

IFN- γ 、VEGF 联合检测在结核性胸腔积液和恶性胸腔积液鉴别诊断中的价值

吕伟¹ 薛克营² 熊盛道² 陈兆辉¹ 李东峰³ 尹先东⁴

(1. 武汉市结核病防治所 武汉 430030; 2. 华中科技大学同济医学院附属同济医院呼吸内科 武汉 430030;

3. 鄖阳医学院附属东风医院 十堰 442008; 4. 荆州市中心医院 荆州 434020)

摘要: **目的** 探讨 γ -干扰素(IFN- γ)、血管内皮生长因子(VEGF)联合检测在结核性胸腔积液(胸液)和恶性胸液鉴别诊断中的价值。**方法** 以 2004 年 3 月—2005 年 5 月住院的 87 例胸腔积液患者为研究对象,其中结核性胸液 45 例,恶性胸液 42 例,应用酶速率法检测胸液中腺苷酸脱氨酶(ADA)的活性,应用 ELISA 法检测 IFN- γ 、癌胚抗原(CEA)和 VEGF 的浓度。应用受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)计算上述指标及 VEGF/IFN- γ 比值的诊断敏感性、特异性和准确性。**结果** 结核性胸液组 ADA 和 IFN- γ 含量高于恶性胸液组,有显著性差异($P < 0.01$);恶性胸液组 CEA、VEGF 含量和 VEGF/IFN- γ 比值高于结核性胸液组,有显著性差异($P < 0.01$)。IFN- γ 对结核性胸液诊断的敏感性和特异性高于 ADA;VEGF/IFN- γ 比值对恶性胸液诊断的敏感性和特异性高于 CEA 和 VEGF。**结论** IFN- γ 和 VEGF/IFN- γ 比值可以作为临床上鉴别结核性胸液和恶性胸液的有效指标。

关键词: γ -干扰素;血管内皮生长因子;结核;胸腔积液

Clinical study on the diagnostic value of interferon- γ and vascular endothelial growth factor in differentiating tuberculous pleural effusion from malignant pleural effusion

Lu Wei, Xue Keying, Xiong Shengdao, et al.

Wuhan Antituberculosis Institute of Hubei Province, Wuhan 430030, China

Abstract: Objective To evaluate the significance of interferon- γ (IFN- γ) and vascular endothelial growth factor (VEGF) in differentiating tuberculous pleural effusion from malignant pleural effusion. **Methods** forty-five patients with tuberculous pleural effusion and 42 patients with malignant pleural effusion in Wuhan Antituberculosis Institute, from March 2004 to May 2005, were the study subject. The adenosine deaminase (ADA), IFN- γ , carcinoembryonic antigen (CEA) and VEGF levels of pleural effusion were detected. The sensitivity, specificity and accuracy of ADA, IFN- γ , CEA, VEGF and VEGF/IFN- γ ratio were obtained through ROC. **Results** The ADA and IFN- γ levels of tuberculous group were significantly higher than that of malignant group ($P < 0.01$), while its CEA, VEGF levels and VEGF/IFN- γ ratio were significantly lower than that of malignant group ($P < 0.01$). The sensitivity and specificity of IFN- γ were higher than that of ADA. The sensitivity and specificity of VEGF/IFN- γ ratio were higher than that of CEA and VEGF. **Conclusion** IFN- γ and VEGF/IFN- γ ratio could be used as valuable parameters for the differentiation of tuberculous pleural effusion from malignant pleural effusion.

Key words: Interferon- γ ; Vascular endothelial growth factor; Tuberculosis; Pleural effusion

目前临床上对结核性胸液和恶性胸液的鉴别诊断尚存在问题,由于缺乏敏感性强、特异性高的指标,

使 20%~30% 的病例不能明确诊断。Hiraki 等^[1]检测了 20 例结核性胸液中 IFN- γ 含量,发现和其他原因

所致的胸液相比,IFN- γ 在结核性胸液中浓度最高。VEGF 促进新生血管的形成、增加血管壁的通透性、促进恶性肿瘤的生长和转移,可能参与恶性胸液的形成^[2]。本研究通过检测胸液中 IFN- γ 和 VEGF 含量,与目前临床上常用的检测指标 ADA 和 CEA 对比,探讨 IFN- γ 、VEGF 和 IFN- γ /VEGF 比值在结核性胸液、恶性胸液鉴别诊断中的价值。

资料与方法

一、研究对象

87 例胸腔积液患者为武汉市结核病防治所 2004 年 3 月—2005 年 5 月间住院患者。其中,结核性胸液组 45 例,经临床表现、胸液检查、X 线检查及对抗结核治疗的反应确诊,男 25 例,女 20 例,年龄 18~72 岁,平均(48.5 \pm 10.6)岁。恶性胸液组 42 例,经临床表现、胸液检查、影像学检查和病理学检查确诊,男 22 例,女 20 例,年龄 32~76 岁,平均(51.4 \pm 9.8)岁,病因分别为:肺癌 27 例,乳腺癌 9 例,淋巴瘤 4 例,胸膜间皮瘤 2 例。采样前全身及局部均未经特殊治疗。每例患者采集胸液 5 ml,室温下于 2 h 内离心(2 000 转/min)10 min,取上清置-20℃保存待测。2 组间性别、年龄经统计学比较,无显著性差异($P>0.05$)。

二、仪器和试剂

人 IFN- γ 、CEA、VEGF ELISA 试剂盒(晶美生物工程有限公司),腺苷、谷氨酸脱氢酶、NADPH(美国 Sigma 公司), α -酮戊二酸(北京化工厂),日立 7170-A 全自动生化分析仪,NOVAPATH-MIPEADER 型酶标仪(荷兰 BIO-RAD 公司)。

三、方法

IFN- γ 、CEA 和 VEGF 的测定:从-20℃冰箱中

取出标本,室温下融化,采用双抗体夹心 ELISA 法,严格按照试剂盒说明书进行操作:(1)加入标本及不同稀释度的标准品 100 ul/孔,37℃避光孵育 90 min;(2)洗板,加 1:100 稀释的生物素化抗体 100 ul/孔,37℃避光孵育 60 min;(3)洗板,加 1:100 稀释的酶结合物 100 ul/孔,37℃避光孵育 30 min;(4)洗板,加入底物显色剂 100 ul/孔,37℃避光孵育 15 min;(5)加入终止液 100 ul/孔,5 min 内酶标仪上在波长 450 nm 处测量标本及标准品的 OD 值。绘制出标准曲线并计算标本 IFN- γ 、CEA 和 VEGF 的含量。

ADA 的测定:将 20 ul 标本加入 360 ul ADA 底物溶液中(内含腺苷 6 mmol/L,谷氨酸脱氢酶 18 U/L, α -酮戊二酸 1.1 mmol/L,NADPH 0.28 mmol/L)。在日立 7170-A 全自动生化分析仪上于 340 nm 处测定 NADPH 吸光度下降的速度。据此可以算出 ADA 活性的大小。

四、统计学处理

采用 SPSS 10.0 软件包对所得数据进行分析。2 组数据之间的比较采用 t 检验,检验水准为 0.05。应用 ROC 曲线,以敏感性和特异性之和最大值为标准,确定最佳临界值、敏感性、特异性和准确性。

结 果

一、2 组胸液中 ADA、IFN- γ 、CEA、VEGF 含量以及 VEGF/IFN- γ 比值的比较

恶性胸液组 CEA、VEGF 含量以及 VEGF/IFN- γ 比值明显高于结核性胸液组,经统计学检验,具有极显著性差异($P<0.01$);结核性胸液组 ADA、IFN- γ 含量明显高于恶性胸液组,经统计学分析,具有显著性差异($P<0.01$)(表 1)。

表 1 2 组胸液 ADA、IFN- γ 、CEA、VEGF 含量以及 VEGF/IFN- γ 比值的比较($\bar{x}\pm s$)

分组	例数	ADA(U/L)	IFN- γ (ng/L)	CEA(ug/L)	VEGF(ng/L)	VEGF/IFN- γ
结核性胸液组	45	53.4 \pm 12.3 ^{a)}	153.7 \pm 36.4 ^{a)}	8.09 \pm 3.02 ^{a)}	676.7 \pm 216.9 ^{a)}	4.43 \pm 0.78 ^{a)}
恶性胸液组	42	18.9 \pm 5.2	41.7 \pm 8.3	31.43 \pm 15.78	1135.4 \pm 320.5	28.28 \pm 4.72
t 值		3.684	3.967	4.264	3.074	5.783

a)与恶性胸液组相比 $P<0.01$

二、IFN- γ 对结核性胸液的诊断价值

应用实验中的测量值计算相应的敏感性和特异性,以敏感性为 Y 轴,1-特异性为 X 轴作 ROC 曲线,在 ROC 曲线上找到敏感性和特异性之和最大值所对应的点,该点所对应的测量值即为 ADA 和 IFN- γ 诊断结核性胸液的最佳临界值。由此所得 ADA 和 IFN- γ 的最佳临界值及相应的敏感性、特异性和

准确性见表 2。从表 2 可以看出 IFN- γ 诊断结核性胸液的敏感性和特异性均高于 ADA。

表 2 ADA 和 IFN- γ 对结核性胸液的诊断价值

指标	最佳临界值	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)
ADA	40 U/L	80.2	91.8	85.8
IFN- γ	95.3 ng/L	83.7	96.4	89.8

三、VEGF 和 VEGF/IFN - γ 比值对恶性胸液的诊断价值

同法应用 ROC 曲线可得 CEA、VEGF 和 VEGF/IFN - γ 比值诊断恶性胸液的最佳临界值、敏感性、特异性和准确性见表 3。和 CEA 比较,VEGF 诊断恶性胸液的敏感性提高,但特异性下降,VEGF/IFN - γ 比值敏感性 88.7%,特异性 100%,是诊断恶性胸液的最佳指标。

表 3 CEA、VEGF 以及 VEGF/IFN - γ 比值对恶性胸液的诊断价值

指标	最佳临界值	敏感性(%)	特异性(%)	准确性(%)
CEA	15 ug/L	67.8	96.1	82.4
VEGF	945.7 ng/L	70.5	84.3	77.6
VEGF/IFN - γ	17.23	88.7	100	95.4

讨 论

结核性胸膜炎、恶性疾病引起胸液有时明确其确切病因是临床上常遇到的难题。ADA 已广泛应用于诊断结核性胸液,但其敏感性和特异性还并不十分令人满意,本研究显示结核性胸液组 ADA 水平为(53.4 ± 12.3) U/L,显著高于恶性胸液组的(18.9 ± 5.2)U/L($P < 0.01$),结果显示其敏感性、特异性和准确性分别为 80.2%、91.8%和 85.8%,仍有一定的漏诊率和误诊率。研究认为胸膜在遭受结核菌感染后会产生针对其抗原成分的变态反应,表现为 CD4 T 细胞在胸腔内募集并活化为 Th1 和 Th2 细胞,Th1 细胞通过分泌 IFN - γ 而活化单核和巨噬细胞等效应细胞,后者分泌白细胞介素 - 1β、肿瘤坏死因子 - α、转化生长因子 - β 等细胞因子,从而在胸膜局部产生炎性瀑布反应,刺激血管壁通透性增加而形成渗出性胸液^[3]。提示 IFN - γ 在结核性胸液的形成中发挥了重要作用。高同军等^[4]研究发现 IFN - γ 在结核性胸液中升高。本研究显示,结核性胸液组 IFN - γ 水平为(153.7 ± 36.4)ng/L,显著高于恶性胸液组的(41.7 ± 8.3)ng/L,恶性胸液因其发生机制和结核性胸液不同,所以在其胸液中 IFN - γ 的含量明显低于结核性胸膜炎。IFN - γ 诊断结核性胸液的敏感性为 83.7%,特异性为 96.4%,准确性为 89.8%,上述指标优于 ADA,提示 IFN - γ 可以替代 ADA 用于结核性胸液的诊断和鉴别诊断。

恶性胸液的诊断常用的肿瘤标志物 CEA 虽特异性高,但其敏感性较差,本研究显示恶性胸液组 CEA 水平为(31.43 ± 15.78)μg/L,明显高于结核性胸液组

的(8.09 ± 3.02)μg/L ($P < 0.01$),敏感性为 67.8%,特异性为 96.1%,准确性为 82.4%,证实了 CEA 是一种特异性高、敏感性差的肿瘤标志物。肿瘤的发生、发展需要新生血管的形成,目前国内外已有大量的研究证实 VEGF 在肿瘤血管形成中发挥了重要作用,在肿瘤患者中,VEGF 主要来源于肿瘤细胞,VEGF 通过自分泌机制结合于肿瘤细胞上的 VEGF 受体(VEGFR)而促进其增殖、迁移,抑制其凋亡,此外 VEGF 还通过旁分泌机制和血管内皮细胞上的 VEGFR 结合而刺激其分裂、增殖,促进其移行,增强血管壁通透性,在肿瘤血管生成及肿瘤细胞的侵袭、转移中发挥重要作用。VEGF 增强血管通透性,使血浆蛋白外渗,促进了恶性胸腔积液的形成^[5-6]。本研究发现恶性胸液组 VEGF 水平为(1135.4 ± 320.5)ng/L,VEGF/IFN - γ 比值为(28.28 ± 4.72),明显高于结核性胸液组的(676.7 ± 216.9)ng/L 和(4.43 ± 0.78)($P < 0.01$),和 CEA 相比,VEGF 可提高检测敏感性,但同时特异性降低,其敏感性、特异性分别为 70.5%和 84.3%;而 VEGF/IFN - γ 比值既可提高检测敏感性,又可提高检测特异性,敏感性、特异性和准确性分别为 88.7%、100%和 95.4%。

联合检测胸液中 IFN - γ、VEGF 的水平并计算 VEGF/IFN - γ 比值可提高结核性胸液、恶性胸液诊断的敏感性和特异性,避免漏诊和误诊,值得在临床工作中应用。

参考文献:

1 Hiraki A, Aoe K, Matsuo K, et al. Simultaneous measurement of T-helper 1 cytokines in tuberculous pleural effusion [J]. Int J Tuberc Lung Dis, 2003, 7 (12):1172 - 1177

2 Hamed E A, El - Noweih A M, Mohamed A Z, et al. Vasoactive mediators (VEGF and TNF - alpha) in patients with malignant and tuberculous pleural effusions [J]. Respirology, 2004, 9(1):81 - 86

3 李嫣红, 谢灿茂. 结核性胸膜炎的发病机制研究进展[J]. 国外医学(内科学分册), 2002, 29(9): 373 - 376

4 高同军,王庆枫,李有才,等. 结核性与非结核炎性和恶性胸腔积液中 γ - 干扰素水平的比较[J]. 中国防痨杂志, 2004, 26(4):209 - 211

5 Verheul HM, Hoekman K, Jorna AS, et al. Targeting vascular endothelial growth factor blockade: ascites and pleural effusions formation [J]. Oncologist, 2000, 5(S): 45 - 50

6 Yano S, Herbst R S, Shinohara H, et al. Treatment for malignant pleural effusions of human lung adenocarcinoma by inhibition of vascular endothelial growth factor receptor tyrosine kinase phosphorylation [J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(3): 957 - 965