

NLRP3 及相关细胞因子在 HIV / TB 双重感染者血清中表达水平的研究

刘雅¹, 李黎^{1,2,3}, 吴玉华^{1,2}

(1.石河子大学医学院,新疆 石河子 832000;

2.喀什地区第一人民医院呼吸内科,新疆 喀什 844000;

3.省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室,新疆 喀什 844000)

摘要:目的 研究 HIV/TB 双重感染者血清中 NLRP3 炎症小体及相关细胞因子的表达水平。方法 收集 2021 年 1 月-12 月喀什地区第一人民医院收治的 HIV、TB、HIV/TB 患者为研究对象,分别设为 HIV 组、TB 组、HIV/TB 组,每组 20 例,使用酶联免疫吸附法检测患者血清 IL-6、IL-17、IL-22、IL-23、TNF- α 的表达水平,使用实时荧光定量 PCR 检测患者血清中 NLRP3mRNA 的表达水平。比较各组实验室指标。结果 HIV/TB 组 IL-6、IL-17、IL-22、NLRP3mRNA 水平高于 TB 组,IL-23 水平低于 TB 组,差异有统计学意义 ($P<0.05$);HIV/TB 组 IL-6、IL-17、IL-22、IL-23、TNF- α 及 NLRP3mRNA 水平高于 HIV 组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。结论 HIV/TB 双重感染患者较单纯 HIV 患者、TB 感染者体内细胞因子失衡更加明显,可能与疾病的发生发展密切相关。

关键词:结核分枝杆菌;HIV/TB 双重感染;白细胞介素;NLRP3

中图分类号:R512.91;R521

文献标识码:A

DOI:10.3969/j.issn.1006-1959.2024.03.023

文章编号:1006-1959(2024)03-0118-03

The Expression Levels of Serum NLRP3 and Related Cytokines in HIV/TB Co-infected Patients

LIU Ya¹, LI Li^{1,2,3}, WU Yu-hua^{1,2}

(1.Shihezi University School of Medicine, Shihezi 832000, Xinjiang, China;

2.Department of Respiratory Medicine, the First People's Hospital of Kashi Prefecture, Kashi 844000, Xinjiang, China;

3.State Key Laboratory of Pathogenesis, Prevention and Treatment of High Incidence Diseases in Central Asia, Kashi 844000, Xinjiang, China)

Abstract: Objective To investigate the expression levels of NLRP3 and related cytokines in the serum of HIV/TB co-infected patients.

Methods HIV, TB and HIV/TB patients admitted to the First People's Hospital of Kashgar Prefecture from January to December 2021 were collected as the research objects, which were set as HIV group, TB group and HIV/TB group, with 20 patients in each group. The expression levels of IL-6, IL-17, IL-22, IL-23 and TNF- α in serum of patients were detected by enzyme-linked immunosorbent assay, and the expression levels of NLRP3mRNA in serum of patients were detected by real-time fluorescence quantitative PCR. The laboratory indexes of each group were compared. **Results** The levels of IL-6, IL-17, IL-22 and NLRP3mRNA in HIV/TB group were higher than those in TB group, and the level of IL-23 was lower than that in TB group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The levels of IL-6, IL-17, IL-22, IL-23, TNF- α and NLRP3 mRNA in HIV/TB group were higher than those in HIV group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** The imbalance of cytokines in patients with HIV/TB co-infection is more obvious than that in HIV patients and TB patients, which may be closely related to the occurrence and development of the disease.

Key words: Mycobacterium tuberculosis; HIV/TB co-infection; Interleukin; NLRP3

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌引起的慢性传染病,也是 HIV 感染患者最常见的机会性感染和死亡的主要原因之一^[1]。HIV 感染患者循环中 CD4⁺T 淋巴细胞减少,使细胞对肺结核抗原应答

能力严重受限,还会增加机体内炎症因子的分泌,使患者容易感染结核分枝杆菌(MTB)^[2]。两种疾病可相互影响,加速疾病的进程,严重影响患者的生存质量。NLRP3 炎症小体是一个蛋白复合物,也是机体

基金项目:1.“珠江学者·天山英才”合作专家工作室创新团队计划项目(编号:KDYY202016);2.省部共建中亚高发病成因与防治国家重点实验室开放课题项目(编号:SKL-HIDCA-2020-10、SKL-HIDCA-2020-KS1)

作者简介:刘雅(1993.10-),女,湖北黄冈人,硕士研究生,住院医师,主要从事呼吸内科疾病研究

通讯作者:吴玉华(1967.2-),女,新疆喀什人,硕士,主任医师,主要从事慢性阻塞性肺疾病的研究

固有免疫的重要组成成分,能够促进多种促炎性细胞因子的成熟和分泌,参与许多炎症性疾病、病毒感染等疾病的发生发展^[3]。基于此,本研究对 TB 感染者、HIV 感染者、HIV/TB 双重感染者血清中 NLRP3mRNA 及相关细胞因子表达水平进行研究及比较,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2021 年 1 月-12 月喀什地区第一人民医院收治的 HIV、TB、HIV/TB 患者为研究对象,分别设为 HIV 组、TB 组、HIV/TB 组,每组 20 例。TB 患者纳入标准:满足以下任何一条,2 次或以上查痰涂片抗酸杆菌阳性;查痰涂片抗酸杆菌阳性,同时结核分枝杆菌培养阳性;痰涂片查抗酸杆菌阳性,同时影像学支持肺结核;影像学支持肺结核,同时病理检查支持肺结核,即可确诊。HIV 患者纳入标准:参照艾滋病诊疗指南^[4],研究对象经我院或外院艾滋病实验室初筛阳性,后经喀什地区预防控制中心艾滋病确认实验室确认为阳性。HIV/TB 患者纳入标准:同时满足 TB 和 HIV 的诊断标准。排除标准:已启动抗结核或抗病毒治疗;所有可能影响 Th17/Treg 细胞(IL-10/IL-23)的疾病,如肺炎、肿瘤、心血管疾病、血液系统疾病等。单纯 TB 组男 9 例,女 11 例;年龄 21~67 岁,平均年龄(58.50±14.94)岁。HIV 组男 13 例,女 7 例;年龄 29~56 岁,平均年龄(41.80±

11.01)岁。HIV/TB 组男 10 例,女 10 例;年龄 36~62 岁,平均年龄(49.00±9.98)岁。三组年龄、性别比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。本研究均获得医院伦理委员审批及参与者书面知情同意。

1.2 方法 取 5 ml 血清标本,采用 ELISA 检测血清中 IL-6、IL-17、IL-22、IL-23、TNF- α 的浓度,严格按照 ELISA 检测试剂盒的使用说明书进行,所有试剂盒均购自中国达科为公司,测定仪器为 EnSpire 公司酶标仪。采用 RT-PCR 检测 NLRP3 mRNA 表达水平,根据试剂盒说明书提取总 RNA,逆转录后进行 RT-PCR 分析,测定仪器为 Biometra GmbH 公司 SL96 Gradient PCR 仪。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 21.0 统计学软件进行数据处理,计量资料采用($\bar{x}\pm s$)表示,组间差异采用单因素方差分析;计数资料以(n)表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

三组 IL-6、IL-17、IL-22、IL-23、TNF- α 、NLRP3mRNA 水平比较,差异有统计学意义($P<0.05$),且 HIV/TB 组血清 IL-6、IL-17、IL-22、TNF- α 和 NLRP3mRNA 水平高于 TB 组,IL-23 水平低于 TB 组($P<0.05$);HIV/TB 组血清中 IL-6、IL-17、IL-22、IL-23、TNF- α 和 NLRP3mRNA 水平高于 HIV 组($P<0.05$),见表 1。

表 1 各组血清指标比较($\bar{x}\pm s$,pg/ml)

组别	TB 组($n=20$)	HIV 组($n=20$)	HIV/TB 组($n=20$)	F	P
IL-6	34.61±5.62	22.82±5.46	42.14±6.85	52.529	<0.05
IL-17	37.26±6.33	28.78±4.51	42.62±5.31	32.960	<0.05
IL-22	24.94±4.18	38.30±3.84	64.91±7.07	302.546	<0.05
IL-23	101.70±5.25	29.33±4.70	72.87±8.44	658.835	<0.05
TNF- α	39.35±5.95	30.45±4.23	45.80±6.92	35.236	<0.05
NLRP3mRNA	2.58±1.05	4.92±1.47	13.55±8.15	28.706	<0.05

3 讨论

艾滋病患者易发生结核分枝杆菌的机会性感染,HIV 感染者中有 1/3 同时感染结核杆菌,且 HIV 感染可使活动性 TB 的风险增加 30 倍^[5,6]。HIV/TB 不仅对个体健康影响极大,并且对社会安全也存在严重威胁,目前的发病机制仍不明确。随着人们对 HIV/TB 研究的深入,发现炎症和超免疫激活是 HIV-1 发病机制的标志物,炎性小体的研究是 HIV-1 研究中较新的研究领域^[7,8]。

NLRP3 炎症小体作为固有免疫的成分,参与许多炎症反应的发生。NLRP3 炎性小体的激活可以导致细胞焦亡,而且还导致其他类型的细胞死亡,包括凋亡、坏死和铁细胞凋亡^[9]。研究发现^[10],NLRP3 炎性小体衍生的细胞因子 IL-1 β 和 IL-18,以及补体级联独立参与 TB-免疫重建炎症综合征(TB-iris)的发病机制。也有文献报道^[11],NLRP3 rs10754558 的变异与开始抗逆转录病毒治疗的 HIV/TB 双重感染者的早期死亡率独立相关,提示 NLRP3 炎症小体可能通

过调节细胞因子的水平参与 HIV/TB 共感进程^[3,12]。Walsh JG 等^[13]研究发现,NLRP3 炎性体相关基因的表达在 HIV-1 感染患者脑中上调。本研究结果发现,HIV/TB 双重感染者 NLRP3 水平高于单纯 TB 者及单纯 HIV 者,提示 NLRP3 的升高受双重感染影响更大。NLRP3 炎症小体活化后产生的 IL-1 β 可以与 IL-6 和趋化因子招募中性粒细胞,促进 Th17 细胞分化增加 IL-17、IL-22 分泌^[12]。本研究结果发现,HIV/TB 双重感染者 IL-6、IL-17、IL-22 和 TNF- α 水平较单纯 HIV 者或单纯 TB 者上升更明显,表明 HIV/TB 双重感染者影响 Th1 和 Th2 细胞的功能。而 HIV/TB 双重感染者 Th1 细胞因子 TNF- α 水平及 Th2 细胞因子 IL-6 均上升,未发现 Th1 细胞功能向 Th2 转化,与国内很多研究不符^[14-16]。研究结果差异可能与患者病程较短,细菌与病毒的双重作用及细胞因子间的相互作用有关,值得深入研究。Th17 细胞是产生 IL-17 的 CD4⁺T 细胞,它也产生 IL-21、IL-22 和 IL-26 等^[17]。本研究也发现,HIV/TB 双重感染者 IL-17、IL-22 升高,而促炎性细胞因子 IL-23 在 HIV/TB 双重感染者中的水平高于单纯 HIV 者,同时其在 HIV/TB 双重感染者中的水平低于单纯 TB 者。IL-23 是 Th17 细胞分化和生长所必需的一种因子,但 IL-23 不是 Th17 唯一依赖的细胞因子,同时 IL-23 的产生部分依赖于 NLRP3 炎症小体信号和 IL-1 β ^[18]。细胞因子之间的相互作用对结果产生了一定影响,也可能有其他的细胞因子、信号通路等复杂机制参与 HIV/TB 共感染过程有关。

综上所述,HIV/TB 患者外周血中 IL-6、IL-17、IL-22、TNF- α 、NLRP3mRNA 增高,Th17、Th1 与 Th2 免疫平衡紊乱,细胞因子的变化水平与病程长短也有一定关系。

参考文献:

- [1]Hull MW,Phillips P,Montaner JSG.Changing Global Epidemiology of Pulmonary Manifestations of HIV/AIDS[J].Chest,2008,134(6):1287-1298.
- [2]黎运娇.艾滋病合并巨细胞病毒感染与 CD4⁺T 淋巴细胞数的关系[D].南宁:广西医科大学,2016.
- [3]Feria MG,Taborda NA,Hernandez JC,et al.HIV replication is associated to inflammasomes activation, IL-1 β , IL-18 and caspase-1 expression in GALT and peripheral blood [J].PLoS One,2018,13(4):e0192845.
- [4]中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组,中国疾病预防控制中心.中国艾滋病诊疗指南(2021 年版)[J].中华内科杂志,2021,60(12):1106-1128.
- [5]Dye C,Williams BG.Tuberculosis decline in populations affected by HIV: a retrospective study of 12 countries in the WHO African Region [J].Bull World Health Organ,2019,97(6):405-414.
- [6]Mupfumi L,Mpande CAM,Reid T,et al.Immune Phenotype and Functionality of Mtb-Specific T-Cells in HIV/TB Co-Infected Patients on Antiretroviral Treatment[J].Pathogens,2020,9(3):180.
- [7]Paiardini M,Muller-Trutwin M.HIV-associated chronic immune activation[J].Immunol Rev,2013,254(1):78-101.
- [8]Sereti I,Altfield M.Immune activation and HIV:an enduring relationship[J].Curr Opin HIV AIDS,2016,11(2):129-130.
- [9]Swanson KV,Deng M,Ting JP.The NLRP3 inflammasome: molecular activation and regulation to therapeutics [J].Nat Rev Immunol,2019,19(8):477-489.
- [10]Lage SL,Wong CS,Amaral EP,et al.Classical complement and inflammasome activation converge in CD14highCD16- monocytes in HIV associated TB-immune reconstitution inflammatory syndrome[J].PLoS Pathog,2021,17(3):e1009435.
- [11]Ravimohan S,Nfanyana K,Tamuhla N,et al.Common Variation in NLRP3 Is Associated With Early Death and Elevated Inflammasome Biomarkers Among Advanced HIV/TB Co-infected Patients in Botswana[J].Open Forum Infect Dis,2018,5(5):ofy075.
- [12]Tan HY,Yong YK,Shankar EM,et al.Aberrant Inflammasome Activation Characterizes Tuberculosis-Associated Immune Reconstitution Inflammatory Syndrome [J].J Immunol,2016,196(10):4052-4063.
- [13]Walsh JG,Reinke SN,Mamik MK,et al.Rapid inflammasome activation in microglia contributes to brain disease in HIV/AIDS [J].Retrovirology,2014,11(1):35.
- [14]磨立达,黄宛虹,刘泽端,等.HIV/AIDS 合并 CM 患者 IL-10 对 Th1/Th2 免疫调节机制探讨 [J].检验医学与临床,2022,19(1):26-30.
- [15]赵方,刘晓宁,程林,等.SOCS3 及相关细胞因子在 HIV/TB 双重感染者血清中表达水平的研究[J].中华实验和临床病毒学杂志,2017,31(6):515-518.
- [16]赵琼,沈毅弘,周建英.人类免疫缺陷病毒感染合并肺结核患者 Th1/Th2 失衡的研究[J].中华检验医学杂志,2005,28(8):802-804.
- [17]Li Y,Sun W.Effects of Th17/Treg cell imbalance on HIV replication in patients with AIDS complicated with tuberculosis [J].Exp Ther Med,2018,15(3):2879-2883.
- [18]Gaffen SL,Jain R,Garg AV,et al.The IL-23-IL-17 immune axis:from mechanisms to therapeutic testing [J].Nat Rev Immunol,2014,14(9):585-600.

收稿日期:2023-02-10;修回日期:2023-03-01

编辑/杜帆