

基于GEO/IEU OpenGWAS数据库及毒力因子ESAT-6/CFP-10免疫应答筛选与验证结核病核心炎症基因

吾尔肯·居马巴依¹, 许爱敏², 邹小广²

(1. 新疆医科大学第三临床医学院, 乌鲁木齐 830000; 2. 喀什地区第一人民医院, 新疆喀什 844000)

摘要: **目的** 筛选并验证由结核分枝杆菌(MTB)毒力因子ESAT-6/CFP-10调控的关键基因, 并阐明其在MTB感染中的作用, 为开发新型结核病(TB)诊断标志物提供理论支持与候选靶点。**方法** 基于GEO数据集GSE98461, 整合差异表达分析与加权基因共表达网络分析(WGCNA), 筛选靶基因并进行基因本体论(GO)功能注释与京都基因与基因组百科全书(KEGG)通路富集分析; 利用Cytoscape构建蛋白互作(PPI)网络识别枢纽基因, 分析免疫细胞浸润特征; 进一步采用孟德尔随机化(MR)评估基因与TB的因果关联, 并通过临床样本和RAW264.7巨噬细胞模型进行定量逆转录聚合酶链反应(RT-qPCR)验证。**结果** 共筛选出414个靶基因, GO与KEGG分析显示其显著富集于免疫相关功能与通路; PPI网络分析进一步确定了IL-6、IL-10、PTGS2(COX-2)、IL-1A及CSF3(G-CSF)为核心枢纽基因; 免疫浸润分析提示M1型巨噬细胞在免疫应答中发挥重要作用; MR分析表明IL-10与TB风险存在因果关系($P=0.0298$); 实验验证显示相较于对照组, ESAT-6/CFP-10刺激可显著上调巨噬细胞中基因IL-6、IL-10和PTGS2的mRNA表达水平, 差异具有统计学意义($t=2.850\sim3.399$, 均 $P<0.05$); 相对于健康对照组, 活动性结核患者外周血中基因IL-6与IL-10的mRNA水平也显著高表达, 差异具有统计学意义($t=3.320、2.766$, 均 $P<0.01$)。**结论** IL-6、IL-10和PTGS2在ESAT-6/CFP-10介导的结核免疫应答中具有核心作用, 有望成为TB潜在检测与干预靶点。

关键词: 结核病; 早期分泌抗原6; 培养滤液蛋白10; 孟德尔随机化; 生物信息学

中图分类号: R52; R446.11 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2026)02-050-08

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2026.02.009

Screening and Verification of Core Inflammatory Genes in Tuberculosis via GEO/IEU OpenGWAS Database Mining and ESAT-6/CFP-10 Virulence Factor Immune Response

WUERKEN Jumabai¹, XU Aimin², ZOU Xiaoguang²

(1. the Third Clinical Medical College of Xinjiang Medical University, Urumqi 830000, China; 2. the First People's Hospital of Kashi, Xinjiang Kashi 844000, China)

Abstract: Objective To identify key genes regulated by the *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) virulence factors ESAT-6/CFP-10 and to elucidate their roles in MTB infection, thereby providing theoretical support and candidate targets for developing novel tuberculosis (TB) diagnostic biomarkers. **Methods** Based on GEO dataset GSE98461, differential expression analysis and Weighted Gene Co-expression Network Analysis (WGCNA) were integrated to screen candidate genes. Functional enrichment analysis was performed using Gene Ontology (GO) functional annotation and the Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) pathway enrichment analysis. Cytoscape was used to construct protein-protein interaction (PPI) networks to identify hub genes, and immune cell infiltration pattern. Mendelian randomization (MR) was employed to assess causal relationships between candidate genes and TB risk. Findings were validated using clinical samples and RAW264.7 macrophage model via quantitative reverse transcription PCR (RT-qPCR). **Results** 414 target genes were identified, with GO and KEGG analyses revealing significant enrichment in immune-related functions and pathways. PPI network analysis further identified IL-6, IL-10, PTGS2 (COX-2), IL-1A, and CSF3 (G-CSF) as hub genes. Immune infiltration analysis suggested M1 macrophages played a crucial role in the immune response. MR analysis indicated a causal relationship between IL-10 expression and TB risk ($P=0.0298$). Experimental verification demonstrated that compared to the control group, ESAT-6/CFP-10 stimulation significantly upregulated the mRNA levels of IL-6, IL-10, and PTGS2 in macrophages ($t=2.850\sim3.399$, all $P<0.05$). Relative to the healthy controls, patients with

基金项目: 国家自然科学基金(82260004); 新疆维吾尔自治区重点研发计划项目(2022B03032; 2022B03032-3)

作者简介: 吾尔肯·居马巴依(1999-), 男, 硕士在读, 研究方向: 结核病致病机制相关研究, E-mail: wuerken1007@163.com。

通讯作者: 邹小广(1964-), 男, 博士, 主任药师, 研究方向: 结核病致病机制及医院管理相关研究, E-mail: zxgkdy1934@126.com。

active TB showed significantly higher mRNA levels of IL-6 and IL-10 in peripheral blood ($t=3.320, 2.766$, all $P<0.01$). **Conclusions** IL-6, IL-10, and PTGS2 play central roles in the ESAT-6/CFP-10-mediated immune response to tuberculosis, supporting their potential as targets for TB detection and intervention.

Keywords: tuberculosis; early secreted antigenic target of 6 kD; culture filtrate protein of 10 kD; Mendelian randomization; bioinformatics

结核病(tuberculosis, TB)是由结核分枝杆菌(*Mycobacterium tuberculosis*, MTB)引发的严重传染病,其发病率和死亡率长期居高不下,是全球公共卫生的重大威胁^[1]。世界卫生组织最新数据显示,2023年全球新发TB患者1 080万例,死亡125万人,该病已成为头号传染病致死原因^[2]。因此,强化TB的早期诊断与治疗对改善公共卫生结局具有深远意义。MTB的致病性与其毒力因子密切相关,其中由RD1区域编码的早期分泌抗原6(early secreted antigenic target of 6 kD, ESAT-6)和培养滤液蛋白(culture filtrate protein of 10 kD, CFP-10)以二聚体形式存在^[3],不仅在宿主细胞侵袭中起作用,更是免疫逃逸的关键媒介^[4]。感染过程中,尽管固有免疫细胞(如巨噬细胞、树突状细胞)通过细胞因子网络协同抵御MTB^[5],病原体仍能通过抑制自噬、重塑细胞因子环境(如促进IL-10分泌)等机制,诱导免疫耐受并促进疾病慢性化^[6]。鉴于ESAT-6/CFP-10在免疫调节中的核心地位,本研究旨在通过整合生物信息学分析与实验验证,系统筛选其调控的枢纽基因并探讨相关机制,以期理解结核感染免疫失衡及诊断靶标开发提供新视角。

1 材料和方法

1.1 研究对象 本研究基于GEO数据库,纳入了GSE98461数据集(平台GPL6480),该数据集包含经MTB特异性抗原ESAT-6/CFP-10($10\mu\text{g/ml}$, 24 h)刺激与未刺激的外周血单个核细胞(PBMC)转录组样本,涵盖活动性TB患者(TB, $n=4$)、潜伏性感染者(LTBI, $n=4$)及健康对照(HC, $n=4$)。从IEU OpenGWAS项目数据库中获取遗传数据,其具体编号为:IL-6 (prot-c-4673_13_2)、IL-10 (prot-c-2773_50_2)、PTGS2/COX-2 (prot-c-3761_4_2)、IL-1A (prot-c-4851_25_1)、CSF3/G-CSF (prot-c-4840_73_1)以及活动性TB (ebi-a-GCST90018892)。实验验证部分纳入了2025年1月~6月在喀什地区第一人民医院就诊30例TB患者作为研究对象,同期30例健康志愿者作为对照组。健康对照组的入选标准:无潜在结核感染证据,无咳嗽、咳痰或发热等呼吸道相关症状;胸部影像学检查未见异常;酶联免疫斑点检测结果阴性; γ -干扰素释放试验及结核菌素皮肤试验结果阴性;且无活动性TB征象。TB组的诊断及分类,严格参照《肺结核诊断和治疗指南》及《结核病诊断标准和分类》执行,综合考量流行病学史、临床表现与体征,并以微生物学及病理学检测结果为确诊依据。

排除标准:人类免疫缺陷病毒(HIV)、乙型肝炎病毒(HBV)或丙型肝炎病毒(HCV)血清学检测阳性;合并糖尿病、恶性肿瘤或严重自身免疫性疾病;正在使用免疫抑制剂或免疫增强剂;处于妊娠期或哺乳期的女性;以及年龄未满18周岁者。本研究通过喀什地区第一人民医院伦理委员会批准“[2024]快审研第(85)号”。

1.2 仪器与试剂 实时荧光定量PCR仪、Nano-DROP one超微量分光光度计(美国ThermoFisher公司);全波长酶标仪(美国Bio-Rad公司);RNAprep pure血液总RNA提取试剂盒、RNA Easy Fast细胞总RNA提取试剂盒[天根生化科技(北京)有限公司];PrimeScript RT reagent Kit逆转录试剂盒(北京宝日医生物技术有限公司);TB Green™ Premix Ex Taq™ II (Tli RNaseH Plus)实时荧光定量PCR试剂(美国ThermoFisher公司);RAW264.7小鼠巨噬细胞、高糖DMEM培养基、胎牛血清(武汉普诺赛生命科技有限公司);ESAT-6/CFP-10融合蛋白(上海晶诺生物科技有限公司);CCK-8细胞活力检测试剂盒(武汉塞维尔生物科技有限公司)。引物由北京擎科生物科技股份有限公司合成。

1.3 方法

1.3.1 差异表达基因与加权基因共表达网络分析: 本研究基于GSE98461数据集[公开获取自Gene Expression Omnibus (GEO)数据库(<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/geo/>)]及其对应平台文件GPL6480进行分析。首先,原始表达矩阵使用R语言进行标准化预处理,包括探针注释与离群样本剔除;随后,通过GEO2R工具进行差异表达分析,以健康对照组为参照,筛选TB患者组中符合 $|\log_2\text{FC}| \geq 1$ 且校正后 $P<0.05$ 条件的差异表达基因(DEGs),并使用火山图对结果进行可视化;同时,采用R语言的加权基因共表达网络分析(WGCNA)软件包构建加权基因共表达网络。将基因划分为不同模块后,识别出与TB表型最显著相关的关键模块。根据基因显著性(GS)与模块成员度(MM)均 >0.8 的标准,从该关键模块中筛选候选基因。最终,取此部分基因与上述差异表达基因的交集,作为后续分析的核心基因集,并通过韦恩图展示其重叠关系。

1.3.2 基因富集分析: 将筛选所得的关键DEGs导入R软件中。借助db、ggplot2以及clusterProfiler等软件包算法,对基因进行基因本体论(GO)富集分析与京

都基因与基因组百科全书(KEGG)信号通路分析,以探究这些基因在生物进程中的作用。

1.3.3 关键基因的网络构建与鉴定:将筛选出的关键DEGs导入STRING在线数据库,构建PPI网络。下载相关数据用于后续分析,并且将PPI数据导入Cytoscape软件,借助CytoHubba插件筛选出Degree Score排名前10的基因,同时运用Mcode插件筛选出网络中Module Score排名前10的基因,最终确定两算法交集所对应的基因为核心基因。

1.3.4 免疫细胞浸润分析:采用CIBERSORT反卷积算法对样本中22种免疫细胞亚群的浸润丰度进行量化,比较TB患者与健康对照间的差异。

1.3.5 基因与结核病的孟德尔随机化(Mendelian randomization, MR)分析:用于MR分析的遗传工具变量与结局数据来源于IEU OpenGWAS平台(<https://gwas.mrcieu.ac.uk/>)。采用两样本MR框架,以探究特征基因与TB发病的因果关联。工具变量(IVs)为从GWAS中筛选出的独立单核苷酸多态性(SNPs),筛选遵循全基因组显著性水平($P < 5 \times 10^{-8}$)^[7]。为确保验证独立性,对处于连锁不平衡(LD)的SNPs(判定标准: $r^2 < 0.001$,窗口大小=10 000 kb),仅保留关联性最强者^[8]。分析严格遵循MR三大核心假设^[9],并计算F统计量($F > 10$)以确保工具变量强度。F统计量通过公式 $F = R^2 \times (N - 2) / (1 - R^2)$ 计算,其中 R^2 为SNP所解释的表型方差,N为GWAS样本量;所有入选SNPs的F统计量均大于10,以有效避免弱工具变量偏倚^[10]。核心因果估计采用逆方差加权法(IVW),并

辅以加权中位数法、简单模式与加权模式进行多模型验证^[11]。通过Cochran's Q检验评估异质性,使用MR-Egger截距法检测水平多效性(显著性水平设为 $P < 0.05$),并采用“留一法”进行敏感性分析^[12]。

1.3.6 细胞培养、实验分组与细胞活力检测:将RAW264.7细胞复苏后,使用含10g/dl FBS的高糖DMEM完全培养基,于37℃、5%(v/v)CO₂条件下进行常规培养。待细胞生长至对数期,收集并重悬细胞,调整密度并接种至96孔板(每孔100 μl)用于后续实验。实验设置空白对照组及ESAT-6/CFP-10融合蛋白处理组。处理组依据预设浓度(0、2.5、5、10 μg/ml)与时程(6、12、24 h)对细胞进行刺激,每组设至少3个复孔。刺激结束后,每孔加入10 μl CCK-8溶液,于培养箱中避光孵育适当时间。最后,使用酶标仪在450nm波长下检测各孔吸光度值,以评估细胞存活率。

1.3.7 RT-qPCR检测:分别采集健康对照组与TB患者组的静脉全血2ml,并立即使用RNAprep pure血液总RNA提取试剂盒提取总RNA;对于细胞样本,则使用RNA Easy Fast细胞总RNA提取试剂盒进行总RNA提取。随后,将合格的RNA反转录为cDNA,并以其为模板进行实时荧光定量PCR(qPCR)扩增。反应体系为20 μl,程序如下:95℃预变性30s;随后进行40个循环的95℃ 5s、60℃ 30s和72℃ 20s。通过qPCR获得各目标基因与内参基因的循环阈值(Ct),并采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法计算目的基因的mRNA相对表达量。引物序列见表1。

表1 实时荧光定量PCR引物序列(5'→3')

基因	上游引物	下游引物
IL-6	ACTCACCTTTCAGAACGAATTG	CCATCTTTGGAAGGTTTCAGGTTG
IL-10	GACTTTAAGGGTTACCTGGGTTG	TCACATGCCCTTGATGTCTG
PTGS2	CTGGCGCTCAGCCATACAG	CGCACTTATACTGCTCAAATCCC
IL-1A	TGCTAGTAGCAACCAACGGGA	ACTTTGATTGAGGGCGTCATTC
CSF3	GCTGCTTGAGCCAACTCCATA	GAACGCCGTACGACACCTC
GAPDH	GCTGAGTACGTCCTGGAGTC	TTGCTGATGATCTTGAGGCTGT

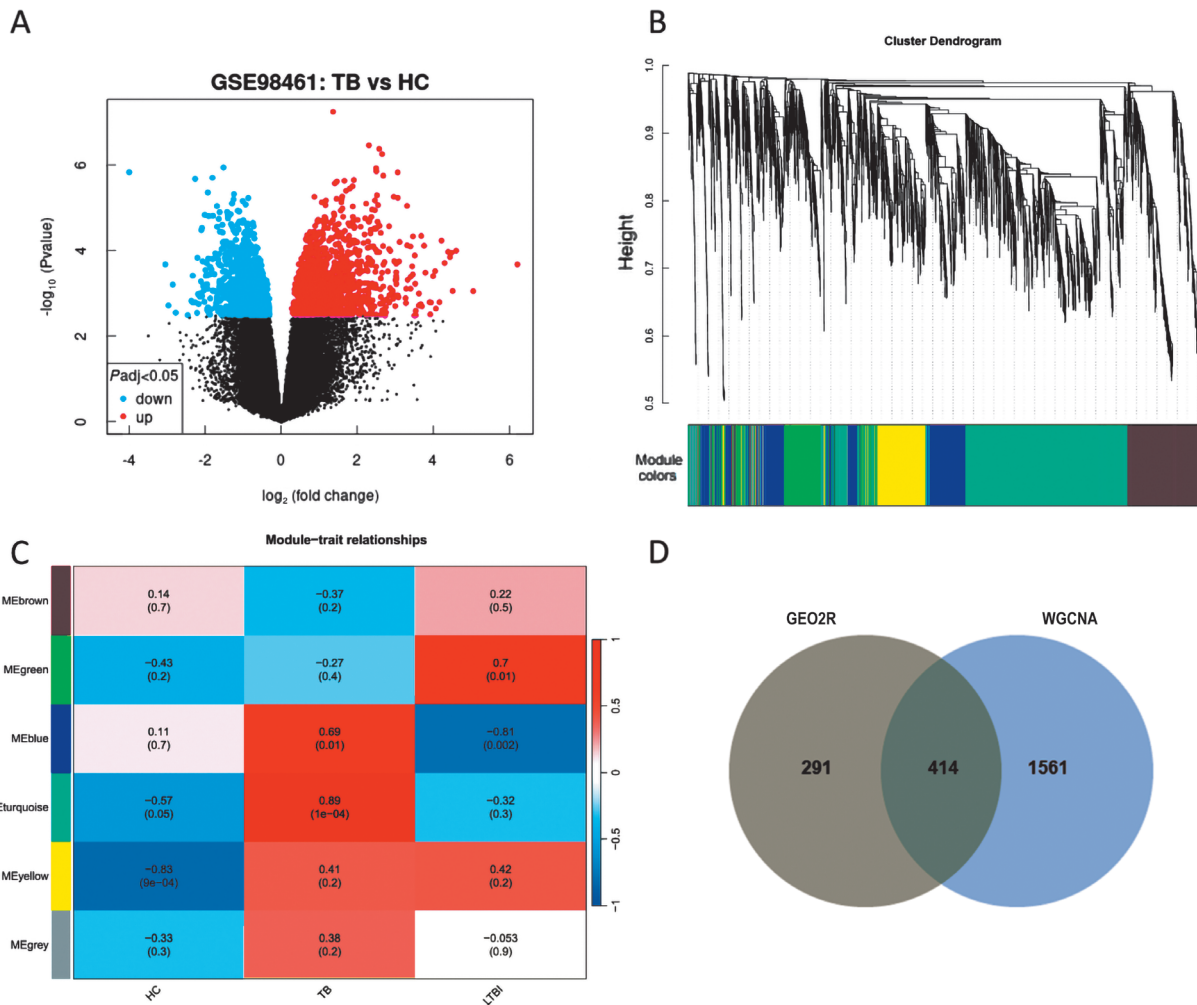
1.4 统计学分析 本研究使用R软件(Version 4.4.1)与GraphPad Prism 9.0进行统计分析。计量资料以均值±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用Student t检验, $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 核心基因集的筛选 基于GSE98461数据集的差异表达分析鉴定出705个显著DEGs(上调465个,下调240个),见图1A。WGCNA分析经参数优化(软阈值 $\beta = 6$, $R^2 \geq 0.8$)后,将基因划分为6个模块,见图1B,并识别出与TB表型最相关的青绿色模

块($r = 0.89$, $P < 1 \times 10^{-4}$),见图1C。从该模块中提取的1975个基因与全部DEGs取交集,最终得到414个核心交集基因用于后续分析,见图1D。

2.2 功能与通路富集分析 对414个核心基因进行的GO/KEGG富集分析显示,这些基因在生物学过程(BP)上显著富集于髓系白细胞迁移等免疫相关通路;在细胞组分(CC)上主要定位于分泌颗粒膜等结构;在分子功能(MF)上核心涉及细胞因子受体结合等活性。KEGG通路分析揭示靶基因显著富集于细胞因子-受体互作、IL-17信号通路等免疫调控网络。



A: 差异表达基因火山图; B: 加权共表达网络聚类树状图; C: 模块 - 性状相关性热图; D: 核心基因筛选韦恩图。

图1 结核病核心炎症基因筛选流程及结果

2.3 基于PPI网络的枢纽基因鉴定 基于STRING数据库构建靶基因PPI网络, 导入Cytoscape平台进行拓扑分析, 见图2A; 应用CytoHubba插件Degree算法鉴定度中心性前10的核心节点, 见图2B; 经Mcode模块化聚类筛选模块评分前10的枢纽基因, 见图2C; 两种算法交叉验证最终确定基因IL-6、IL-10、PTGS2(COX-2)、IL-1A及CSF3(G-CSF)为核心调控节点, 见图2D。

2.4 免疫浸润分析 基于CIBERSORT反卷积算法的免疫浸润分析显示, 与健康对照组相比, TB组中M1型巨噬细胞的浸润比例显著增加($P < 0.05$), 提示M1型巨噬细胞可能在MTB感染的免疫应答中扮演重要角色, 见图3A。

2.5 MR分析 基于预设筛选标准, 本研究成功为五个炎症相关基因座筛选出可用于双样本MR分析的遗传工具变量, 分别为IL-6(3个)、IL-10(3个)、PTGS2(5个)、IL-1A(7个)和CSF3(6个)。核心因果效应采用逆方差加权法进行估计。结果显示, 遗传预测的IL-10水平升高与TB发病风险增加之间存在显著因果关

联($OR=1.098$, 95% CI: 1.009~1.189, $P=0.0298$), 而其余基因IL-6($P=0.1376$)、PTGS2($P=0.6723$)、IL-1A($P=0.1900$)及CSF3($P=0.8629$)均未显示出与TB风险的显著因果关系($P > 0.05$), 见图3B。

2.6 关键基因在细胞与临床样本中的表达验证 实验确定10 μ g/ml ESAT-6/CFP-10刺激24h为有效建模条件, 见图4。在该条件下, RT-qPCR检测显示, 与对照组相比, 巨噬细胞中基因IL-6、IL-10和PTGS2的mRNA表达水平均显著上调(均 $P < 0.05$), 而基因IL-1A与CSF3的mRNA表达水平差异无统计学意义($P > 0.05$), 见表2。对临床样本的分析发现, 活动性TB患者外周血中基因IL-6与IL-10的mRNA表达水平显著高于健康对照, 差异具有统计学意义(均 $P < 0.01$), 但基因PTGS2、IL-1A及CSF3的mRNA表达水平差异无统计学意义(均 $P > 0.05$), 见表3。

3 讨论

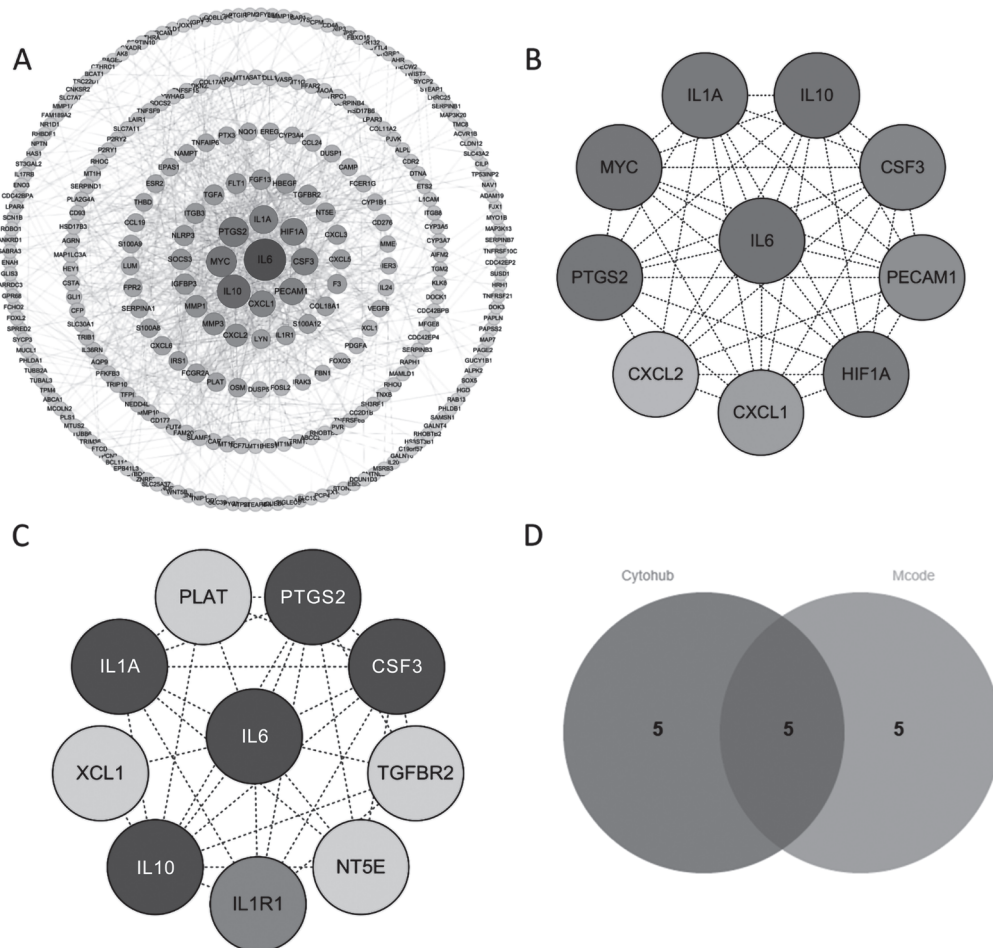
本研究通过整合生物信息学筛选、MR因果推断及多层面实验验证, 系统揭示了MTB毒力因子ESAT-6/CFP-10可能通过调控基因IL-6、IL-10与PTGS2等

关键节点的表达,在TB免疫应答中发挥核心作用。

IL-6是由巨噬细胞和T淋巴细胞等分泌的多效性促炎因子,在TB感染中具有双重作用^[13-14]:一方面,它通过激活JAK-STAT信号通路^[15]、促进Th17分化^[16]、协同IFN- γ 等增强巨噬细胞抗菌功能,有助于抗结核免疫^[17];另一方面,IL-6水平持续高表达可能引发过度炎症,导致组织损伤^[18]。临床研究表明,活动性TB患者血清IL-6水平显著升高,且与病情严重程度相关,治疗后下降,提示其可作为疾病活动度的生物标志物^[19]。本研究在临床样本与细胞模型中均证实了基因IL-6表达在ESAT-6/CFP-10刺激下及结核病患者中显著上调,这与既往关于血清IL-6水平升高与病情相关的报道相互印证;结合ESAT-6/CFP-10已知的免疫激活与调控功能,我们推测,MTB可能利用ESAT-6/CFP-10主动诱导IL-6的过度表达,以塑造一个既有利于其存活又导致免疫病理损伤的炎症环境。这种激发作用可能通过多种途径实现:ESAT-6能够经TLR等受体直接激活巨噬细胞,促进IL-6的分泌^[20];同时,ESAT-6也可通过抑制ROS和NF- κ B通路负向调节IL-6生成^[21],而

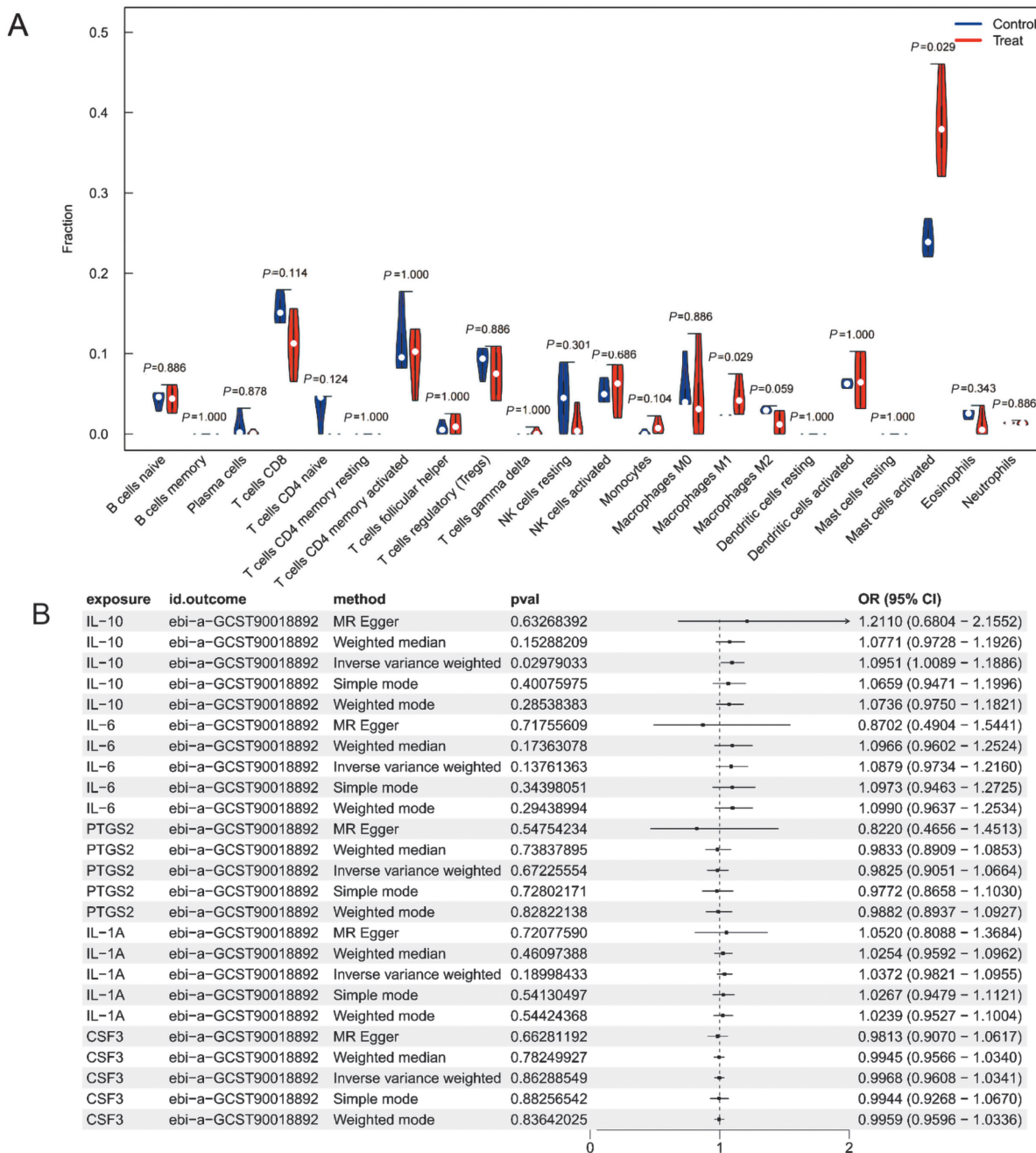
CFP-10介导的细胞裂解可能促使预存IL-6释放,加剧局部炎症^[22-23]。

本研究的MR分析表明基因IL-10与TB风险存在潜在因果关联,且临床样本与细胞实验均证实其表达受ESAT-6/CFP-10诱导并高表达于活动性结核病患者中,这与IL-10在结核感染中发挥免疫抑制作用的共识相符^[24-25]。因此,ESAT-6/CFP-10诱导的IL-10高表达,很可能是MTB用以削弱宿主Th1免疫应答、促进自身胞内存活的重要策略之一。研究表明,MTB可通过ESAT-6经TLR2/MyD88信号轴驱动巨噬细胞高表达基因IL-10,从而构建免疫抑制微环境^[26-27];与此相符的是,临床证据显示活动性TB患者血清与病灶局部基因IL-10表达水平与细菌负荷呈正相关^[28]。在诱导机制上,ESAT-6/CFP-10可促进基因IL-10的产生:文献报道,活动性结核患者外周血在ESAT-6/CFP-10刺激下基因IL-10的表达显著高于健康对照或潜伏感染者^[29];ESAT-6/CFP-10所诱导的IL-10通过抑制巨噬细胞iNOS与TNF- α 表达,同时削弱固有免疫杀菌能力与Th1应答,为MTB胞内存活创造有利条件^[30-31]。



A: 关键共表达基因的蛋白互作网络图; B: 基于度中心性(Degree)筛选的前10个枢纽基因; C: 基于Mcode聚类分析确定的模块前10个基因; D: 交叉筛选确定的核心基因韦恩图。

图2 核心枢纽基因的蛋白互作网络鉴定



A: 免疫浸润图; B: MR 森林图。

图3 免疫浸润分析与MR分析结果

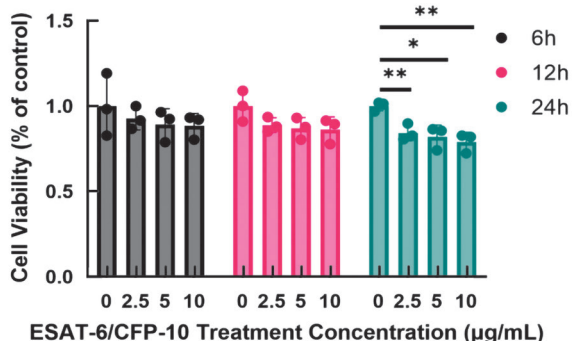


图4 ESAT-6/CFP-10对RAW264.7巨噬细胞活力的影响

表2 ESAT-6/CFP-10刺激对巨噬细胞关键基因 mRNA 表达的影响 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

基因名称	对照组 (0µg/ml)	实验组 (10µg/ml)	t 值	P 值
IL-6	1.010±0.153	1.297±0.165	2.850	0.022
IL-10	1.008±0.143	1.235±0.043	3.399	0.009
PTGS2	1.006±0.121	1.214±0.066	3.380	0.010
IL-1A	1.007±0.122	0.946±0.107	0.840	0.425
CSF3	1.004±0.100	0.993±0.083	0.192	0.853

表3 活动性结核病患者与健康对照外周血关键基因 mRNA 表达比较 ($2^{-\Delta\Delta Ct}$)

基因名称	健康组 (n=30)	结核组 (n=30)	t 值	P 值
IL-6	1.019 ± 0.195	1.196 ± 0.219	3.320	0.002
IL-10	1.016 ± 0.178	1.159 ± 0.221	2.766	0.008
PTGS2	1.018 ± 0.194	1.099 ± 0.120	1.939	0.057
IL-1A	1.020 ± 0.197	1.071 ± 0.140	1.149	0.255
CSF3	1.018 ± 0.203	1.056 ± 0.164	0.802	0.426

PTGS2基因编码的环氧合酶-2(COX-2)作为前列腺素E2(PGE2)合成的限速酶^[32-33],在TB灶中呈现时空动态表达特征:感染早期通过ESAT-6抑制COX-2核心转录因子NF-κB信号^[34],从而利于免疫逃逸^[35];晚期则经ESAT-6/CFP-10诱导的细胞程序性坏死释放DAMPs,激活嘌呤能受体/TLR通路驱动COX-2/PGE2级联反应^[36]。尽管活动性结核患者外周血PTGS2 mRNA水平未显著变化,但细胞实验证实其表达可被ESAT-6/CFP-10显著诱导,这种差异提示PTGS2/COX-2的作用可能具有组织局限性,主要富集于感染病灶局部。多项研究指出,COX-2的表达与活性在结核肉芽肿内部高度活跃,其表达水平可远高于外周循环^[37],且与局部炎症程度密切正相关^[38]。因此,ESAT-6/CFP-10诱导的PTGS2表达上调,可能在结核局部微环境中通过调节前列腺素等脂类介质,参与精细调控炎症与免疫平衡。

本研究存在一定局限性。首先,生物信息学分析所依据的GSE98461数据集及临床验证队列样本量相对有限;其次,MR分析结果可能受限于工具变量的有效性与潜在多效性;此外,细胞实验仅初步验证了关键基因的表达变化,其上下游调控网络及体内功能需在动物模型等体系中深入探究。

综上,本研究明确了基因IL-6、IL-10和PTGS2是ESAT-6/CFP-10下游的关键调控节点,为理解结核免疫失衡机制提供了新视角。

参考文献:

- 丁磊,徐俊驰,邱文娜,等.结核分枝杆菌耐药机制和治疗的最新研究进展[J].现代检验医学杂志,2021,36(2):1-5,48.
DING L, XU J C, QIU W N, et al. Latest research progress on the drug resistance mechanism and treatment of *Mycobacterium tuberculosis*[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(2): 1-5, 48.
- NING J X, WANG R, PAN Y C, et al. Impact of tuberculosis on median survival time and years of potential life lost in patients: a scoping review[J]. Journal of Clinical Tuberculosis and Other Mycobacterial Diseases, 2025, 41: 100568.
- SARAIVA M, VIEIRA P, O'GARRA A. Biology and therapeutic potential of interleukin-10[J]. Journal of Experimental Medicine, 2020, 217(1): e20190418.
- LIU S Y, XIAO G H, LI P X, et al. Plasma-based ultrasensitive detection of *Mycobacterium tuberculosis* ESAT6/CFP10 fusion antigen using a CRISPR-driven aptamer fluorescence testing (CRAFT)[J]. Biosensors and Bioelectronics, 2025, 284: 117566.
- HUANG L, NAZAROVA E V, TAN S M, et al. Growth of *Mycobacterium tuberculosis* in vivo segregates with host macrophage metabolism and ontogeny[J]. Journal of Experimental Medicine, 2018, 215(4): 1135-1152.
- NIU Q, WANG M, LIU X S. The evolving landscape of IL-10, IL-22 and IL-26 in pleurisy especially in tuberculous pleurisy[J]. Respiratory Research, 2024, 25(1): 275.
- LIU K C, ZOU J, FAN H M, et al. Causal effects of gut microbiota on diabetic retinopathy: a Mendelian randomization study[J]. Frontiers in Immunology, 2022, 13: 930318.
- ZHANG H W, SU Y, HAI Y D, et al. The m6A regulatory gene YTHDF3 alleviates acute pancreatitis by modulating CD45RA+ resting treg cells: a novel immunomodulatory biomarker[J]. Medicine, 2025, 104(37): e44443.
- SEKULA P, DEL GRECO M F, PATTARO C, et al. Mendelian randomization as an approach to assess causality using observational data[J]. Journal of the American Society of Nephrology, 2016, 27(11): 3253-3265.
- 文维农,安祯祥,何远利,等.免疫细胞与肺结核的因果关系:一项孟德尔随机化研究[J].中国防痨杂志,2024,46(12):1519-1526.
WEN W N, AN Z X, HE Y L, et al. The causal relationship between immune cells and pulmonary tuberculosis: a Mendelian randomization study[J]. Chinese Journal of Antituberculosis, 2024, 46(12): 1519-1526.
- MOUNIER N, KUTALIK Z. Bias correction for inverse variance weighting Mendelian randomization[J]. Genetic epidemiology, 2023, 47(4): 314-331.
- 李苏亮,王哲,刘冰,等.基于孟德尔随机化研究体重指数与输血反应的因果关联[J].现代检验医学杂志,2025,40(6):149-153.
LI S L, WANG Z, LIU B, et al. Study on the causal association between the body mass index and transfusion reactions based on Mendelian randomization[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2025, 40(6): 149-153.
- PENG Z L, XU C, YOU T X, et al. Depletion of *Mycobacterium tuberculosis* transmembrane protein Rv3737 reduces pathogen survival and induces M1 macrophage polarization against tuberculosis[J]. Frontiers in Cellular and Infection Microbiology, 2025, 15: 1592296.
- ZHU Z K, WANG H R, WANG X T, et al. The relationship between interleukin and ankylosing spondylitis[J]. Cytokine, 2025, 192: 156968.
- ALAM A, IMAM N, SIDDIQUI M F, et al. Human gene

- expression profiling identifies key therapeutic targets in tuberculosis infection: a systematic network meta-analysis[J]. *Infection Genetics and Evolution*, 2021, 87: 104649.
- [16] WEI J, GUO F Z, SONG Y M, et al. Transcriptional analysis of human peripheral blood mononuclear cells stimulated by *Mycobacterium tuberculosis* antigen[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2023, 13: 1255905.
- [17] 李建军, 吴素方, 白丰玺. 基于Janus激酶/信号转导和转录激活因子信号通路的乙胺丁醇片对肺结核大鼠模型的作用机制[J]. *中国医学科学院学报*, 2022, 44(4): 555-562.
- LI J J, WU S F, BAI F X. Action mechanism of ethambutol tablets on pulmonary tuberculosis rat model based on Janus kinase/signal transducer and activator of transcription signaling pathway [J]. *Acta Academiae Medicinae Sinicae*, 2022, 44(4): 555-562.
- [18] MUBEEN S A, VATS D, YADAV K, et al. CD14⁺CD16⁻ classical monocyte subset secreting IL-1 β and IL-10 is associated with 'Tuberculosis Resisters' phenotype[J]. *Human Immunology*, 2025, 86(2): 111240.
- [19] MENSAH G I, AMPONSAH J A, ALAHAMAN N B, et al. Performance of eight serum cytokine/chemokine biomarkers in discriminating between active and latent tuberculosis infection in Ghana[J]. *Frontiers in Immunology*, 2025, 16: 1600712.
- [20] SHEY M S, BALFOUR A, MASINA N, et al. Mycobacterial-specific secretion of cytokines and chemokines in healthcare workers with apparent resistance to infection with *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Frontiers in Immunology*, 2023, 14: 1176615.
- [21] LI F K, LUO J, XU H, et al. Early secreted antigenic target 6-kDa from *Mycobacterium tuberculosis* enhanced the protective innate immunity of macrophages partially via HIF1 α [J]. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 2020, 522(1): 26-32.
- [22] GUO Y D, LIU K H, YANG X T, et al. Multi-omics-based characterization of the influences of *Mycobacterium tuberculosis* virulence factors EsxB and PPE68 on host cells[J]. *Archives of Microbiology*, 2023, 205(6): 230.
- [23] RUIZ-SÁNCHEZ B P, CASTAÑEDA-CASIMIRO J, CABRERA-RIVERA G L, et al. Differential activation of innate and adaptive lymphocytes during latent or active infection with *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Microbiology and Immunology*, 2022, 66(10): 477-490.
- [24] ABDALLA A E, LAMBERT N, DUAN X K, et al. Interleukin-10 family and tuberculosis: an old story renewed[J]. *International Journal of Biological Sciences*, 2016, 12(6): 710-717.
- [25] MOHAMMADNABI N, SHAMSEDDIN J, EMADI Mo bia, et al. *Mycobacterium tuberculosis*: the mechanism of pathogenicity, immune responses, and diagnostic challenges[J]. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 2024, 38(23): e25122.
- [26] CHEN Y C, LEE C P, HSIAO C C, et al. MicroRNA-23a-3p down-regulation in active pulmonary tuberculosis patients with high bacterial burden inhibits mononuclear cell function and phagocytosis through TLR4/TNF- α /TGF- β 1/IL-10 signaling via targeting IRF1/SP1[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21(22): 8587.
- [27] FERREIRA C M, MICHELI C, BARREIRA-SILVA P, et al. IL-10 overexpression after BCG vaccination does not impair control of *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Frontiers in Immunology*, 2022, 13: 946181.
- [28] SILVA B D D S, TRENTINI M M, DA COSTA A C, et al. Different phenotypes of CD8⁺ T cells associated with bacterial load in active tuberculosis[J]. *Immunology Letters*, 2014, 160(1): 23-32.
- [29] CLIFFORD V, TEBRUEGGE M, ZUFFEREY C, et al. Cytokine biomarkers for the diagnosis of tuberculosis infection and disease in adults in a low prevalence setting[J]. *Tuberculosis*, 2019, 114: 91-102.
- [30] KIM S Y, PARK M S, KIM Y S, et al. The responses of multiple cytokines following incubation of whole blood from TB patients, latently infected individuals and controls with the TB antigens ESAT-6, CFP-10 and TB7.7[J]. *Scandinavian Journal of Immunology*, 2012, 76(6): 580-586.
- [31] BAE M J, RYU S, KIM H J, et al. *Mycobacterium tuberculosis* ESAT6 and CPF10 induce adenosine deaminase 2 mRNA expression in monocyte-derived macrophages[J]. *Tuberculosis and Respiratory Diseases*, 2017, 80(1): 77-82.
- [32] AGRAWAL N. A comprehensive review on the advancements of dual COX-2/5-LOX inhibitors as anti-inflammatory drugs[J]. *Chemical Biology & Drug Design*, 2025, 105(5): e70114.
- [33] NING Y P, WANG W F, JORDAN P M, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-induced prostaglandin J2 and 15-deoxy-prostaglandin J2 inhibit inflammatory signals in human M1 macrophages via a negative feedback loop[J]. *Journal of Immunology*, 2023, 210(10): 1564-1575.
- [34] LI D Y, GAO C Y, ZHAO L, et al. Inflammatory response is modulated by lincRNACox2 via the NF- κ B pathway in macrophages infected by *Mycobacterium tuberculosis*[J]. *Molecular Medicine Reports*, 2020, 21(6): 2513-2521.
- [35] HA S H, CHOI H, PARK J Y, et al. *Mycobacterium tuberculosis*-secreted protein, ESAT-6, inhibits lipopolysaccharide-induced MMP-9 expression and inflammation through NF- κ B and MAPK signaling in RAW 264.7 macrophage cells[J]. *Inflammation*, 2020, 43(1): 54-65.
- [36] A S K, BANSAL K, HOLLA S, et al. ESAT-6 induced COX-2 expression involves coordinated interplay between PI3K and MAPK signaling[J]. *Molecular Immunology*, 2012, 49(4): 655-663.
- [37] PANDEY R K, DAHIYA Y, SODHI A. *Mycobacterium indicus pranii* downregulates MMP-9 and iNOS through COX-2 dependent and TNF- α independent pathway in mouse peritoneal macrophages in vitro[J]. *Microbes and Infection / Institut Pasteur*, 2012, 14(4): 348-356.
- [38] CARRANZA C, SARTILLO-MENDOZA L G, CARRETO-BINAGHI L E, et al. Exploring COX-2 inhibitors in tuberculosis: a whole-blood model approach for immune response and adjunct therapy evaluation[J]. *Tuberculosis*, 2023, 143: 102418.