

肺结核患者感染新冠病毒免疫功能的相关性分析

刘记宏, 马志强, 王霖, 王晓燕, 田伟光, 李保萍, 董睿, 吕玉佳
(昆明市第三人民医院/云南省传染性疾病预防医学中心, 云南昆明 650301)

[摘要] **目的** 分析肺结核患者共感染新冠肺炎的免疫学指标, 明确其免疫状态, 探讨相关指标与免疫状态的关系及特点。**方法** 以昆明市第三人民医院收治的 TB 共感染 COVID-19 者为研究组 ($n = 111$), 另选同期未感染 COVID-19 的 TB 患者为对照组 ($n = 1649$), 分析 2 组血清学免疫指标。**结果** 经 PSM 倾向性匹配排除年龄、性别等混杂因素后, TB-COVID 组 CD19⁺、CD3⁺、CD4⁺、lymphocyte 和 IL-8 水平低于 TB 组, IL-10、IL-17、IL-6 高于 TB 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 对以上差异指标做 ROC 曲线, 分析 TB-CCVID 免疫危险因素, CD19⁺、IL-10 和 IL-6 对 TB 感染 COVID-19 的灵敏度和特异性分别为 71.4% 和 56.7%、59.1% 和 77.0%、59.1% 和 77.7%, AUC 分别为 0.659 (95%CI: 0.583 ~ 0.736, $P < 0.05$)、0.645 (95%CI: 0.558 ~ 0.732, $P < 0.05$)、0.649 (95%CI: 0.564 ~ 0.734, $P < 0.05$); 根据年龄划分亚组比较, 结果 TB-COVID 组 IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-8、TFN- α 、IL-12p70 在 21 ~ 40 岁急剧攀升远超 TB 组, 并随年龄增长逐渐回落。**结论** TB 患者共感染 COVID-19 后免疫状态交叉影响, 相较于 TB 患者, TB-COVID 多项免疫指标降低, 与细胞免疫及细胞因子风暴相关, 需加强关注。

[关键词] 肺结核; 新冠肺炎; 免疫功能; 合并感染

[中图分类号] R521 **[文献标志码]** A **[文章编号]** 2095-610X(2024)04-0157-06

Correlation Analysis of Immune Function of Tuberculosis Patients Infected with COVID-19

LIU Jihong, MA Zhiqiang, WANG Lin, WANG Xiaoyan, TIAN Weiguang,

LI Baoping, DONG Rui, LV Yujia

(The 3rd People's Hospital of Kunming/ Yunnan Clinical Medical Center for Infectious Disease,
Kunming Yunnan 650301, China)

[Abstract] **Objective** To analyze the immunological indicators of TB patients co-infected with COVID-19, clarify their immune status, and explore the relationship and characteristics of relevant indicators with immune status. **Methods** The study group consisted of TB patients infected with COVID-19 admitted to the Third People's Hospital of Kunming City ($n = 111$), while TB patients who were not infected with COVID-19 during the same period were selected as the control group ($n = 1649$) for the analysis of serum immunological indicators. **Results** After excluding confounding factors such as age and gender through PSM propensity matching, the TB-COVID group showed lower levels of CD19⁺, CD3⁺, CD4⁺, lymphocyte, and IL-8 compared to the TB group, while IL-10, IL-17, and IL-6 were higher in the TB-COVID group, with statistically significant differences ($P < 0.05$). ROC curve analysis of the above differing indicators was performed to analyze the immune risk factors of TB-COVID. The sensitivity and specificity of CD19⁺, IL-10, and IL-6 for TB infection with COVID-19 were 71.4% and 56.7%, 59.1% and 77.0%, 59.1% and 77.7%, respectively. The AUC values were 0.659 (95%CI: 0.583 ~ 0.736, $P < 0.05$), 0.645 (95%CI: 0.558 ~ 0.732, $P < 0.05$), and 0.649 (95%CI: 0.564 ~ 0.734, $P <$

[收稿日期] 2023-12-28

[基金项目] 昆明市卫健委卫生科研课题基金资助项目(2023-11-01-023)

[作者简介] 刘记宏(1997~), 女, 云南腾冲人, 医学硕士, 初级检验师, 主要从事传染病实验室诊断及研究工作。马志强与刘记宏对本文有同等贡献。

[通信作者] 王霖, E-mail: 626182669@qq.com; 王晓燕, E-mail: 793981087@qq.com

0.05)。When comparing subgroups based on age, in the TB-COVID group, IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-8, TFN- α , and IL-12p70 sharply increased in the 21-40 age group far beyond the TB group, and gradually declined with increasing age. **Conclusion** TB patients have a weakened immune system after being infected with COVID-19, with multiple immune indicators lower compared to TB patients. This is related to cell immunity and cytokine storm, so we need to pay more attention to TB-COVID cases.

[**Key words**] Tuberculosis; COVID-19; Immune function; Co-infection

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)感染引起的慢性感染性疾病,最常受累呼吸道,引起肺结核。世界卫生组织 2023 年全球结核病报告统计:2022 年全球新发结核病患者估算 1060 万,发病率 133/10 万^[1],我国人口基数众多,2022 年估算结核病新发患者 74.8 万,发病数居 30 个结核病高负担国家中的第 3 位,占全球发病数的 7.1%^[2]。而新冠肺炎(COVID-19)是 2019 年起造成严重呼吸衰竭的重要原因,其免疫致病性与病毒毒力、先天性和适应性免疫反应间缺乏有效协调相关^[3-5]。COVID-19 大流行期间,结核护理滞后及病人免疫状态不佳致使结核病罹患人数和死亡人数增加,同时, TB-COVID 共发感染是临床死亡率上升不可忽视的重要原因之一,给传染病防治工作带来了极大挑战^[6-7]。

结核病免疫治疗专家共识(2022 年版)强调, TB 的发生、进展、转归均与机体免疫状态密切相关, TB 患者通常免疫功能低下、固有免疫和适应性免疫功能异常^[8], T 细胞是抗分枝杆菌宿主防御的重要参与部分,也是结核潜伏感染期间遏制分枝杆菌传播的关键环节^[9-10]。新冠病毒对人体免疫系统的破坏呈嗜淋巴细胞性,包括淋巴细胞的直接损伤、诱导凋亡、分化障碍等,认为“炎症风暴”是新冠病毒导致机体免疫紊乱的主要机制,在多项细胞因子的参与下,形成免疫炎症级联反应,释放炎症因子进一步介导淋巴细胞的增殖、活化^[11]。目前针对结核病人共发感染新冠肺炎的免疫功能相关研究较少,且 COVID-19 感染对肺结核患者免疫功能造成的影响也尚不明确。因此,对淋巴细胞和细胞因子研究分析,可以为该类患者的免疫状态研究提供非常有价值的基础,并为其免疫状态的评估提供参考,对结核病的预防和治疗都有积极作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性分析 2022 年 3 月至 2023 年 8 月昆明

市第三人民医院(昆明市结核病防治院、昆明市传染病医院)收治的肺结核患者资料,并根据是否合并新型冠状病毒感染进行分组:单纯肺结核患者为 TB 组,共计 111 例,肺结核合并新型冠状病毒感染者为 TB-COVID 组,共计 1649 例。2 组研究对象根据年龄分别划分为 ≤ 20 、21~40、41~60、 >60 (岁)4 个亚组。

诊断标准:TB 的诊断符合《WS288~2017 肺结核诊断》^[12], COVID-19 的诊断符合《新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)》^[13]。纳入标准:(1)符合上述 TB、COVID-19 诊断标准的患者;(2)实验室检查资料完整。排除标准:(1)确诊其他导致免疫功能改变的疾病(如系统性红斑狼疮、风湿免疫病、肿瘤等);(2)正在接受免疫调节治疗(激素、免疫抑制剂等)的患者。

1.2 检测指标

检测研究对象入院时 CD16⁺CD56⁺、CD19⁺、CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T、CD4⁺/CD8⁺、CD4⁺CD8⁺ 双阳性、CD4⁺CD8⁻双阴性、NK 细胞、淋巴细胞等绝对数、IL-10、12p70、IL-17、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IFN- α 、IFN- γ 、TFN- α 共 22 项。以上指标均由迈瑞 bricyte E6 流式细胞仪检测所得,淋巴细胞亚群分型用 T/B/NK 四色试剂盒,12 项细胞因子检测用多重微球流式免疫荧光发光法。

1.3 统计学处理

采用 SPSS 26.0 统计学软件进行数据分析。计量资料中符合正态分布以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,用 t 检验进行组间比较;不符合正态分布以中位数和四分位数 [$M(P25, P75)$] 表示,用 *Mann Whitney* 检验比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2 组研究对象实验室指标分析

较单纯 TB 感染组, TB-COVID 组年龄更大($P < 0.05$), TB-COVID 组男性占比多于 TB 组($P < 0.05$),见表 1。

将 2 组患者进行 PSM 分析, 降低组间混杂因素, 排除 2 组间年龄、性别、基础疾病差异后, 每组各 111 例样本, 比较实验室指标, 结果 TB-COVID 组 CD19⁺、CD3⁺、CD4⁺、lymphocyte 和 IL-8 低于 TB 组, IL-10、IL-17 和 IL-6 高于 TB 组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2、图 1; CD16⁺CD56⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD4⁺CD8⁺、CD4⁻CD8⁻、NK、IL-12p70、IL-1 β 、IL-2、IL-4、IFN- α 、IFN- γ 和 TFN- α 共 13 项指标组间差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 2。

2.2 不同年龄段人群中的细胞因子水平分析

根据年龄段将研究对象划分为 ≤ 20 、21 ~ 40、41 ~ 60、 > 60 (岁) 4 个亚组, 比较 TB-COVID 和 TB 各个亚组研究对象细胞因子表达水平的平均值,

IL-1 β 、IL-2、IL-4、IL-8、TFN- α 、IL-12p70 表现为 TB-COVID 组 21 ~ 40 岁阶段急剧攀升远超 TB 组, 并随年龄增长逐渐回落, 见图 2。

3 讨论

TB 的免疫机制复杂, 感染结合分枝杆菌后人体免疫系统被激活, 其中 T 细胞介导的细胞免疫是最为重要的免疫方式, T 细胞水平会随着病情的加重而降低^[14-15], 新冠病毒可以快速激活致病性 Th1 细胞以分泌促炎因子, 如粒细胞巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF), 细胞因子环境诱导高表达 IL-14 的 CD16⁺单核细胞并加速炎症, 同时, 激活的单核细胞产生大量 IL-6、TNF- α 和其他

表 1 TB-COVID 组和 TB 组流行病学比较 [$M(P25, P75)$]

Tab. 1 Epidemiological comparison between TB-COVID and TB [$M(P25, P75)$]

检验指标	TB-COVID	TB	Z	P
年龄(岁)	49 (31, 62)	44 (29, 57)	-2.117	0.034*
性别(男:女)	111(70:41)	1649(880:769)	2.871	0.047*

* $P < 0.05$ 。

表 2 TB-COVID 组和 TB 组实验室指标分析 [$M(P25, P75)$]

Tab. 2 Analysis of laboratory indicators in TB-COVID and TB [$M(P25, P75)$]

检验指标	TB-COVID	TB	Z	P
CD16 ⁺ CD56 ⁺ (个/ μ L)	191(148, 285)	169(109, 262)	1.048	0.298
CD19 ⁺ (个/ μ L)	109(43, 209)	171(104.5, 270)	-4.417	<0.001*
CD3 ⁺ (个/ μ L)	830(584, 1131)	1005(737.5, 1317)	-3.206	0.043*
CD4 ⁺ (个/ μ L)	437(322, 631)	567(405.5, 765)	-3.516	0.006*
CD8 ⁺ (个/ μ L)	350(223, 490)	381(268, 538.5)	-3.044	0.469
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ (个/ μ L)	1.46(0.99, 2.04)	1.47(1.12, 1.905)	-1.507	0.057
CD4 ⁺ CD8 ⁺ (个/ μ L)	12(8, 22)	16(11, 25)	-2.681	0.086
CD4 ⁻ CD8 ⁻ (个/ μ L)	40(22, 68)	43(24, 71)	-1.406	0.096
NK(个/ μ L)	50(26, 75)	61(38, 97.5)	-2.761	0.074
lymphocyte(个/ μ L)	1210.0(893.0, 1597.0)	1400.0(1063.5, 1827.5)	-2.913	0.042*
IL-10(pg/mL)	2.97(2.42, 5.37)	2.71(2.45, 3.115)	3.573	0.007*
IL-12p70(pg/mL)	2.59(2.24, 3.14)	2.41(2.23, 2.67)	2.435	0.052
IL-17(pg/mL)	5.72(1.36, 11.47)	2.36(1.45, 9.39)	2.465	0.021*
IL-1 β (pg/mL)	2.90(1.94, 6.10)	4.30(2.11, 8.78)	-1.542	0.308
IL-2(pg/mL)	2.50(2.10, 3.09)	2.49(2.22, 2.91)	0.389	0.436
IL-4(pg/mL)	2.40(1.74, 2.62)	2.14(1.86, 2.515)	0.601	0.834
IL-6(pg/mL)	9.73(3.11, 18.85)	3.72(2.83, 6.02)	3.665	0.001*
IL-8(pg/mL)	1.31(0.87, 3.69)	1.32(1.11, 4.665)	-1.653	0.034*
IFN- α (pg/mL)	2.50(2.21, 3.14)	2.64(2.35, 3.00)	-0.475	0.531
IFN- γ (pg/mL)	3.36(2.29, 7.88)	4.00(2.83, 7.84)	-0.007	0.591
TFN- α (pg/mL)	2.48(1.47, 2.93)	2.19(1.52, 3.23)	1.048	0.338

* $P < 0.05$ 。

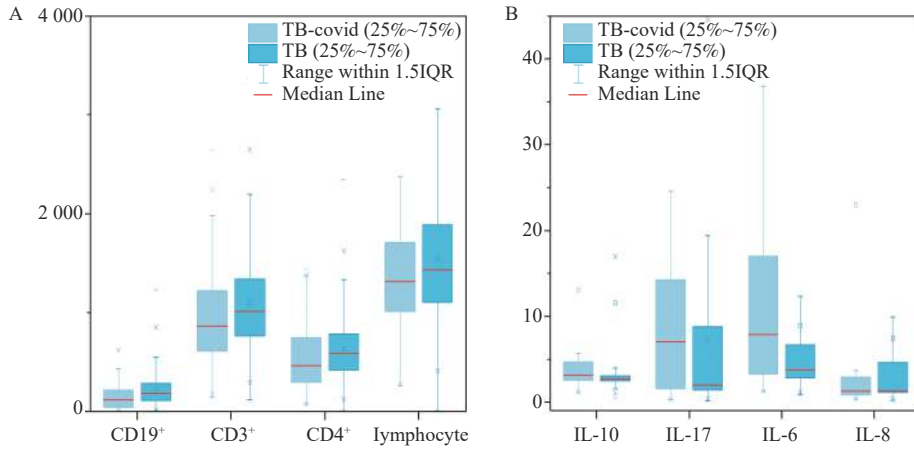


图 1 TB-COVID 和 TB 组间有统计学意义的差异指标

Fig. 1 Statistically significance between TB-COVID and TB

A: 淋巴细胞差异; B: 细胞因子差异。

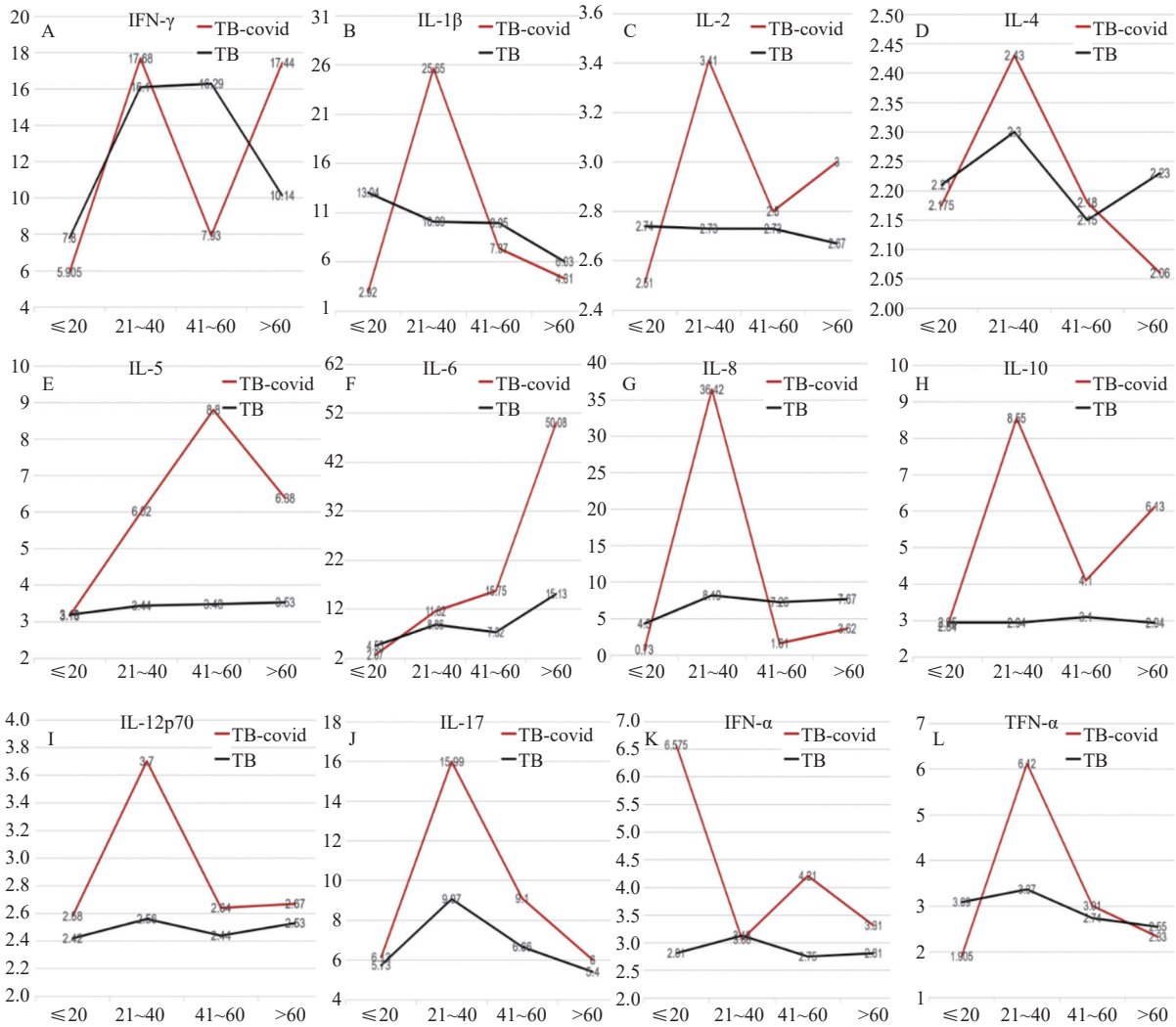


图 2 不同年龄段人群中的细胞因子水平比较

Fig. 2 Comparison of cytokines in different age groups

A: IFN-γ ; B: IL-1β ; C: IL-2; D: IL-4; E: IL-5; F: IL-6; G: IL-8; H: IL-10; I: IL-12p70; J: IL-17; K: IFN-α ; L: TFN-α .

细胞因子, 这些细胞因子的短时期内高表达是 COVID-19 的特征之一^[16], 已发现 COVID-19 和 TB 发生的免疫应答失调交叉影响, 这表明合并感染带来的双重风险会加重 COVID-19 的恶化程度, 同时 COVID-19 感染诱发的超炎症环境也可能会加速 TB 的进展^[14], 重症 COVID-19 的特征是淋巴细胞减少, 加之免疫抑制药物的使用, 或导致机体对 MTB 特异性抗原的免疫反应降低, 这也解释了此次研究中 TB-COVID 组 CD19⁺、CD3⁺、CD4⁺、lymphocyte 均显著低于 TB 组 ($P < 0.05$) 的原因, 南非的一项研究显示^[17], COVID-19 患者外周血中 TB 特异性 CD19⁺B 细胞显著降低, 这与本次研究结果一致, 认为 TB 患者淋巴细胞减少会降低机体对 COVID-19 的免疫反应, 也降低了特异性 CD4⁺T 细胞的多功能潜力, 在潜伏性结核分枝杆菌感染者中, COVID-19 引起的严重淋巴细胞减少和类固醇治疗可能由于细胞免疫的短暂抑制而使患者进展为活动性结核病或通过减少靶向结核分枝杆菌的记忆 T 细胞池增加进行性原发性结核感染的风险。COVID-19 感染除了会损害适应性免疫系统中的 CD4⁺T 淋巴细胞外, 对 CD19⁺淋巴细胞的损伤也不容忽视, 学者对早期 COVID-19 感染后幸存者进行免疫组库测序, 显示 T 细胞和 B 细胞表达和功能异常, T 细胞受体/B 细胞受体克隆增多, 多样性降低, 类转换重组异常, CD19⁺淋巴细胞数量减少, 对病毒的易感性高^[17], 与本研究中 CD19⁺的结果一致。

细胞因子风暴, 是抗炎和促炎的平衡紊乱引起机体免疫调控失衡, 涉及始动、免疫细胞的活化及器官功能障碍等多个阶段, 目前已被报道可能参与 COVID-19 细胞因子风暴的细胞因子以及下游信号通路包括 IL-6/JAK/STAT、IFN- γ /JAK/STAT、TNF α /NF- κ B、IL-1 β /NLRP3、IL-2/IL-2R/JAK/STAT5、IL-7/IL-7R、IL-10、IL-17、IL-12 以及 GM-CSF 通路^[18-19], IL-6 通过血小板膜糖蛋白 6(gp6)与可溶性 sIL-130 受体结合形成 IL-6-sIL-6R 复合物, 可激活非免疫细胞中的信号传导及转录激活蛋白(STAT3), 核因子 κ B(NF- κ B) 和 STAT3 都能够激活 IL-6 放大器以诱导各种促炎细胞因子和趋化因子, 包括血管内皮生长因子、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、IL-8 和 IL-6^[20]。IL-6 不仅与 sIL-6R 结合以参与顺式信号传导, 而且还可以通过 gp6 与膜结合的 IL-6 受体(mIL-130R)结合以在反式信号传导中起作用, 后者可导致获得性免疫途径受损和先天免疫不受控制等多效性作用, 导致细胞因子风暴^[21], 此次研究中,

IL-10、IL-17 和 IL-6 在 TB-COVID 组中高表达, 认为与 COVID-19 感染导致的细胞因子风暴密不可分。有学者提出, 青少年结核高发的情况下, 不该忽视宿主年龄对 TB 和 COVID-19 免疫反应的影响, 以期得到有关 2 种感染间相互作用的更直观可靠数据^[22], 对此, 笔者将研究对象按年龄分组进行比较后, 原本组间差距不显著的 IL-1 β 、IL-2、IL-4、TNF- α 均在 21~40 岁时表现出 TB-COVID 组远超 TB 组, 并随年龄增长逐渐回落, 认为与该年龄段人群自身免疫功能较强导致炎症发生后机体内即刻反应并激活这部分细胞因子参与抗炎有密不可分的关系, 而不能因全 TB-COVID 组人群中未与 TB 组拉开差距而忽视其作用。

此次研究为回顾性分析, 数据的完整性和同质性尚有不足。今后的研究中, 团队会对 TB 及 COVID-19 感染者的病程等因素进行分层分析, 评估 COVID-19 与 TB 之间的相互作用, 进一步明确 TB 合并 COVID-19 患者体内免疫指标的变化, 通过特异性或非特异性的策略及时有效地靶向不同的细胞因子通路, 协助临床制定更合理的策略以加强痨病防治。

[参考文献]

- [1] WHO. Global tuberculosis report 2023; World Health Organization [EB/OL]. [2023-11-7]. <https://www.who.int/teams/global-tuberculosis-programme/tb-reports>.
- [2] Bagceci S. WHO's global tuberculosis report 2022[J]. *Lancet Microbe*, 2023, 4(1): e20.
- [3] Azkur A K, Akdis M, Azkur D, et al. Immune response to SARS-CoV-2 and mechanisms of immunopathological changes in COVID-19[J]. *Allergy*, 2020, 75(7): 1564-1581.
- [4] Sokolowska M, Lukasik Z M, Agache I, et al. Immunology of COVID-19: Mechanisms, clinical outcome, diagnostics, and perspectives—a report of the European Academy of Allergy and Clinical Immunology (EAACI) [J]. *Allergy*, 2020, 75(10): 2445-2476.
- [5] Zhang H P, Sun Y L, Wang Y F, et al. Recent developments in the immunopathology of COVID-19[J]. *Allergy*, 2023, 78(2): 369-388.
- [6] TB/COVID-19 global study group. Tuberculosis and COVID-19 co-infection: Description of the global cohort[J]. *Eur Respir J*, 2022, 59(3): 262.

- [7] Luke E, Swafford K, Shirazi G, et al. TB and COVID-19: an exploration of the characteristics and resulting complications of co-infection[J]. *Front Biosci (Schol Ed)*, 2022, 14(1): 6.
- [8] 高雯琬, 郭建琼, 李同心, 等. 《结核病免疫治疗专家共识(2022年版)》要点解读[J]. *结核与肺部疾病杂志*, 2023, 4(3): 194-197.
- [9] Wik J A, Skålhegg B S. T cell metabolism in infection[J]. *Front Immunol*, 2022, 13: 840610.
- [10] de Martino M, Lodi L, Galli L, Chiappini E. Immune response to mycobacterium tuberculosis: A narrative review[J]. *Front Pediatr*, 2019, 7: 350.
- [11] 邓小博, 马欢欢, 俞荣, 等. 新冠病毒感染后细胞免疫研究进展[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(10): 1590-1595.
- [12] 王黎霞, 成诗明, 周林, 等. 肺结核诊断 WS 288—2017[J]. *中国感染控制杂志*, 2018, 17(7): 642-652.
- [13] 中国国家卫计委编委. 新型冠状病毒感染诊疗方案(试行第十版)[J]. *传染病信息*, 2023, 36(1): 18-25.
- [14] Visca D, Ong C W M, Tiberi S, et al. Tuberculosis and COVID-19 interaction: A review of biological, clinical and public health effects[J]. *Pulmonology*, 2021, 27(2): 151-165.
- [15] Ahmed A, Vyakarnam A. Emerging patterns of regulatory T cell function in tuberculosis[J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 202(3): 273-287.
- [16] Hu B, Huang S, Yin L. The cytokine storm and COVID-19[J]. *J Med Virol*, 2021, 93(1): 250-256.
- [17] Riou C, du Bruyn E, Stek C, et al. Relationship of SARS-CoV-2-specific CD4 response to COVID-19 severity and impact of HIV-1 and tuberculosis coinfection[J]. *J Clin Invest*, 2021, 131(12): e149125.
- [18] Jarczак D, Nierhaus A. Cytokine Storm—Definition, causes, and implications[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(19): 11740.
- [19] Yang L, Xie X, Tu Z, et al. The signal pathways and treatment of cytokine storm in COVID-19[J]. *Signal Transduct Target Ther*, 2021, 6(1): 255.
- [20] Murakami M, Kamimura D, Hirano T. Pleiotropy and specificity: Insights from the interleukin 6 family of cytokines[J]. *Immunity*, 2019, 50(4): 812-831.
- [21] Moore J B, June C H. Cytokine release syndrome in severe COVID-19[J]. *Science*, 2020, 368(6490): 473-474.
- [22] Swanepoel J, van der Zalm M M, Preiser W, et al. SARS-CoV-2 infection and pulmonary tuberculosis in children and adolescents: A case-control study[J]. *BMC Infect Dis*, 2023, 23(1): 442.