

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.16.012

• 临床研究 •

IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 在脊柱结核病人血清和病灶中的表达
以及对疾病的影响 *徐震超¹ 王锡阳^{1Δ} 刘政¹ 陈巩舟¹ 陈刚²

(1 中南大学湘雅医院 湖南 长沙 410008; 2 湘潭市中心医院 湖南 湘潭 411100)

摘要 目的:检测 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 在脊柱结核病人血清和病灶中的表达水平,探讨血清和病灶中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 的表达水平与脊柱结核的相关性。**方法:**2014 年 12 月至 2016 年 3 月期间,纳入符合标准的脊柱结核病人 46 例为实验组,椎体骨折病人 48 例为对照组。应用 ELISA 检测两组人群血清中 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 的平均浓度;病灶标本免疫组化染色检测其 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 的平均光密度值。**结果:**实验组血清中 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 平均浓度分别为 26.82 ± 7.81 pg/mL, 25.93 ± 12.84 pg/mL, 68.13 ± 16.24 pg/mL, 对照组血清中平均浓度分别为 46.89 ± 7.81 pg/mL, 49.45 ± 22.38 pg/mL, 26.65 ± 10.11 pg/mL; 实验组病灶中 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 平均光密度值分别为 0.273 ± 0.076 , 0.380 ± 0.054 , 0.306 ± 0.052 , 对照组病灶中平均光密度值分别为 0.092 ± 0.024 , 0.183 ± 0.034 , 0.180 ± 0.031 。实验组与对照组血清及病灶中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 的表达水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。**结论:**脊柱结核病人的血清 IFN- γ 、IL-12 浓度呈低表达, TNF- α 浓度呈高表达; 脊柱结核病人病灶中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 表达增加; 检测脊柱结核病人 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 血清水平含量能为其机体免疫力的状态、判断结核病情程度和进展及为临床诊断提供参考依据。

关键词:脊柱结核; 干扰素- γ ; 白细胞介素-12; 肿瘤坏死因子- α

中图分类号:R529.2 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2018)16-3057-05

The Expression of IFN- γ , IL-12 and TNF- α in the Serum and Lesions of
Spinal Tuberculosis and Its Effects on the Disease*XU Zhen-chao¹, WANG Xi-yang^{1Δ}, LIU Zheng¹, CHEN Gong-zhou¹, CHEN Gang²

(1 Xiangya Hospital of Central South University, Hunan, Changsha, 410008, China;

2 Xiangtan Central Hospital, Hunan, Xiangtan, 411100, China)

ABSTRACT Objective: To detect the serum and lesions levels of IFN- γ , IL-12 and TNF- α expressed in spinal tuberculosis patients change, and to preliminary explore the association between IFN- γ , IL-12 and TNF- α levels and spinal tuberculosis. **Methods:** 46 patients with spinal tuberculosis as the experimental group, 48 cases of vertebral fracture were recruited as the control group in our study from December 2014 to March 2016. The concentration of serum IFN- γ , IL-12 and TNF- α were detected by ELISA. IFN- γ , IL-12 and TNF- α immunohistochemical staining were performed on the lesions, the average optical density values of IFN- γ , IL-12 and TNF- α were detected. **Results:** The mean concentrations of IFN- γ , IL-12 and TNF- α in serum of experimental group were 26.82 ± 7.81 pg/mL, 25.93 ± 12.84 pg/mL, 68.13 ± 16.24 pg/mL respectively. The mean concentrations of IFN- γ , IL-12 and TNF- α in serum of control group were 46.89 ± 7.81 pg/mL, 49.45 ± 22.38 pg/mL, 26.65 ± 10.11 pg/mL respectively. The average optical density of IFN- γ , IL-12 and TNF- α in the experimental group was 0.273 ± 0.076 , 0.380 ± 0.054 , 0.306 ± 0.052 respectively. The average optical density of IFN- γ , IL-12 and TNF- α in the control group was 0.092 ± 0.024 , 0.183 ± 0.034 , 0.180 ± 0.031 respectively. The mean serum IFN- γ and IL-12 concentration in experimental group was significantly lower than control group ($P < 0.05$); the mean serum TNF- α concentration in experimental group was significantly higher than control group ($P < 0.05$). The IFN- γ , IL-12 and TNF- α mean optical density of lesions in experimental group was significantly higher than control group ($P < 0.05$). **Conclusion:** Serum IFN- γ , IL-12 concentrations of spinal tuberculosis patients are lower than normal, serum TNF- α concentration of spinal tuberculosis patients are higher than normal; High expression of IFN- γ , IL-12 and TNF- α in lesion of spinal tuberculosis; Detecting the serum IFN- γ , IL-12 and TNF- α concentration of patients able to be provide a basis for the state of immunity, the severity and progress of tuberculosis and the clinical diagnosis.

Key words: Spinal tuberculosis; Interferon- γ ; Interleukin-12; Tumor necrosis factor- α

Chinese Library Classification(CLC): R529.2 **Document code:** A

Article ID:1673-6273(2018)16-3057-05

* 基金项目:国家自然科学基金项目(81672191)

作者简介:徐震超(1989-), 硕士, 医师, 主要研究方向:脊柱结核, E-mail: 982134393@qq.com

Δ 通讯作者:王锡阳, 主任医师, 教授, 博士生导师, E-mail: wqlwqwxxy@163.com

(收稿日期:2017-10-29 接受日期:2017-11-25)

前言

脊柱结核是最常见的肺外结核, 约占骨与关节结核的50%, 并且有增加的趋势^[1]。脊柱结核随着病情发展可出现窦道、瘻管等慢性化脓性改变, 若得不到及时的诊断和治疗, 将导致脊柱畸形、肢体活动感觉障碍, 甚至瘫痪, 引起巨大负担^[2,3]。Th1 细胞与 Th2 细胞之间的细胞因子平衡紊乱是结核发病的一个重要病因, 相关细胞因子在结核中的表达水平以及它们作为抗结核治疗反应标记物的作用得到了广泛的研究, 通过查阅文献发现 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 的表达在抗结核免疫应答中发挥着重要作用^[4-6]。但目前国内外关于这些细胞因子的表达水平与结核病的相关性研究主要集中在肺结核, 而对于细胞因子与脊柱结核的相关性研究并不多。基于此, 我们收集了脊柱结核和脊柱椎体骨折病人的血清和病灶, 应用 ELISA 方法检测两组血清中 IFN- γ 、IL-12、TNF- α 的浓度, 病灶 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 免疫组化染色, 光镜下观察两组标本中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 表达并进行阳性颗粒计数, 并进一步分析其与脊柱结核相关性。

1 资料与方法

1.1 研究对象

1.1.1 脊柱结核病例组 在 2014 年 12 月至 2016 年 3 月期间, 选取我院脊柱结核病人临床资料共 46 例为实验组, 其中男性 27 例, 女性 19 例, 年龄 32-67 岁, 平均年龄为 47.80 ± 9.87 岁。所选患者术前通过 X 线、CT、MRI 等影像学检查和实验室检查诊断考虑结核后, 术后病理检查确诊为脊柱结核, 或脓液、病灶组织培养出结核杆菌。

1.1.2 对照组 选取 2014 年 12 月至 2016 年 3 月期间在我院因椎体压缩性或爆裂性骨折病人 48 例为对照组, 所有病人均为外伤导致骨折, 既往体健, 无基础疾病。其中男性 30 例, 女性 18 例, 年龄 30-65 岁, 平均年龄为 47.44 ± 9.27 岁。

1.1.3 共同排除标准 存在下列情况者不予以纳入本次研究: 罹患活动性肺结核、或合并有其他部位结核病或有结核病史; 患有影响免疫功能的疾病(如: 肿瘤、感染等); 患有自身免疫性疾病(如: 风湿、类风湿疾病、强直性脊柱炎、糖尿病等); 感染 HIV 者; 既往使用过抗结核药物; 长期使用激素; 未接种卡介苗; 有过量饮酒史; 接受过脊柱手术; 年龄大于 70 岁。

1.2 实验方法

1.2.1 提取血清和标本 脊柱结核组和对照组均抽取静脉血 5 mL 于抗凝管中摇匀, 放入离心机中, 在 4℃ 环境下予以 1000 r/min 的转速离心 10 min, 取上清液于 1.5 mL 的 EP 管中, 予以登记记录, 放置于 -80℃ 冰箱中, 需避免反复冻融。

脊柱结核组术中取结核病灶; 对照组取其椎体松质骨。标本置于 EDTA 脱钙液中脱钙, 等到能用切片机较容易切开时即为达到脱钙要求。标本冲洗、脱水、透明、石蜡包埋, 用石蜡切片机 5 μ m 切片。每一例标本切片 20 张备用。

1.2.2 实验原理 应用 ELISA 法测定样品中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 浓度, 将抗体包被微孔板, 制成固相抗体, 加入样本与过氧化物酶标记的抗体反应后, 形成抗体-抗原-酶标抗体反应物, 经过彻底洗涤后加底物 TMB 显色。TMB 在过氧化物酶催

化下转化为蓝色, 并在酸的作用下最终转化为黄色, 颜色的深浅与样品中的 IFN- γ 或 IL-12 或 TNF- α 呈正相关。用酶标仪在 450 nm 波长下测读出 OD 值, 通过标准曲线计算样品中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 浓度。

免疫组织化学染色应用兔抗人多克隆抗体结合 DAB 染色液与组织标本中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 专一性反应, 以 PBS 代替一抗作为阴性对照组, 以棕黄色颗粒代表染色阳性信号。用 Image-Pro plus 彩色图像分析系统测定 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 所表达的平均光密度。

1.3 统计学方法

应用 SPSS19.0 统计软件进行数据分析, 计量资料用均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示。两组之间血清 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 表达量数值比较采用 t 检验, 当 $P < 0.05$ 时差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血清标本标准曲线绘制

使用 Curve Expert1.4 软件绘制标准曲线, 以底物的浓度作为纵坐标, OD 值作为横坐标, 取拟合优度最佳回归方式绘制标准曲线图。

2.2 血清 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 表达水平的比较

2.2.1 血清 IFN- γ 浓度在脊柱结核组和对照组的表达水平 脊柱结核组血清 IFN- γ 平均浓度为 26.82 ± 7.81 pg/mL, 对照组血清 IFN- γ 平均浓度为 46.89 ± 7.81 pg/mL, 根据统计学分析, 两组血清 IFN- γ 浓度存在差异 ($P < 0.05$)。

2.2.2 血清 IL-12 浓度在脊柱结核组和对照组的表达水平 脊柱结核组血清 IL-12 平均浓度为 25.93 ± 12.84 pg/mL, 对照组血清 IL-12 平均浓度为 49.45 ± 22.38 pg/mL, 根据统计学分析, 两组血清 IL-12 浓度存在差异 ($P < 0.05$)。

2.2.3 血清 TNF- α 浓度在脊柱结核组和对照组的表达水平 脊柱结核组血清 TNF- α 平均浓度为 68.13 ± 16.24 pg/mL, 对照组血清 TNF- α 平均浓度为 25.65 ± 10.11 pg/mL, 根据统计学分析, 两组血清 TNF- α 浓度存在差异 ($P < 0.05$)。

2.3 标本 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 表达水平的比较

2.3.1 标本 IFN- γ 在脊柱结核组和对照组的表达水平 脊柱结核组病灶 IFN- γ 平均光密度值为 0.273 ± 0.076 , 对照组 IFN- γ 平均光密度值为 0.092 ± 0.024 , 根据统计学分析, 两组 IFN- γ 平均光密度值存在差异 ($P < 0.05$)。

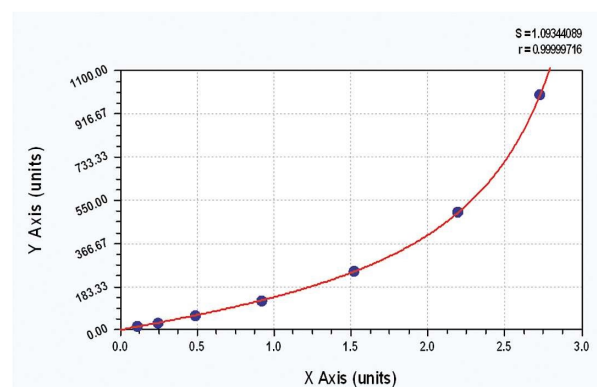


图 1 IFN- γ 标准曲线图

Fig.1 IFN- γ standard curve diagram

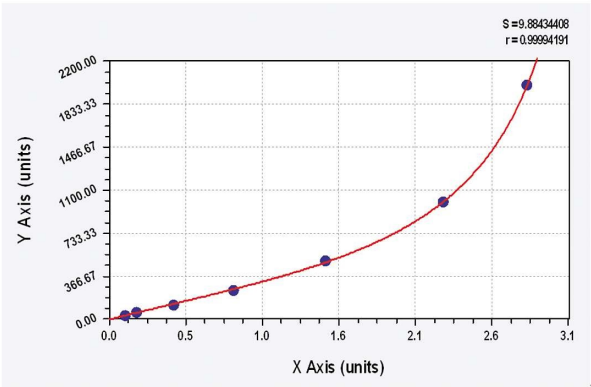


图 2 IL-12 标准曲线图

Fig.2 IL-12 standard curve diagram

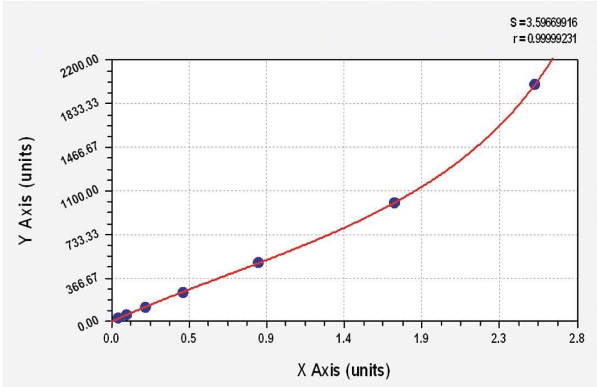


图 3 TNF-α 标准曲线图

Fig.3 TNF-α standard curve diagram

表 1 血清 IFN-γ 浓度在脊柱结核组和对照组表达水平比较

Table 1 Comparison of the expression levels of serum IFN- γ in spinal tuberculosis group and control group

Groups	Amounts(n)	Average concentration(pg/mL)
Spinal tuberculosis groups	46	26.82± 7.81
Control groups	48	46.89± 7.81

表 2 血清 IL-12 浓度在脊柱结核组和对照组表达水平比较

Table 2 Comparison of the expression levels of serum IL-12 in spinal tuberculosis group and control group

Groups	Amounts(n)	Average concentration(pg/mL)
Spinal tuberculosis groups	46	25.93± 12.84
Control groups	48	49.45± 22.38

表 3 血清 TNF-α 浓度在脊柱结核组和对照组表达水平比较

Table 3 Comparison of the expression levels of serum TNF-α in spinal tuberculosis group and control group

Groups	Amounts(n)	Average concentration(pg/mL)
Spinal tuberculosis groups	46	68.13± 16.24
Control groups	48	25.65± 10.11

表 4 标本 IFN-γ 表达水平在脊柱结核组和对照组比较

Table 4 The expression levels of IFN-γ in the spinal tuberculosis group and the control group were compared

Groups	Amounts(n)	Average optical density
Spinal tuberculosis groups	46	0.273± 0.076
Control groups	48	0.092± 0.024

2.3.2 标本 IL-12 在脊柱结核组和对照组的表达水平 脊柱 平均光密度值为 0.183± 0.034,根据统计学分析,两组 IL-12 平
结核组病灶 IL-12 平均光密度值为 0.380± 0.054,对照组 IL-12 均光密度值存在差异($P<0.05$)。

表 5 标本 IL-12 表达水平在脊柱结核组和对照组比较

Table 5 The expression levels of IFN-γ in the spinal tuberculosis group and the control group were compared

Groups	Amounts(n)	Average optical density
Spinal tuberculosis groups	46	0.380± 0.054
Control groups	48	0.183± 0.034

2.3.3 标本 TNF-α 在脊柱结核组和对照组的表达水平 脊柱 TNF-α 平均光密度值为 0.180± 0.031,根据统计学分析,两组
结核组病灶 TNF-α 平均光密度值为 0.306± 0.052, 对照组 TNF-α 平均光密度值存在差异($P<0.05$)。

表 6 标本 TNF- α 表达水平在脊柱结核组和对照组比较Table 6 The expression levels of TNF- α in the spinal tuberculosis group and the control group were compared

Groups	Amounts(n)	Average optical density
Spinal tuberculosis groups	46	0.360 $\pm$ 0.052
Control groups	48	0.180 $\pm$ 0.031

3 讨论

T 细胞介导的特异性细胞免疫在抗结核中发挥着最为重要的作用。具有高度异质性的 T 细胞,根据其表面标志及功能特征可分为各种不同的亚群,各亚群之间能互相调节,组成极为复杂的细胞及细胞因子网络,共同发挥免疫学功能。有多种方法可将 T 细胞分为各种不同亚群,按其是否表达 CD4 和 CD8 分子,可分为 CD4⁺T 细胞及 CD8⁺T 细胞。

有动物实验证明,IFN- γ 基因敲除小鼠的肺部及其他器官对结核杆菌的免疫能力明显减弱,CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞的免疫保护作用依赖于 IFN- γ 的合成、分泌能力^[7];感染 HIV 的结核病人,CD4⁺T 细胞遭到大量破坏,肺外结核、结核菌血症的发生率较普通人大大增加^[8]。而在人类,IL-12 依赖的 IFN- γ 分泌途径的基因改变将导致对低毒性结核杆菌易感^[9];TNF- α 对于结核肉芽肿的形成有着关键的作用,针对抗 TNF- α 治疗慢性炎症将会导致结核病的复发^[10]。这些现象表明了 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 在抗结核方面有不可或缺的作用。

3.1 IFN- γ 与结核

IFN- γ 作为抗结核的重要免疫细胞因子,其在机体的表达水平与结核病密切相关^[11,12]。Chackerlan AA^[13]等通过对结核杆菌敏感小鼠和耐受小鼠的研究发现,肺局部淋巴细胞所表达的 IFN- γ 水平决定着小鼠对结核杆菌是敏感还是耐受;Turner J^[14]等研究表明,结核病人体的 IFN- γ 水平随着抗结核化疗的进行而发生改变,在开始治疗前,IFN- γ 水平含量低,应用抗结核药物 2 个月后 IFN- γ 含量恢复正常,并一直持续到治疗结束;刘义^[15]等也研究证实了肺结核病人的 Th1 细胞免疫反应能力能通过检测其血浆和痰中 IFN- γ 的水平含量所反映出来,检测痰和(或)血浆中 IFN- γ 表达水平对肺结核的诊断(尤其是痰涂片阴性肺结核)、鉴别诊断具有十分重要的临床意义,联合痰和血浆 IFN- γ 表达水平进行诊断时能提高对结核病诊断的特异性和正确率。我们的实验研究显示脊柱结核组患者血清 IFN- γ 浓度为 26.82 $\pm$ 7.81 pg/mL,明显低于对照组的浓度($P<0.05$)。这些都提示了对脊柱结核病人血清 IFN- γ 水平含量的检测能为其机体免疫力的状态、判断结核病情程度和进展及为临床诊断和抗结核治疗提供参考依据。目前 IFN- γ 释放结核感染 T 细胞斑点试验(TSPOT)已应用于肺外结核的诊断。

在脊柱结核中,IFN- γ 对于结核肉芽肿的形成中作用十分重要,IFN- γ 基因敲除的小鼠接种卡介苗后,将形成不能表达 i-NOS、有缺陷的结核肉芽肿,结核杆菌在肺部大量繁殖;但是如果小鼠接种的是能产生 IFN- γ 的重组卡介苗,则能生成表达 i-NOS、分化良好的结核肉芽肿,而且其肺部结核杆菌明显减少^[16]。本研究显示,脊柱结核患者病灶 IFN- γ 呈高表达,我们推测 IFN- γ 可能参与了脊柱结核的发生与发展过程,对于脊柱结核

的免疫保护作用必不可少。

3.2 IL-12 与结核

IL-12 在抗结核的固有性免疫和适应性免疫中都发挥着关键性的生物学功能,结核杆菌对 IL-12p40 亚基起到诱导作用,缺乏此细胞因子的人群对结核杆菌有明显的易感性,配体和受体的结合是 IL-12 发挥作用的关键,Cooper AM^[17]等报道指出缺失 IL-12p40 或 IL12R β 1 者更容易感染结核,且很快进展为严重的系统性疾病;此外,姜丽娜^[18]等用结核杆菌分别刺激从结核病人和健康人外周分离出来的中性粒细胞,发现用 IL-12 预处理的结核病人中性粒细胞吞噬细菌的能力更强,并能产生更多的活性氧。郝牧^[19]等用人应用 IL-12 和结核分枝杆菌 EAST-6 抗原构建了联合基因疫苗,发现该联合基因疫苗能稳定体液免疫并刺激机体细胞免疫,使机体形成足够的免疫力。我们的实验研究显示,脊柱结核组患者血清 IL-12 浓度显著低于对照组($P<0.05$),这与奚莹^[20]等在肺结核病人中的研究结论相同,这也表明了脊柱结核病人感染结核杆菌后因细胞免疫力低下不能有效清除病原菌而发病,再经过有效的抗结核治疗后其免疫力逐渐恢复正常。而 IL-12 在结核病灶中呈高表达,提示了 IL-12 在脊柱结核病灶细胞因子反应中发挥了免疫调节作用,我们推测可能与 IL-12 通过与其受体结合改变细胞内传到通路发挥抑制结核菌的作用。

3.3 TNF- α 与结核

TNF- α 的主要作用是控制急性结核杆菌感染,当机体受到结核杆菌感染后,巨噬细胞吞噬入侵的结核杆菌引起 TNF- α 的分泌,TNF- α 可进一步加强巨噬细胞的吞噬能力及杀伤能力,再通过主要组织相容复合物介导抗原递呈,激活细胞免疫,诱导 IL-12、IFN- γ 等细胞因子释放,同时向病灶聚集更多的 T 细胞。此外,TNF- α 还可以直接激活巨噬细胞,使其产生活性氮介质来达到抑制或杀灭细胞内的结核杆菌目的^[21,22]。

在脊柱结核,TNF- α 对于结核肉芽肿的生成和调节扮演者十分重要的角色,TNF- α 能促使结核感染部位的巨噬细胞表达趋化因子,TNF- α 通过招募免疫细胞游走迁移至病灶部位来实现对肉芽肿形成的调节^[23,24]。TNF- α 的缺失能引起 I 型 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞过度膨胀而导致肉芽肿崩解、组织严重坏死,最终可使宿主死亡。在动物实验中,缺乏 TNF- α 或 TNF- α 受体会引起动物严重感染和存活期明显缩短,并使其组织病理学形态发生变化而生成异常的肉芽肿,加入外源性 TNF- α 后能改善宿主免疫功能,形成良好的肉芽肿,控制细菌繁殖^[25];感染结核杆菌的患者经过抗结核治疗后,其体内的 TNF- α 水平含量降低且肺内结核结节缩小^[26]。本研究发现,TNF- α 在脊柱结核病人血清中和病灶中表达水平明显升高,这也进一步证实了 TNF- α 在抗结核免疫中有十分重要的作用。

综上所述脊柱结核病人血清 IFN- γ 、IL-12 浓度明显低于对

对照组的浓度($P<0.05$), 脊柱结核病人血清 TNF- α 浓度明显高于对照组的浓度($P<0.05$); 脊柱结核病人病灶中 IFN- γ 、IL-12 及 TNF- α 呈高表达, 脊柱结核病人血清和病灶中 IFN- γ 、IL-12 和 TNF- α 的表达水平异常, 可能参与脊柱结核发病过程以及免疫生物学功能, 其血清水平含量的检测能为其机体免疫力的状态、判断结核病情程度和进展及为临床诊断提供参考依据。

参考文献(References)

- [1] Xu Z, Wang X, Shen X, et al. Two one-stage posterior approaches for treating thoracic and lumbar spinal tuberculosis: A retrospective case-control study[J]. Exp Ther Med, 2015, 9(6): 2269-2274
- [2] Wang L J, Zhang H Q, Tang M X, et al. Comparison of Three Surgical Approaches for Thoracic Spinal Tuberculosis in Adult: Minimum 5-Year Follow-Up[J]. Spine, 2016, 42(11): 808-817
- [3] Shi T, Zhang Z, Dai F, et al. Retrospective Study of 967 Patients With Spinal Tuberculosis[J]. Orthopedics, 2016, 39(5): e838-e843
- [4] 董毅, 吴利先. T 细胞免疫在抗结核杆菌感染中的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(18): 3593-3595
Dong Yi, Wu Li-xian. Progress in Immune Responses Mediated by T cells during the Mycobacterium tuberculosis Infection[J]. Progress in Modern Biomedicine, 2014, 14(18): 3593-3595
- [5] Thada S, Ponnana M, Sivangala R, et al. Polymorphisms of IFN- γ (+874A/T) and IL-12 (+1188A/C) in Tuberculosis Patients and their Household Contacts in Hyderabad, India[J]. Hum Immunol, 2016, 77(7): 559-565
- [6] Kisacik B, Pamuk O N, Onat A M, et al. Characteristics Predicting Tuberculosis Risk under Tumor Necrosis Factor- α Inhibitors: Report from a Large Multicenter Cohort with High Background Prevalence [J]. J Rheumatol, 2016, 43(3): 524-529
- [7] Shi L, Jung Y J, Tyagi S, et al. Expression of Th1-mediated immunity in mouse lungs induces a Mycobacterium tuberculosis transcription pattern characteristic of nonreplicating persistence[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100(1): 241-246
- [8] Hussain T, Kulshreshtha K K, Yadav V S, et al. CD4⁺, CD8⁺, CD3⁺ Cell Counts and CD4⁺/CD8⁺ Ratio Among Patients with Mycobacterial Diseases (Leprosy, Tuberculosis), HIV Infections, and Normal Healthy Adults: A Comparative Analysis of Studies in Different Regions of India [J]. J Immunoassay Immunoch, 2015, 36(4): 420-443
- [9] 伍平. IL12-IFN γ 通路因子基因多态性及表达水平与脊柱结核的相关性研究[D]. 中南大学, 2014
Wu Ping. Association study of single nucleotide polymorphisms and expression level of IL12-IFN γ axis genes with spinal tuberculosis [D] Central south university, 2014
- [10] Matty M A, Roca F J, Cronan M R, et al. Adventures within the speckled band: heterogeneity, angiogenesis, and balanced inflammation in the tuberculous granuloma [J]. Immunol Rev, 2015, 264(1): 276-287
- [11] 王科, 杨帆, 罗平, 等. 重组人 γ -干扰素辅助治疗脊柱结核手术的临床研究[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(17): 3322-3324
Wang Ke, Yang Fan, Luo Ping, et al. Clinical Research on Recombined Human Interferon-Gamma Adjuvant Therapy with Spinal Tuberculosis Operation [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2014, 14(17): 3322-3324
- [12] 杨陈一, 胡建超, 刘宇文, 等. 维生素 D 联合抗结核药物对老年脊柱结核患者血清 IL-1 β 及干扰素 γ 水平的影响[J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(9): 1707-1709
Yang Chen-yi, Hu Jian-chao, Liu Yu-wen, et al. Effect of Vitamin D Combined with Anti Tuberculosis Drugs on the Serum Levels of IL-1 and Interferon Gamma of Elderly Patients with Spinal Tuberculosis [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2017, 17(9): 1707-1709
- [13] Chackerian A A, Perera T V, Behar S M. Gamma interferon-producing CD4⁺ T lymphocytes in the lung correlate with resistance to infection with Mycobacterium tuberculosis[J]. Infect Immun, 2001, 69(4): 2666-2674
- [14] Turner J, Corrah T, Sabbally S, et al. A longitudinal study of in vitro IFN γ production and cytotoxic T cell responses of tuberculosis patients in The Gambia[J]. Tubercle Lung Dis, 2000, 80(3): 161-169
- [15] 刘义, 李琦, 张宗德, 等. 肺结核患者痰和血浆 IFN- γ 含量检测的临床意义探讨[J]. 临床肺科杂志, 2011, 16(7): 1054-1056
Liu Yi, Li Qi, Zhang Zong-de, et al. Detection and clinical significance of IFN- γ level in sputum and plasma of pulmonary tuberculosis patients [J]. Journal of Clinical Pulmonary Medicine, 2011, 16(7): 1054-1056
- [16] 刘泽民, 马远征, 李大伟, 等. TNF- α , IFN- γ , TGF- β 及 IL-10 在骨关节结核中的表达及意义 [J]. 现代生物医学进展, 2015, 15(11): 2031-2033
Liu Ze-min, Ma Yuan+zheng, Li Da-wei, et al. Expressions and Significance of TNF- α , IFN- γ , TGF- β and IL-10 on the Tuberculosis of Bone [J]. Progress in Modern Biomedicine, 2015, 15 (11): 2031-2033
- [17] Cooper A M, Kipnis A, Turner J, et al. Mice lacking bioactive IL-12 can generate protective, antigen-specific cellular responses to mycobacterial infection only if the IL-12 p40 subunit is present [J]. J Immunol, 2002, 168(3): 1322-1327
- [18] 姜丽娜, 姚春艳, 金齐力, 等. IL-12 增强结核病患者中性粒细胞吞噬和杀伤结核杆菌的活性 [J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2011, 27(11): 1191-1194
Jiang Li-na, Yao Chun-yan, Jin Qi-li, et al. The Enhancing effect of IL-12 on phagocytosis and killing of Mycobacterium tuberculosis by neutrophils in tuberculosis patients [J]. Chinese Journal of Cellular and Molecular Immunology, 2011, 27(11): 1191-1194
- [19] Hao Mu, Bao Lang, Gao Lei. Immune effects research of interleukin 12 and Mycobacterium tuberculosis ESAT-6 antigen combined DNA immunization[J]. Acta microbiologica Sinica, 2007, 47(3): 477-481
- [20] 奚莹, 王莉. 肺结核患者血清白细胞介素 -12 水平检测及临床意义 [J]. 中国感染控制杂志, 2012, 11(2): 109-111
Xi Ying, Wang Li. Detection and clinical significance of serum interleukin-12 levels in pulmonary tuberculosis patients [J]. Chinese Journal of Infection Control, 2012, 11(2): 109-111
- [21] Aaron O, Chen Y, Ji Q, et al. Targeting Mycobacterium tuberculosis Tumor Necrosis Factor Alpha-Downregulating Genes for the Development of Antituberculous Vaccines [J]. Mbio, 2016, 7 (3): e01023-15
- [22] Rivoisy C, Tubach F, Roy C, et al. Paradoxical anti-TNF-associated TB worsening: Frequency and factors associated with IRIS [J]. Joint Bone Spine, 2015, 83(2): 173-178

- carcinoma: a step forward for the precise resection of the tumor-bearing portal territory of the liver" [J]. *Ann Surg*, 2015, 261(5): e145-e146
- [8] 徐继威,温苑章,李嘉,等.腹腔镜精准肝切除临床应用价值分析[J].中国微创外科杂志, 2016, 16(7): 590-593
- Xu Ji-wei, Wen Yuan-zhang, Li Jia, et al. Clinical Application Value of Laparoscopic Precise Liver Resection [J]. *Chinese Journal of Minimally Invasive Surgery*, 2016, 16(7): 590-593
- [9] Wilde IB, Brack M, Winget JM, et al. Proteomic characterization of aggregating proteins after the inhibition of the ubiquitin proteasome system[J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(3): 1062-1072
- [10] Li D, Huang Y. Knockdown of ubiquitin associated protein 2-like inhibits the growth and migration of prostate cancer cells [J]. *Oncol Rep*, 2014, 32(4): 1578-1584
- [11] Lai MC, Chang CM, Sun HS. Hypoxia Induces Autophagy through Translational Up-Regulation of Lysosomal Proteins in Human Colon Cancer Cells[J]. *PLoS One*, 2016, 11(4): e0153627
- [12] Liang J, Wang WF, Xie S, et al. β -transducin repeat-containing E3 ubiquitin protein ligase inhibits migration, invasion and proliferation of glioma cells[J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(3): 3131-3135
- [13] 刘炯,万云燕,高义,等.手术切除与介入栓塞治疗肝癌术后复发患者的临床对比研究 [J]. 现代生物医学进展, 2017, 17(17): 3325-3327, 3338
- Liu Jiong, Wan Yun-yan, Gao Yi, et al. Effect of Surgical Resection and Interventional Embolization on Patients with Recurrent Liver Cancer [J]. *Progress in Modern Biomedicine*, 2017, 17 (17): 3325-3327, 3338
- [14] Notake T, Kobayashi A, Shinkawa H, et al. Nomogram predicting long-term survival after the diagnosis of intrahepatic recurrence of hepatocellular carcinoma following an initial liver resection [J]. *Int J Clin Oncol*, 2017, 22(4): 715-725
- [15] Labori KJ, Guren MG, Brudvik KW, et al. Resection of synchronous liver metastases between radiotherapy and definitive surgery for locally advanced rectal cancer: short-term surgical outcomes, overall survival and recurrence-free survival [J]. *Colorectal Dis*, 2017, 19(8): 731-738
- [16] 邵小钧,席庆.精准医疗 - 肿瘤诊治的新模式[J].现代肿瘤医学, 2016, 24(4): 675-677
- Shao Xiao-jun, Xi Qing. Precision medicine :A new model of tumor diagnosis and treatment[J]. *Journal of Modern Oncology*, 2016, 24(4): 675-677
- [17] 胡志刚,王捷.精准医疗时代肝细胞肝癌诊疗策略[J].岭南现代临床外科, 2016, 16(01): 1-6
- Hu Zhi-gang, Wang Jie. Diagnosis and therapeutic strategies for hepatocellular carcinoma in precision medicine era [J]. *Lingnan Modern Clinics in Surgery*, 2016, 16(01): 1-6
- [18] Patel M, Kato SM, Kurzrock R. Molecular Tumor Boards: Realizing Precision Oncology Therapy [J]. *Clin Pharmacol Ther*, 2018, 103(2): 206-209
- [19] Forrest SJ, Geoerger B, Janeway KA. Precision medicine in pediatric oncology[J]. *Curr Opin Pediatr*, 2018, 30(1): 17-24
- [20] Aucagne R, Girard S, Mayotte N, et al. UBAP2L is amplified in a large subset of human lung adenocarcinoma and is critical for epithelial lung cell identity and tumor metastasis [J]. *FASEB J*, 2017, 31(11): 5012-5018
- [21] Lu S, Yan D, Wu Z, et al. Ubiquitin-like with PHD and ring finger domains 2 is a predictor of survival and a potential therapeutic target in colon cancer[J]. *Oncol Rep*, 2014, 31(4): 1802-1810
- [22] Tan G, Qiu M, Chen L, et al. JS-K, a nitric oxide pro-drug, regulates growth and apoptosis through the ubiquitin-proteasome pathway in prostate cancer cells[J]. *BMC Cancer*, 2017, 17(1): 376
- [23] Ye T, Xu J, Du L, et al. Downregulation of UBAP2L Inhibits the Epithelial-Mesenchymal Transition via SNAIL1 Regulation in Hepatocellular Carcinoma Cells [J]. *Cell Physiol Biochem*, 2017, 41(4): 1584-1595
- [24] Bordeleau ME, Aucagne R, Chagraoui J, et al. UBAP2L is a novel BMI1-interacting protein essential for hematopoietic stem cell activity[J]. *Blood*, 2014, 124(15): 2362-2369
- [25] Polo A, Singh S, Crispo A, et al. Evaluating the associations between human circadian rhythms and dysregulated genes in liver cancer cells [J]. *Oncol Lett*, 2017, 14(6): 7353-7359
- [26] Zhao B, Zong G, Xie Y, et al. Downregulation of ubiquitin-associated protein 2-like with a short hairpin RNA inhibits human glioma cell growth in vitro[J]. *Int J Mol Med*, 2015, 36(4): 1012-1018
- [27] Chai R, Yu X, Tu S, et al. Depletion of UBA protein 2-like protein inhibits growth and induces apoptosis of human colorectal carcinoma cells[J]. *Tumour Biol*, 2016, 37(10): 13225-13235
- [28] 汪晋.肝癌预后相关影响因素[J].中国普通外科杂志, 2015, 24(2): 270-274
- Wang Jin. Prognostic factors in liver cancer [J]. *Chinese Journal of General Surgery*, 2015, 24(2): 270-274
- [29] Wang P, Mo R, Lai R, et al. Genetic variations of NTCP are associated with susceptibility to HBV infection and related hepatocellular carcinoma[J]. *Oncotarget*, 2017, 8(62): 105407-105424
- [30] Zhang Z, Shen S. Combined low miRNA-29s is an independent risk factor in predicting prognosis of patients with hepatocellular carcinoma after hepatectomy: A Chinese population-based study[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2017, 96(48): e8795

(上接第 3061 页)

- [23] Chen H, Cheng C, Li M, et al. Expression of TNF- α , IFN- γ , TGF- β , and IL-4 in the Spinal Tuberculous Focus and Its Impact on the Disease[J]. *Cell Biochem Biophys*, 2014, 70(3): 1759-1764
- [24] Bayley J P, Ottenhoff T H, Verweij C L. Is there a future for TNF promoter polymorphisms?[J]. *Genes Immun*, 2004, 5(5): 315-329
- [25] Towne J E, Harrod K S, Krane C M, et al. Decreased Expression of Aquaporin (AQP)1 and AQP5 in Mouse Lung after Acute Viral Infection[J]. *Am J Resp Cell Mol*, 2013, 22(1): 34-44
- [26] Sauzullo I, Scrivo R, Mengoni F, et al. Multi-functional flow cytometry analysis of CD4⁺ T cells as an immune biomarker for latent tuberculosis status in patients treated with tumour necrosis factor (TNF) antagonists[J]. *Clin Exp Immunol*, 2014, 176(3): 410-417