

· 论著 ·

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

芦杰¹ 胡海霞² 韩中波³

¹ 吉林省临床检验中心(吉林省医疗机构质量监测评价中心)质量控制科, 长春 130021; ² 吉林大学中日联谊医院胃肠结直肠外科, 长春 130033; ³ 吉林市结核病防治研究所研究室, 吉林 132011

通信作者: 韩中波, Email: hzb9858@163.com

【摘要】 目的 探究活动性结核病患者血清高迁移率族蛋白 B1(high mobility group box 1 protein, HMGB1)、中性粒细胞/淋巴细胞(neutrophil-to-lymphocyte, NLR)的变化, 了解其与患者细胞免疫功能水平及 38 000 蛋白的相关性。方法 将 2019 年 1 月至 2021 年 6 月吉林市结核病防治研究所收治的 60 例活动性结核病患者设为 A 组, 将同期收治的 60 例非活动性结核病患者设为 B 组, 另将 60 名健康志愿者设为 C 组, 比较 3 组患者 HMGB1 表达水平、NLR、细胞免疫功能相关指标(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺和 CD4⁺/CD8⁺T 淋巴细胞)和 38 000 蛋白的差异, 分析 HMGB1、NLR 与活动性结核病患者细胞免疫功能水平和 38 000 蛋白的相关性。结果 A、B、C 组患者 HMGB1 分别为(5.63±1.40) ng/mL、(4.00±1.59) ng/mL 和(2.19±0.88) ng/mL, 三组间比较差异有统计学意义($F_{\text{HMGB1}}=101.72, P<0.001$); NLR 分别为(3.17±0.41)、(1.88±1.51) 和(1.43±0.11), 三组间比较差异有统计学意义($F_{\text{NLR}}=727.79, P<0.001$)。CD3⁺、CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺细胞水平与 HMGB1($r=-0.66, -0.66$ 和 $-0.70, P$ 均 <0.001) 和 NLR($r=-0.88, -0.88$ 和 $-0.86, P<0.001$) 呈负相关, CD8⁺、38 000 蛋白与 HMGB1($r=0.67, 0.40, P$ 均 <0.001) 和 NLR($r=0.80, 0.61, P<0.001$) 均呈正相关。结论 活动性结核病患者 HMGB1、NLR 水平升高, 并且与细胞免疫功能指标及 38 000 蛋白具有相关性, 可将其用于评估患者的免疫能力和感染程度, 为治疗提供指导依据。

【关键词】 结核, 肺; 血清高迁移率族蛋白 B1; 中性粒细胞与淋巴细胞比值; 细胞免疫功能; 38 000 蛋白

基金项目: 吉林市医疗卫生指导性计划项目(2019001001)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20220221-00030

The correlation between serum high mobility group box 1 protein/neutrophil to lymphocyte ratio and cellular immune function/38 000 protein in patients with active tuberculosis

Lu Jie¹, Hu Haixia², Han Zhongbo³

¹Quality Control Department, Jilin Provincial Clinical Laboratory Center(Jilin Medical Institution Quality Monitoring and Evaluation Center), Changchun 130021, China; ²Department of Gastrointestinal and Colorectal Surgery, China Japan Friendship Hospital, Jilin University, Changchun 130033, China; ³Research Institute of Tuberculosis Prevention and Treatment of Jilin, Jilin 132011, China

Corresponding author: Han Zhongbo, Email: hzb9858@163.com

【Abstract】 Objective To explore the changes of serum high mobility group box 1 protein(HMGB1) and neutrophil to lymphocyte ratio (NLR) in patients with active tuberculosis, and the correlation between HMGB1/NLR and cellular immune function/38 000 protein. **Methods** A total of 60 patients with active tuberculosis admitted in Research Institute of Tuberculosis Prevention and Treatment of Jilin from January 2019 to June 2021 were enrolled as group A. During the same period, 60 patients with non-active tuberculosis and 60 healthy people were enrolled as group B and group C, respectively. The differences of HMGB1, NLR levels, cellular immune function related indicators(CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺T lymphocytes) and 38 000 protein levels in 3 groups were compared. The correlation between HMGB1/NLR and cellular immune function/38 000 protein was analyzed. **Results** In group A, B and C, the levels of

HMGB1 were (5.63±1.40) ng/mL, (4.00±1.59) ng/mL and (2.19±0.88) ng/mL, respectively, and there was significantly different among these groups ($F_{\text{HMGB1}}=101.72, P<0.001$). The levels of NLR were (3.17±0.41), (1.88±1.51) and (1.43±0.11), respectively, and there was significantly different among these groups ($F_{\text{NLR}}=727.79, P<0.001$). Levels of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ were negatively related with HMGB1 ($r=-0.66, -0.66$ and $-0.70, P$ all <0.001) and NLR ($r=-0.88, -0.88$ and $-0.86, P$ all <0.001). Levels of CD8⁺ and 38 000 protein were positively correlated with HMGB1 ($r=0.67$ and $0.40, P$ both <0.001) and NLR ($r=0.80$ and $0.61, P$ both <0.001). **Conclusions** The levels of HMGB1 and NLR increase in patients with active tuberculosis, and are related with the indexes of cellular immune function and 38 000 protein. HMGB1 and NLR can be used to evaluate the immune capacity and infection degree of patients and provide guidance for treatment.

[Key Words] Tuberculosis, pulmonary; High mobility group box 1 protein; Neutrophil to lymphocyte ratio; Cellular immune function; 38 000 protein

Fund program: Jilin City Medical and Health Guidance Plan(2019001001)

DOI: 10.3760/cma.j.cn331340-20220221-00030

结核病是重大感染性疾病之一,终身患病风险较大^[1]。结核分枝杆菌入侵机体早期,患者可通过自身免疫功能来控制感染发展,降低感染率,或使疾病转归为慢性结核病^[2-3],免疫功能低下人群则可能发展成为急性、活动性结核病,部分慢性结核病患者也可能因免疫功能变化而发展为活动性结核病^[4]。因此,检测患者免疫功能水平变化能有效评估患者转归和预后结局,是防治活动性结核病的重要手段。研究认为,血清中高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1 protein, HMGB1) 表达水平与免疫反应时组织损伤和炎症程度有关,血清中的中性粒细胞与淋巴细胞比值 (neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR) 也反映了全身炎症和免疫之间的平衡^[5-6]。此外,研究表明 38 000 蛋白为结核分枝杆菌抗原之一,可用其诊断活动性结核病和感染程度^[7]。本研究探讨了 HMGB1 和 NLR 水平与活动性结核病患者细胞免疫功能及结核分枝杆菌 38 000 蛋白的关系,旨在为活动性结核病临床诊治提供参考。

对象与方法

一、研究对象

选择 2019 年 1 月至 2021 年 6 月吉林市结核病防治研究所收治的 60 例活动性肺结核患者为研究对象。纳入标准:(1)符合《中华人民共和国卫生行业标准—肺结核诊断标准(WS288—2017)》中对活动性肺结核的诊断标准,即痰结核菌检查阴性,X

线检查肺部有渗出性病变、干酪性病变并周边渗出性病变、空洞、增殖性病变,临床表现为低热、咳嗽、消瘦、乏力等^[8];(2)原发性肺结核,且为初治;(3)无除肺结核以外的肺部疾病史。排除标准:(1)其他类型的结核病(结核性腹膜炎、结核性胸膜炎、结核性脑膜炎、结核性心包炎、肠结核);(2)有实质性组织器官严重损伤或功能障碍、免疫疾病史、凝血造血功能障碍史、严重肿瘤疾病史;(3)近期使用细胞毒性类或免疫抑制类药物;(4)处于妊娠期或哺乳期,或有精神疾病、或认知障碍不配合研究工作、依从性较差。本研究经吉林市结核病防治研究所伦理委员会批准(伦理审批号:L1901003),所有研究对象均知情同意。

二、分组情况

纳入 60 例活动性结核患者为 A 组,男 39 例,女 21 例;年龄(45.92±5.26)岁,范围 34~58 岁;体质指数(21.99±1.48) kg/m²,范围 18.53~25.74 kg/m²;轻度结核 26 例,中度结核 16 例,重度结核 18 例。另选择同期收治的 60 例非活动性肺结核患者为 B 组,男 35 例,女 25 例,年龄(46.33±5.03)岁,范围 36~57 岁;体质指数(21.82±1.74) kg/m²,范围(18.94~24.85) kg/m²;轻度结核 30 例,中度结核 16 例,重度结核 14 例。选择 60 例健康志愿者设为 C 组,男 35 例,女 25 例;年龄(46.33±5.03)岁,范围 36~57 岁,体质指数(21.82±1.74) kg/m²,范围(18.94~24.85) kg/m²。三组在性别($\chi^2=0.74, P=0.689$)、年龄

($F=0.58, P=0.560$)和体质量指数($F=3.01, P=0.078$)等基础资料方面差异无统计学意义,具有可比性。

三、研究指标

两组患者于就诊当天,抽取外周静脉血 10 mL,置于离心机(北京祥生兴业科技有限公司)中以 3 000 r/min(离心半径为 12.5 cm)离心 10 min,取上层血清。采用酶联免疫吸附法检测 HMGB1 水平,所有试剂均来源于 HMGB1 ELISA 试剂盒(上海酶联生物科技有限公司)。使用 COULTER LH 780/LH 785 血细胞分析仪[贝克曼库尔特国际贸易(上海)有限公司]检测中性粒细胞和淋巴细胞计数,中性粒细胞百分比正常范围为 40%~75%,淋巴细胞百分比正常范围为 20%~40%,计算 NLR 水平。使用 Dx FLEX 流式细胞仪[贝克曼库尔特国际贸易(上海)有限公司]检测血清样本中的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺,其正常范围分别为 50%~84%,27%~51%,15%~44%,0.71~2.78^[9]。采用酶联免疫吸附法检测结核分枝杆菌 38 000 蛋白,试剂盒购自上海钦诚生物科技有限公司,该试剂中的结核分枝杆菌能够捕获血清中的含结核 IgG 抗体,与葡萄球菌 A 蛋白结合形成特异性红色斑点,若检测结果出现红色斑点,则判定为阳性,否则为阴性^[10]。

四、统计学处理

采用 SPSS21.0 进行数据处理与分析。正态性检验采用 Kolmogorov-Smirnov(K-S)检验,符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析,符合方差齐性使用 Tukey HSD 检验进行多重比较,不符合方差齐性使用 Tamhane's T2 进行多重比较;不符合正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检

验;计数资料以例数和率表示,组间比较采用 χ^2 检验。采用 Pearson 或 Spearman 相关分析对 HMGB1、NLR 和活动性结核患者的细胞免疫功能水平和结核分枝杆菌 38 000 蛋白的相关性进行分析。以 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

结 果

一、3 组患者 HMGB1 和 NLR 水平比较

3 组患者的 HMGB1($F=101.72, P<0.001$)、中性粒细胞百分比($F=278.56, P<0.001$)、淋巴细胞百分比($F=567.80, P<0.001$)、NLR($F=727.79, P<0.001$)以及 38 000 蛋白阳性表达率($\chi^2=74.30, P<0.001$)组间比较差异均具有统计学意义。其中 HMGB1、中性粒细胞百分比、NLR、结核分枝杆菌 38 000 蛋白阳性表达率均为 A 组>B 组>C 组;淋巴细胞百分比为 A 组<B 组<C 组。具体结果见表 1。

二、不同组别患者细胞免疫功能比较

3 组患者 CD3⁺($F=697.61, P<0.001$)、CD4⁺($F=450.93, P<0.001$)、CD8⁺($F=427.89, P<0.001$)和 CD4⁺/CD8⁺($H=92.01, P<0.001$)细胞水平比较均具有统计学意义。其中,CD3⁺和 CD4⁺水平为 A 组<B 组<C 组,CD8⁺细胞水平为 A 组>B 组>C 组。具体结果见表 2。

表 2 不同组别人群细胞免疫功能比较

组别	例数(例)	细胞免疫功能指标			
		CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
A 组	60	51.33±4.32	30.53±2.78	46.32±2.48	7.0(6.0,7.0)
B 组	60	67.13±2.61 ^a	39.68±2.38 ^a	40.03±2.91 ^a	1.0(0.9,1.1) ^a
C 组	60	73.95±3.04 ^{ab}	44.37±2.52 ^{ab}	32.15±2.57 ^{ab}	1.4(1.3,1.5) ^{ab}
F/H 值		697.61	450.93	427.89	92.01
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:A 组为活动性结核患者;B 组为非活动性结核患者;C 组为健康志愿者;^a:与 A 组比较, $P<0.001$;^b:与 B 组比较, $P<0.001$

表 1 不同组别人群 HMGB1 和 NLR、38 000 蛋白比较

组别	例数(例)	临床指标				
		HMGB1 (ng/mL)	中性粒细胞 (%)	淋巴细胞 (%)	NLR	38 000 蛋白[例(%)]
A 组	60	5.63±1.40	68.15±6.25	21.64±1.73	3.17±0.41	49(81.67)
B 组	60	4.00±1.59 ^a	57.36±2.41 ^a	30.69±2.01 ^a	1.88±1.51 ^a	21(35.00) ^a
C 组	60	2.19±0.88 ^{ab}	50.14±2.86 ^{ab}	35.22±2.85 ^{ab}	1.43±0.11 ^{ab}	3(5.00) ^{ab}
F/χ^2 值		101.72	278.56	567.80	727.79	74.30
P 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:HMGB1:高迁移率族蛋白 B1;NLR:中性粒细胞与淋巴细胞比值;A 组为活动性结核患者;B 组为非活动性结核患者;C 组为健康志愿者;^a:与 A 组比较, $P<0.001$;^b:与 B 组比较, $P<0.001$

三、HMGB1、NLR 与细胞免疫功能、38 000 蛋白的相关性

相关性分析显示,CD3⁺、CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺细胞水平与 HMGB1 和 NLR 呈负相关($P<0.001$),CD8⁺、38 000 蛋白与 HMGB1 和 NLR 呈正相关($P<0.001$)。具体结果见表 3。

表 3 HMGB1、NLR 与细胞免疫功能及 38 000 蛋白相关性

指标	HMGB1		NLR	
	<i>r</i>	<i>P</i> 值	<i>r</i>	<i>P</i> 值
CD3 ⁺	-0.66	<0.001	-0.88	<0.001
CD4 ⁺	-0.66	<0.001	-0.88	<0.001
CD8 ⁺	0.67	<0.001	0.80	<0.001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	-0.70	<0.001	-0.86	<0.001
38 000 蛋白	0.40	<0.001	0.61	<0.001

注:HMGB1:高迁移率族蛋白 B1;NLR:中性粒细胞与淋巴细胞比值

讨 论

活动性结核病的发生发展与患者机体免疫水平密切相关。HMGB1 具有较强的致炎活性,NLR 则与身体的免疫状况以及炎症表达密切相关^[5-6],了解其与活动性结核病患者的免疫相关指标和结核分枝杆菌 38 000 蛋白之间的关系,可更全面地评估患者的免疫功能和感染程度。

一、HMGB1 和 NLR 水平在不同免疫水平人群中存在差异

本研究发现,活动性结核病患者体内 HMGB1 的表达水平高于非活动性结核病患者及健康者,推测其可能是由被结核分枝杆菌感染的免疫细胞释放,从而导致表达水平升高。

中性粒细胞是机体重要的天然免疫细胞,具有识别和吞噬入侵机体的结核分枝杆菌的作用^[11]。研究证明,免疫功能紊乱的活动性结核病患者外周血淋巴细胞整体数量低于健康儿童^[12]。本研究结果也表明,活动性结核病患者 NLR 水平较非活动性结核病及健康者高。

二、HMGB1 和 NLR 水平与结核病患者免疫功能及 38 000 蛋白呈一定相关性

HMGB1 对结核病患者发生肝损伤具有一定的预测作用^[13],这同时伴随一定的炎症反应,炎症与免疫的失衡致使 HMGB1 水平变化^[14]。本研究发现, HMGB1 水平越高,CD3⁺、CD4⁺和 CD4⁺/CD8⁺细胞占比越低,CD8⁺细胞占比越高,免疫功能受损严重。结核分枝杆菌 38 000 蛋白是结核分枝杆菌抗原之一,含有特异性的 B 细胞和 T 细胞抗原决定簇,可诱导早期免疫反应^[7]。随着肺结核患者病情的加重,患者 NLR 和结核分枝杆菌 38 000 蛋白水平也逐渐升高^[15],本研究也发现 NLR 和结核分枝杆菌 38 000 蛋白阳性表达率呈显著相关性,因此,检测活动性结核病患者外周血 NLR 能有效评估其细胞免疫功能变化^[16]。

综上所述, HMGB1 表达水平和 NLR 可反映活动性结核病患者细胞免疫功能状态,可用其评估患者的免疫能力,为治疗提供指导依据。本研究也有一定的局限性,包括 HMGB1 表达水平和 NLR 参与影响活动性结核病患者细胞免疫功能状态的分子生物学机制等有待进一步研究。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 芦杰:论文设计、整理和撰写;胡海霞:资料收集、数据处理和统计分析;韩中波:指导和修改稿件

参 考 文 献

- [1] Xin H, Zhang H, Yang S, et al. 5-year follow-up of active tuberculosis development from latent infection in rural China[J]. Clin Infect Dis, 2020,70(5):947-950. DOI: 10.1093/cid/ciz581.
- [2] 王安龙, 司马斌, 保春华, 等. 常见非结核分枝杆菌肺病的 MSCT 表现[J]. 健康研究, 2020,40(4):430-433,438. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6449.2020.04.018.
- [3] 中国人民解放军总医院第八医学中心全军结核病研究所/全军结核病防治重点实验室/结核病诊疗新技术北京市重点实验室,《中国防痨杂志》编辑委员会,中国医疗保健国际交流促进会结核病防治分会基础和临床学部. 活动性结核病患者免疫功能状态评估和免疫治疗专家共识(2021年版)[J]. 中国防痨杂志, 2022,44(1):9-27. DOI: 10.19982/j.issn.1000-6621.20210680.
- [4] 李倩钰, 徐鹏, 陈玲. 活动性结核病候选血清学诊断标志物的研究进展[J]. 实用心脑血管病杂志, 2021,29(6):17-21. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.125.
- [5] Son M, Diamond B, Shin JS. Editorial: the role of HMGB1 in

immunity[J]. *Front Immunol*, 2020,11:594253. DOI: 10.3389/fimmu.2020.594253.

[6] Song M, Graubard BI, Rabkin CS, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio and mortality in the United States general population[J]. *Sci Rep*, 2021,11(1):464. DOI: 10.1038/s41598-020-79431-7.

[7] 李倩钰, 徐鹏, 陈玲. 活动性结核病候选血清学诊断标志物的研究进展[J]. *实用心脑血管病杂志*, 2021,29(6):17-21. DOI: 10.12114/j.issn.1008-5971.2021.00.125.

[8] 周林, 刘二勇. 结核病诊断标准解读[J]. *寄生虫病与感染性疾病*, 2019, 17(1):7-9.

[9] 梁建琴, 吴雪琼. 《结核病患者外周血淋巴细胞亚群检测及临床应用专家共识》解读[J]. *中国防痨杂志*, 2020,42(12):1276-1279. DOI: 10.3969/j.issn.1000-6621.2020.12.005.

[10] 王永锋, 徐焰. 外周血 T-SPOT.TB 和 38kD-IgG 检测在活动期结核病诊断中的应用[J]. *海南医学*, 2021,32(1):35-38. DOI: 10.3969/j.issn.1003-6350.2021.01.009.

[11] Hilda JN, Das S, Tripathy SP, et al. Role of neutrophils in tuberculosis: A bird's eye view[J]. *Innate Immun*, 2020,26(4):240-247. DOI: 10.1177/1753425919881176.

[12] 杨硕, 严小桐, 刘腾, 等. 活动性结核病患者外周血淋巴细胞亚群变化分析[J]. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2021, 41(1):6. DOI:10.3760/cma.j.cn112309-20200514-00261.

[13] Cheng X, Zhu JL, Li Y, et al. Serum biomarkers of isoniazid-induced liver injury: Aminotransferases are insufficient, and OPN, L-FABP and HMGB1 can be promising novel biomarkers[J]. *J Appl Toxicol*, 2022,42(3):516-528. DOI: 10.1002/jat.4236.

[14] Garcia-Cortes M, Robles-Diaz M, Stephens C, et al. Drug induced liver injury: an update[J]. *Arch Toxicol*, 2020,94(10):3381-3407. DOI: 10.1007/s00204-020-02885-1.

[15] 曾庆球, 王伟洪, 童照威, 等. 肺结核患者肺部空洞形成与免疫及营养状态的相关性分析[J]. *中华临床感染病杂志*, 2021, 14(5):358-363. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2021.05.004.

[16] Chai Q, Wang L, Liu CH, et al. New insights into the evasion of host innate immunity by *Mycobacterium tuberculosis* [J]. *Cell Mol Immunol*, 2020,17(9):901-913. DOI: 10.1038/s41423-020-0502-z. (收稿日期:2022-02-21)

· 读者 · 作者 · 编者 ·

本刊可直接使用的缩略语

下列缩略语为本刊常用词汇,第一次出现时,可以不标注中文,它们是:

甲胎蛋白 (AFP)	乙型肝炎病毒 (HBV)	核因子- κ B (NF- κ B)
艾滋病 (AIDS)	乙型肝炎病毒表面抗原 (HBsAg)	自然杀伤细胞 (NK 细胞)
碱性磷酸酶 (ALP)	乙型肝炎病毒表面抗体 (抗-HBs)	外周血单核细胞 (PBMC)
丙氨酸转氨酶 (ALT)	乙型肝炎病毒 e 抗原 (HBeAg)	磷酸盐缓冲液 (PBS)
抗原提呈细胞 (APC)	乙型肝炎病毒 e 抗体 (抗-HBe)	血小板 (PLT)
天冬氨酸转氨酶 (AST)	乙型肝炎病毒核心抗体 (抗-HBc)	结核菌素试验 (PPD)
共价闭合环状 DNA (cccDNA)	血红蛋白 (Hb)	逆转录-聚合酶链反应 (RT-PCR)
四氯化碳 (CCl ₄)	肝细胞癌 (HCC)	严重急性呼吸道综合征 (SARS)
疾病预防控制中心 (CDC)	丙型肝炎病毒 (HCV)	结核 (TB)
细胞毒性 T 淋巴细胞 (CTL)	人类免疫缺陷病毒 (HIV)	总胆红素 (TBil)
树突细胞 (DC)	人乳头状瘤病毒 (HPV)	总胆固醇 (TC)
弥漫性血管内凝血 (DIC)	重症监护病房 (ICU)	甘油三酯 (TG)
酶联免疫吸附试验 (ELISA)	干扰素 (IFN)	辅助性 T 淋巴细胞 (Th)
γ -谷氨酰转氨酶 (γ -GT)	白细胞介素 (IL)	肿瘤坏死因子 (TNF)
高效抗逆转录病毒治疗 (HAART)	主要组织相容性复合体 (MHC)	白细胞 (WBC)
甲型肝炎病毒 (HAV)	耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA)	世界卫生组织 (WHO)