

• 论著 •

早期分泌抗原靶 6 及免疫和炎症指标对抗结核药物性肝损伤的诊断价值

陆霓虹 沈凌筠 刘洪璐 陈杨君 杨艳 杜映荣

【摘要】 目的：分析相关免疫及炎症指标对抗结核药物性肝损伤的诊断价值。**方法：**选择 2019 年 1 月至 2021 年 1 月昆明市第三人民医院收治的符合入组标准的肺结核患者 325 例[包括发生抗结核药物性肝损伤的患者 115 例(A 组)和未发生肝损伤的患者 210 例(B 组)]和同期的门诊健康体检者 98 名(C 组)作为研究对象。采用多因素 logistic 回归模型分析 3 组研究对象中免疫细胞、炎症指标、血清早期分泌抗原靶 6(ESAT-6)及基质金属蛋白酶 9(MMP-9)和 MMP-14 与发生抗结核药物性肝损伤的相关性。**结果：**A 组患者年龄中位数(四分位数)[51.2 (18.9, 77.2)岁]高于 B 组[39.1(19.7, 63.3)岁]和 C 组[36.3(20.1, 61.3)岁],差异均有统计学意义($H=27.695$ 、 29.982 , P 值均 $=0.000$); A 组患者 $CD4^+$ T 淋巴细胞计数[295.0(155.0, 449.0)个/ μ l]低于 B 组[571.0(397.0, 642.0)个/ μ l]和 C 组[775.0(710.0, 993.0)个/ μ l],差异均有统计学意义($H=27.225$ 、 40.117 , P 值均 $=0.000$); A 组血浆降钙素原(PCT)[4.3(0.9, 11.5) ng/ml]、D-二聚体[4.5(0.7, 8.4) μ g/ml]、ESAT-6[59.3(27.1, 66.5) pg/ml]、MMP-9[29.1(18.6, 39.6) ng/ml]表达水平平均高于 B 组 [分别为 2.8(0.5, 8.6) ng/ml、2.3(0.5, 5.1) μ g/ml、32.5(25.8, 59.2) pg/ml、17.2(12.7, 21.3) ng/ml],差异均有统计学意义($H=28.991$ 、 29.879 、 32.045 、 31.122 , P 值均 $=0.000$); A 组和 B 组 MMP-14 表达量[分别为 54.7(41.4, 66.7) ng/ml 和 60.2(45.2, 65.1) ng/ml]均高于 C 组[5.5(2.8, 6.3) ng/ml],差异均有统计学意义($H=49.209$ 、 53.436 , P 值均 $=0.000$)。多因素 logistic 回归分析显示,高龄(>65 岁)、ESAT-6 升高(>30.5 pg/ml)是抗结核药物性肝损伤发生的独立危险因素[$OR(95\%CI)=11.289(4.355\sim24.361)$, $P=0.000$; $OR(95\%CI)=9.479(3.340\sim21.653)$, $P=0.000$]。**结论：**针对高龄和 ESAT-6 高表达肺结核患者及早使用保肝药物,可能会降低抗结核药物性肝损伤发生的风险。对 $CD4^+$ T 淋巴细胞计数较低,降钙素原、D-二聚体和 MMP-9 高表达的肺结核患者也应提高警惕。

【关键词】 抗结核药; 药物性肝损伤; 免疫因子类; 回归分析

【中图分类号】 R978.3; R575.1

Clinical value of ESAT-6, immune and inflammatory indexes in the diagnosis of anti-tuberculosis drug-induced liver injury LU Ni-hong, SHEN Ling-jun, LIU Hong-lu, CHEN Yang-jun, YANG Yan, DU Ying-rong. The Third People's Hospital of Kunming/Yunnan Provincial Clinical Medical Center for Infectious Diseases, Kunming 650041, China

Corresponding author: DU Ying-rong, Email: dyr_km@163.com

【Abstract】 Objective: To analyze the diagnostic value of related immune and inflammatory indexes in anti-tuberculosis drug-induced liver injury. **Methods:** A total of 325 patients with pulmonary tuberculosis treated in the Third People's Hospital of Kunming from January 2019 to January 2021 (including 115 patients with anti-tuberculosis drug-induced liver injury (group A) and 210 patients without liver injury (group B)) and 98 healthy outpatients in the same period (group C) were selected as subjects. Multivariate logistic regression model was used to analyze the factors related to anti-tuberculosis drug-induced liver injury in three groups: immune cells, inflammatory markers, early secretory target antigen-6 (ESAT-6), matrix metalloprotein-9 (MMP-9) and matrix metalloprotein-14 (MMP-14). **Results:** The age of patients in group A (51.2 (18.9, 77.2) years) was higher than that in group B (39.1 (19.7, 63.3) years) and group C (36.3 (20.1, 61.3) years), the difference was statistically



开放科学(资源服务)标识码(OSID)的开放科学计划以二维码为入口,提供丰富的线上扩展功能,包括作者对论文背景的语音介绍、该研究的附加说明、与读者的交互问答、拓展学术圈等。读者“扫一扫”此二维码即可获得上述增值服务。

doi:10.19982/j.issn.1000-6621.20220091

基金项目:昆明市科技计划重点项目(2019-1-N-25318000003253);
云南省科学技术厅地方高校联合专项(202001BA070001-134)

作者单位:昆明市第三人民医院/云南省传染病临床医学中心,昆明 650041

通信作者:杜映荣,Email: dyr_km@163.com

significant ($H=27.695, 29.982$; $P=0.000$). The $CD4^+$ T lymphocyte count in group A patients (295.0 (155.0, 449.0) cells/ μ l) was lower than that in group B (571.0 (397.0, 642.0) cells/ μ l), and lower than that in group C (775.0 (710.0, 993.0) cells/ μ l), the difference were statistically significant ($H=27.225, 40.117$; $P=0.000$). The plasma procalcitonin (PCT) (4.3 (0.9, 11.5) ng/ml), D-dimer (4.5 (0.7, 8.4) μ g/ml), ESAT-6 (59.3 (27.1, 66.5) pg/ml) and MMP-9 (29.1 (18.6, 39.6) ng/ml) in group A were higher than those of PCT (2.8 (0.5, 8.6) ng/ml), D-dimer (2.3 (0.5, 5.1) μ g/ml), ESAT-6 (32.5 (25.8, 59.2) pg/ml) and MMP-9 (17.2 (12.7, 21.3) ng/ml) in group B, the differences were statistically significant ($H=28.991, 29.879, 32.045, 31.122$; $P=0.000$). The expression levels of MMP-14 in group A (54.7 (41.4, 66.7) ng/ml) and group B (60.2 (45.2, 65.1) ng/ml) were higher than those in group C (5.5 (2.8, 6.3) ng/ml). The differences were statistically significant ($H=49.209, 53.436$; $P=0.000$). Multivariate logistic regression analysis showed that advanced age (>65 years old) and high expression of ESAT-6 (>30.5 pg/ml) were independent risk factors for the occurrence of anti-tuberculosis drug-induced liver injury (OR (95%CI)=11.289 (4.355–24.361), $P=0.000$; OR (95%CI)=9.479 (3.340–21.653), $P=0.000$). **Conclusion:** Early use of hepatoprotective drugs in pulmonary tuberculosis patients with advanced age and high expression of ESAT-6 may reduce the risk of anti-tuberculosis drug-induced liver injury. The vigilance should also be raised for pulmonary tuberculosis patients with low $CD4^+$ T lymphocyte counts, high procalcitonin, D-dimer and MMP-9 expression.

【Key words】 Antitubercular agents; Drug-induced liver injury; Immunologic factors; Regression analysis

【Fund program】 Key Projects of Kunming Science and Technology Plan (2019-1-N-25318000003253); The Joint Project of Local Colleges and Universities of Yunnan Provincial Department of Science and Technology (202001BA070001-134)

目前,四联抗结核药物治疗方案是最有效的治疗肺结核(pulmonary tuberculosis,PTB)的方法^[1]。但是随着抗结核药物性肝损伤(anti-tuberculosis drug-induced liver injury, ATB-DILI)的发生率不断上升,停用抗结核药物导致的结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)耐药率也在明显增加^[2]。如何降低 ATB-DILI 的发生率,探寻其临床影响因素已是目前 ATB-DILI 防治研究的热点。早期分泌抗原靶 6(early secreted antigenic target-6, ESAT-6)作为结核分枝杆菌毒力因子,可诱发机体产生炎症反应,从而产生多种参与肝损伤后不同阶段炎症和修复过程的炎症因子^[3],主要体现了 MTB 感染的严重性。而 MTB 感染引起的一系列炎症反应,又可引起炎症因子的表达上调,其中包括新的与肝损伤密切相关的可降解细胞外基质和激活人类肝星状细胞的基质金属蛋白酶 9(matrix metalloprotein, MMP-9)和 MMP-14^[4]。因此,笔者拟通过分析免疫指标、炎症指标、ESAT-6 和 MMP 在 ATB-DILI 患者中的表达,发现新的与 ATB-DILI 发生相关的评估因子及影响因素,为 ATB-DILI 的早期诊断及预防提供更多临床依据。

对象和方法

一、研究对象

选择 2019 年 1 月至 2021 年 1 月昆明市第三人民医院收治的符合入组标准的肺结核患者 325 例,其中发生 ATB-DILI 的患者 115 例(A 组),未发生

肝损伤的患者 210 例(B 组);同时收集同期门诊的健康体检者 98 名(C 组)。研究经昆明市第三人民医院伦理委员会批准(编号:201902313),所有入组患者均告知研究目的并签署知情同意书。

A 组中,男性患者 70 例(60.7%),女性患者 45 例(39.3%);年龄范围为 18~79 岁,年龄中位数(四分位数)为 51.2(18.9, 77.2)岁;体质量指数(BMI)为 18.2 ± 3.5 。B 组中,男性患者 122 例(58.1%),女性患者 88 例(41.9%),年龄范围为 19~61 岁,年龄中位数(四分位数)为 39.1(19.7, 63.3)岁;BMI 为 20.6 ± 2.8 。C 组中,男性 55 名(56.1%),女性 43 名(43.9%),年龄范围为 20~59 岁,年龄中位数(四分位数)为 36.3(20.1, 61.3)岁;BMI 为 21.2 ± 2.5 。3 组对象的年龄总体差异有统计学意义($H=29.721, P=0.000$),其中 A 组与 B 组、C 组的年龄差异均有统计学意义($H=27.695, P=0.000$; $H=29.982, P=0.000$),但 B 组和 C 组年龄的差异无统计学意义($H=3.245, P=0.137$);性别、BMI 的差异均无统计学意义($\chi^2=0.506, P=0.776$; $F=0.735, P=0.415$)。

二、研究方法

1. 患者入组标准:纳入首次住院诊断肺结核患者作为 A 组和 B 组。排除既往患各类型肝炎者;患各类免疫功能低下疾病(肿瘤、糖尿病等)者;接受免疫抑制剂治疗者;使用其他导致药物性肝损伤药物者;非首次确诊肺结核或耐药肺结核者。

2. 临床诊断标准:(1)肺结核:按照《WS 288—

2017 肺结核诊断》^[5] 的相关标准, 纳入患者为临床诊断及确诊病例; (2) ATB-DILI 诊断: 指使用 2H-R-Z-E/4H-R 抗结核治疗方案后, 患者在治疗过程中出现与抗结核药物使用直接相关的肝损伤。诊断标准符合中华医学会结核病学分会制定的《抗结核药物肝损伤诊治指南(2019 年版)》^[6]。

3. 检测指标及方法: (1) 白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)、血清降钙素原 (procalcitonin, PCT)、C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)、D-二聚体 (D-dimer, D-D) 和 T 淋巴细胞亚群 (CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞): 抽取患者清晨空腹血, 采用全自动生化分析仪检测肝功能、凝血功能、感染指标, 试剂盒购自瑞士罗氏公司及美国 RD 公司; 使用美国 BD 公司 FACSCalibur 型流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群。(2) ESAT-6、MMP-9 和 MMP-14: 血清管收集各组空腹静脉血 5 ml, 4 °C 低速离心机中以 2000 r/min 离心 5 min, 离心半径为 16.80 cm, 收集上清液于冻存管中。标本使用海尔 4 °C/-20 °C 冰箱保存。使用上海酶联生物公司的酶联免疫分析 (ELISA) 试剂盒 (货号分别为 ml037353、ml058617、ml026258) 和蛋白酶标仪 (美国 Molecular Innovations 公司的 SPECTCA MAX190) 采用双抗体夹心法检测血清 ESAT-6、MMP-9、MMP-14 的浓度。其中, 使用酶标仪测定 450 nm 波长下吸光度值, 通过标准曲线计算血清样本中不同 MMP 的含量; 使

用酶标仪检测 450 nm 波长下吸光度值, 根据标准品浓度和吸光度值做出标准曲线并计算回归方程, 再根据所得回归方程计算 ESAT-6 蛋白含量。

三、统计学处理

应用 SPSS 26.0 软件对数据进行统计分析。偏态分布的计量资料以“中位数(四分位数)[$M(Q_1, Q_3)$]”描述, 组间差异的比较采用 Kruskal-Wallis 秩和检验, 总体差异的比较选用 Kruskal-Wallis 单因素 ANOVA (k 样本) 检验。使用多因素 logistic 回归模型分析导致 ATB-DILI 发生的危险因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、不同炎症指标在 3 组研究对象中的检测情况

3 组研究对象的 CD4⁺ T 淋巴细胞计数、PCT 和 D-D 的差异均有统计学意义 (P 值均 < 0.05); CRP、IL-6 总体的差异均无统计学意义 (P 值均 > 0.05)。各组间两两比较, 仅 CD4⁺ T 淋巴细胞计数、PCT 和 D-D 的差异有统计学意义 (P 值均 < 0.05)。具体见表 1。

二、不同免疫指标在 3 组中的检测情况

与 C 组比较, ESAT-6 在 A 组与 B 组表达均升高, 3 组总体差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 进一步进行组间两两比较, 3 组间差异均有统计学意义

表 1 不同炎症指标在 3 组研究对象中的检测情况

观察指标	A 组 (115 例)	B 组 (210 例)	C 组 (98 名)	H 值	P 值 ^a	H 值	P 值 ^b	H 值	P 值 ^c	H 值	P 值 ^d
CD3 ⁺ T 淋巴细胞计数 [个/ μ l, $M(Q_1, Q_3)$]	579.0 (510.0, 766.0)	647.0 (557.0, 871.0)	825.0 (771.0, 1125.0)	2.187	0.191	2.101	0.192	2.985	0.188	2.157	0.190
CD4 ⁺ T 淋巴细胞计数 [个/ μ l, $M(Q_1, Q_3)$]	295.0 (155.0, 449.0)	571.0 (397.0, 642.0)	775.0 (710.0, 993.0)	41.433	0.000	27.225	0.000	40.117	0.000	39.221	0.000
CD8 ⁺ T 淋巴细胞计数 [个/ μ l, $M(Q_1, Q_3)$]	486.0 (412.0, 565.0)	592.0 (473.0, 614.0)	711.0 (536.0, 801.0)	3.675	0.185	3.421	0.189	3.776	0.193	3.261	0.195
CRP [mg/L, $M(Q_1, Q_3)$]	15.2 (3.5, 27.5)	12.8 (3.9, 26.4)	8.4 (2.9, 18.7)	4.832	0.126	4.552	0.131	4.773	0.122	4.235	0.133
IL-6 [pg/ml, $M(Q_1, Q_3)$]	24.5 (11.3, 43.0)	21.2 (9.7, 40.2)	15.5 (4.1, 35.2)	3.211	0.179	3.785	0.165	4.232	0.159	3.114	0.171
PCT [ng/ml, $M(Q_1, Q_3)$]	4.3 (0.9, 11.5)	2.8 (0.5, 8.6)	0.02 (0.01, 0.04)	36.575	0.000	28.991	0.000	34.267	0.000	32.334	0.000
D-二聚体 [μ g/ml, $M(Q_1, Q_3)$]	4.5 (0.7, 8.4)	2.3 (0.5, 5.1)	0.8 (0.3, 1.5)	39.641	0.000	29.879	0.000	38.213	0.000	31.285	0.000

注 CRP: C-反应蛋白; IL-6: 白细胞介素-6; PCT: 血清降钙素原; ^a: 3 组各指标总的差异比较; ^b: A 组与 B 组各指标的比较; ^c: A 组与 C 组各指标的比较; ^d: B 组与 C 组各指标的比较

表 2 ESAT-6、MMP-9、MMP-14 在 3 组研究对象中的检测情况

指标	A 组 (115 例)	B 组 (210 例)	C 组 (98 名)	H 值	P 值 ^a	H 值	P 值 ^b	H 值	P 值 ^c	H 值	P 值 ^d
ESAT-6 [pg/ml, M(Q ₁ , Q ₃)]	59.3 (27.1, 66.5)	32.5 (25.8, 59.2)	8.3 (3.1, 12.5)	41.993	0.000	32.045	0.000	42.912	0.000	38.765	0.000
MMP-9 [ng/ml, M(Q ₁ , Q ₃)]	29.1 (18.6, 39.6)	17.2 (12.7, 21.3)	3.2 (1.5, 3.8)	38.125	0.000	31.122	0.000	39.246	0.000	36.574	0.000
MMP-14 [ng/ml, M(Q ₁ , Q ₃)]	54.7 (41.4, 66.7)	60.2 (45.2, 65.1)	5.5 (2.8, 6.3)	52.631	0.000	5.628	0.257	49.209	0.000	53.436	0.000

注 ESAT-6:早期分泌靶抗原 6;MMP-9:基质金属蛋白酶 9。^a:3 组各指标总的差异比较;^b:A 组与 B 组各指标的比较;^c:A 组与 C 组各指标的比较;^d:B 组与 C 组各指标的比较

表 3 logistic 回归分析变量赋值表

变量	赋值	变量	赋值
CD4 ⁺ T 淋巴细胞计数	≤250.0 个/μl=0, >250.0 个/μl=1	年龄	≤65 岁=0, >65 岁=1
PCT	≤3.5 ng/ml=0, >3.5 ng/ml=1	ESAT-6	≤30.5 pg/ml=0, >30.5 pg/ml=1
D-二聚体	≤4.3 μg/ml=0, >4.3 μg/ml=1	MMP-9	≤20.9 ng/ml=0, >20.9 ng/ml=1

注 PCT 为降钙素原,ESAT-6 为血清早期分泌抗原靶 6,MMP-9 为基质金属蛋白酶 9

表 4 与 ATB-DILI 发生相关因素的 logistic 回归分析

影响因素	β 值	s _β 值	Wald χ ² 值	P 值	OR(95%CI)值
年龄 >65 岁	2.424	0.486	24.877	0.000	11.289(4.355~24.361)
CD4 ⁺ T 淋巴细胞计数 >250.0 个/μl	0.093	0.112	0.689	0.406	1.098(0.881~1.367)
PCT >3.5 ng/ml	0.399	0.311	1.646	0.200	1.490(0.810~2.739)
D-二聚体 >4.3 μg/ml	0.004	0.003	1.816	0.178	1.004(0.998~1.011)
ESAT-6 >30.5 pg/ml	1.116	0.275	17.699	0.000	9.479(3.340~21.653)
MMP-9 >20.9 ng/ml	-0.336	0.871	0.149	0.700	0.715(0.131~3.942)

注 PCT 为降钙素原,ESAT-6 为血清早期分泌抗原靶 6,MMP-9 为基质金属蛋白酶 9

(*P* 值均<0.05)。MMP-9、MMP-14 在 A 组和 B 组表达均升高,3 组总体差异均有统计学意义(*P* 值均<0.05);进一步组间对比分析,MMP-14 在 A 组与 C 组、B 组与 C 组间的差异均有统计学意义(*P* 值均<0.05),在 A 组与 B 组间的差异无统计学意义(*P*>0.05);而 MMP-9 在 3 组中各组间的两两比较差异均有统计学意义(*P* 值均<0.05),具体见表 2。

三、ATB-DILI 发生的影响因素分析

参照上文检测结果,以是否发生 ATB-DILI 为因变量,将差异有统计学意义的年龄、CD4⁺ T 淋巴细胞计数、PCT、D-二聚体、ESAT-6、MMP-9、MMP-14 纳入到多因素模型中进行分析(赋值变量见表 3),结果显示:年龄>65 岁、ESAT-6>30.5 pg/ml 是发生 ATB-DILI 的独立危险因素,具体见表 4。

讨 论

ATB-DILI 的发生在 PTB 的治疗过程中越来越

常见,占 PTB 患者的 10%^[7],严重影响 PTB 的全程规范治疗,导致治疗中断、抗结核药物的耐药率上升^[8]。如何预防 ATB-DILI 的发生及发展是目前 ATB-DILI 临床研究的重点。

有研究报道,发生 ATB-DILI 的 PTB 患者年龄较大,BMI 偏低,提示高龄患者更易发生 ATB-DILI。考虑与老年人整体机能减退,营养状况、机体免疫功能、心肺负荷状态均较年轻 PTB 患者下降,尤其是肝脏的代谢功能减退,使其不能及时缓解抗结核药物所致的急性炎症反应及免疫反应有关^[9-10]。本研究结果显示,发生 ATB-DILI 的 PTB 患者年龄明显高于未发生 ATB-DILI 的患者;多因素分析结果也显示,高龄是发生 ATB-DILI 的独立危险因素,与文献报道相符^[9-11],这提示对高龄 PTB 患者应及时应用预防性保肝药物,可能会降低 ATB-DILI 的发生风险。

ATB-DILI 的发生及进展机制目前仍未明了,有研究认为可能与炎症机制相关^[12]。抗结核药物

杀死 MTB 的同时促进了机体释放炎症因子,导致肝细胞损伤及凋亡^[13]。PCT 性能稳定,是一种无激素活性的降钙素前肽物质,不易受免疫功能低下、心功能损伤等干扰,在机体正常状态下,可由甲状腺髓质细胞分泌,但在机体炎症状态下,则与多种炎症反应密切相关^[14],故目前已广泛应用于感染程度的评估及指导临床抗生素的使用^[15]。本研究结果显示,病例组 PTB 患者的 PCT 值均高于健康对照组,且在发生 ATB-DILI 与未发生 ATB-DILI 的患者间的差异有统计学意义,这可能与炎症因子可以导致肝脏固有免疫细胞间的不平衡,引起机体的免疫反应,进一步加重肝细胞损伤,促使肝纤维化的发生和发展^[16]有关,提示炎症机制可能是 ATB-DILI 发生的原因之一。D-二聚体是纤维蛋白单体经活化因子Ⅻ交联后产生的一种特异性降解产物,在重症感染及组织坏死的情况下可升高^[17]。本研究结果显示,发生 ATB-DILI 的 PTB 患者 D-二聚体升高,明显高于未发生 ATB-DILI 的患者,提示 ATB-DILI 的发生可能与炎症反应下机体血液高凝状态有关。

有研究发现,人体的呼吸系统会随着 MTB 感染及播散不断地经历巨噬细胞的吞噬及释放,且在 MTB 攻击呼吸道上皮细胞的同时,也吸引机体淋巴细胞的攻击与杀灭^[18]。由此认为结核病的发生与患者的免疫状况密切相关。本研究显示,PTB 患者与健康对照组相比 T 淋巴细胞明显降低,与文献报道一致^[19]。机体杀伤 MTB 过程中消耗大量 T 淋巴细胞,尤其是 CD4⁺ T 淋巴细胞,使得 PTB 患者均有不同程度的免疫功能下降,尤其是 CD4⁺ T 淋巴细胞的下降明显^[20]。另外,肝损伤患者免疫调节功能紊乱,主要表现为体液免疫功能亢进、细胞免疫受抑制^[21]。本研究中两组 PTB 患者均有不同程度的 CD4⁺ T 淋巴细胞减少,尤其是发生 ATB-DILI 的患者下降程度明显高于未发生 ATB-DILI 的患者,研究结论符合目前文献报道^[20]。

ESAT-6 是 MTB 早期产生的靶向分泌抗原,具有多项免疫活性特征。本研究采用 ELISA 方法检测 ESAT-6 蛋白表达,该方法多用于脑脊液的 ESAT-6 检测^[22],也有少量文献报道其用于检测血清中的 ESAT-6,但因血清中 ESAT-6 含量较少,MTB 大量存活才可能被检测到,存在假阴性的可能。但若在受试者中检测出 ESAT-6,则不仅代表有 MTB 感染,更能预示着 MTB 已经进入了大量繁殖、感染性和致病性强的阶段。目前,常用的斑点试验是检测抗体,阳性率较高,但对于免疫功能低下的

PTB 患者无法做出良好的区分,这也是本研究使用 ESAT-6 抗原检测的原因。研究结果显示,ESAT-6 在 PTB 患者中高表达,在健康对照组中几乎无表达,故认为 ESAT-6 可用于活动性结核病的辅助诊断。

ESAT-6 不仅能促进 MTB 迁移及播散,破坏肺上皮细胞,加重 PTB 患者病情^[23],还可以调节炎症因子分泌 MMP。MMP 是一类 Zn²⁺ 依赖的蛋白水解酶,参与多项炎症反应及内皮细胞代谢,在健康人群中基本不表达或表达量极低^[24]。MMP-9 是 MMP 家族中一员,可以由巨噬细胞、中性粒细胞等多种细胞分泌,在 87 位氨基酸残基或附近被酶解激活,主要保持酶的活性稳定^[25],并参与多种炎症反应、组织修复、炎症因子的表达等^[26]。本研究显示,ESAT-6 及 MMP-9 在发生 ATB-DILI 的 PTB 患者中表达明显上升,明显高于未发生 ATB-DILI 的患者,提示 ESAT-6 及 MMP-9 高表达的患者更容易发生 ATB-DILI。此外,多因素分析结果表明,ESAT-6 升高(>30.5 pg/ml)是 PTB 患者发生肝损伤的独立危险因素,其原因可能是 ESAT-6 高表达的 PTB 患者 MTB 的侵袭力更强^[27],引起的机体炎症反应更重,导致大量的炎症因子刺激多种分子作用于肝细胞,造成肝细胞线粒体损伤、肝细胞坏死凋亡,发生不同程度的肝损伤^[28]。而 MMP-9 能降解细胞外基质,干扰肝脏细胞-细胞、细胞-基质的相互作用,以及肝星状细胞的活化、增殖及细胞外基质的形成,促进肝损伤及纤维化^[29]。MMP-14 表达升高也可触发 MMP 的瀑布式激活,加重炎症反应,溶解细胞周围纤维蛋白,两者是导致 ATB-DILI 中肝血管损伤发生发展的重要因素,也是导致肝血管增生、促进 ATB-DILI 后期肝纤维化发生发展的重要因素^[30]。但遗憾的是,本研究中 MMP-14 虽在 PTB 患者中高表达,但在发生与未发生 ATB-DILI 的两组 PTB 患者中未表现出差异,与前期的研究提示 MMP-14 在肝血管损伤型 ATB-DILI 患者中高表达^[31]不一致,考虑与发生 ATB-DILI 的患者中肝血管损伤型较少,未发生 ATB-DILI 的患者纳入数量较多有关。

综上所述,高龄(>65 岁)、ESAT-6 升高(>30.5 pg/ml)是 PTB 患者发生 ATB-DILI 的独立危险因素。针对这类患者进行抗结核药物治疗时,需密切观察其用药反应,提前应用保肝药物,可能对降低 ATB-DILI 的发生发展的风险具有一定价值。由于本研究入组的数据有限,研究结论可能需要更多样本的支持来进行佐证,后续笔者将开展更

大样本的 ATB-DILI 发生发展的流行病学数据分析及临床研究,以提供更准确更翔实的依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献 陆霓虹:分析数据及论文撰写;沈凌筠、刘洪璐:数据采集;陈杨君、杨艳:患者临床诊疗及管理;杜映荣:论文修改

参 考 文 献

- [1] McDonald GB, Freston JW, Boyer JL, et al. Liver complications following treatment of hematologic malignancy with anti-CD22-calicheamicin (inotuzumab ozogamicin). *Hepatology*, 2019, 69(2):831-844. doi:10.1002/hep.30222.
- [2] 曹鑫宇,薛秒,文艳,等. 抗结核药物性肝损伤易感基因研究进展. *中国防痨杂志*, 2021, 43(2):190-193. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2021.02.016.
- [3] 王娟,杜发旺,杜先智. ESAT-6 对人外周血 $\gamma\delta$ T 细胞 IL-17 的影响及其信号通路的研究. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(1):48-51,56. doi:10.3969/j.issn.1000-484X.2014.01.008.
- [4] 苏敏,张玮,朱成凯,等. 肿瘤坏死因子样凋亡诱导因子及其受体对肝星状细胞迁徙的影响. *临床肝胆病杂志*, 2018, 34(1):118-121. doi:10.3969/j.issn.1001-5256.2018.01.024.
- [5] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. WS 288—2017 肺结核诊断. 2017-11-09.
- [6] 中华医学会结核病学分会. 抗结核药物性肝损伤诊治指南(2019 年版). *中华结核和呼吸杂志*, 2019, 36(10):343-356. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2019.05.007.
- [7] 江志华. 不同保肝药物防治抗结核药物所致肝损伤的效果比较. *临床合理用药杂志*, 2022, 15(1):65-67. doi:10.15887/j.cnki.13-1389/r.2022.01.021.
- [8] 邓乐乐,施瑞清,余艳琴,等. 抗结核药物致肝损伤与药物代谢酶基因甲基化关系研究进展. *包头医学院学报*, 2018, 34(8):121-126. doi:10.16833/j.cnki.jbmc.2018.08.051.
- [9] 杨松,郭建琼,严晓峰. 抗结核药物性肝损伤发生机制的研究进展. *中华结核和呼吸杂志*, 2019, 42(5):378-381. doi:10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2019.05.012.
- [10] 李永红,李红恩,雷世鑫,等. 抗结核药致中国人群药物性肝损伤危险因素 Meta 分析. *中国抗生素杂志*, 2021, 46(2):628-632. doi:10.3969/j.issn.1001-8689.2021.06.020.
- [11] 李进升,黄秋霞,余少英,等. 含利福喷丁或利福平联合化疗方案对老年肺结核患者药物性肝损伤的临床比较. *中国防痨杂志*, 2014, 36(6):514-516. doi:10.3969/j.issn.1000-6621.2014.06.021.
- [12] 钟洪兰. 抗结核药物致肝损伤的预防与治疗药物选择. *实用医学杂志*, 2020, 36(24):3307-3311. doi:10.3969/j.issn.1006-5725.2020.24.001.
- [13] 姜晓颖,杨恒,李明武,等. 甘草酸二铵肠溶胶囊预防初治的肺结核患者药物性肝损害有效性研究. *实用肝脏病杂志*, 2022, 25(1):62-65. doi:10.3969/j.issn.1672-5069.2022.01.016.
- [14] 刘菁,王宇,汤艳芬,等. 血清白细胞介素 6、降钙素原在肺炎患者中的水平变化及其与肺功能的关系. *中国感染与化疗杂志*, 2022, 21(1):13-16. doi:10.16718/j.1009-7708.2022.01.003.
- [15] 张春玲,杨远见,刘畅,等. 血清降钙素原、肝素结合蛋白、白细胞介素-6 联合序贯器官衰竭评分对重症肺炎患者预后评估的意义. *实用医学杂志*, 2022, 38(2):168-172. doi:10.3969/j.issn.1006-5725.2022.02.008.
- [16] 李正阳,吴健,蒋森,等. 间充质干细胞免疫调节在肝纤维化中的治疗作用. *世界临床药物*, 2020, 41(2):89-93. doi:10.13683/j.wph.2020.02.003.
- [17] 王世雄,张昊川,李由,等. D-二聚体/hs-CRP 比值在社区获得性肺炎合并肺栓塞中的诊断价值初探. *国际呼吸杂志*, 2022, 43(2):175-179. doi:10.3760/cma.j.cn131368-20211117-00853.
- [18] 中国医学科学院病原生物学研究所,中国疾病预防控制中心,中国科学院地理科学与资源研究所,等. 全国结核分枝杆菌潜伏感染率估算专家共识. *中国防痨杂志*, 2022, 44(1):4-8. doi:10.19982/j.issn.1000-6621.20210662.
- [19] 周婷婷,郑小曼,欧阳净,等. 结核分枝杆菌对吡嗪酰胺耐药的相关基因及耐药机制研究进展. *中国防痨杂志*, 2022, 44(1):102-105. doi:10.19982/j.issn.1000-6621.20210511.
- [20] 郑树斌,陈天杨,陈欣羽,等. 肺泡灌洗液中 T 淋巴细胞亚群水平对于肺结核诊断和疗效判断的 Meta 分析. *临床医学研究与实践*, 2021, 6(2):15-18. doi:10.19347/j.cnki.2096-1413.202101005.
- [21] 李娜娜,王雯颖,李承平,等. 残黄片对免疫低下小鼠免疫调节作用的研究. *时珍国医国药*, 2018, 29(5):1088-1090.
- [22] 王娟娟,马利. ESAT-6 和干扰素- γ 表达水平在结核性脑膜炎诊断中的应用价值. *山西医科大学学报*, 2017, 48(2):153-156. doi:10.13753/j.issn.1007-6611.2017.02.013.
- [23] Zhang L, Ma H, Wan S, et al. *Mycobacterium tuberculosis* latency-associated antigen Rv1733c SLP improves the accuracy of differential diagnosis of active tuberculosis and latent tuberculosis infection. *Chin Med J (Engl)*, 2021, 35(1):63-69. doi:10.1097/CM9.0000000000001858.
- [24] 刘明明,李爱玲,修瑞娟. 基质金属蛋白酶的研究进展. *中国病理生理杂志*, 2018, 34(10):1914-1920. doi:10.3969/j.issn.1000-4718.2018.10.029.
- [25] 覃丽粒,马小波,赵天业,等. MMP-9 和 TIMP-1 表达在胃癌根治术后患者预后评估中的作用. *吉林大学学报(医学版)*, 2022, 48(1):163-171. doi:10.13481/j.1671-587X.20220120.
- [26] 郑岩. HICH 患者血清凝血酶、MMP-9 水平与脑水肿及神经功能缺损的关系. *检验医学与临床*, 2022, 19(1):80-83. doi:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.01.021.
- [27] 马江涛,吴文苑,张立军,等. ESAT-6、IL-8 和 INF- γ 在结核性脑膜炎早期诊断中的应用. *中国卫生检验杂志*, 2014, 24(14):2027-2028,2038.
- [28] Gaude GS, Chaudhury A, Hattiholi J. Drug-induced hepatitis and the risk factors for liver injury in pulmonary tuberculosis patients. *J Family Med Prim Care*, 2015, 4(2):238-243. doi:10.4103/2249-4863.154661.
- [29] 刘月白,周义,李昌平. 非酒精性脂肪性肝病中 MMP-9 作用的研究进展. *现代临床医学*, 2019, 45(2):81-87. doi:10.11851/j.issn.1673-1557.2019.02.001.
- [30] Gaide Chevonnay HP, Selvais C, Emonard H, et al. Regulation of matrix metalloproteinases activity studied in human endometrium as a paradigm of cyclic tissue breakdown and regeneration. *Biochim Biophys Acta*, 2012, 1824(1):146-156. doi:10.1016/j.bbapap.2011.09.003.
- [31] 陆霓虹,刘洪璐,夏加伟,等. 免疫功能和 SAA、MMP-9、MMP-14 在抗结核药物性肝损伤中的临床评估. *昆明医科大学学报*, 2022, 43(4):50-54. doi:10.12259/j.issn.2095-610X.S20220410.

(收稿日期:2022-03-19)

(本文编辑:孟莉)