DOI: 10.14188/j.1671-8852.2024.0302　　**文章编号** 1671-8852(2025)06-0738-05

葡萄糖对结核分枝杆菌感染和增殖的影响

张　沂[1]　孙月华[1,2]　章晓联[2,3]　刘松梅[1,3]
[1]武汉大学中南医院检验科　湖北　武汉　430071；
[2]武汉大学泰康医学院（基础医学院）免疫系　湖北　武汉　430071；
[3]湖北省过敏与免疫重点实验室　湖北　武汉　430071

摘要　**目的**：结合临床数据与体外实验，研究葡萄糖对结核分枝杆菌（MTB）感染和增殖的影响。**方法**：回顾性分析武汉大学中南医院5 957名疑似肺结核病人的MTB核酸检测结果和临床信息。根据MTB核酸检测结果和临床诊断，将研究对象分为糖尿病合并肺结核组（DM & TB）、糖尿病组（DM）、肺结核组（TB）和非糖尿病非肺结核组（Control）。利用卡方检验分析糖尿病和非糖尿病人群中MTB感染率的差异性，t检验分析肺结核人群中DM & TB组和TB组之间MTB的DNA拷贝数差异，以及糖尿病人群中DM&TB组和DM组空腹血糖水平的差异性。进一步体外培养减毒牛型结核分枝杆菌（BCG），在7H9培养基中不添加和添加葡萄糖（5.5、33 mmol•L^{-1}），连续培养24 d，在不同的时间点测量菌液的OD值，分析不同浓度葡萄糖刺激对BCG生长曲线的影响。**结果**：MTB感染率在糖尿病和非糖尿病人群中存在显著差异（55.98% *vs* 6.00%，χ^2=704.1，P<0.000 1）；糖尿病是MTB感染的风险因素[OR=19.917（14.843～26.724），P<0.000 1]；DM & TB组血糖水平高于DM组（t=2.372，P=0.019），在年龄匹配的肺结核人群中，DM & TB组MTB的DNA拷贝数高于TB组（t=2.022，P=0.047 7）。体外BCG培养实验结果显示，与正常培养条件（对照组）相比，添加5.5 mmol•L^{-1}和33 mmol•L^{-1}葡萄糖均可促进BCG增殖。**结论**：葡萄糖增加了MTB的易感性，糖尿病病人严格控制血糖有助于预防MTB感染和控制MTB增殖。

关键词　糖尿病；肺结核；结核分枝杆菌；葡萄糖；增殖
中图分类号　R521
文献标识码　A
开放科学（资源服务）标识码（OSID）：

Influence of glucose in *Mycobacterium* tuberculosis infection and proliferation

ZHANG Yi[1], SUN Yuehua[1,2], ZHANG Xiaolian[2,3], LIU Songmei[1,3]
[1]*Dept. of Clinical Laboratory, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, Hubei, China;*
[2]*Dept. of Immunology, Wuhan University Taikang Medical School (School of Basic Medical Sciences), Wuhan 430071, Hubei, China;*
[3]*Key Laboratory of Allergy and Immunology in Hubei Province, Wuhan 430071, Hubei, China*

Abstract

Objective: To study the influence of glucose in *Mycobacterium* tuberculosis (MTB) infection and proliferation using clinical data and *in vitro* experiments. **Methods:** Firstly, a retrospective analysis was conducted on the nucleic acid of MTB and clinical data of 5 957 patients with suspected pulmonary tuberculosis in Zhongnan Hospital of Wuhan University. Based on the MTB nucleic acid testing

课题来源：国家重点研发计划项目（编号：2022YFA1303500）；国家自然科学基金重点项目（编号：82230078）
作者简介：张沂，女，1999—，医学硕士，主要从事糖尿病的表观遗传学研究，E-mail: 350489236@qq.com
通信作者：刘松梅，女，1969—，医学博士，主任技师，教授，博士生导师，主要从事肿瘤与代谢性疾病的表观遗传学研究，E-mail: smliu@whu.edu.cn

results and clinical diagnosis, the subjects were classified into the following groups: diabetes mellitus with pulmonary tuberculosis (DM & TB), diabetes mellitus (DM), tuberculosis (TB), as well as non-diabetic and non-tuberculosis (Control) groups. The differences in MTB infection rates between diabetic and non-diabetic groups were analyzed using the chi-square test. Additionally, *t*-tests were employed to examine the disparities in MTB DNA copy numbers between DM & TB and TB individuals within the pulmonary tuberculosis group, as well as the differences in fasting blood glucose levels between the DM & TB and DM groups. Subsequently, an *in vitro* experiment was conducted, which involved the cultivation of attenuated *Mycobacterium* bovis Bacillus Calmette-Guérin (BCG) in 7H9 culture medium supplemented with or without varying concentrations of glucose (5.5 and 33 mmol•L^{-1}). The growth curves of the three groups of cultures were measured at different time points over 24 days. **Results:** There were significantly different MTB infection rates between diabetic and non-diabetic populations (55.98% *vs* 6.00%, χ^2=704.1, P<0.000 1). Diabetes was a risk factor for MTB infection (*OR*=19.917 [14.843-26.724], P<0.000 1); The blood glucose levels in the DM & TB group were higher than those in the DM group (t=2.372, P=0.019). In age-matched pulmonary tuberculosis populations, MTB DNA copy numbers in the DM & TB group were higher than those in the TB group, with a significant difference (t=2.022, P=0.0477). Compared with normal culture conditions (control group), *in vitro* BCG culture experiments showed that 5.5 mmol•L^{-1} and 33 mmol•L^{-1} glucose could promote BCG proliferation. **Conclusion:** Glucose could increase the susceptibility to MTB infection. Well-controlled blood glucose level is beneficial for diabetic patients in preventing MTB infection and lowering MTB proliferation.

Key Words　Diabetes; Pulmonary Tuberculosis; *Mycobacterium* Tuberculosis; Glucose; Proliferation

结核病(tuberculosis,TB)是以结核分枝杆菌(*Mycobacterium* tuberculosis,MTB)为病原体引发的慢性传染性疾病,属全球范围内导致人类死亡的十大原因之一,在过去的几十年里,其发病率仍在攀升[1]。2023年报告[2]显示:2022年新增结核病例750万,达到了历史新高;死亡病例130万,死亡率位居单一感染疾病第2位;我国新发病人数为74.8万,在30个结核病高负担国家中,中国结核病发病数占比(7.1%)排第3位。糖尿病(diabetes mellitus,DM)是困扰人类已久的内分泌疾病,以机体葡萄糖水平异常升高、胰岛素分泌不足或抵抗为主要临床特征,病人可出现视网膜病变、糖尿病足、肾衰竭、酮症酸中毒等急慢性并发症,并存在更高的细菌感染风险[3]。基于糖尿病和肺结核的双重高负担社会现状及其发病特点,本文旨在明确糖尿病是否可增加MTB的易感性,并进一步以葡萄糖刺激实验证实其对结核分枝杆菌增殖是否具有促进作用,为糖尿病合并肺结核病人严格控制血糖提供临床和实验室依据,同时也为糖尿病人群预防MTB感染的健康教育提供科学数据支撑,助推WHO提出的结核病防治目标:2025年实现结核病死亡率下降75%[2]。

1　资料与方法

1.1　一般资料　共纳入武汉大学中南医院就诊时因疑似肺结核而进行了MTB核酸检测的病人5 957例,年龄11～103(54.65±17.42)岁,男性3 950例、女性2 007例。纳入研究的5 957人中,经临床诊断为肺结核的病人共462例(男性325例、女性137例),非肺结核病人共5 495例(男性3 625例、女性1 870例)。综合临床诊断和空腹血糖水平检测,纳入的5 957人中含糖尿病病人209例(男性146例、女性63例)。综合以上,将研究对象分为4组进行研究,即糖尿病合并肺结核组(DM & TB)117例、单纯糖尿病组(DM)92例、单纯肺结核组(TB)345例和非糖尿病非肺结核组(Control)5 403例;其中,DM & TB病人占肺结核病人(462例)的25.32%。

糖尿病诊断标准参照中国2型糖尿病防治指南(2020年版)[4]。肺结核诊断标准:1)MTB的核酸检

测结果为阳性[5-6];或2)按照指南临床诊断为肺结核[7]。排除标准:肺外结核,如骨结核、肠结核等。

1.2 方法

1.2.1 临床基本信息收集 通过查阅临床病历和实验室检查结果,收集在武汉大学中南医院就诊的5 957例疑似结核感染病人的临床信息,包括临床诊断、MTB核酸检测结果、空腹血糖,其中空腹血糖使用贝克曼5800生化分析仪完成检测。

1.2.2 MTB核酸检测 (1)定性法(金标准):采用GeneXpert(赛沛)和配套检测试剂盒(MTB/RIF试剂盒)检测MTB核酸、ropB基因和利福平耐药基因。(2)定量法(Taqman探针):采用广州达安基因公司结核分枝杆菌定量检测试剂盒,在ABI7300实时荧光定量PCR仪完成MTB的DNA拷贝数检测。

1.2.3 减毒结核分枝杆菌(BCG)葡萄糖刺激实验 使用7H9基础培养基[8](BD DIFCO™ Middlebrook 7H9 Broth,货号271310)和葡萄糖[普诺赛*D*-葡萄糖溶液(200 g•L^{-1}),货号PB180418]培养减毒牛型结核分枝杆菌BCG(Bacillus Calmette-Guérin),设置3个分组,使葡萄糖终浓度为0、5.5和33 mmmol•L^{-1}[9-10]。其中正常培养的0 mmol•L^{-1}为对照组,5.5和33 mmol•L^{-1}为实验组。正常情况下,BCG培养基不含葡萄糖,本实验葡萄糖刺激浓度设置的参考依据:人体内正常血糖一般为5.5 mmol•L^{-1}左右[9],细胞实验中高糖刺激浓度一般选用33 mmol•L^{-1}[10]。三组BCG在起始时(第0天)菌量相等,连续培养24 d,每隔3 d测量菌液*OD*值(Beckman DU® 730 Nucleic Acid & Protein Analyzer-DU370核酸蛋白分析仪,波长600 nm),记录结核分枝杆菌增殖情况。

1.2.4 统计学方法 采用SPSS 24.0进行统计分析。计数资料组间比较行χ^2检验,计量资料两组间比较采用*t*检验,风险因素评估采用二元Logistic回归分析。$P<0.05$表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 研究人群的性别和年龄分布特征 在总体研究人群中,肺结核和非肺结核之间性别分布差异无统计学意义($\chi^2=3.655$,$P=0.055\ 9$;图1A),但年龄差异有统计学意义($t=3.195$,$P=0.001\ 4$;图1B)。进一步的年龄段分组分析结果显示:肺结核人群中的性别和年龄分布差异无统计学意义($\chi^2=8.639$,$P=0.195$;图1C),但糖尿病人群中的性别和年龄分布差异有统计学意义($\chi^2=18.711$,$P=0.002$;图1D)。

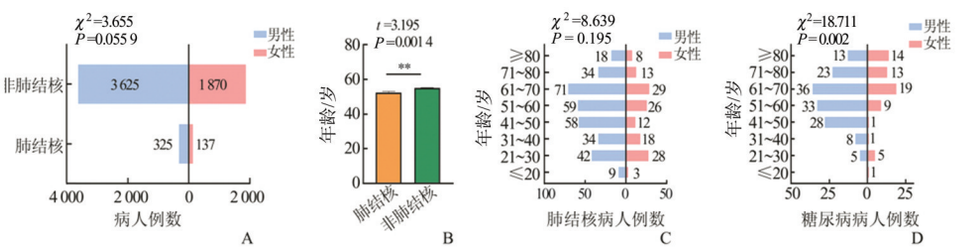


图1 研究人群的性别和年龄分布特征

A. 肺结核与非肺结核人群的性别分布;B. 肺结核与非肺结核人群的年龄比较,$^{**}P<0.01$;C. 肺结核人群的性别和年龄分布;D. 糖尿病人群的性别和年龄分布

2.2 糖尿病是MTB感染的风险因素 如表1和图2A所示,MTB感染率在糖尿病和非糖尿病人群中的差异有统计学意义($\chi^2=704.1$,$P<0.000\ 1$),糖尿病人群的MTB感染率明显高于非糖尿病人群(55.98% *vs* 6.00%)。进一步的二元Logistic回归分析显示,糖尿病是MTB感染的风险因素($OR=19.917$,95%*CI*:14.84~26.72,$P<0.000\ 1$)。

表1 糖尿病与肺结核感染例数比较

疾病类型		肺结核		合计
		+	−	
糖尿病	+	117(DM & TB)	92(DM)	209
	−	345(TB)	5 403(Control)	5 748
合计		462	5 495	5 957

2.3 DM & TB组MTB的DNA拷贝数高于TB组 为了探究糖尿病病人的高血糖环境对MTB增殖是否具有促进作用,进一步比较DM & TB组和TB组之间的MTB核酸拷贝数差异。基于糖尿病是一种与衰老相关的慢性代谢性疾病,以及肺结核人群平均年龄低于非肺结核人群(图1B),因此以DM & TB组为参照,在TB组中按照年龄进行随机匹配,以降低年龄因素引入的分析偏倚。如图2B结果所示,DM & TB组病人中有58例采用了定量法

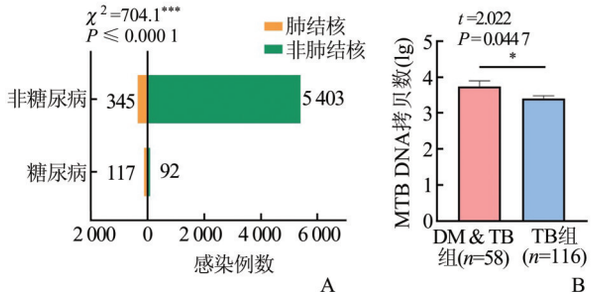


图 2　糖尿病对 MTB 感染和增殖的影响

A. 糖尿病与非糖尿病人群中 MTB 感染例数比较（$^{***}P<0.000\ 1$）；B. 匹配年龄后比较 DM & TB 与 TB 组 MTB 的 DNA 拷贝数（$^{*}P<0.05$）

检测 MTB，按照年龄随机匹配了定量法检测 MTB 的 116 例 TB 组病人，进行核酸拷贝数比较，发现 DM & TB 组 MTB 的 DNA 拷贝数高于 TB 组（$t=2.022$，$P=0.047\ 7$），表明糖尿病的高血糖环境可促进病人体内 MTB 增殖。

2.4　糖尿病人群中合并结核患者的血糖水平更高　本研究中根据临床诊断纳入的糖尿病病人共 209 例，就诊时同步检测了空腹血糖水平的 DM & TB 组病人为 58 例、DM 组病人为 86 例，分析 DM & TB 组和 DM 组病人的血糖水平差异性，结果如图 3 所示。DM & TB 组的空腹血糖水平高于 DM 组，差异具有统计学意义（$t=2.372$，$P=0.019$），说明合并 MTB 感染不利于糖尿病病人的血糖控制。

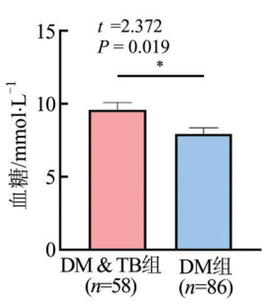


图 3　DM & TB 组与 DM 组血糖水平比较

2.5　葡萄糖促进 BCG 增殖　为了探究葡萄糖对结核分枝杆菌增殖的影响，对 BCG 进行体外培养，并给予不同浓度糖刺激，观察 BCG 增殖，结果如图 4 所示。与不添加葡萄糖（BCG 正常培养条件）的对照组相比，5.5 和 33 mmol•L^{-1}葡萄糖在不同时间点均促进了 BCG 增殖。总体上看，5.5 mmol•L^{-1}葡萄糖的促进作用略强。

3　讨论

本文首先对临床真实数据进行回顾性分析，发现 MTB 感染率在糖尿病和非糖尿病人群中存在的

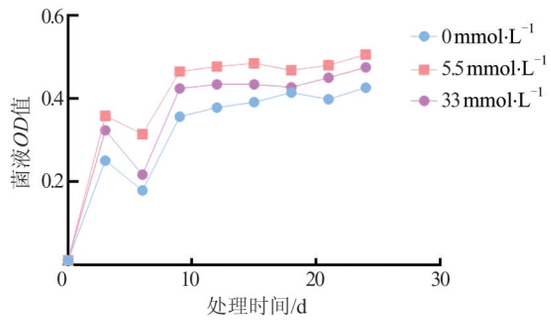


图 4　不同浓度葡萄糖对 BCG 增殖的影响

差异具有统计学意义，且糖尿病是 MTB 感染的风险因素（$OR=19.917$），说明高糖影响结核分枝杆菌感染。为了探讨葡萄糖对结核分枝杆菌体内增殖的影响，对 MTB 感染人群中 DM & TB 组和 TB 组的 MTB 拷贝数进行比较，结果证实 DM & TB 组 MTB DNA 拷贝数更高，提示合并 DM 可能增加 TB 病人对 MTB 的易感性，促进其增殖[11]。而且，糖尿病人群中 DM & TB 组血糖显著高于 DM 组，结果与文献[12]报道一致：糖尿病病人在合并 TB 后血糖水平可进一步升高，感染 MTB 也可导致糖尿病病人血糖控制不佳。既往研究[13]表明，葡萄糖对结核分枝杆菌感染和增殖存在影响的可能原因有：肺结核病人使用的抗结核药物，可能影响了机体内葡萄糖代谢，导致糖代谢紊乱，合并糖尿病的发生率上升；糖尿病病人抵御病原体感染能力下降[14]，MTB 入侵机体的风险升高[15]，临床治疗难度升高；肺结核与糖尿病的发生率居高不下，增加了合并感染的几率。

体外 BCG 高糖刺激实验也证实了临床数据分析结果，即葡萄糖促进结核分枝杆菌的增殖。在每一个测量时间点上，与正常培养的对照组（0 mmol•L^{-1}）相比，额外添加的 5.5 和 33 mmol•L^{-1}葡萄糖均可促进 BCG 增殖。整个测量周期中，三组 BCG 在第 3 天时增殖速度最快，而第 6 天时略有下降，可能是由于细菌生长曲线中存在对数生长期和平台期[16]；中后期 BCG 增殖速度总体平缓，但高糖培养的两个实验组中 BCG 浓度仍持续高于对照组。总体上看，5.5 mmol•L^{-1}促进增殖能力较 33 mmol•L^{-1}略强。有文献[17-18]报道适量的葡萄糖可以促进 BCG 增殖，而过高浓度的外源葡萄糖加入可能产生糖毒性，葡萄糖利用不平衡，导致溢出代谢、细菌生长受限。

糖尿病合并肺结核的发病率逐年上升[19]，高糖环境促进 MTB 的感染与增殖，同时不利于血糖控制[12]，机体的炎性反应累积，可能会逆转数十年来肺结核防治取得的成效。本文的临床数据和体外

实验结果均证实了高糖可增加MTB的易感性,提示临床医生对于糖尿病病人严格控制血糖有助于预防MTB感染和控制MTB增殖,同时也应关注结核病人是否合并糖尿病,对糖尿病人群进行肺结核筛查和健康教育,注重合并症病人的临床治疗和护理,做到早预防、早发现和早治疗,助力实现WHO肺结核控制目标[20]。

参考文献

[1] HARDING E. WHO global progress report on tuberculosis elimination[J]. Lancet Respir Med, 2020, 8(1): 19.

[2] Global tuberculosis report 2023[R]. Geneva: World Health Organization;2023. Licence:CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

[3] DEMIR S, NAWROTH P P, HERZIG S, et al. Emerging targets in type 2 diabetes and diabetic complications[J]. Adv Sci, 2021, 8(18): e2100275.

[4] 陆菊明.《中国2型糖尿病防治指南(2020年版)》读后感[J]. 中华糖尿病杂志, 2021, 13(4): 301-304.
LU J M. Reaction to *Guideline for the prevention and treatment of type 2 diabetes mellitus in China (2020 edition)*[J]. Chin J Diabetes Mellit, 2021, 13(4): 301-304.

[5] CAO Y, PARMAR H, SIMMONS A M, et al. Automatic identification of individual *rpoB* gene mutations responsible for Rifampin resistance in *Mycobacterium* tuberculosis by use of melting temperature signatures generated by the Xpert MTB/RIF Ultra Assay[J]. J Clin Microbiol, 2019, 58(1): e00907-e00919.

[6] CRESSWELL F V, TUGUME L, BAHR N C, et al. Xpert MTB/RIF Ultra for the diagnosis of HIV-associated tuberculous meningitis: A prospective validation study[J]. Lancet Infect Dis, 2020, 20(3): 308-317.

[7] 中华医学会,中华医学会杂志社,中华医学会全科医学分会,等. 肺结核基层诊疗指南(2018年)[J]. 中华全科医师杂志, 2019, 18(008):709-717.
Chinese Medical Association, Chinese Medical Journals Publishing House, Chinese Society of General Practice, et al. Guidelines for primary diagnosis and treatment of pulmonary tuberculosis (2018) [J]. Chinese Journal of General Practitioners, 2019, 18(008):709-717.

[8] PAGANI T D, CORRÊA P R, LIMA C, et al. Impact of genomic deletion RD16 on the expression of the *Mycobacterium bovis* BCG Moreau VapBC47 toxin-antitoxin system[J]. Curr Issues Mol Biol, 2023, 45(8): 6538-6549.

[9] NIU C, CHEN Z W, KIM K T, et al. Metformin alleviates hyperglycemia-induced endothelial impairment by downregulating autophagy via the Hedgehog pathway [J]. Autophagy, 2019, 15(5): 843-870.

[10] BI Y G, WANG G Y, LIU X D, et al. Low-after-high glucose down-regulated Cx43 in H9c2 cells by autophagy activation via cross-regulation by the PI3K/Akt/mTOR and MEK/ERK(1/2) signal pathways[J]. Endocrine, 2017, 56(2): 336-345.

[11] OLIVEIRA HASHIGUCHI L, COX S E, EDWARDS T, et al. How can tuberculosis services better support patients with a diabetes co-morbidity? A mixed methods study in the Philippines[J]. BMC Health Serv Res, 2023, 23(1): 1027.

[12] VAISHYA R, MISRA A, VAISH A, et al. Diabetes and tuberculosis syndemic in India: A narrative review of facts, gaps in care and challenges[J]. J Diabetes, 2024, 16(5): e13427.

[13] BARTLETT S, GEMIARTO A T, NGO M D, et al. GPR183 regulates interferons, autophagy, and bacterial growth during *Mycobacterium* tuberculosis infection and is associated with TB disease severity[J]. Front Immunol, 2020, 11: 601534.

[14] KEWCHAROENWONG C, SAENWONGSA W, WILLCOCKS S J, et al. Glibenclamide alters interleukin-8 and interleukin-1β of primary human monocytes from diabetes patients against *Mycobacterium* tuberculosis infection[J]. Tuberculosis, 2020, 123: 101939.

[15] TO K, CAO R Q, YEGIAZARYAN A, et al. Effects of oral liposomal glutathione in altering the immune responses against *Mycobacterium* tuberculosis and the *Mycobacterium bovis* BCG strain in individuals with type 2 diabetes[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2021, 11: 657775.

[16] BHAVANAM S, RAYAT G R, KEELAN M, et al. Evaluation of the effect of T regulatory cell depletion and donor BCG vaccination on *Mycobacterium* tuberculosis H37Ra infection using an *in vitro* model of human PBMC infection[J]. Pathog Dis, 2020, 78(9): ftaa068.

[17] SAITO S, KOBAYASHI I, HOSHINA M, et al. Regulatory role of GgaR (YegW) for glycogen accumulation in *Escherichia coli* K-12[J]. Microorganisms, 2024, 12(1): 115.

[18] LUO Z, YUE S, CHEN T, et al. Reduced growth of *Staphylococcus aureus* under high glucose conditions is associated with decreased pentaglycine expression[J]. Front Microbiol, 2020, 11: 537290.

[19] VERMA A, KAUR M, LUTHRA P, et al. Immunological aspects of host-pathogen crosstalk in the co-pathogenesis of diabetes and latent tuberculosis[J]. Front Cell Infect Microbiol, 2022, 12: 957512.

[20] PANDA S, SEELAN D M, FAISAL S, et al. Chronic hyperglycemia drives alterations in macrophage effector function in pulmonary tuberculosis[J]. Eur J Immunol, 2022, 52(10): 1595-1609.

(2024-04-25收稿)
编辑 沈建国