

论著 · 临床研究

可溶性 DLL1 在儿童颅内感染性疾病诊断中的意义

李尽义 贾延劼 贾永林 鲁晶晶 景黎君 彭涛 李京红

(郑州大学第一附属医院神经内科,河南 郑州 450052)

[摘要] **目的** 探讨脑脊液(CSF)及血清中可溶性 DLL1 的水平在儿童颅内感染诊断中的意义。**方法** 选择颅内感染患儿 50 例(结脑 20 例,病脑 20 例,化脑 10 例)以及非颅内感染患儿(对照组)20 例,采用酶联免疫吸附试验定量测定患儿 CSF 及血清中可溶性 DLL1 的水平。**结果** 结脑组患儿 CSF 中可溶性 DLL1 的水平明显高于病脑组、化脑组及对照组(2.89 ± 1.72 ng/mL vs 0.14 ± 0.14 ng/mL, 0.27 ± 0.21 ng/mL, 0.13 ± 0.12 ng/mL; $P < 0.01$);结脑组患儿血清中可溶性 DLL1 的水平也明显高于病脑组、化脑组及对照组(12.61 ± 6.45 ng/mL vs 2.28 ± 2.27 ng/mL, 2.38 ± 1.79 ng/mL, 2.26 ± 2.10 ng/mL; $P < 0.01$);病脑组、化脑组与对照组相比,CSF 及血清中可溶性 DLL1 的水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 可溶性 DLL1 的检测作为一种新的指标,在结脑诊断中可能有潜在重要价值。[中国当代儿科杂志,2011,13(3):205-207]

[关键词] 可溶性 DLL1; 颅内感染; 结核性脑膜炎; 儿童
[中图分类号] R748;R529.3 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2011)03-0205-03

Significance of soluble DLL1 in diagnosis of intracranial infectious diseases in children

LI Jin-Yi, JIA Yan-Jie, JIA Yong-Lin, LU Jing-Jing, JING Li-Jun, PENG Tao, LI Jing-Hong. Department of Neurology, First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China (Jia Y-J, Email: Jiayanjie1971@yahoo.com.cn)

Abstract: Objective To investigate the significance of soluble DLL1 (Delta-like-1) levels of cerebrospinal fluid (CSF) and serum in the diagnosis of intracranial infection in children. **Methods** Fifty children with intracranial infection, including 20 cases of tuberculous meningitis (TM), 20 cases of viral meningitis (VM) and 10 cases of purulent meningitis (PM), and 20 children without intracranial infection (control group) were enrolled. The levels of soluble DLL1 in CSF and serum were measured using ELISA. **Results** The level of CSF soluble DLL1 in the TM group was significantly higher than that in the VM, PM and control groups (2.89 ± 1.72 ng/mL vs 0.14 ± 0.14 ng/mL, 0.27 ± 0.21 ng/mL, 0.13 ± 0.12 ng/mL; $P < 0.01$). The level of serum soluble DLL1 in the TM group was also significantly higher than that in the VM, PM and control groups (12.61 ± 6.45 ng/mL vs 2.28 ± 2.27 ng/mL, 2.38 ± 1.79 ng/mL, 2.26 ± 2.10 ng/mL; $P < 0.01$). The levels of soluble DLL1 in the CSF and serum in the VM and PM groups were not significantly different from those in the control group. **Conclusions** Soluble DLL1 as a novel indicator might have potentially important value in the diagnosis of TM. [Chin J Contemp Pediatr, 2011, 13 (3):205-207]

Key words: Soluble DLL1; Intracranial infection; Tuberculous meningitis; Child

颅内感染是儿童常见的神经系统疾病之一,正确的诊断、早期的治疗是决定儿童颅内感染预后的重要因素^[1]。但临床工作中颅内感染不典型病例较多,尤其是结核性脑膜炎(结脑),传统的脑脊液(CSF)和血清学检测有时难以鉴别,给该病的诊断和治疗带来较大的困难。

研究发现,脂肪酸是结核分枝杆菌(Mycobacte-

rium tuberculosis)进行新陈代谢的主要碳源,与其存活、毒力和逃逸免疫系统攻击的能力密切相关^[2],在结脑时往往存在脂肪酸代谢紊乱。DLL1(Delta-like-1)作为果蝇 Notch 配体的 Delta 人类同源体,是一个参与脂肪酸代谢调节的重要指标^[3]。生理状态下,DLL1 是受到膜内 γ -分泌酶的切割,产生可溶性胞外和胞内部分,参与 Notch 信号对相邻细胞的

[收稿日期]2010-11-22;[修回日期]2010-12-19
[作者简介]李尽义,男,硕士,主治医师。
[通信作者]贾延劼,教授。

下调,促进脂肪细胞的分化和自我更新进程;当脂肪酸代谢增强时,导致脂肪细胞过度分化,加速了DLL1切割和胞外部分的脱落。通过检测可溶性DLL1能够很好地评价疾病状态下的脂肪酸代谢紊乱情况。基于以上的理论,本研究采用酶联免疫吸附法(ELISA)定量检测颅内感染患儿CSF和血清中可溶性DLL1的水平,发现在结脑患儿中CSF和血清中可溶性DLL1水平显著升高,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

选取2008年10月至2010年9月入住郑州大学第一附属医院神经内科及儿科的中枢神经系统感染性疾病的患儿50例,均严格按照诊断标准,通过病史、CSF和血清学检测、影像学检测以及对治疗的反应加以明确。其中结脑20例(结脑组),男8例,女12例,年龄7~14岁,平均11.0±3.6岁;病毒性脑(膜)炎20例(病脑组),男11例,女9例,年龄6~14岁,平均10.8±2.8岁;化脓性脑膜炎10例(化脑组),男5例,女5例,年龄2~14岁,平均9.2±4.5岁。同时以非中枢神经系统疾病感染、肿瘤、免疫性疾病、血液系统疾病及炎症的患儿20例作为对照组,男12例,女8例,年龄4~14岁,平均10.7±3.7岁。

1.2 研究方法

所有患儿在起病后2~14 d(平均5.4±2.4 d)同时留取CSF和外周血标本各2 mL,外周血经过2000 g离心20 min,分离血清后-80℃保存。可溶性DLL1的测定采用ELISA法,试剂盒由韩国AdipoGen公司提供,按照说明书操作。同时检测CSF常规、生化、细胞学、病毒学、腺苷脱氨酶、抗结核抗体、抗酸染色、细菌培养等相关指标。

1.3 统计学分析

用SPSS 17.0软件进行统计学分析。计量资料结果以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示。多组间比较用方差分析或Kruskal-Wallis检验,组间两两比较用LSD-*t*检验或Bonferroni法。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 CSF中可溶性DLL1的水平测定结果

本研究发现,结脑组中CSF DLL1水平明显高于病脑、化脑和对照组($F = 40.818, P < 0.001$),其

中结脑组有17例CSF DLL1水平大于1.0 ng/mL,而病脑、化脑和对照组无一例大于1.0 ng/mL。病脑组、化脑组与对照组相比,CSF DLL1水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

表1 CSF及血清中可溶性DLL1的水平测定结果
($\bar{x} \pm s, \text{ng/mL}$)

组别	例数	CSF中DLL1水平	血清中DLL1
对照组	20	0.13±0.12	2.26±2.10
病脑组	20	0.14±0.14	2.28±2.27
化脑组	10	0.27±0.21	2.38±1.79
结脑组	20	2.89±1.72 ^a	12.61±6.45 ^a

a:与病脑组、化脑组及对照组比较, $P < 0.01$

2.2 血清中可溶性DLL1的水平测定结果

本研究也发现,结脑组中血清DLL1水平明显高于病脑、化脑和对照组($F = 33.413, P < 0.001$),其中结脑组有16例血清DLL1水平大于6.0 ng/mL,而病脑组及对照组仅2例,化脑组仅1例。病脑组、化脑组与对照组相比,血清DLL1水平差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表1。

2.3 CSF中可溶性DLL1的水平与CSF蛋白、细胞数的相关性

各组患儿CSF中可溶性DLL1的水平与CSF蛋白、细胞数无相关性。进一步分析,结脑患儿CSF中可溶性DLL1的水平与CSF中蛋白、细胞数亦无相关性。

3 讨论

颅内感染患儿的早期诊断和治疗是挽救生命,减少后遗症的关键^[1]。但实际工作中,由于颅内感染的临床表现复杂多变,很多病例,尤其是结脑,往往呈现不典型的症状和实验室检查结果,导致诊断不明确而延误病情。

Notch通路是一组跨膜受体蛋白,广泛存在于所有已知动物细胞中,对多种组织、细胞的命运起重要作用。近年研究表明,Notch信号可以调控脂肪活化的转录因子影响脂肪细胞的形成,是脂肪代谢中的重要通路^[4-5]。DLL1属于Notch配体之一,是723个氨基酸组成的L型跨膜蛋白,在去整合素(ADAM)-金属蛋白酶和早老素依赖的膜内γ-分泌酶的切割作用下,产生了可溶性胞外和胞内部分。在脂肪细胞的分化和自我更新中,由ADAM介导的DLL1切割,有助于Notch信号在相邻细胞的下调,促进脂肪细胞的分化^[6-7]。值得注意的是,结核分枝

杆菌基因组含 4000 多个基因,其中有 250 个基因编码脂肪酸代谢相关的酶;结核分枝杆菌菌体成分中含有大量脂质^[8]。在慢性感染的组织中,脂肪酸是结核分枝杆菌进行新陈代谢的主要碳源和能源。结核分枝杆菌感染可以引起脂肪酸代谢紊乱,导致脂肪细胞的过度分化,结合前述的理论推测,可能出现细胞 Notch 配体 DLL1 的过量脱落现象。因此,通过检测可溶性 DLL1 的水平能够评价结核性疾病的脂肪酸代谢紊乱情况。

本研究结果表明,结脑组 CSF 中可溶性 DLL1 水平明显高于其他组别,其中有 17 例大于 1.0 ng/mL,而病脑、化脑组和对照组无一例大于 1.0 ng/mL,以大于该值为判断值,就可以很好地将结脑与病脑、化脑及正常人进行鉴别。以大于 1.0 ng/mL 为阳性,则 CSF 中可溶性 DLL1 水平测定对结核性脑膜炎诊断的敏感度为 85%,特异性为 100%。且 CSF 中可溶性 DLL1 的水平与 CSF 中蛋白、细胞数无相关性,对不典型病例有更大的诊断价值。

另外,结脑组中血清 DLL1 水平也明显高于其他组别,20 例结脑患儿中有 16 例大于 6.0 ng/mL,而病脑及对照组各有 2 例大于 6.0 ng/mL,以大于该值为判断值,有助于结脑与病脑、化脑及正常人进行鉴别。以大于 6.0 ng/mL 为阳性,则血清 DLL1 水平测定对结脑诊断的敏感度为 80%,特异性为 90%。

本研究提示,在颅内感染时结脑患儿的血清和 CSF 中可溶性 DLL1 的水平均有明显增高,其机制尚不完全清楚,可能如下:(1)如前所述,结核性疾病是一类慢性消耗性病变,引起脂肪酸代谢紊乱,从而导致可溶性 DLL1 的过量脱落;(2)结核分枝杆菌感染中枢神经系统后,在细胞免疫作用下,T 淋巴细胞数量显著增多,并释放出大量炎症因子和淋巴细胞毒素等,引发局部组织的渗出和炎症;这一过程需要 Notch 信号通路的激活^[9]。而且,Notch 信号通路在造血干细胞向 T 细胞分化过程中至关重要^[10-11],如果缺少 Notch 受体蛋白,胸腺中的淋巴祖细胞只发育成 B 细胞,无 T 细胞的产生^[12],表达 Notch 1-IC 的骨髓祖细胞则在骨髓中能发育成 T 细胞而非 B 细胞^[13]。细胞亚群中 DLL1 的脱落,有助于 Notch 信号在邻近细胞的下调,也促进了淋巴祖细胞向 T 细胞的分化。

综上所述,颅内感染时结脑患儿的血清和 CSF

中可溶性 DLL1 的水平均有显著增高,病脑、化脑与对照组的血清和 CSF 中可溶性 DLL1 的水平很低。通过检测 CSF 和血清中的可溶性 DLL1 水平,为儿童颅内感染的早期诊断提供新的思路与依据,值得深入研究和探讨。

[参 考 文 献]

- [1] 谢岷,杨于嘉,贾延劼. 颅内感染患儿 C-反应蛋白检测的临床意义[J]. 中国当代儿科杂志, 2002,4(5):389-390.
- [2] Carballeira NM. New advances in fatty acids as antimalarial, antimycobacterial and antifungal agents[J]. Prog Lipid Res, 2008, 47(1): 50-61.
- [3] Murata A, Okuyama K, Sakano S, Kajiki M, Hirata T, Yagita H, et al. A Notch ligand, Delta-like 1 functions as an adhesion molecule for mast cells[J]. J Immunol, 2010, 185(7): 3905-3912.
- [4] Nickoloff BJ, Osborne BA, Miele L. Notch signaling as a therapeutic target in cancer: a new approach to the development of cell fate modifying agents[J]. Oncogene, 2003, 22(42): 6598-6608.
- [5] Conboy IM, Conboy MJ, Smythe GM, Rando TA. Notch-mediated restoration of regeneration potential to aged muscle[J]. Science, 2003, 302(5650): 1575-1577.
- [6] Han W, Ye Q, Moore MA. A soluble form of human Delta-like-1 inhibits differentiation of hematopoietic progenitor cells[J]. Blood, 2000, 95(5): 1616-1625.
- [7] Hozumi K, Negishi N, Suzuki D, Abe N, Sotomaru Y, Tamaoki N, et al. Delta-like 1 is necessary for the generation of marginal zone B cell but not T cells in vivo[J]. Nature Immunol, 2004, 5(6): 638-644.
- [8] Liu RZ, Mita R, Beaulieu M, Gao ZH, Godbout R. Fatty acid binding proteins in brain development and disease[J]. Int J Dev Biol, 2010, 54(8): 1229-1239.
- [9] Kapoor N, Narayana Y, Patil SA, Balaji KN. Nitric oxide is involved in Mycobacterium bovis bacillus Calmette-Guérin-activated Jagged1 and Notch1 signaling[J]. J Immunol, 2010, 184(6): 3117-3126.
- [10] Visan I, Yuan JS, Tan JB, Cretigny K, Guidos CJ. Regulation of intrathymic T-cell development by Lunatic Fringe-Notch1 interactions[J]. Immunol Rev, 2006, 209: 76-94.
- [11] Wilson A, Ferrero I, MacDonald HR, Radtke F. Cutting edge: an essential role for Notch-1 in the development of both thymus-independent and-dependent T cells in the gut[J]. J Immunol, 2000, 165(10): 5397-5400.
- [12] Dorsch M, Zheng G, Yowe D, Rao P, Wang Y, Shen Q, et al. Ectopic expression of Delta4 impairs hematopoietic development and leads to lymphoproliferative disease[J]. Blood, 2002, 100(6): 2046-2055.
- [13] Wilson A, MacDonald HR, Radtke F. Notch 1-deficient common lymphoid precursors adopt a B cell fate in the thymus[J]. J Exp Med, 2001, 194(7): 1003-1012.

(本文编辑:王庆红)