

## • 基础实验研究论著 •

## C1q 对巨噬细胞抗结核中作用的影响及其机制研究\*

杨 燕, 李 炜, 李晓鹤, 罗莎莎, 李小勇

(深圳市第三人民医院检验科, 广东深圳 518000)

**摘要:**目的 探讨 C1q 在肺结核患者中的表达及其对巨噬细胞抗结核作用的机制。方法 选择活动性肺结核、结核性胸膜炎、结核杆菌潜伏感染者、健康对照者各 30 例, 于入院次日或健康体检时抽取外周静脉血 10~20 mL。对有胸腔积液者抽取胸腔积液 50 mL, 对行手术治疗的患者取肺组织标本 1 cm×1 cm×1 cm。采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测各组外周血巨噬细胞中 C1q 表达水平, 采用免疫组化染色检测肺组织内巨噬细胞 C1q 表达水平。结果 活动性肺结核组、结核性胸膜炎组患者外周血 C1qA 的表达水平明显高于健康对照组及潜伏感染组( $P<0.05$ )。结核性胸膜炎组患者胸腔积液 C1qA 的表达水平高于活动性肺结核组( $P<0.05$ ), 且两组患者胸腔积液中 C1q 的表达水平均高于其在外周血中的表达( $P<0.05$ )。活动性肺结核组及结核性胸膜炎组巨噬细胞胞浆中 C1q 均呈强表达, 在多核巨噬细胞中 C1q 的表达较弱。结论 结核病患者外周血 C1q 表达增高, 病变局部的免疫反应可能更为明显。C1q 在结核巨噬细胞中强表达, 可能与巨噬细胞分化和表型有相关性。

**关键词:** 补体系统; 巨噬细胞; 结核病

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.15.003

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2014)15-1974-02

## Study on effect of C1q on anti-TB action of macrophages and its mechanism\*

Yang Yan, Li Wei, Li Xiaohe, Luo Shasha, Li Xiaoyong

(Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Municipal Third People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518000, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the C1q expression in the patients with pulmonary tuberculosis(TB) and its mechanism on the anti-TB role of macrophages. **Methods** Each 30 cases of active pulmonary TB, tuberculous pleurisy, latent Mycobacterium tuberculosis infection and healthy controls were selected. Peripheral venous blood 10—20 mL was collected on the next day of admission or on the time for physical examination. Pleural fluid 50 mL was extracted in the patients with hydrothorax and the lung tissue specimens 1 cm×1 cm×1 cm was taken in the operative patients. The real-time quantitative PCR(RT-PCR) was adopted to detect the express C1q in peripheral macrophages and the C1q expressing in macrophages of the lung tissue was detected by immunohistochemical staining. **Results** The peripheral blood C1qA expression level in the active pulmonary TB group and the tuberculous pleurisy group was significantly higher than that in the healthy control group and the latent TB infection group( $P<0.05$ ). The C1qA expression level in hydrothorax in the tuberculous pleurisy group was higher than that in the active pulmonary TB group ( $P<0.05$ ), and the C1q expression in hydrothorax in these two groups was higher than that in peripheral blood ( $P<0.05$ ). C1q was strongly expressed in macrophage cytoplasm in the active pulmonary TB group and the TB pleurisy group, but weakly expressed in the multinuclear macrophages. **Conclusion** The peripheral blood C1qA expression level in the active pulmonary TB group and the tuberculous pleurisy group was significantly higher than that in the healthy control group and the latent TB infection group ( $P<0.05$ ). The C1qA expression level in hydrothorax in the tuberculous pleurisy group was higher than that in the active pulmonary TB group ( $P<0.05$ ), and the C1q expression in hydrothorax in these two groups was higher than that in peripheral blood ( $P<0.05$ ). C1q was strongly expressed in macrophage cytoplasm in the active pulmonary TB group and the TB pleurisy group, but weakly expressed in the multinuclear macrophages.

**Key words:** complement system; macrophages; tuberculosis

巨噬细胞在抗结核中起重要作用, 但是结核分枝杆菌能在巨噬细胞中长期存在, 并能够诱导巨噬细胞凋亡<sup>[1]</sup>, 其机制还不是很了解。补体系统通过多种途径调理结核菌的吞噬, 其中 C1q 能调节巨噬细胞内吞作用<sup>[2]</sup>。本文研究了 C1q 在结核病患者中的表达以及其对巨噬细胞功能的影响, 探讨 C1q 表达与结核发生、发展的关系, 为结核病的诊断和治疗提供新的靶点。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选择 2012 年 10 月至 2013 年 5 月本院收治的活动性肺结核病患者 30 例作为活动性肺结核组, 年龄 18~65 岁, 纳入标准: 痰菌阳性的肺结核患者或肺组织病理诊断为结核的患者; 无合并免疫抑制疾病; 接受抗结核治疗 2 周内。

结核性胸膜炎 30 例作为结核性胸膜炎组, 年龄 18~65 岁, 纳入标准: 痰菌阳性的肺结核患者或肺组织病理诊断为结核的患者, 伴有结核性胸腔积液形成; 无合并免疫抑制疾病; 接受抗结核治疗两周内。潜伏感染者 30 例作为潜伏感染组, 年龄 18~60 岁, 纳入标准: 有明确活动性肺结核病接触史; PPD 皮试强阳性或近期由阴性转为阳性; 结核菌 IFN- $\gamma$  释放检测阳性, 无临床症状, 胸片正常, 体检健康; 无其他疾病; 孕妇除外。选择同期来本院进行健康体检的健康者 30 例作为健康对照组, 年龄 18~60 岁, 纳入标准: PPD 皮试阴性或硬结小于 15 mm; 结核菌 IFN- $\gamma$  释放实验阴性, 无症状, 胸片正常; 体检健康; 无其他疾病; 孕妇除外。各组年龄、性别、体质量等资料比较差异无统计学意义( $P>0.05$ ), 具有可比性。

\* 基金项目: 深圳市科技计划项目(201203064)。 作者简介: 杨燕, 女, 主管技师, 主要从事免疫学检验研究。

**1.2 标本取材** 各组于入院次日或健康体检时抽取外周静脉血 10~20 mL, 对有胸腔积液者抽取胸腔积液 50 mL, 对行手术治疗的患者取肺组织标本 1 cm×1 cm×1 cm。

**1.3 C1q 表达水平的测定**

**1.3.1 外周血及胸腔积液中 C1q 的表达** 采用实时荧光定量 PCR(RT-PCR)检测各组外周血及胸腔积液巨噬细胞中 C1q 表达水平。

**1.3.2 肺组织内巨噬细胞 C1q 的表达** 采用免疫组化染色检测肺组织内巨噬细胞 C1q 表达, 在光学显微镜下观察上述 3 张切片的阳性细胞并计数, 每张切片选取 5 个高倍视野(400×), 共 15 个视野, 计数每个视野下细胞, 计算每 1 000 个细胞的阳性细胞率。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS13.0 统计软件, 计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组外周血 C1qA 的表达** 活动性肺结核组、结核性胸膜炎组患者外周血 C1qA 的表达水平明显高于健康对照组及和潜伏感染组( $t$  分别为 1.23、1.37,  $P < 0.05$ )。结核性胸膜炎组胸腔积液中 C1qA 的表达水平高于活动性肺结核组( $t = 1.89$ ,  $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组外周血 C1qA 表达水平及巨噬细胞中 C1q 阳性率比较

| 组别      | <i>n</i> | C1qA(ng/mL)     | C1qA 阳性率(%) |
|---------|----------|-----------------|-------------|
| 活动性肺结核组 | 30       | 256.45±25.33*#▲ | 62.10       |
| 结核性胸膜炎组 | 30       | 312.18±34.85**  | 82.19       |
| 潜伏感染组   | 30       | 43.69±12.35     | 35.5        |
| 健康对照组   | 30       | 32.95±8.63      | —           |

\*:  $P < 0.05$ , 与潜伏感染组比较; #:  $P < 0.05$ , 与健康对照组比较; ▲:  $P < 0.05$ , 与结核性胸膜炎组比较; —: 无数据。

**2.2 C1qA 在胸腔积液中的表达** 活动性肺结核组取胸腔积液 17 例, 结核性胸膜炎组取胸腔积液 26 例。结核性胸膜炎组患者胸腔积液 C1qA 的表达水平高于活动性肺结核组( $t = 1.04$ ,  $P < 0.05$ )。两组患者胸腔积液中 C1q 的表达水平均高于其在外周血中的表达( $t = 0.95$ ,  $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 C1qA 在胸腔积液中的表达(ng/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别      | <i>n</i> | C1qA          |
|---------|----------|---------------|
| 活动性肺结核组 | 17       | 302.11±29.75  |
| 结核性胸膜炎组 | 26       | 389.22±40.21* |

\*:  $P < 0.05$ , 与活动性肺结核组比较。

**2.3 C1q 在巨噬细胞中的表达** 经手术取样, 共获得肺组织标本 23 例, 其中活动性肺结核组 9 例、结核性胸膜炎组 12 例、潜伏性感染组 2 例。免疫组化染色发现, 在活动性肺结核组及结核性胸膜炎组巨噬细胞胞浆中 C1q 均呈强表达, 特别是在结核性胸膜炎中, 巨噬细胞几乎都表达 C1q。但是在多核巨噬细胞中 C1q 的表达较弱。见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。巨噬细胞 C1q 表达阳性率见表 1。

**3 讨论**

结核病时细胞反应活性的变化与迟发型超敏反应调节细胞的功能有关。在这类细胞中有表面带抗原-抗体复合物的淋巴细胞, 它能抑制迟发型超敏反应。体内体外试验均证实这种

迟发型超敏反应抑制细胞的活性受 C1q 调节<sup>[3-4]</sup>。C1q 蛋白家族由众多含 C1q 结构域的蛋白组成, 根据其结构特点可分为三大类分子: C1q、C1q-like 和 ghC1q。C1q 是补体经典途径的起始分子, 能够识别免疫复合物, 启动补体系统经典途径<sup>[5-6]</sup>。此外, 作为一种模式识别受体分子, 它可以结合种类繁多的配体, 参与补体系统的激活。C1q 增高见于结核病、骨髓炎类风湿关节炎、系统性红斑狼疮(SLE)血管炎、硬皮病、痛风等。

有研究者研究发现, 肺结核患者 IgM/C1q 的阳性率与年龄、性别、Ig、C3、ALT 等临床指标无关, 而与肺结核的初复治以及是否为活动性有关, 认为肺结核患者中 IgM/C1q 是机体排除抗原的一种保护性反应, 这种反应与机体的免疫反应性密切相关, 可作为估价机体整体免疫反应的有效指标<sup>[7-8]</sup>。本研究发现活动性肺结核组患者外周血 C1qA 的表达水平明显高于健康对照组及潜伏感染组, 结核性胸膜炎组胸腔积液中 C1qA 的表达水平高于活动性肺结核组, 提示 C1qA 的表达与结核病的有一定关系, 而且与结核病的病理类型有关。

本研究对结核病患者外周血及胸腔积液中的 C1q 进行了检测, 发现结核病患者无论是活动性结核病还是结核性胸膜炎患者, 其外周血 C1q 的表达均明显高于健康对照者和潜伏感染者, 且结核性胸膜炎患者胸腔积液中 C1q 的表达高于外周血中的 C1q, 提示结核病患者外周血及胸腔积液中 C1q 的表达增高, 可能与免疫系统激活有关, 而且在病变局部的免疫反应可能更为明显。

结核杆菌能在巨噬细胞中长期存在, 补体可通过多种途径调理巨噬细胞对结核杆菌的吞噬<sup>[9-10]</sup>。C1q 是介导巨噬细胞内吞作用的重要因子。本研究发现, 在活动性肺结核组及结核性胸膜炎组巨噬细胞胞浆中 C1q 均呈强表达, 特别是在结核性胸膜炎中, 巨噬细胞几乎都表达 C1q。但是在多核巨噬细胞中 C1q 的表达较弱, 提示 C1q 不但在结核巨噬细胞中强表达, 而且有可能与巨噬细胞分化和表型有相关性。

**参考文献**

[1] 刘云霞, 张万江. 结核分枝杆菌与巨噬细胞相互作用的研究进展[J]. 中国细胞生物学报, 2012, 34(6): 617-622.

[2] 倪传源. 实验性结核迟发型超敏反应与 C1α 产生的关系[J]. 国际免疫学杂志, 1988, 4(1): 79.

[3] 傅文红, 黄雪芳, 彭宜宪. 肺结核 IgM 激活 C1q 类双特异性循环免疫复合物的研究[J]. 中国公共卫生, 2002, 18(12): 1439-1440.

[4] 冯清. 阿莫西林克拉维酸钾治疗难治性结核性胸膜炎 52 例[J]. 中华医学杂志, 2010, 19(19): 75-76.

[5] 刘俊平. 阿莫西林克拉维酸钾治疗难治性结核性腹膜炎 38 例[J]. 陕西医学, 2010, 19(21): 59-61.

[6] 王晓, 刘幸, 王璐. 阿莫西林/克拉维酸钾联合左氧氟沙星治疗耐多药肺结核临床疗效分析[J]. 中国药物警戒, 2011, 8(9): 521-523.

[7] 中国防痨协会. 耐药结核病化学治疗指南(2009)[J]. 中国防痨杂志, 2010, 32(4): 181-198.

[8] 郑晓静. 氧氟沙星联合阿莫西林克拉维酸钾治疗耐多药肺结核的疗效分析[J]. 中国医药指南, 2010, 8(33): 74-75.

[9] 冯玉英. 阿莫西林克拉维酸钾治疗难治性肺结核 45 例[J]. 临床医药, 2010, 19(23): 63-64.

[10] 高官聚, 张广宇. 肺结核病学[M]. 长春: 长春出版社, 2006: 389.