

• 论 著 •

外周血调节性 T 细胞及表面共刺激分子对耐多药肺结核患者疗效的预测价值*

王俊力¹, 杨 铭², 欧 利³, 谌香明³, 刘 茵^{1△}

1. 三六三医院呼吸与危重症医学科, 四川成都 610041; 2. 成都市公共卫生临床医疗中心呼吸内科, 四川成都 610000; 3. 三六三医院呼吸内科, 四川成都 610041

摘要:目的 观察耐多药肺结核(MDR-TB)患者机体外周血调节性 T 细胞(Treg)及表面共刺激分子, 并基于 Nomogram 预测模型探讨其对疗效的预测价值。方法 选取 2020 年 5 月至 2022 年 5 月三六三医院收治的 200 例 MDR-TB 患者作为研究对象, 给予标准化或个体化抗结核治疗, 根据预后情况分为预后良好组、预后不良组。比较治疗前外周血 Treg 细胞($CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$ 、 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$)、Treg 表面共刺激分子(CTLA-4⁺ Treg、PD-1⁺ Treg、ICOS⁺ Treg)及血清白细胞介素-10(IL-10)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$)水平, 分析 Treg 细胞与 Treg 表面共刺激分子、血清 TGF- $\beta 1$ 、IL-10 水平的相关性, 分析 MDR-TB 患者预后不良的影响因素, 根据影响因素及实验室指标构建预后不良的 Nomogram 预测模型, 并对 Nomogram 预测模型进行验证。结果 MDR-TB 患者中, 预后良好 108 例, 预后不良 92 例。预后不良组年龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史与预后良好组比较差异有统计学意义($P < 0.05$); 预后不良组外周血 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ 、CTLA-4⁺ Treg、PD-1⁺ Treg、 $CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$ 、ICOS⁺ Treg 细胞比例及血清 TGF- $\beta 1$ 、IL-10 水平高于预后良好组($P < 0.05$)。相关性分析显示, MDR-TB 患者外周血 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ 、 $CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$ 与血清 TGF- $\beta 1$ 水平及 CTLA-4⁺ Treg、PD-1⁺ Treg、ICOS⁺ Treg 细胞比例呈正相关(均 $P < 0.05$); Logistic 回归分析显示, 年龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史均为 MDR-TB 患者预后不良的独立危险因素($OR = 2.551, 6.088, 3.252, 4.266, 4.949, 6.748$, 均 $P < 0.05$); 根据 Nomogram 预测模型获得患者预后不良的风险概率, 外部验证 Nomogram 预测模型受试者工作特征(ROC)曲线的曲线下面积(AUC)为 0.833, 校准曲线显示该模型预测具有良好校准度。结论 MDR-TB 患者预后转归受外周血 CTLA-4⁺ Treg、PD-1⁺ Treg、 $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$ 、ICOS⁺ Treg、 $CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$ 细胞比例, 血清 TGF- $\beta 1$ 、IL-10 水平, 以及年龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史等因素影响, 基于上述因素构建预后不良的 Nomogram 预测模型具有较高预测效能, 对患者预后转归具有积极意义。

关键词:调节性 T 细胞; Nomogram; 耐多药肺结核; 预后

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2024.08.006 **中图法分类号:**R446.11; R521

文章编号:1673-4130(2024)08-0926-06 **文献标志码:**A

Predictive value of peripheral blood regulatory T cells and surface co-stimulatory molecules in the efficacy of patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis*

WANG Junli¹, YANG Ming², OU Li³, CHEN Xiangming³, LIU Lin^{1△}

1. Department of Respiratory and Critical Care Medicine, 366 Hospital, Chengdu, Sichuan 610041, China; 2. Department of Respiratory Medicine, Chengdu Public Health Clinical Medical Center, Chengdu, Sichuan 610000, China; 3. Department of Respiratory Medicine, 363 Hospital, Chengdu, Sichuan 610041, China

Abstract: **Objective** To observe the peripheral blood regulatory T cells (Treg) and surface co-stimulatory molecules in patients with multidrug-resistant pulmonary tuberculosis (MDR-TB), and to explore the predictive value for therapeutic efficacy based on the Nomogram prediction model. **Methods** A total of 200 MDR-TB patients from May 2020 to May 2022 admitted to 363 Hospital were selected as the study objects, and all of whom received standardized or individualized anti-tuberculosis treatment. The patients were divided into good prognosis group and poor prognosis group according to the prognosis. Before treatment, peripheral blood Treg ($CD4^{+}CD25^{+}CD127^{-}$, $CD4^{+}CD25^{+}Foxp3^{+}$), Treg surface co-stimulatory molecules (CTLA-4⁺ Treg, PD-1⁺

* 基金项目:四川省医学会(青年创新)科研课题项目(S20065)。
作者简介:王俊力,女,副主任医师,主要从事结核及肺癌的诊疗研究。△ 通信作者, E-mail: fly1eye@163.com。

Treg, ICOS⁺ Treg), serum interleukin-10 (IL-10), transform growth factor β 1 (TGF- β 1) between the group with good prognosis and the group with poor prognosis were compared. In addition, the correlation between Treg and Treg surface co-stimulatory molecules, serum TGF- β 1, and IL-10 levels were analyzed, as well as the influencing factors for poor prognosis in MDR-TB patients. Based on the influencing factors and laboratory indicators, a Nomogram prediction model for poor prognosis was constructed and verified. **Results** Among MDR-TB patients, 108 had good prognosis and 92 had poor prognosis. There were significant differences in age, treatment status, smoking, irregular treatment, pre-treatment cavity and second-line anti-tuberculosis treatment history between the poor prognosis group and the good prognosis group ($P < 0.05$). The proportion of peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺, CTLA-4⁺ Treg, PD-1⁺ Treg, CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻, and ICOS⁺ Treg and serum levels of TGF- β 1 and IL-10 in the poor prognosis group were higher than those in the good prognosis group ($P < 0.05$). Correlation analysis shows that peripheral blood CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺, CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ in MDR-TB patients were positively correlated with serum TGF- β 1 levels and the proportion of CTLA-4⁺ Treg, PD-1⁺ Treg, and ICOS⁺ Treg (all $P < 0.05$). Logistic regression analysis shows that age, treatment status, smoking, irregular treatment, pre-treatment cavity, and second-line anti-tuberculosis treatment history were independent risk factors for poor prognosis in MDR-TB patients ($OR = 2.551, 6.088, 3.252, 4.266, 4.949, 6.748$, all $P < 0.05$). According to the Nomogram prediction model, the risk probability of poor prognosis was obtained. The area under the curve (AUC) of the receiver operating characteristic (ROC) curve of the Nomogram prediction model was 0.833, and the calibration curve showed that the prediction was well calibrated. **Conclusion** The prognosis of MDR-TB patients is determined by the proportion of CTLA-4⁺ Treg, PD-1⁺ Treg, CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺, ICOS⁺ Treg, CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ cells in peripheral blood, and the levels of TGF- β 1 and IL-10 in serum, as well as age, treatment, smoking, irregular treatment, pre-treatment cavity, second-line anti-tuberculosis treatment history and other factors. This Nomogram prediction model based on these factors has high predictive efficacy and positive significance for the prognosis of patients.

Key words: regulatory T cells; Nomogram; multidrug-resistant tuberculosis; prognosis

耐多药结核病(MDR-TB)具有传染性强、治疗周期长、复发率高等特点^[1-2]。据世界卫生组织(WHO)统计,2016年新发60万对利福平耐药的肺结核病例,81.67%为MDR-TB,其中印度、中国与俄罗斯的病例占47%;且2020年世界范围内MDR-TB平均治愈率仅50%~75%^[3-4]。机体免疫状态与MDR-TB发生关系密切,MDR-TB机体感染结核分枝杆菌后,通过刺激巨噬细胞、递呈抗原引发特异性免疫应答,调节性T细胞(Treg)在免疫应答过程发挥关键作用。已有研究证实,CD4⁺ CD25⁺ Treg细胞参与结核病相关免疫应答,但关于MDR-TB的免疫学针对性研究较少^[5-6]。程序性死亡因子-1(PD-1)、细胞毒T淋巴细胞相关抗原4(CTLA-4)、可诱导共刺激分子(ICOS)等Treg表面共刺激分子与MDR-TB患者治疗预后的关系有待进一步研究^[7]。本研究尝试基于Nomogram预测模型分析外周血Treg及表面共刺激分子在MDR-TB患者治疗中的影响,以期临床预测预后转归提供参考。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2020年5月至2022年5月三六三医院(以下简称本院)收治的200例MDR-TB患者作为研究对象,其中男133例(66.50%),女67例(33.50%),年龄37~68岁,平均(52.27±7.36)岁,体重指数17~28 kg/m²,平均(23.24±2.28)kg/m²;

治疗情况:初治121例(60.50%),复治79例(39.50%);合并症:高血压42例(21.00%),糖尿病31例(15.50%),高脂血症19例(9.50%);吸烟史83例(41.50%),饮酒史54例(27.00%)。纳入标准:痰结核分枝杆菌阳性;经影像学证实为MDR-TB,结核分枝杆菌药敏试验显示对异烟肼、利福平同时耐药;近3个月无激素类药物、免疫增强剂或抑制剂用药史。排除标准:伴有其他传染性疾病;伴有血液系统疾病;因其他疾病存在病死风险;存在重要脏器病变;精神异常。剔除标准:失访、抗结核治疗期间连续中断2个月及以上、自行退出本研究、转诊至其他疾病预防控制中心。本研究征得三六三医院伦理委员会同意。患者及家属签署知情同意书面文件。

1.2 方法

1.2.1 治疗方法 给予入选患者标准化或个体化抗结核化疗方案,依据《耐药结核病化学治疗指南(2015)》解读^[8]制订的治疗方案:6Am-Lfx-P-Z-Pto、18Lfx-P-Z-Pto。用药频次、剂量等参考指南要求;标准化方案不适用的患者实施个体化方案,依据药敏结果、病症治疗需求、疾病程度,针对性制订治疗方案,根据疾病治疗进程,指导患者定期检查。

1.2.2 预后评估 随访时间:自接受标准化治疗开始计算,截至疗程结束或患者死亡。预后评估标准如下。治愈:完成整个抗结核疗程,且符合以下任一

项。(1)在治疗后期 1 年内影像学显示病灶组织完全吸收,体征及临床症状无明显加重趋势,仅有 1 次痰结核杆菌阳性,而后连续 ≥ 3 次痰结核杆菌阴性,检查间隔 1 个月及以上。(2)在治疗后期 1 年内,连续 ≥ 5 次痰结核杆菌阴性,检查间隔 1 个月及以上。失败:符合以下任意一项。(1)抗结核疗程最后 3 次痰结核杆菌检查中有任意一次呈阳性;(2)抗结核疗程最后 1 年内连续 5 次痰结核杆菌检查中有 ≥ 2 次呈阳性;(3)某些原因造成抗结核治疗提前中止。死亡:在抗结核治疗期间因某些原因死亡。将治愈患者计入预后良好组,治疗失败、死亡患者计入预后不良组。

1.2.3 检测方法 检测并比较预后良好组、预后不良组 Treg 细胞、表面共刺激分子(CTLA-4⁺ Treg、ICOS⁺ Treg、PD-1⁺ Treg)及血清白细胞介素-10(IL-10)、转化生长因子 $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$) 水平,具体操作步骤如下。于治疗前采集 5 mL 空腹静脉血,置于抗凝管离心(Ficoll 密度梯度)分离外周血单个核细胞(纯度 $> 80\%$),取 7 只流式细胞术上样管,分别测定如下指标:CD4、CD4、CD25、CD4、CD25、CD127、CD4、CD25、ICOS、CD4、CD25、PD-1、CD4、CD25、CLTA-4、CD4、CD25、Foxp3;分别加入 anti-CD4-FITC、anti-CD25-APC、anti-CD27-PE、anti-ICOS-PE、anti-PD-1-PE、anti-CTLA-4-PE 荧光抗体各 10 μ L,另加入 Foxp buffer 固定破膜,加入 Foxp3-PE 荧光抗体,避光孵育 0.5 h,加入 Q-PREP 配套溶血素,混匀后检测。检测结果以 EXPO32ADC 软件进行分析。分别记录 CD4⁺ T 细胞中 Treg 细胞占比,再以 CD4⁺ CD25⁺ 细胞设门,获得细胞表面 CTLA-4⁺ Treg、PD-1⁺ Treg、ICOS⁺ Treg 占比。采集 3 mL 空腹静脉血,以 3 000 r/min(离心半径 8 cm)离心 10 min 取血清,以双抗夹心酶联免疫吸附试验法检测 IL-10、TGF- $\beta 1$ 。

1.3 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件对数据进行分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,行 t 检验;计数资料以 $n(\%)$ 表示,行 χ^2 检验。采用 Pearson 分析 Treg 细胞与 Treg 表面共刺激分子、TGF- $\beta 1$ 、IL-10 的相关性;Logistic 多因素分析 MDR-TB 患者预后不良的影响因素;构建 Nomogram 模型,采用受试者工作特征(ROC)曲线、校准曲线评价 Nomogram 预测模型的预测效能、校准度。检验水准 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 预后情况及不同预后患者临床资料比较 200 例 MDR-TB 患者中,预后良好 108 例(治愈),预后不良 92 例(治疗失败 74 例,死亡 18 例)。预后不良组与预后良好组年龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史比较差异有统计学意义($P < 0.05$),性别、体重指数其他临床资料比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

2.2 两组 Treg 细胞、表面共刺激分子及 TGF- $\beta 1$ 、

IL-10 比较 预后不良组外周血 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺、CTLA-4⁺ Treg、PD-1⁺ Treg、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻、ICOS⁺ Treg 细胞比例及血清 TGF- $\beta 1$ 、IL-10 水平高于预后良好组($P < 0.05$)。见表 2。

表 1 预后不良组与预后良好组临床资料比较 [$n(\%)$ 或 $\bar{x} \pm s$]				
项目	预后不良组 ($n = 92$)	预后良好组 ($n = 108$)	t/χ^2	P
性别			0.914	0.339
男	58(63.04)	75(69.44)		
女	34(36.96)	33(30.56)		
年龄(岁)	58.16 $\pm$ 7.29	47.25 $\pm$ 6.53	11.161	< 0.001
体重指数(kg/m ²)	23.41 $\pm$ 2.16	23.10 $\pm$ 1.97	1.061	0.290
治疗情况			18.102	< 0.001
初治	41(44.57)	80(74.07)		
复治	51(55.43)	28(25.93)		
文化水平			4.576	0.206
初中及以下	34(36.96)	33(30.56)		
高中及中专	46(50.00)	48(44.44)		
大专及以上	12(13.04)	27(25.00)		
吸烟			18.210	< 0.001
是	53(57.61)	30(27.78)		
否	39(42.39)	78(72.22)		
饮酒			1.767	0.184
是	29(31.52)	25(23.15)		
否	63(68.48)	83(76.85)		
不规则治疗			13.538	< 0.001
是	40(43.48)	21(19.44)		
否	52(56.52)	87(80.56)		
合并症				
高血压	22(23.91)	20(18.52)	0.871	0.351
糖尿病	16(17.39)	15(13.89)	0.465	0.495
高脂血症	10(10.87)	9(8.33)	0.372	0.542
严重不良反应			1.201	0.273
有	21(22.83)	18(16.67)		
无	71(77.17)	90(83.33)		
治疗前空洞			9.851	0.002
有	31(33.70)	16(14.81)		
无	61(66.30)	92(85.19)		
二线抗结核治疗史			13.839	< 0.001
有	30(32.61)	12(11.11)		
无	62(67.39)	96(88.89)		

2.3 Treg 细胞与 Treg 表面共刺激分子、TGF- $\beta 1$ 、IL-10 的相关性 相关性分析显示,MDR-TB 患者外周血 Treg 细胞比例与血清 TGF- $\beta 1$ 水平及 CTLA-

4⁺Treg、PD-1⁺Treg、ICOS⁺Treg 细胞比例呈正相关 (0.05)。见表 3。
(*P* < 0.05), 与血清 IL-10 水平无明显相关性 (*P* >

表 2 两组 Treg 细胞、表面共刺激分子及 TGF-β1、IL-10 比较(̄x ± s)

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CTLA-4 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ⁺	PD-1 ⁺	ICOS ⁺	TGF-β1	IL-10
		Foxp3 ⁺ (%)	Treg(%)	CD127 ⁻ (%)	Treg(%)	Treg(%)	(pg/mL)	(pg/mL)
预后不良组	92	6.32 ± 1.25	0.56 ± 0.12	8.49 ± 1.86	5.17 ± 1.16	0.54 ± 0.13	371.58 ± 113.43	16.21 ± 4.37
预后良好组	108	5.08 ± 1.04	0.42 ± 0.10	7.27 ± 1.43	3.98 ± 1.05	0.39 ± 0.11	306.64 ± 95.26	10.75 ± 3.60
<i>t</i>		7.658	9.000	5.238	7.612	8.839	4.401	9.688
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 预后不良的影响因素分析 以 MDR-TB 患者预后不良为因变量(赋值:否 = 0,是 = 1),将表 3 中 *P* < 0.05 的指标年龄(赋值:连续变量,原值代入)、治疗情况(赋值:初治 = 1,复治 = 2)、吸烟(赋值:否 = 0,是 = 1)、不规则治疗(赋值:否 = 0,是 = 1)、治疗前空洞(赋值:无 = 0,有 = 1)、二线抗结核治疗史(赋值:无 = 0,有 = 1)作为自变量,通过 Logistic 分析显示,年龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史均为 MDR-TB 患者预后不良的独立危险因素(*P* < 0.05)。见表 4。

2.5 预后不良 Nomogram 预测模型构建 以 MDR-TB 患者预后不良为目标事件,将外周血 Treg、CTLA-4⁺Treg、PD-1⁺Treg、ICOS⁺Treg 细胞比例、血清 TGF-β1、IL-10 水平及年龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史作为预测因素,运用 R 语言构建 MDR-TB 患者预后不良的 Nomo-

gram 预测模型,见图 1。在 Nomogram 预测模型中直接获取各预测因素对应得分,这些得分之和对应的预测概率即是该患者预后不良的风险概率。

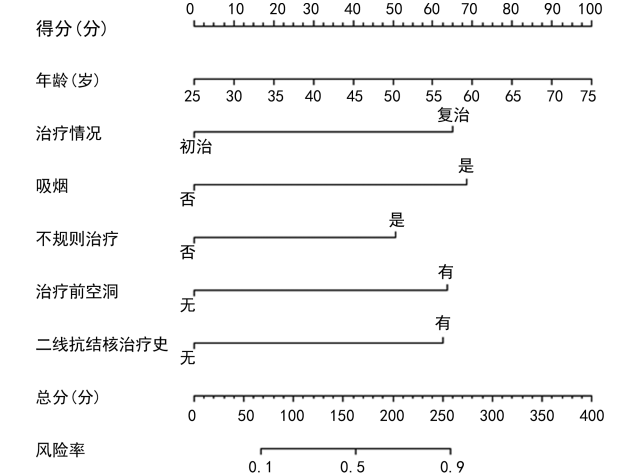


图 1 MDR-TB 患者预后不良 Nomogram 预测模型

表 3 Treg 细胞与 Treg 表面共刺激分子、TGF-β1、IL-10 的相关性

指标	<i>r</i> / <i>P</i>	CTLA-4 ⁺ Treg	PD-1 ⁺ Treg	ICOS ⁺ Treg	TGF-β1	IL-10
CD4 ⁺ CD25 ⁺ Foxp3 ⁺	<i>r</i>	0.429	0.451	0.542	0.516	0.125
	<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.319
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	<i>r</i>	0.456	0.483	0.580	0.553	0.141
	<i>P</i>	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.297

表 4 预后不良的影响因素分析

变量	β	<i>SE</i>	<i>Wald</i> χ^2	<i>OR</i>	<i>P</i>	95% <i>CI</i>	
						下限	上限
年龄	0.937	0.315	8.842	2.551	<0.001	1.256	5.183
治疗情况	1.806	0.487	13.756	6.088	<0.001	2.416	15.339
吸烟	1.179	0.371	10.105	3.252	<0.001	1.467	7.210
不规则治疗	1.451	0.425	11.651	4.266	<0.001	1.945	9.357
治疗前空洞	1.599	0.457	12.246	4.949	<0.001	2.014	12.163
二线抗结核治疗史	1.909	0.462	17.077	6.748	<0.001	2.609	17.452

2.6 预后不良 Nomogram 预测模型验证 对 Nomogram 预测模型进行外部验证,绘制该模型预测 MDR-TB 患者预后不良的 ROC 曲线,结果显示其预

测 AUC 为 0.833,具有良好预测效能,见图 2。绘制该模型预测的校准度曲线,结果显示其预测结果与实际观测结果的一致性较好,具有良好校准度,见图 3。

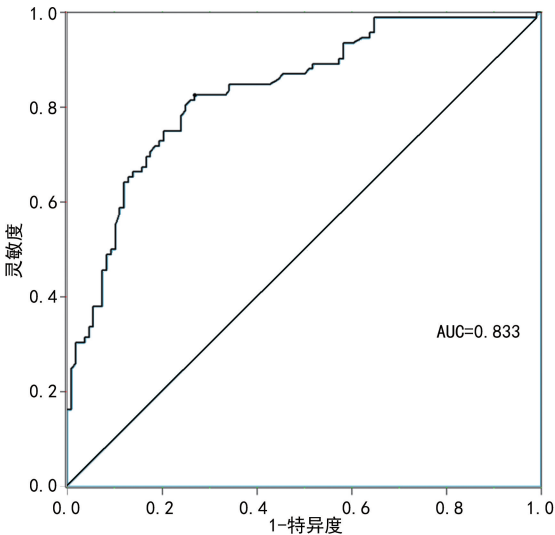


图2 Nomogram 预测模型的 ROC 曲线

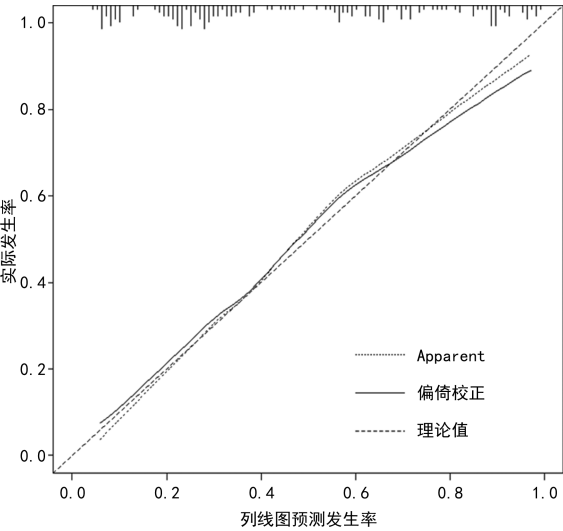


图3 Nomogram 预测模型的校准曲线

3 讨 论

临床研究表明,MDR-TB 的发生机制主要在于耐多药结核杆菌的传播、长期治疗过程中 Treg 细胞应答的过度激活^[9-10]。本研究基于外周血 CTLA-4⁺ Treg、PD-1⁺ Treg、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻、ICOS⁺ Treg、CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 细胞比例、血清 TGF-β1、IL-10 水平及年龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史等因素构建 MDR-TB 患者预后不良的 Nomogram 预测模型,获取患者预后不良的风险概率。CD4⁺ CD25⁺ Treg 细胞具有免疫抑制性,Foxp3⁺、CD127⁻ 可特异性介导该 Treg 细胞分化,在外周血中表达水平越高说明 Treg 细胞免疫抑制作用越强。公维亮等^[11] 研究发现,MDR-TB 患者外周血 Treg 细胞比例较非耐药肺结核患者明显升高,本研究显示,不同预后 MDR-TB 患者外周血 Treg 细胞比例差异明显,进一步说明外周血 Treg 细胞参与 MDR-TB 患者发生及治疗过程,可能影响治疗效果。

TGF-β1 来源于 Treg 细胞,IL-10 由单核/淋巴细胞等产生,均可抑制免疫系统细胞吞噬结核分枝杆菌

引起的免疫效应,能直接反映机体免疫状态^[12-13]。李蓓等^[14] 研究中指出,耐多药肺结核患者血清 TGF-β 与抗结核治疗转阴情况有关,赵春娥等^[15] 报道显示,肺结核患者 IL-10 基因多态性可能与抗结核药物性肝损伤易感性有关。本研究中,预后不良组血清 TGF-β1、IL-10 水平升高,且相关性分析表明 MDR-TB 患者外周血 Treg 细胞比例与血清 TGF-β1 水平呈正相关,进一步说明部分 Treg 细胞可通过分泌 TGF-β1、IL-10 达到免疫抑制作用。

PD-1、CTLA-4、ICOS 作为共刺激分子,一方面可精细调控免疫应答网络,另一方面能介导 Treg 细胞分化,维持机体免疫抑制功能正常^[16-18]。本研究预后不良组外周血 CTLA-4⁺ Treg、ICOS⁺ Treg、PD-1⁺ Treg 细胞比例高于预后良好组,且 MDR-TB 患者外周血 PD-1⁺ Treg、CTLA-4⁺ Treg、ICOS⁺ Treg 细胞比例与 CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻、CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺ 细胞比例呈正相关,提示 Treg 细胞高活化状态可能抑制 MDR-TB 患者免疫功能,表面共刺激分子则协同促进 MDR-TB 发生进展。分析原因在于 PD-1、CTLA-4、ICOS 可通过不同途径作用于 MDR-TB 患者免疫功能,其中 PD-1 通过阻断细胞周期对免疫应答发挥负性调节作用,对效应性 T 细胞转换为诱导性 Treg 细胞具有反向促进作用;CTLA-4 在免疫应答中通过抑制效应 T 细胞活化起到负调控效应;ICOS 则发挥维持免疫应答、促进 Treg 细胞增殖的作用^[19-21]。

MDR-TB 患者免疫力随年龄增长而降低,且各脏器功能退化、代谢功能减弱、药物耐受程度低,均可能影响 MDR-TB 治疗效果。MDR-TB 患者复治主要是由于治疗不彻底、治疗依从性差,进而造成预后不良率升高。吸烟对 MDR-TB 发生、治疗效果的影响已得到临床多项研究证实^[22-23]。治疗前空洞 MDR-TB 患者可能由于空洞壁有屏障作用,影响抗结核药物渗透性,同时空洞四周血供缺乏,抗结核药物向空洞内渗透的剂量降低,进而导致空洞壁血药浓度较低,无法达到有效杀菌、抑菌作用,空洞内结核分枝杆菌存活并反复持续排出,延长 MDR-TB 患者疗程,导致耐药性、复发率增高,以及治疗失败。由于氟喹诺酮类药物等二线抗结核药物具有抗菌活性强、抗菌谱广、不良反应少等特点在临床应用较广,但不合理使用情况较多^[24-25]。本研究中,二线抗结核治疗史可增加 MDR-TB 患者预后不良风险,正是由于二线抗结核药物的不规范使用易引起耐药,同样不规则治疗也容易增加耐药风险,进而影响 MDR-TB 的治疗效果。本研究构建的 Nomogram 预测模型经外部验证 Nomogram 模型的预测效能及校准度良好,因此可为临床预测 MDR-TB 预后提供参考。

综上所述,基于外周血 CD4⁺ CD25⁺ Foxp3⁺、PD-1⁺ Treg、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻、CTLA-4⁺ Treg、ICOS⁺ Treg 细胞比例、血清 TGF-β1、IL-10 水平及年

龄、治疗情况、吸烟、不规则治疗、治疗前空洞、二线抗结核治疗史等因素构建 MDR-TB 患者预后不良的 Nomogram 预测模型,该模型预测效能、校准度良好,有利于患者预后转归评估。

参考文献

- [1] SEDDON J A, JOHNSON S, PALMER M, et al. Multi-drug-resistant tuberculosis in children and adolescents: current strategies for prevention and treatment[J]. *Expert Rev Respir Med*, 2021, 15(2): 221-237.
- [2] 杨圆, 邹霞, 凌莉. 应用传播动力学模型模拟我国人口流动情况对耐多药结核病发病率的影响[J]. *热带医学杂志*, 2022, 22(7): 1001-1005.
- [3] MIRZAYEV F, VINEY K, LINH N N, et al. World Health Organization recommendations on the treatment of drug-resistant tuberculosis, 2020 update[J]. *Eur Respir J*, 2021, 57(6): 2003300.
- [4] EIMER J, PATIMETEEPORN C, JENSENIUS M, et al. Multidrug-resistant tuberculosis imported into low-incidence countries-a GeoSentinel analysis, 2008-2020[J]. *J Travel Med*, 2021, 28(6): 69.
- [5] RAMPAL R, KEDIA S, WARI M N, et al. Prospective validation of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T-regulatory cells as an immunological marker to differentiate intestinal tuberculosis from Crohn's disease[J]. *Intest Res*, 2021, 19(2): 232-238.
- [6] 杨晨晨, 如克亚木·阿不都沙拉木, 戴凡超, 等. 负性共刺激分子 BTLA/HVEM 抑制肺结核患者 CD4⁺CD25⁺CD127^{low} 调节性 T 细胞增殖[J]. *中国组织化学与细胞化学杂志*, 2022, 31(1): 29-36, 43.
- [7] SINGH S K, LARSSON M, SCHÖN T, et al. HIV interferes with the dendritic cell-T Cell axis of macrophage activation by shifting mycobacterium tuberculosis-specific CD4 T cells into a dysfunctional phenotype[J]. *J Immunol*, 2019, 202(3): 816-826.
- [8] 沙巍.《耐药结核病化学治疗指南(2015)》解读[J]. *中国防痨杂志*, 2015, 37(11): 1167-1170.
- [9] GÜNTHER G, RUSWA N, KELLER P M. Drug-resistant tuberculosis: advances in diagnosis and management[J]. *Curr Opin Pulm Med*, 2022, 28(3): 211-217.
- [10] TÉLLEZ-NAVARRETE N A, RAMON-LUING L A, MUÑOZ-TORRICO M, et al. Anti-tuberculosis chemotherapy alters TNFR2 expression on CD4⁺ lymphocytes in both drug-sensitive and-resistant tuberculosis: however, only drug-resistant tuberculosis maintains a pro-inflammatory profile after a long time[J]. *Mol Med*, 2021, 27(1): 76.
- [11] 公维亮, 赵永华, 邵泓鑫. 耐多药肺结核患者外周血调节性 T 细胞及表面共刺激分子的表达及作用探讨[J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24(10): 1886-1891.
- [12] AARTS J, VAN CAAM A, CHEN X, et al. Local inhibition of TGF-β1 signaling improves Th17/Treg balance but not joint pathology during experimental arthritis[J].

Sci Rep, 2022, 12(1): 3182.

- [13] RASOULI S, HESHMATNIA J, MOSAFFA N, et al. Dysregulation of immunity in pulmonary fibrosis is associated with increased myeloid-specific triggering receptor-1 and transforming growth factor-beta1 expression[J]. *Iran J Allergy Asthma Immunol*, 2023, 22(1): 12-24.
- [14] 李蓓, 张冬平, 张泽波. TGF-β、IFN-γ、IL-10 与多药联合治疗肺结核产生耐药性和疗效的相关性探讨[J]. *东南大学学报(医学版)*, 2022, 41(1): 114-120.
- [15] 赵春娥, 田冰, 刘刚, 等. IL-4 和 IL-10 基因多态性与肺结核患者抗结核药物性肝损伤的关联[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(4): 535-539.
- [16] HARIYANTO A D, PERMATA T B M, GONDHOW-IARDJO S A. Role of CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺Treg cells on tumor immunity[J]. *Immunol Med*, 2022, 45(2): 94-107.
- [17] RUSH-KITTLE J, GÁMEZ-DÍAZ L, GRIMBACHER B. Inborn errors of immunity associated with defects of self-tolerance checkpoints: the CD28 family[J]. *Pediatr Allergy Immunol*, 2022, 33(12): 13886.
- [18] BEREZHNOY A, SUMROW B J, STAHL K, et al. Development and preliminary clinical activity of PD-1-guided CTLA-4 blocking bispecific DART molecule[J]. *Cell Rep Med*, 2020, 1(9): 100163.
- [19] BORGES T J, MURAKAMI N, LAPE I T, et al. Overexpression of PD-1 on T cells promotes tolerance in cardiac transplantation via ICOS-dependent mechanisms[J]. *JCI Insight*, 2021, 6(24): 142909.
- [20] 黄远江, 蔡暖暖, 陈琼. 耐多药肺结核外周血 Treg 细胞表面 CTLA-4、PD-1 和 ICOS 表达及意义[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(21): 3268-3272.
- [21] PYO J Y, YOON T, AHN S S, et al. Soluble immune checkpoint molecules in patients with antineutrophil cytoplasmic antibody-associated vasculitis[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 21319.
- [22] SONG W M, LI S J, LIU J Y, et al. Impact of alcohol drinking and tobacco smoking on the drug-resistance of newly diagnosed tuberculosis: a retrospective cohort study in Shandong, China, during 2004 - 2020[J]. *BMJ Open*, 2022, 12(7): 59149.
- [23] 赵秀娟, 刘琳, 吴兴勇, 等. 海南省 369 例耐多药肺结核患者流行病学特征分析[J]. *海南医学院学报*, 2022, 28(3): 166-170.
- [24] ZHENG X, DAVIES FORSMAN L, BAO Z, et al. Drug exposure and susceptibility of second-line drugs correlate with treatment response in patients with multidrug-resistant tuberculosis: a multicentre prospective cohort study in China[J]. *Eur Respir J*, 2022, 59(3): 2101925.
- [25] PINHATA J M W, BRANDAO A P, GALLO J F, et al. GenoType MTBDRsl for detection of second-line drugs and ethambutol resistance in multidrug-resistant Mycobacterium tuberculosis isolates at a high-throughput laboratory[J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2023, 105(2): 115856.