

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2024.19.041

## 耐多药肺结核患者血清 OPN、HMGB1 与 T 细胞亚群 和化学治疗疗效的关系分析\*

李萌<sup>1,2</sup> 潘修成<sup>3Δ</sup> 彭乐<sup>2</sup> 张硕<sup>2</sup> 毛传春<sup>2</sup>

(1 徐州医科大学第一临床学院 江苏 徐州 221000; 2 徐州市传染病医院结核科 江苏 徐州 221004;

3 徐州医科大学附属医院感染性疾病科 江苏 徐州 221000)

**摘要 目的:**探讨耐多药肺结核(MDR-TB)患者血清骨桥蛋白(OPN)、高迁移率族蛋白 B1(HMGB1)与 T 细胞亚群和化学治疗疗效的关系。**方法:**选择 2018 年 3 月至 2021 年 9 月徐州市传染病医院收治的 147 例 MDR-TB 患者(MDR-TB 组),另选择同期徐州市传染病医院收治的 109 例非 MDR-TB 患者(对照组)。Pearson 相关性分析 MDR-TB 组血清 OPN、HMGB1 与外周血 T 细胞亚群的相关性。多因素 Logistic 回归分析 MDR-TB 治疗未成功的因素。**结果:**MDR-TB 组血清 OPN、HMGB1 与外周血 CD8<sup>+</sup> 计数呈正相关( $P<0.05$ ),与外周血 CD3<sup>+</sup> 计数、CD4<sup>+</sup> 计数、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值呈负相关( $P<0.05$ )。未成功组血清 OPN、HMGB1 水平高于成功组( $P<0.05$ )。多因素 Logistic 回归分析结果显示空洞、高 OPN、高 HMGB1 是 MDR-TB 治疗未成功的危险因素( $P<0.05$ )。**结论:**MDR-TB 患者血清 OPN、HMGB1 水平显著升高,且与 T 细胞亚群异常以及化学治疗未成功有关。

**关键词:**耐多药肺结核;T 细胞亚群;化学治疗;疗效;骨桥蛋白;高迁移率族蛋白 B1

中图分类号:R521 文献标识码:A 文章编号:1673-6273(2024)19-3758-03

## Analysis of the Relationship between Serum OPN, HMGB1 and T cell Subsets and Chemotherapy Efficacy in Patients with Multidrug-Resistant Pulmonary Tuberculosis\*

LI Meng<sup>1,2</sup>, PAN Xiu-cheng<sup>3Δ</sup>, PENG Le<sup>2</sup>, ZHANG Shuo<sup>2</sup>, MAO Chuan-chun<sup>2</sup>

(1 The First Clinical College of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221000, China;

2 Department of Tuberculosis, Xuzhou Infectious Disease Hospital, Xuzhou, Jiangsu, 221004, China;

3 Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of Xuzhou Medical University, Xuzhou, Jiangsu, 221000, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the relationship between serum osteopontin (OPN), high mobility group protein B1 (HMGB1) and T cell subsets and chemotherapy efficacy in patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis (MDR-TB). **Methods:** 147 MDR-TB patients (MDR-TB group) admitted to Xuzhou Infectious Disease Hospital from March 2018 to September 2021 were selected, and 109 non-MDR-TB patients (control group) admitted to Xuzhou Infectious Disease Hospital during the same period were selected. The correlation between serum OPN, HMGB1 and peripheral blood T cell subsets in MDR-TB group was analyzed by Pearson correlation analysis. The factors of unsuccessful MDR-TB treatment were analyzed by multivariate Logistic regression analysis. **Results:** Serum OPN and HMGB1 in MDR-TB group were positively correlated with peripheral blood CD8<sup>+</sup> count ( $P<0.05$ ), and negatively correlated with peripheral blood CD3<sup>+</sup> count, CD4<sup>+</sup> count and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio ( $P<0.05$ ). Multivariate Logistic regression analysis showed that cavity, high OPN and high HMGB1 were risk factors for unsuccessful MDR-TB treatment ( $P<0.05$ ). **Conclusion:** The levels of serum OPN and HMGB1 in MDR-TB patients are significantly increase, which are relate to the abnormality of T cell subsets and the failure of chemotherapy.

**Key words:** Multidrug-resistant pulmonary tuberculosis; T cell subsets; Chemotherapy; Efficacy; Osteopontin; High mobility group protein B1

**Chinese Library Classification(CLC):** R521 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2024)19-3758-03

### 前言

T 细胞介导的免疫反应在控制结核分枝杆菌感染中起着

关键作用,宿主对结核分枝杆菌的适应性免疫反应主要取决于抗原特异性 T 细胞,若结核分枝杆菌抗原持续刺激可诱导 T 细胞功能障碍或衰竭,导致治疗失败<sup>[1]</sup>。骨桥蛋白(OPN)是一种

\* 基金项目:江苏省高等学校自然科学研究面上项目(20KJD180528)

作者简介:李萌(1988-),女,在读硕士研究生,主治医师,从事结核病等感染性疾病方向的研究,E-mail: lm775421@163.com

Δ 通讯作者:潘修成(1968-),男,博士,主任医师,研究方向:感染性疾病,E-mail: 15950666760@163.com

(收稿日期:2024-03-07 接受日期:2024-03-30)

高度磷酸化的糖蛋白,其水平升高与结核病尤其是涂片阳性结核病风险增加有关<sup>[2]</sup>,OPN 可刺激有自然杀伤(NK)细胞受体的特殊 T 细胞亚群活化,抑制调节性 T 细胞功能,与肺结核治疗转归有关<sup>[3]</sup>。高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 是一种原型 DAMP 蛋白,在结核杆菌感染诱导的细胞损伤后发挥调节炎症反应的作用<sup>[4]</sup>。本研究拟探讨血清 OPN、HMGB1 与耐多药肺结核(MDR-TB)患者 T 细胞亚群和化学治疗疗效的关系,以期为临床疗效评估提供参考。

## 1 资料与方法

### 1.1 临床资料

选择 2018 年 3 月至 2021 年 9 月徐州市传染病医院收治的 147 例 MDR-TB 患者(MDR-TB 组),男 92 例,女 55 例,年龄 49~72 岁,平均(62.98± 8.02)岁,空洞 70 例。纳入标准:①符合诊断标准<sup>[5]</sup>;②治疗前痰培养结核分枝杆菌阳性,药敏试验同时对异烟肼和利福平耐药;③年龄 18 周岁以上。排除标准:①心电图提示 QT 间期延长;②血液系统疾病、恶性肿瘤;③严重肾功能不全或肝功能衰竭;④妊娠或哺乳期女性;⑤精神病或者严重神经症;⑥肺外结核和非结核分枝杆菌感染;⑦有吸毒史。另选择同期徐州市传染病医院收治的 109 例非 MDR-TB 患者作为对照组,男 62 例,女 47 例,年龄 45~70 岁,平均(62.65± 9.02)岁,空洞 54 例。两组性别、年龄、空洞比较均衡性良好( $P>0.05$ )。

表 1 治疗前 MDR-TB 组和对照组血清 OPN、HMGB1、外周血 T 细胞亚群比较( $\bar{x} \pm s$ )

Table 1 Comparison of serum OPN, HMGB1 and peripheral blood T cell subsets between MDR-TB group and control group before treatment ( $\bar{x} \pm s$ )

Groups	n	OPN(ng/mL)	HMGB1(ng/mL)	CD3 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> Ratio
MDR-TB group	147	496.35± 86.32	5.98± 1.73	50.35± 6.19	30.42± 4.91	47.21± 8.19	0.64± 0.13
Control group	109	201.32± 46.87	3.02± 1.21	68.12± 8.46	42.85± 5.87	38.12± 6.38	1.12± 0.26
t		32.315	15.300	-19.411	-18.418	9.622	-19.364
P		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

### 2.2 MDR-TB 组血清 OPN、HMGB1 与外周血 T 细胞亚群的相关性

MDR-TB 组血清 OPN、HMGB1 与外周血 CD8<sup>+</sup> 计数呈正相关( $P<0.05$ ),与外周血 CD3<sup>+</sup> 计数、CD4<sup>+</sup> 计数、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值呈负相关( $P<0.05$ )。

### 2.3 影响 MDR-TB 治疗未成功的因素分析

147 例 MDR-TB 患者治愈 75 例,完成治疗 16 例,失败 27 例,结核或非结核死亡 7 例,丢失 22 例,成功组 91 例,未成功组 56 例。未成功组年龄大于成功组( $P<0.05$ ),体质量指数低于成功组( $P<0.05$ ),既往二线抗结核治疗病史比例、空洞比例、复治比例,血清 OPN、HMGB1 水平高于成功组( $P<0.05$ )。见表 3。以 MDR-TB 治疗疗效为因变量(赋值:0=成功,1=未成功),以年龄、体质量指数、复治、空洞、既往二线抗结核治疗病史、OPN、HMGB1 为自变量,建立 Logistic 回归方程,最终空洞、高 OPN、高 HMGB1 是 MDR-TB 治疗未成功的危险因素( $OR=4.585, 2.272, 2.038, P<0.05$ )。

### 1.2 血清 OPN、HMGB1 和外周血 T 细胞亚群检测

治疗前分别采集外周静脉血 3 mL 左右注入无抗凝剂试管,采用酶联免疫吸附试验检测血清 OPN、HMGB1 水平。采用 CytoFLEX 流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)检测外周血 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 计数,计算 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值。

### 1.3 疗效评估

所有 MDR-TB 患者接受标准化或个体化化疗方案,治疗后评价治疗疗效,分为治愈、完成治疗、失败、结核或非结核死亡、丢失<sup>[6]</sup>。以治愈和完成治疗为治疗成功,以失败、结核或非结核死亡和丢失为治疗未成功。

### 1.4 统计学分析

采用 SPSS 25.0 版统计学软件分析数据,正态分布的连续变量表示为平均值±标准差,并使用 student-t 检验。分类变量以计数和百分比表示,并使用卡方检验进行比较。Pearson 相关性分析相关性。多因素 Logistic 回归分析 MDR-TB 患者治疗未成功的因素。检验水准  $\alpha=0.05$ 。

## 2 结果

### 2.1 MDR-TB 组和对照组血清 OPN、HMGB1、外周血 T 细胞亚群比较

治疗前 MDR-TB 组血清 OPN、HMGB1 水平和外周血 CD8<sup>+</sup> 计数高于对照组( $P<0.05$ ),外周血 CD3<sup>+</sup> 计数、CD4<sup>+</sup> 计数、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值低于对照组( $P<0.05$ ),见表 1。

## 3 讨论

研究显示结核杆菌感染可引起外周血 OPN 水平升高,高 OPN 增加白细胞介素(IL)-12、干扰素- $\gamma$  分泌,上调干扰素诱导蛋白-10 表达,诱导肺部免疫损伤<sup>[7,8]</sup>。本研究发现 MDR-TB 组血清 OPN 水平显著高于对照组,且 OPN 水平增高与 MDR-TB 患者抗结核治疗未成功有关,说明 OPN 过表达可能加剧 MDR-TB 病情进展,增加治疗难度。分析原因为 MTB 感染过程中,OPN 被活化的免疫细胞激活并呈高表达,并在 T 细胞活化下共同刺激 T 细胞增殖,诱导巨噬细胞和 T 细胞中 IL-4、IL-5 等 Th2 细胞因子产生,募集免疫细胞到结核病灶,介导炎症细胞浸润和肉芽肿形成<sup>[9]</sup>,导致 MDR-TB 病情进展和化学治疗未成功。本研究发现 OPN 与 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值呈负相关,表明 OPN 可能通过调控 T 细胞免疫参与 MDR-TB 患者化学治疗失败过程,OPN 过表达可能导致 T 细胞免疫功能障碍,进而导致治疗未成功。

表 2 影响 MDR-TB 治疗未成功的单因素分析  
Table 2 Univariate analysis of MDR-TB treatment unsuccessful

Projects	Unsuccessful group(n=56)	Successful group(n=91)	t/ $\chi^2$	P
Age (years)	66.89± 9.54	62.34± 7.02	3.320	0.001
Gender [n(%)]				
Male	37(66.07)	62(68.13)	0.067	0.796
Female	19(33.93)	29(31.87)		
Cavity [n(%)]				
Yes	37(66.07)	33(36.27)	12.349	<0.001
No	19(33.93)	58(63.73)		
History of second-line anti-tuberculosis therapy [n(%)]				
Yes	34(66.71)	29(31.87)	11.779	0.001
No	22(39.29)	62(68.13)		
Retreatment [n(%)]				
Yes	31(55.36)	25(27.47)	7.159	0.007
No	25(44.64)	61(67.03)		
OPN(ng/mL)	513.02± 26.32	476.29± 19.46	9.683	<0.001
HMGB1(ng/mL)	6.21± 0.85	4.23± 0.67	15.681	<0.001

HMGB1 与结核病存在密切关系,既往报道显示结核性脑膜炎患者脑脊液 HMGB1 水平增高, HMGB1 是结核性脑膜炎早期鉴别诊断的标志物<sup>[10,11]</sup>。本研究显示高水平 HMGB1 是 MDR-TB 患者抗结核治疗未成功的危险因素,结核分枝杆菌感染时, HMGB1 由坏死细胞和单核 / 巨噬细胞在细胞因子和细菌抗原刺激下释放, HMGB1 与 RAGE 结合后上调 IL-8、IL-6、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 等促炎基因表达, 诱导促炎细胞因子释放, 增强结核分枝杆菌抗原诱导的炎症反应<sup>[12]</sup>, 炎症反应增强加剧 MDR-TB 病情进展, 导致对化学治疗失败。本研究相关性分析显示 HMGB1 与 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值呈负相关, 提示 HMGB1 在 MDR-TB 发病过程中可能参与 T 细胞免疫调节, HMGB1 过表达抑制 T 细胞功能。Muire<sup>[13]</sup> 等人报道指出 HMGB1 增高是 T 细胞衰竭和功能障碍的原因。Logistic 回归分析显示空洞与 MDR-TB 治疗未成功有关, Meta 分析也显示空洞是我国 MDR-TB 患者发生不良转归的危险因素<sup>[14]</sup>。

综上所述, MDR-TB 患者血清 OPN、HMGB1 水平显著升高, 高水平 OPN、HMGB1 与 MDR-TB 患者 T 细胞亚群异常以及化学治疗未成功有关, 联合 OPN、HMGB1 在 MDR-TB 化学治疗疗效评估中有较高应用价值。

参 考 文 献 (References)

[1] Tang P, Chen X, Xu J, et al. Autologous Cytokine-Induced Killer Cell Immunotherapy Enhances Chemotherapy Efficacy against Multidrug-Resistant Tuberculosis [J]. *J Immunol Res*, 2022, 9(3): 2943113.  
 [2] Wang D, Tong X, Wang L, et al. The association between osteopontin and tuberculosis: A systematic review and meta-analysis [J]. *PLoS One*, 2020, 15(12): e0242702.  
 [3] 杜鸿, 陈刚, 张立明. 骨桥蛋白在肺结核治疗中的免疫调节作用机制分析[J]. *临床和实验医学杂志*, 2020, 19(5): 493-497.  
 [4] 芦杰, 胡海霞, 韩中波. 血清高迁移率族蛋白 B1 和中性粒细胞 / 淋

巴细胞比值与活动性结核病患者细胞免疫功能水平及 38 000 蛋白的相关性[J]. *国际流行病学传染病学杂志*, 2022, 49(6): 393-397.  
 [5] 中华医学会, 中华医学会杂志社, 中华医学会全科医学分会, 等. 肺结核基层诊疗指南 (2018 年)[J]. *中华全科医师杂志*, 2019, 18(8): 709-717.  
 [6] 刘剑君, 肖和平, 成诗明, 等. 耐多药结核病化学治疗指南[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2019: 1-127.  
 [7] 王璐璐, 马晓丽, 杨永坚. IL-17A 和骨桥蛋白在老年肺结核患者中的表达及意义[J]. *国际免疫学杂志*, 2021, 44(4): 401-405.  
 [8] Zhu Y, Jia H, Chen J, et al. Decreased Osteopontin Expression as a Reliable Prognostic Indicator of Improvement in Pulmonary Tuberculosis: Impact of the Level of Interferon-gamma-Inducible Protein 10[J]. *Cell Physiol Biochem*, 2015, 37(5): 1983-1996.  
 [9] 季凯, 李芳, 刘洁, 等. 肺结核患者外周血 IFN- $\gamma$ 、IL-27、OPN 水平检测及其临床意义[J]. *宁夏医科大学学报*, 2020, 42(2): 145-149.  
 [10] Chen Y, Zhang J, Wang X, et al. HMGB1 level in cerebrospinal fluid as a complimentary biomarker for the diagnosis of tuberculous meningitis[J]. *Springerplus*, 2016, 5(1): 1775.  
 [11] Zeng JC, Xiang WY, Lin DZ, et al. Elevated HMGB1-related interleukin-6 is associated with dynamic responses of monocytes in patients with active pulmonary tuberculosis [J]. *Int J Clin Exp Pathol*, 2015, 8(2): 1341-1353.  
 [12] Lui G, Wong CK, Ip M, et al. HMGB1/RAGE Signaling and Pro-Inflammatory Cytokine Responses in Non-HIV Adults with Active Pulmonary Tuberculosis[J]. *PLoS One*, 2016, 11(7): e0159132.  
 [13] Muire PJ, Schwacha MG, Wenke JC. Systemic T Cell Exhaustion Dynamics Is Linked to Early High Mobility Group Box Protein 1 (HMGB1) Driven Hyper-Inflammation in a Polytrauma Rat Model[J]. *Cells*, 2021, 10(7): 1646.  
 [14] 李硕兰, 李明武, 李光妹, 等. 中国耐多药肺结核不良治疗转归影响因素的 Meta 分析[J]. *中国防痨杂志*, 2022, 44(12): 1303-1313.