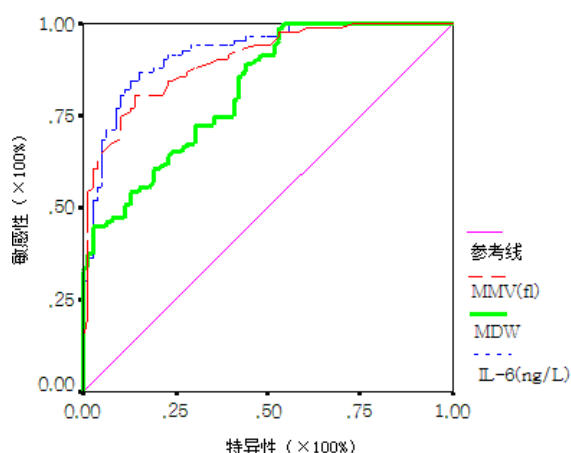


图2 单核细胞VCS参数诊断APTB的ROC曲线

表2 各参数的 ROC 曲线 AUC 及最佳临界值

参数	AUC	临界值	敏感度 (%)	特异度 (%)
MMV (fl)	0.899	172.6	80.7	86.1
MDW	0.819	19.7	72.3	69.6
MMC	0.559	118.1	51.8	56.9
MMS	0.626	87.7	59.0	60.8
IL-6 (ng/L)	0.922	4.0	84.3	87.3

注: MMV: 单核细胞平均体积, MDW: 单核细胞体积分布宽度, MMC: 单核细胞平均高频传导率, MMS: 单核细胞平均平均激光散射值, IL-6: 白细胞介素-6

讨 论

美国Coulter LH 750血液分析仪通过VCS技术对同一检测通道的白细胞进行多参数分析, 通过综合处理体积(V)、高频电导性(C)以及激光散射(S)3个参数的特性进行综合评价分析, 得到较为精确的白细胞分类结果^[9]。

结核分枝杆菌(Mtb)感染机体, 吸入机体肺泡的Mtb在正常情况下被组织巨噬细胞(macrophages, Mφ)吞噬从而被杀灭, 但当Mtb数量多或毒力强时, 可因其大量繁殖导致肺泡巨噬细胞溶解、破裂, 释放出Mtb可再感染其他巨噬细胞, 形成结核结节^[19-20]。随着Mtb感染进行性发展, 外周血中的单核细胞(monocytes, Mo)聚集于结节, 新迁移而来的Mo所发挥免疫防御机制尚未得到充分证实, 但国外学者研究发现衍生于血液循环的Mo通过与Mtb裂解产物的接触, 转化为Mtb感染的Mo, 且在多种免疫机制的调节作用下, 转变为Mφ, 从而发挥吞噬作用^[21-22]。同时, 外周血

Mo发生特异性变化, 其VCS参数也随之改变^[23-25]。

本研究针对单核细胞VCS参数在APTB中的变化分析发现APTB组患者Mo体积参数MMV及MDW较对照组显著增大。Mtb感染机体后, 在各种免疫机制作用下, 活化Mo表现为体积增大, 并产生一定的异质性。此外, 众多研究表明Mtb体外诱导Mo转化为Mφ的免疫反应(immunity, I)中会分泌多种细胞因子(cytokine, CK)^[15], 如TNF-α、IL-6、10、12及IL-1β等。其中IL-1β在Mtb感染Mo中的量显著高于未感染Mo^[17], 且尚无体外研究证明IL-1β诱导Mo发生形态学变化。有研究显示, IL-6诊断APTB的准确度高达83.0%^[18]。

综上所述, Mtb感染机体引起APTB, 活化外周血Mo, 单核细胞群落VCS参数发生变化, 其参数MMV增大, 产生异质性, 增大的MMV有助于临床诊断APTB。

参 考 文 献

- [1] Wang L, Zhang H, Ruan Y, et al. Tuberculosis prevalence in China, 1990-2010; a longitudinal analysis of national survey data[J]. Lancet, 2014,383(9934):2057-2064.
- [2] 李红, 唐神结. 肺结核患者外周血sIL-2R, TNF-α, IFN-γ, IL-6的检测及意义[J]. 中国防痨杂志, 2011,33(1):57-60.
- [3] 谭守勇, 谭耀驹, 黎燕琼, 等. 空洞肺结核细胞因子水平测定临床研究[J]. 中国防痨杂志, 2009,31(4):241-243.
- [4] Wu J, Wang S, Lu C, et al. Multiple cytokine responses in discriminating between active tuberculosis and latent tuberculosis infection[J]. Tuberculosis (Edinb), 2017,102:68-75.
- [5] Weiss G, Schaible UE. Macrophage defense mechanisms against intracellular bacteria[J]. Immunol Rev, 2015,264(1):182-203.
- [6] Castaño D, Barrera LF, Rojas M. *Mycobacterium tuberculosis* alters the differentiation of monocytes into macrophages in vitro [J]. Cell Immunol, 2011,268(2):60-67.
- [7] Pasula R, Martin WJ 2nd, Kesavalu BR, et al. Passive transfer of interferon-γ over-expressing macrophages enhances resistance of SCID mice to *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. Cytokine, 2017,95:70-79.
- [8] 刘艳华, 王若, 程小星. 活动性结核患者单核来源巨噬细胞中C-X-C型趋化因子受体4的表达研究[J]. 国际呼吸杂志, 2017,37(3):178-182.
- [9] Zhu Y, Cao Xu, Chen Y, et al. Neutrophil cell population data: useful indicators for postsurgical bacterial infection[J]. Int J Lab Hematol, 2012,34(3):295-299.
- [10] Shen T, Gu D, Zhu Y, et al. The VCS parameters: potential hematological indicators for predicting antituberculosis drug-induced neutropenia[J]. Clin Chim Acta, 2016,459:147-149.
- [11] Zhou N, Liu L, Li D, et al. VCS parameters of neutrophils, monocytes and lymphocytes may indicate local bacterial infection in cancer patients who accepted cytotoxic chemotherapeutic[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2016,35(1):41-48.
- [12] 吴妹英, 王霞芳, 肖玉梅, 等. 酶联免疫斑点法在快速诊断活动

- 性肺结核中的应用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2009,3(2):125-130.
- [13] 陈兴年, 刘奇栋, 王泓, 等. 活动性肺结核患者血清中白细胞介素6, 8和肿瘤坏死因子 α 检测的临床意义[J]. 中国防痨杂志,2015,37(4):344-347.
- [14] Saini NK, Sinha R, Singh P, et al. Mce4A protein of *Mycobacterium tuberculosis* induces proinflammatory cytokine response leading to macrophage apoptosis in a TNF- α dependent manner[J]. Microb Pathog,2016,100:43-50.
- [15] Monin L, Khader SA. Chemokines in tuberculosis: the good, the bad and the ugly[J]. Semin Immunol,2014,26(6):552-558.
- [16] Shrivastava P, Bagchi T. Differential expression of alpha II spectrin in monocytes of tuberculosis patients[J]. Int Immunopharmacol,2013,17(3):759-762.
- [17] Chowdhury IH, Ahmed AM, Choudhuri S, et al. Alteration of serum inflammatory cytokines in active pulmonary tuberculosis following anti-tuberculosis drug therapy[J]. Mol Immunol,2014,62(1):159-168.
- [18] Chandrashekar S, Anupama KR, Sambarey A, et al. High IL-6 and low IL-15 levels mark the presence of TB infection: A preliminary study[J]. Cytokine,2016,81:57-62.
- [19] Shrivastava P, Bagchi T. Difference in mononuclear cell cytokine profile of tuberculosis patients before and after treatment and its influence on in vitro multinucleate giant cell formation[J]. Hum Immunol,2016,7(6):516-521.
- [20] Cambier CJ, Falkow S, Ramakrishnan L. Host evasion and exploitation schemes of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Cell,2014,159(7):1497-1509.
- [21] Dey B, Bishai WR. Crosstalk between *Mycobacterium tuberculosis* and the host cell[J]. Semin Immunol,2014,26(6):486-496.
- [22] Castaño D, Barrera LF, Rojas M. *Mycobacterium tuberculosis* alters the differentiation of monocytes into macrophages in vitro[J]. Cell Immunol,2011,268(2):60-67.
- [23] 范玉平, 朱易华, 曹兴建. 中性粒细胞体积参数在诊断重型颅脑外伤并发败血症中的价值[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2016,10(3):317-320.
- [24] Aoyama T, Matsumoto T, Uchiyama A, et al. Recurrent severe acute hepatitis caused by hypereosinophilic syndrome associated with elevated serum immunoglobulin G4 levels[J]. Clin J Gastroenterol,2014,7(22):516-522.
- [25] Zhu Y, Cao X, Zhang K, et al. Delta mean neutrophil volume (Δ MNV) is comparable to procalcitonin for predicting postsurgical bacterial infection[J]. Clin J Lab Anal,2014,28(4):301-305.
- (收稿日期: 2018-02-19)
(本文编辑: 孙荣华)

沈甜, 施军卫, 顾德林, 等. 单核细胞群落VCS参数诊断活动性肺结核的价值[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018,12(5):478-482.