

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.11.004

外周血 Treg/IL-17 比值变化与肺结核的关系研究*

李 威¹, 刘 军², 李慧明², 彭艳琪², 刘 洋², 应爱俊^{2△}

1. 南昌大学第一附属医院高新医院检验科, 江西南昌 330201; 2. 南昌大学第一附属医院检验科, 江西南昌 330209

摘 要:目的 探讨外周血调节性 T 淋巴细胞(Treg)/辅助性 T 淋巴细胞(Th)17 比值变化与肺结核的关系。方法 选择 2020 年 9 月至 2021 年 12 月南昌大学第一附属医院收治的肺结核患者 40 例作为研究对象, 根据结核杆菌斑点试验和 CT 检查结果分为活动期组和潜伏期组, 每组 20 例; 另选择健康体检者 20 例作为对照组。检测各组研究对象外周血白细胞介素(IL)-17、Treg 水平, 计算 Treg/IL-17 比值, 分析外周血 Treg/IL-17 比值对肺结核的预测价值。结果 与潜伏期组比较, 对照组、活动期组研究对象 Treg/IL-17 比值均升高, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。外周血 Treg/IL-17 比值预测活动期肺结核的受试者工作特征曲线下面积为 0.925, 最佳截断值为 1.281 时灵敏度为 0.970, 特异度为 0.900。结论 Treg/IL-17 比值在活动期肺结核患者中升高, Treg/IL-17 比值对活动期肺结核具有一定预测价值, 能为肺结核早期防治提供参考依据。

关键词:肺结核; 白细胞介素-17; 调节性 T 淋巴细胞; 调节性 T 淋巴细胞/辅助性 T 淋巴细胞 17 比值
中图法分类号:R521 **文献标志码:**A **文章编号:**1672-9455(2023)11-1519-03

Study on the relationship between changes of Treg/IL-17 ratio in peripheral blood and pulmonary tuberculosis*

LI Wei¹, LIU Jun², LI Huiming², PENG Yanqi², LIU Yang², YING Aijun^{2△}

1. Department of Clinical Laboratory, Gaoxin Hospital of the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330201, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the First Affiliated Hospital of Nanchang University, Nanchang, Jiangxi 330209, China

Abstract: Objective To investigate the relationship between changes of regulatory T cells(Treg)/T helper lymphocytes(Th) 17 ratio in peripheral blood and pulmonary tuberculosis. **Methods** A total of 40 pulmonary tuberculosis patients admitted to the First Affiliated Hospital of Nanchang University from September 2020 to December 2021 were enrolled as the study objects. According to the results of tuberculosis spot test and CT examination, the patients were divided into the active group and the latent group, with 20 cases in each group. Another 20 healthy people who underwent physical examination were selected as the control group. The interleukin (IL)-17 and Treg levels in peripheral blood were detected, the Treg/IL-17 ratio was calculate, the predictive value of Treg/IL-17 ratio in peripheral blood for pulmonary tuberculosis was analyzed. **Results** Compared with the latent group, the Treg/IL-17 ratio of study objects in the control group and the active group were significantly increased, and the differences were statistically significant($P < 0.05$). The area under the receiver-operating characteristic curve of Treg/IL-17 ratio in peripheral blood for predicting active pulmonary tuberculosis was 0.925, the optimal cut-off value was 1.281, the sensitivity was 0.970, and the specificity was 0.900. **Conclusion** The ratio of Treg/IL-17 is increased in patients with active pulmonary tuberculosis, and it has a certain predictive value for active pulmonary tuberculosis, which can provide reference for the early prevention and treatment of pulmonary tuberculosis.

Key words: pulmonary tuberculosis; interleukin-17; regulatory T cells; regulatory T cell/interleukin-17 ratio

结核病是一种由结核分枝杆菌感染引起的慢性传染病。《2021 年全球结核病报告》显示, 全球约有 1/4 的人口感染了结核分枝杆菌, 2020 年约有 990 万人患结核病, 150 万人死于肺结核^[1-2]。早期诊断对结

核病的治疗与预防传播具有重要意义。目前, 痰分枝杆菌检测是诊断肺结核的“金标准”, 痰培养和痰涂片是常用的检查方法, 但其临床应用由于耗时长而受到限制。因此, 在临床实践中需要寻找一种快速、简便、

* 基金项目: 江西省教育厅项目(GJJ200147); 江西省卫生健康委员会基金项目(202130329)。

作者简介: 李威, 男, 技师, 主要从事免疫学检验研究。△ 通信作者, E-mail: 2289555603@qq.com。

阳性率高的检测方法,以促进肺结核的早期诊断。

免疫细胞是机体免疫系统的重要组成部分,其免疫功能在消灭癌细胞和致病微生物方面发挥着重要作用^[3-4]。T 淋巴细胞在细胞免疫中发挥着重要作用,包括 CD4⁺ T 淋巴细胞和 CD8⁺ 细胞毒性 T 淋巴细胞^[5]。CD4⁺ T 淋巴细胞可分化成调节性 T 淋巴细胞(Treg)与辅助性 T 淋巴细胞(Th)17, Treg 是一群具有免疫抑制功能的 T 淋巴细胞亚群,能抑制 T 淋巴细胞对自身抗原的免疫应答,在免疫逃逸过程中发挥着重要作用;Th17 是一种以白细胞介素(IL)-23 依赖的方式分泌 IL-17,参与了机体的炎症反应,是一种促炎性细胞因子,可促进免疫细胞释放炎症因子。Treg、Th17 分别通过分泌 IL-10 和 IL-17 介导机体免疫抑制和炎症反应^[6-7]。同时在机体中存在着 Treg 和 Th17 的动态平衡维持免疫应答,当平衡打乱时将影响免疫性疾病的进展^[8]。结合 Th17 与 IL-17 的关系推测外周血 Treg/IL-17 比值平衡可能参与了肺结核的发生。本研究探讨了肺结核患者外周血 IL-17、Treg 水平及其比值变化,分析了外周血 Treg/IL-17 比值失衡与肺结核的关系,为了解肺结核发病机制及早期风险预测提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2020 年 9 月至 2021 年 12 月南昌大学第一附属医院收治的肺结核患者 40 例作为研究对象,根据结核杆菌斑点试验(T-SPOT)和 CT 检查结果分为活动期组和潜伏期组,每组 20 例;另选择健康体检者 20 例作为对照组。对照组男 13 例、女 7 例,年龄(47.0±18.2)岁;活动期组男 9 例、女 11 例,年龄(42.3±13.9)岁;潜伏期组男 10 例、女 10 例,年龄(53.8±12.4)岁。活动期组纳入标准:(1)痰培养、痰抗酸染色、分子诊断至少有 1 项阳性^[9],胸部 X 线片表现符合肺结核影像学改变;(2)无抗结核药物治疗史。潜伏期组纳入标准:(1)γ-干扰素释放试验阳性;(2)痰涂片和结核分枝杆菌培养均为阴性;(3)无肺结核的相关临床症状。对照组纳入标准:(1)无结核患者接触史;(2)胸部 X 线片表现正常;(3)T-SPOT 阴性。

1.2 方法

1.2.1 血标本采集 采集各组研究对象清晨空腹静脉血 2 mL,置于 4℃ 冰箱中保存待用。

1.2.2 外周血 IL-17 水平检测 采用赛基生物公司生产的细胞因子联合检测试剂盒对待测血浆进行检测,美国 Beckman Coulter 公司生产的 DxFLEX 流式细胞仪检测外周血 IL-17 水平。

1.2.3 外周血 Treg 检测 将 CD4-FITC、CD25-PE、CD3-ECD、CD127-PC5(购自美国 Beckman Coulter 公司)混合抗体 20 μL 加入 50 μL 全血中,充分振荡摇匀后室温避光孵育 15 min,加入固定裂解液,温室避光孵育 10 min,离心弃上清液,采用 500 μL 磷酸盐

缓冲液重悬细胞,采用美国 Beckman Coulter 公司生产的 DxFLEX 流式细胞仪检测 Treg 水平。计算 Treg/IL-17 比值。

1.3 统计学处理 采用 GraphPad Prism 5 软件进行数据分析。呈正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用 *F* 检验,进一步两两比较采用 LSD-*t* 检验;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估外周血 Treg/IL-17 比值对肺结核的预测价值。以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组研究对象外周血 IL-17、Treg 及 Treg/IL-17 比值比较 与潜伏期组比较,对照组、活动期组研究对象 Treg/IL-17 比值均升高,差异均有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 1。

表 1 各组研究对象外周血 IL-17、Treg 及 Treg/IL-17 比值比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IL-17(%)	Treg(%)	Treg/IL-17 比值
对照组	20	3.12±0.43	8.22±0.86	2.63±0.54 ^a
潜伏期组	20	6.87±1.14	5.94±1.77	0.86±0.43
活动期组	20	4.25±1.18	9.17±2.64	2.16±0.87 ^a

注:与潜伏期组比较,^a*P* < 0.05。

2.2 外周血 Treg/IL-17 比值预测活动期肺结核的价值分析 ROC 曲线分析结果如图 1 所示,其中外周血 Treg/IL-17 比值预测活动期肺结核的曲线下面积(AUC)为 0.925。当最佳截断值为 1.821 时,灵敏度为 0.970,特异度为 0.900。外周血 Treg/IL-17 比值设置为不同截点时的灵敏度与特异度。见表 2。

表 2 外周血 Treg/IL-17 比值对活动期肺结核的预测价值

截点设置	灵敏度	特异度	假阴性率	假阳性率
2.492	1.000	0.025	0.000	0.975
2.101	0.950	0.575	0.050	0.425
1.821	0.970	0.900	0.030	0.100
1.711	0.700	0.975	0.300	0.025
1.320	0.175	1.000	0.825	0.000
0.930	0.025	1.000	0.975	0.000
0.578	0.025	1.000	0.975	0.000

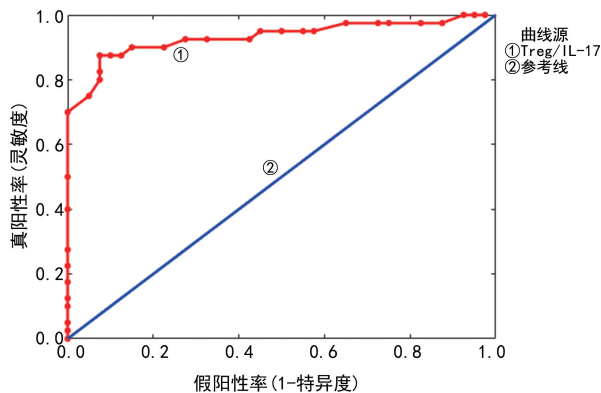


图 1 外周血 Treg/IL-17 比值预测活动期肺结核的 ROC 曲线

3 讨 论

CD4⁺T 淋巴细胞通过各类细胞因子激活可分化为 4 种不同的亚群,即 Th1、Th2、Treg、Th17 亚群。目前认为,Th1 及其分泌的细胞因子—— γ 干扰素在肺结核保护性免疫反应中具有重要作用,但肺结核的免疫保护单靠 Th1 参与是不够的,抗结核免疫仍需要其他免疫细胞及相关细胞因子的参与。Treg 与 Th17 之间的平衡在免疫应答和炎症反应方面均发挥着重要作用。相关研究表明,在肺结核感染初次免疫应答中 IL-17 起着重要作用^[10]。

IL-17 在机体防御微生物感染、自身免疫疾病及炎症反应中发挥着重要作用。在肺结核感染免疫应答初期,IL-17 会诱导细胞产生一系列趋化因子,介导免疫细胞在炎症部位募集,进而使早期的免疫保护机制启动。IL-17 水平降低时机体处于免疫抑制状态,从而感染肺结核的风险升高。Treg 是一类产生于胸腺,能生成转化生长因子- β 、IL-10 等细胞因子,以调节自身 T 淋巴细胞防止其过度活化,维持免疫耐受的一群细胞。同时 Treg 也可抑制 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白,因而对炎症反应及免疫应答具有抑制作用^[11-12]。Treg/IL-17 比值失衡会造成机体的免疫功能异常,炎症反应减弱或持续,进而导致肺结核的发生及发展^[13]。

结核分枝杆菌感染机体后由于机体免疫力处于正常状态,机体分泌 IL-17 同时降低 Treg 比例而杀伤体内的结核分枝杆菌。本研究结果也显示,潜伏期组患者 Treg/IL-17 比值降低。当机体免疫力低下时结核分枝杆菌感染或肺结核潜伏感染会转变为活动性肺结核,此时机体已无法分泌 IL-17 产生炎症反应,而结核分枝杆菌诱导 Treg 的产生以利于其在机体内生存而不被消灭。因此,活动期组患者 Treg/IL-17 比值明显升高。本研究 ROC 曲线分析结果显示,外周血 Treg/IL-17 比值预测活动期肺结核的 AUC 为 0.925,最佳截断值为 1.821 时灵敏度为 0.970,特异度为 0.900,提示 Treg/IL-17 比值对活动性肺结核具有较高的预测价值。

综上所述,外周血 Treg/IL-17 比值与肺结核的发生相关,可通过检测外周血 Treg/IL-17 比值评估发生活动性肺结核的风险,以助于早期防治。但由于本研究纳入样本量较少,结果的真实性及可靠性尚需进行大量前瞻性分析加以证实。

参考文献

[1] World Health Organization, Global tuberculosis report 2021

[EB/OL]. Geneva: World Health Organization, 2021 [2022-10-23]. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/346387>.

[2] PARUMS D V. Editorial: updates from the World Health Organization (WHO) on global treatment recommendations for drug-susceptible and multidrug-resistant tuberculosis[J]. Med Sci Monit, 2021, 27: e934292.

[3] 王悦, 李丹, 刘畅, 等. 人体微生物群与调节性 T 细胞的相互作用与调控[J]. 现代免疫学, 2020, 40(5): 437-441.

[4] 翟亚荣, 吴瑶, 裘雪莹, 等. 基于“脾为之卫”探讨中医药调节免疫系统对肿瘤的影响[J]. 世界中医药, 2022, 17(8): 1105-1109.

[5] FONTOURA I C, TROMBONE A P, ALMEIDA L P, et al. B Cells Expressing IL-10 mRNA modulate memory T cells after DNA-Hsp65 immunization[J]. Braz J Med Biol Res, 2015, 48(12): 1095-1100.

[6] CIRACI C, JANCZY J R, JAIN N, et al. Immune complexes indirectly suppress the generation of Th17 responses in Vivo[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0151252.

[7] DIETZE K K, SCHIMMER S, KRETZMER F, et al. Characterization of the Treg response in the hepatitis B Virus hydrodynamic injection mouse model[J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0151717.

[8] 袁莹莹, 刘海燕, 郭芳. Th17/Treg 细胞失衡及血清 miR-146a 对早产儿宫内感染的诊断价值及危险因素分析[J]. 免疫学杂志, 2022, 38(11): 983-989.

[9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 肺结核诊断标准: WS288-2017[J]. 中国感染控制杂志, 2018, 17(7): 642-652.

[10] SINHA S, BOYDEN A W, ITANI F R, et al. CD8⁺ T-cells as immune regulators of multiple sclerosis[J]. Front Immunol, 2015, 6: 619.

[11] DUAN M C, ZHANG J Q, LIANG Y, et al. Infiltration of IL-17-producing T cells and Treg cells in a mouse model of smoke-induced emphysema[J]. Inflammation, 2016, 39(4): 1334-1344.

[12] 李晓平. 慢性阻塞性肺疾病患者及健康吸烟者外周血 Th17 细胞及 Treg 细胞水平研究的 Meta 分析[D]. 西宁: 青海大学, 2018.

[13] FENG F, DU J, MENG Y, et al. Louqin zhisou decoction inhibits mucus hypersecretion for acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease rats by suppressing EGFR-PI3K-AKT signaling pathway and restoring Th17/Treg Balance[J]. Evid Based Complement Alternat Med, 2019, 2019: 6471815.

(收稿日期: 2022-11-11 修回日期: 2023-03-22)