

评估联合检测炎症性因子 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 对冠心病的临床诊断价值

陈洁 黄山 陈艳 张程 令狐颖 刘志琴

基金项目:贵阳市科技局社会发展领域科技攻关项目[2010]筑科农合同字第 1-社-35 号

贵州省卫生厅立项资助项目[Gzwlj2009-1-007]

作者单位:550002 贵阳市,贵州省人民医院临床检验中心(陈洁 黄山 陈艳 张程 令狐颖)

550002 贵阳市,贵州省人民医院心内科(刘志琴)

【摘要】 目的 探讨联合检测人血清中白细胞介素-6(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)和单核细胞趋化因子-1(monocyte chemotactic factor-1, MCP-1)水平对冠心病(coronary heart disease, CHD)的临床诊断价值。**方法** 选择 150 例 CHD 患者和 50 例健康对照组,采用 ELISA 法检测受检者血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平,并且评价各指标单项检测及多项联合检测对 CHD 的诊断价值。**结果** CHD 组 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平显著高于正常对照组,且差异均有统计学意义(P 均 <0.01)。血清 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 诊断 CHD 的受试者工作特征曲线下面积分别为 0.88、0.86 和 0.91,三者诊断 CHD 的 cut-off 值分别为 7.46 pg/mL、23.03 pg/mL、68.53 pg/mL。血清 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 单项检测 CHD 的敏感性分别为 80.70%、79.30%和 86.00%,三项联合检测的敏感性为 97.30%。**结论** 联合检测血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平可提高诊断 CHD 的敏感性,对 CHD 的早期诊断具有重要价值。

【关键词】 联合检测;冠心病;白细胞介素-6;肿瘤坏死因子- α ;单核细胞趋化因子-1

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2012.01.007

The diagnosis value evaluation of IL-6, TNF- α and MCP-1 multiplex detection in coronary heart disease

CHEN Jie, HUANG Shan, CHEN Yan, et al. Department of Clinical Laboratory, the People's Hospital of Guizhou Province, Guiyang 550002, China

【Abstract】 Objective To investigate the value of multiplex detection of interleukin-6(IL-6), tumor necrosis factor- α (TNF- α) and monocyte chemotactic factor-1 (MCP-1) in coronary heart disease(CHD). **Methods** 150 cases CHD patients and 50 cases healthy control were selected. The subjects' serum levels of IL-6, TNF- α and MCP-1 were detected by enzyme-linked immunosorbent assays, and the diagnostic performance of individual detection and multiplex detection were evaluated. **Results** The levels of serum IL-6, TNF- α and MCP-1 in CHD group were higher than in control group and the differences all had statistical significance (P all <0.01). The area under receiver operating characteristic curve of IL-6, TNF- α and MCP-1 in diagnosis CHD were 0.88, 0.86 and 0.91 respectively. The cut-off value of IL-6, TNF- α and MCP-1 were 7.46 pg/mL, 23.03 pg/mL, 68.53 pg/mL respectively. The sensibility of individual detection of IL-6, TNF- α and MCP-1 were 80.70%, 79.30% and 86.00%, the sensibility of multiplex detection was 97.30%. **Conclusion** Multiplex detection can improve the diagnostic sensitivity of CHD, which has important value in early diagnosis of CHD.

【Key words】 Combination detection; Coronary heart disease; IL-6; TNF- α ; MCP-1

近年来,冠心病(coronary heart disease, CHD)的发病率和病死率急剧增加,已成为危害我国人民群众生命和健康的重大疾病^[1]。目前研究发现,炎症反应在 CHD 的发生、发展过程及其所致的并发症中起着重要作用。许多炎症性因子,如白细胞介素-6

(interleukin-6, IL-6)、肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 和单核细胞趋化因子-1 (monocyte chemotactic protein-1, MCP-1) 等参与了 CHD 的形成过程^[2]。如何做到 CHD 的早期诊断一直为人们所关注。近年对 CHD 炎症标志物的研究越来越

越受到人们的重视。为了弥补单项指标检测意义的不足,提高诊断准确性,本文通过采用 ELISA 法检测血清中 IL-6、TNF- α 、MCP-1 水平,并对三种 CHD 的炎症标志物单独及多项联合检测的效果进行评估,结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 选择 2010 年 9 月至 2011 年 3 月我院经冠状动脉造影术等检查确诊于心内科住院 CHD 患者 150 例,男 85 例,女 65 例,平均年龄(52.0 $\pm$ 1.4)岁。排除标准:合并周围血管疾病或周围血管栓塞性疾病者,脑卒中、严重的肝肾功能不全、糖尿病等患者;合并感染性疾病患者;高热、恶性肿瘤、风湿活动期、系统性红斑狼疮、组织损伤以及应用炎症抑制药物等患者。同期选择 50 例健康体检者为对照组,其中男 30 例,女 20 例,平均年龄(43.0 $\pm$ 2.3)岁。

1.2 方法 所有受检者清晨空腹采集静脉血 2 ml,以离心半径 12 cm,3000 r/min 离心 10 min 分离血清,-80 $^{\circ}$ C 保存待检。IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平检测采用 ELISA 法,并严格按照试剂盒说明书进行操作。

1.3 主要试剂与仪器 人血清 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 的 ELISA 检测试剂盒均为 R&D 公司产品,批号分别为 CK-E10140H、CK-E10110H 和 CK-E10136H,酶标仪和洗板机均为北京普朗公司产品。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 13.0 统计软件对数据进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,对照组和 CHD 组人血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平比较采用 *t* 检验;根据检测结果,分别绘制人血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平的受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,并且对单独检测及多项联合检测标志物的临床诊断性能进行评价。以 *P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 对照组及 CHD 组患者血清中 IL-6、TNF- α 、MCP-1 检测结果的比较 CHD 组患者血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 检测结果均高于对照组,且差异均有统计学意义(*P*均<0.01),结果见表 1。

2.2 单独标志物对 CHD 的临床诊断效能评价

表 1 对照组及 CHD 组血清中炎症因子检测结果比较($\bar{x}\pm s$, pg/mL)

组别	例数	IL-6	TNF- α	MCP-1
对照组	50	6.03 $\pm$ 2.64	18.67 $\pm$ 6.76	58.43 $\pm$ 15.22
CHD 组	150	12.99 $\pm$ 6.04 ^a	35.69 $\pm$ 15.43 ^a	102.63 $\pm$ 32.68 ^a

注:^a与对照组比较,*P*<0.01

2.2.1 人血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 诊断 CHD 的 ROC 曲线 血清中 IL-6 诊断 CHD 的 ROC 曲线下面积(area under curve, AUC)为 0.88,标准误为 0.03,TNF- α 的 AUC^{ROC} 为 0.86,标准误为 0.03,MCP-1 的 AUC^{ROC} 为 0.91,标准误为 0.02。根据 ROC 曲线,IL-6、TNF- α 、MCP-1 诊断 CHD 的 cut-off 值分别为 7.46 pg/mL,23.03 pg/mL,68.53 pg/mL。各指标 ROC 曲线见图 1。

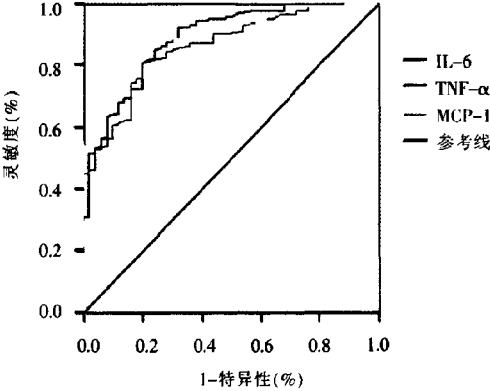


图 1 IL-6、TNF- α 、MCP-1 诊断 CHD 的 ROC 曲线

2.2.2 血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 诊断 CHD 的临床诊断性能评价 MCP-1 诊断 CHD 的灵敏度最高(86.00%),IL-6 次之(80.70%),TNF- α 最低(79.30%);IL-6、TNF- α 特异性较高,达 80.00%。MCP-1 特异性为 78.00%,其他指标见表 2。

2.3 三项标志物单独和联合检测 CHD 灵敏度结果 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 三项标志物单独检测和联合检测诊断 CHD 的阳性率结果见表 3。三项指标联合检测阳性率均高于各指标单独检测的阳性率。

3 讨论

CHD 已成为危害我国人民群众生命和健康的重大疾病。随着医学研究的不断深入,一些化学因子和细胞因子不断被检出,认为 CHD 的表现符合炎症

表 2 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 在 CHD 诊断中的临床诊断性能评价结果

指标	灵敏度(%)	特异性(%)	阳性似然比	阴性似然比	阳性预测值	阴性预测值	Youden 指数
IL-6	80.70	80.00	4.04	0.24	0.92	0.58	0.61
TNF- α	79.30	80.00	3.97	0.26	0.92	0.56	0.59
MCP-1	86.00	78.00	3.91	0.18	0.92	0.65	0.64

表 3 三项标志物单项和联合检测 CHD 灵敏度结果[n(%)]

组别	例数	灵敏度
IL-6	150	121(80.7)
TNF- α	150	119(79.3)
MCP-1	150	129(86.0)
IL-6+TNF- α +MCP-1	150	146(97.3)

表现的普遍规律,许多炎症性因子参与了动脉粥样硬化的形成过程。目前认为,IL-6 可能通过以下途径参与冠脉粥样硬化的形成与进展:(1)IL-6 促进巨噬细胞表面低密度脂蛋白(low density lipoprotein, LDL)受体的合成及巨噬细胞对 LDL 的摄取,从而加速了脂质的沉积,促进粥样斑块形成;(2)IL-6 可激活巨噬细胞分泌单核细胞趋化蛋白,募集单核细胞进入血管内皮下参与斑块形成;(3)IL-6 以自分泌方式刺激血管平滑肌细胞增生;(4)IL-6 可诱导肝细胞产生血浆纤溶酶原激活物抑制物(plasminogen activator inhibitor, PAI),促进冠脉血栓形成^[3];(5)粥样硬化发生过程中,血管内皮的损伤可使 TNF- α 释放增加,而 TNF- α 又促进 IL-6 释放增加,两者协同可刺激辅助性 T 细胞(Th)增加,抑制性 T 细胞(Ts)减少,使相关抗体大量产生,形成免疫复合物沉积于血管内皮造成血栓形成;(6)IL-6 可诱导肝脏产生急性期反应蛋白,促进血栓形成。TNF- α 引起动脉粥样硬化的可能机制是(1)TNF- α 能通过细胞毒作用损伤血管内皮细胞,使其通透性增高,血中胆固醇易于穿透内膜而在管壁内沉积形成动脉粥样硬化斑块;(2)TNF- α 与血管内皮细胞表面受体结合,使 PAI 生成增多,增多的 PAI 与组织纤溶酶原激活剂结合使其失活,使血管内皮细胞表面凝血与抗凝血之间平衡失调,最终导致纤溶酶活性低下,血栓易于形成^[4];(3)TNF- α 能下调血栓调节素的表达,抑制具有凝血作用的蛋白 C 激活;(4)TNF- α 能刺激血管内皮细胞合成并释放 IL-1,IL-1 具有组织因子样促凝血作用,并与 TNF- α 产生协同作用,故认为 TNF- α 是动脉粥样硬化形成过程中内膜增厚、内皮功能紊乱的病因学之一。MCP-1 可由炎症递质刺激的单核或巨噬细胞、成纤维细胞、B 细胞、内皮细胞等分泌。MCP-1 对单核或巨噬细胞有趋化和激活作用,可诱导其产生 IL-1、IL-6,并促进黏附分子表达;还可趋化和激活嗜碱性粒细胞,使其释放组胺。MCP-1 与动脉粥样硬化的发生和发展关系密切,动脉平滑肌细胞和内皮细胞产生高水平 MCP-1,吸引单核细胞黏附并浸润动脉壁,促进粥样斑块形成^[5]。

本文研究发现,CHD 组血清 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平明显高于正常对照组,且差异均有统计学意义(P 均 <0.01),说明血清 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 水平的检测对 CHD 的诊断有一定的临床价值。此外,ELISA 法检测血清中 IL-6、TNF- α 和 MCP-1 的 AUC_{ROC} 分别为 0.88、0.86 和 0.91,在 $AUC>0.5$ 的情况下, AUC 越接近于 1,说明指标诊断效果越好,由此可见三种标志物的诊断效能较高,并且各因子的诊断灵敏度、特异性、阳性似然比、阴性似然比、阳性预测值、阴性预测值和 Youden 指数等指标均较为满意,可用于对 CHD 的早期诊断,值得在临床上推广使用。

采用 ELISA 法检测 CHD 相关的炎症因子广泛运用于临床。作为一种诊断 CHD 的初筛方法,如何提高诊断的敏感性是本实验研究的重点^[6,7]。在各项单独标志物中,MCP-1 诊断 CHD 的灵敏度最高(86.00%),然后依次为 IL-6 (80.70%)、TNF- α (79.30%)。而三项指标联合检测将诊断 CHD 的灵敏度提高到 97.3%,说明联合检测的灵敏度优于单独指标检测的灵敏度,作为一种检测 CHD 的初筛方法,对 CHD 早期诊断更具有诊断价值^[8]。

4 参考文献

- 1 李延辉. CHD 的概念和诊断. 人民军医出版社,2007,50:413-414.
- 2 Rosenson RS, Koenig W. Utility of inflammatory markers in the management of coronary artery disease. *Am J Cardiol*,2003,92:10-18.
- 3 陈绍宇. 急性心肌梗死患者血清 TNF、IL-6 和 sIL-2R 水平的变化. *临床心血管病*,1999,15:425.
- 4 刘建庄,张永春,毛乾国,等. CHD 患者循环血中肿瘤坏死因子含量及意义. *临床医学*,1999,19:17-18.
- 5 白玉婷,周白丽. 单核细胞趋化蛋白-1 与心血管疾病关系的研究进展. *青海医药杂志*,2010,12:74-76.
- 6 谭爱华. ELISA 法检测中应注意的问题. *实用医技杂志*,2008,15:2496-2497.
- 7 张玉霞,周杰钊. 浅谈 ELISA 的影响因素. *中国民族民间医药*,2010,19:32.
- 8 de Voer RM, van der Klis FR, Engels CW, et al. Development of a fluorescent-bead-based multiplex immunoassay to determine immunoglobulin G subclass responses to *Neisseria meningitidis* serogroup A and C polysaccharides. *Clin Vaccine Immunol*,2008,15:1188-1193.

(收稿日期:2012-01-11)

(本文编辑:陈淑莲)