

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2019.17.008

文章编号: 1005-8982 (2019) 17-0041-07

脓毒症患者 T 淋巴细胞亚群变化 及与炎症状态的关系研究

叶瑞¹, 胡炜², 刘炳炜², 席绍松², 朱英², 未亚平²

(1. 浙江中医药大学, 浙江 杭州, 310053; 2. 浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院重症监护室, 浙江 杭州, 310006)

摘要: **目的** 研究脓毒症患者的 T 淋巴细胞亚群变化及与炎症状态的关系。**方法** 选取 2015 年 3 月—2018 年 10 月浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院脓毒症患者 126 例作为观察组, 另选取同期健康体检者 60 例作为对照组。检测并比较两组的 T 淋巴细胞亚群 ($CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$) 和炎症因子 [血清 (ESR)、降钙素原 (PCT)、C 反应蛋白 (CRP)、白细胞介素-6 (IL-6)、白细胞介素-10 (IL-10)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB-1)], 采用 Pearson 检验 T 淋巴细胞亚群与炎症指标的相关性。**结果** 观察组入院时 $CD8^+$ 及血清 PCT、CRP、IL-6、TNF- α 、IL-10、HMGB-1 水平高于对照组 ($P < 0.05$), 而 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 低于对照组 ($P < 0.05$)。PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 在入院 6 h 达到峰值; 严重脓毒症组和脓毒症休克组各个时间点的 $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 低于脓毒症组, $CD8^+$ 、PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 高于脓毒症组, ESR 在入院 5 d 时高于脓毒症组, 而 HMGB-1 在入院 7 d 时高于脓毒症组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 且严重脓毒症组与脓毒症休克组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。脓毒症患者的 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 与血清 PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 和 HMGB-1 均呈线性相关 ($P < 0.05$)。**结论** 脓毒症患者存在明显的 T 淋巴细胞紊乱和促炎/抗炎失衡, 且病情越重其免疫-炎症紊乱越明显, 动态监测 T 淋巴细胞亚群及炎症因子水平可为病情评估及治疗决策提供参考。

关键词: 脓毒症; T 淋巴细胞亚群; 炎症; 动态变化

中图分类号: R459.7

文献标识码: A

Correlation analysis between T lymphocyte subsets and inflammation in patients with sepsis

Rui Ye¹, Wei Hu², Bing-wei Liu², Shao-song Xi², Ying Zhu², Ya-ping Wei²

(1. Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou, Zhejiang 310053, China; 2. Department of Intensive Care Unit, Affiliated Hangzhou First People's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou, Zhejiang 310006, China)

Abstract: **Objective** To study the correlation between T lymphocyte subsets and inflammation status in patients with sepsis. **Methods** A total of 126 patients with sepsis who were admitted to our hospital from March 2015 to October 2018 were enrolled as the observation group, and 60 healthy subjects were selected as the control group. The T lymphocyte subsets ($CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$) and d inflammatory factors including erythrocyte sedimentation rate (ESR), procalcitonin (PCT), C-reactive protein (CRP), interleukin-6 (IL-6), interleukin-10 (IL-10), tumor necrosis factor α (TNF- α), and high mobility group box-1 (HMGB1)] were detected. **Results** At the time of admission, the $CD8^+$ and serum levels of PCT, CRP, IL-6, TNF- α , IL-10 and HMGB1 in the observation group

收稿日期: 2019-03-03

[通信作者] 胡炜, E-mail: paolohu929@163.com

were higher than those in the control group, while the amount of CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ cells were lower than those in the control group ($P < 0.05$). The levels of PCT, CRP, IL-6, IL-10 and TNF- α reached peak levels at 6 hours after admission. Levels of CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ were lower while the levels of CD8⁺, PCT, CRP, IL-6, IL-10, TNF- α levels were higher ($P < 0.05$) in severe sepsis group and septic shock group than those in the sepsis group at various points in time. Levels of ESR was higher in severe sepsis group than that in the sepsis group at 5th days after admission, and the HMGB1 was higher in severe sepsis group than that in sepsis group on the 7th day of admission ($P < 0.05$). CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺ in patients with sepsis were linearly correlated with serum PCT, CRP, IL-6, IL-10, TNF- α and HMGB1 ($P < 0.05$). **Conclusion** Sepsis patients experience with obvious T lymphocyte disorder and proinflammatory/anti-inflammatory imbalance, and dynamic monitoring of T lymphocyte subsets/ inflammatory factor levels may provide basis of illness and treatment decision-making.

Keywords: sepsis; T lymphocyte subsets; inflammation; dynamic changes

脓毒症是由于感染的宿主反应失控诱发致命性器官功能障碍,是导致重症监护室(ICU)患者死亡的主要病因,病死率>40%^[1]。脓毒症的发病机制较为复杂,目前普遍认为与全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS)/代偿性抗炎反应综合征(compensatory antiinflammatory response syndrome, CARS)及免疫失衡有关^[2]。脓毒症作为一种炎症应激性疾病,促炎/抗炎反应异常参与其病理生理进程,这也是诱发、增强及放大疾病病理生理变化进程的关键,同时也将影响机体免疫平衡^[3]。T淋巴细胞参与机体免疫调节、免疫应答、全身炎症反应等过程,在免疫稳态和SIRS/CARS的维持中具有重要作用^[4]。目前,关于脓症患者病情变化过程中T淋巴细胞亚群及炎症因子的变化特点尚未完全阐明,两者间的具体关系及对预后的影响仍不明确。本研究动态监测了脓毒症患者的T淋巴细胞亚群及血清炎症因子水平变化,并分析两者之间的关系,旨在探讨免疫紊乱及炎症反应在脓毒症发生、发展过程中的演变规律,为临床干预治疗提供参考,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取2015年3月—2018年10月浙江大学医学院附属杭州市第一人民医院ICU收治的脓症患者126例作为观察组,根据病情程度分为脓毒症组、严重脓毒症组与脓毒症休克组,并根据随访28d生存情况分为存活组与死亡组。纳入标准:①符合2016年脓毒症国际会议诊断标准^[5];②发病24h内入院;③年龄>18岁;④首次入住ICU。排除标准:①既往存在心、脑、肝、肺、肾等重要脏器功能不全或严重原发病者;②具有恶性肿瘤、变态反应性疾病、免疫缺

陷型疾病、自身免疫性疾病者、再生障碍性贫血病史者;③近6个月内接受放疗、化疗、激素或免疫抑制剂治疗者;④入住ICU病房后24h内临床检测指标不全者;⑤入住ICU病房时即出现呼吸停止或心跳停止者;⑥入住ICU病房24h内死亡者;⑦处于妊娠期或哺乳期女性。另选同期健康体检,且性别、年龄相匹配的志愿者60例作为对照组。研究设计获本院医学伦理委员会审核批准,所有受试对象知情并签署知情同意书。

1.2 研究方法

1.2.1 资料收集 患者在入住ICU病房24h内完成基本资料收集,包括年龄、性别、细菌培养情况、感染部位等。检测外周血T淋巴细胞亚群(CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)和炎症因子[白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)、白细胞介素-10(Interleukin-10, IL-10)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor α , TNF- α)、高迁移率族蛋白B1(high mobility group box protein-1, HMGB-1)]。

1.2.2 检测方法 脓症患者分别在就诊时、住院6h,以及第1、3和7天采集外周血,对照组均在体检当天采血,均采集晨间空腹静脉血6ml,分为2份,一份于4℃下以1000 r/min离心10 min,留取血清标本于EP管中置入-80℃冰箱冷冻保存待测,采用潘氏法测定血沉(erythrocyte sedimentation rate, ESR),采用双抗夹心免疫发光法测定降钙素原(Procalcitonin, PCT),采用散射免疫比浊法检测C反应蛋白(C-reactive protein, CRP),采用酶联免疫吸附试验(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA)检测血清IL-6、IL-8、IL-10及TNF- α , ELISA试剂盒购自美国Beckman公司;另一份分离单个核细胞,采用美国Biolegend公司生产的流式细胞仪检测T淋巴细胞亚群(CD4⁺、

CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)。操作严格按试剂说明书及实验室规程执行。

1.3 统计学方法

数据分析采用 SPSS 19.0 统计软件。计量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 比较采用 *t* 检验、单因素方差分析及重复测量设计的方差分析, 计数资料以例 (%) 表示, 比较采用 χ^2 检验和确切概率法 (Monte Carlo 法), 相关性分析用 Pearson 相关性检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

观察组 126 例患者中, 男性 75 例 (59.52%), 女性 51 例 (40.48%); 年龄 45 ~ 85 岁, 平均 (60.23 ± 10.44) 岁; 严重程度: 63 例脓毒症, 39 例严重脓毒症,

24 例脓毒性休克; 感染部位: 68 例 (53.97%) 肺部感染, 34 例 (26.98%) 腹腔感染 (胆管炎、腹膜炎), 19 例 (15.08%) 尿路感染, 5 例 (3.97%) 其他 (胃肠道感染、中枢神经系统感染) (见表 1)。观察组与对照组的年龄、性别比较, 差异无统计学意义 (年龄: $t=0.753$, $P=0.452$; 性别: $\chi^2=0.257$, $P=0.612$)。观察组不同严重程度脓毒症患者的年龄、性别、细菌培养阳性及感染部位比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

2.2 入院时观察组与对照组 T 淋巴细胞比较

入院时, 观察组的 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 观察组 CD8⁺ 较对照组升高, 而 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 较对照组降低。见表 2。

2.3 入院时观察组与对照组血清炎症因子比较

入院时, 观察组的 ESR、PCT、CRP、IL-6、

表 1 不同严重程度脓毒症患者一般资料的比较

组别	<i>n</i>	年龄 / (岁, $\bar{x} \pm s$)	男 例 (%)	细菌培养阳性 例 (%)	感染部位 例 (%)					
					肺部感染	胆管炎	腹膜炎	尿路感染	胃肠道感染	中枢神经系统感染
脓毒症组	63	60.88 ± 9.12	34 (53.97)	22 (34.92)	33 (52.38)	13 (20.63)	5 (7.94)	9 (14.29)	2 (3.17)	1 (1.59)
严重脓毒症组	39	62.05 ± 9.17	20 (51.28)	19 (48.72)	21 (53.85)	7 (17.95)	3 (7.69)	7 (17.95)	1 (2.56)	0 (0.00)
脓毒症休克组	24	63.12 ± 9.45	14 (58.33)	13 (54.17)	14 (58.33)	4 (16.67)	2 (8.33)	3 (12.50)	1 (4.17)	0 (0.00)
<i>F</i> / χ^2 值		2.013	0.297	0.297	0.248	0.222	0.008	0.406	-	-
<i>P</i> 值		0.114	0.862	0.181	0.883	0.895	0.996	0.816	0.912 [†]	0.601 [†]

注: † 采用确切概率法。

表 2 两组 T 淋巴细胞比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ /%	CD8 ⁺ /%	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	60	46.12 ± 3.31	26.22 ± 2.41	1.76 ± 0.23
观察组	126	35.21 ± 2.64	29.13 ± 3.34	1.21 ± 0.15
<i>t</i> 值		24.219	6.038	19.526
<i>P</i> 值		0.000	0.000	0.000

TNF- α 、IL-10、HMGB-1 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 观察组较对照组升高。见表 3。

2.4 不同程度脓毒症患者 T 淋巴细胞动态变化

不同程度脓毒症不同时间点 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比较, 差异有统计学意义 ($F=13.312$ 、6.711 和 10.259, $P=0.000$ 、0.033

和 0.012); ②组间 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比较, 差异均有统计学意义 ($F=15.694$ 、9.213 和 12.206, $P=0.000$ 、0.011 和 0.000); ③组间 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 变化趋势差异均有统计学意义 ($F=16.031$ 、10.415 和 14.612, $P=0.000$ 、0.008 和 0.000)。见表 4。

2.5 不同程度脓毒症患者血清炎症因子动态变化

不同程度脓毒症患者不同时间点 ESR、PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 、HMGB-1 比较, 采用重复测量设计的方差分析, 结果: ①不同时间点的 PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 差异均有统计学意义 ($F=6.779$ 、22.165、16.731、9.182 和 6.637, $P=0.032$ 、0.000、0.000、0.0016 和 0.033), 而 HMGB-1 水平仅在入院 7 d 时呈升高趋势 ($F=6.173$, $P=0.041$), 在其余各时间点无差异 ($P > 0.05$); ②组间 PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 比较, 差异有统计学意义 ($F=$

表 3 入院时两组血清炎症因子比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	ESR/ (mm/h)	PCT/ (ng/ml)	CRP/ (mg/L)	IL-6/ (pg/ml)	TNF- α / (pg/ml)	IL-10/ (pg/ml)	HMGB-1/ (pg/ml)
对照组	60	18.43 \pm 3.96	0.48 \pm 0.15	3.78 \pm 1.02	17.12 \pm 6.14	13.85 \pm 3.43	8.26 \pm 2.31	42.21 \pm 5.96
观察组	126	30.32 \pm 9.31	5.56 \pm 1.19	72.01 \pm 10.45	60.94 \pm 15.21	37.21 \pm 9.95	45.83 \pm 11.26	62.02 \pm 18.31
t 值		9.482	6.994	50.390	21.474	17.671	25.556	8.167
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

表 4 不同程度脓毒症患者 T 淋巴细胞动态变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	入院时	6 h	1 d	3 d	7 d
CD4 ⁺ %						
脓毒症组	63	41.01 \pm 3.95 ^①	36.85 \pm 2.71 ^①	23.14 \pm 3.11 ^①	26.82 \pm 3.31 ^①	30.34 \pm 3.65 ^①
严重脓毒症组	39	36.36 \pm 2.88 ^{①②}	30.22 \pm 2.85 ^{①②}	20.69 \pm 2.62 ^{①②}	21.85 \pm 3.11 ^{①②}	24.59 \pm 4.12 ^{①②}
脓毒性休克组	24	31.35 \pm 2.71	27.74 \pm 2.11	17.23 \pm 1.65	18.33 \pm 2.15	20.33 \pm 3.01
CD8 ⁺ %						
脓毒症组	63	31.25 \pm 2.67 ^①	28.96 \pm 3.41 ^①	25.11 \pm 2.41 ^①	26.72 \pm 3.41 ^①	28.85 \pm 3.62 ^①
严重脓毒症组	39	32.88 \pm 3.14	30.01 \pm 2.72	22.61 \pm 2.65	25.23 \pm 3.36	27.17 \pm 3.32
脓毒性休克组	24	33.35 \pm 3.41	31.45 \pm 2.83	21.56 \pm 2.79	23.45 \pm 3.12	25.04 \pm 3.23
CD4 ⁺ /CD8 ⁺						
脓毒症组	63	1.31 \pm 0.19 ^①	1.27 \pm 0.18 ^①	0.92 \pm 0.16 ^①	1.00 \pm 0.17 ^①	1.05 \pm 0.18 ^①
严重脓毒症组	39	1.10 \pm 0.16 ^{①②}	1.01 \pm 0.14 ^{①②}	0.91 \pm 0.15 ^{①②}	0.87 \pm 0.16 ^{①②}	0.90 \pm 0.19 ^{①②}
脓毒性休克组	24	0.94 \pm 0.11	0.88 \pm 0.10	0.80 \pm 0.10	0.78 \pm 0.15	0.81 \pm 0.17

注：①与严重脓毒症组比较， $P < 0.05$ ；②与脓毒性休克组比较， $P < 0.05$ 。

7.012、18.312、14.011、8.231 和 5.967， $P = 0.028$ 、0.000、0.000、0.019 和 0.041），但不同亚组间 ESR 仅在入院第 3 和 7 天时有差异（ $F = 6.741$ 和 6.717， $P = 0.036$ 和 0.039），HMGB-1 水平仅在入院第 7 天时有差异（ $F = 5.796$ ， $P = 0.044$ ）；③组间 ESR、PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 、HMGB-1 变化趋势比较，差异有统计学意义（ $F = 6.512$ 、0.781、23.451、18.226、

11.403、7.719 和 8.831， $P = 0.036$ 、0.028、0.000、0.000、0.000、0.027 和 0.016）。见表 5。

2.6 外周血 T 淋巴细胞亚群与炎症因子的相关性

Pearson 相关性分析显示，脓毒症患者的 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与 ESR 的相关性差异无统计学意义（ $P > 0.05$ ），但与血清 PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 和 HMGB-1 均呈线性相关（ $P < 0.05$ ）。见表 6。

表 5 不同程度脓毒症患者血清炎症因子动态变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	入院时	6 h	1 d	3 d	7 d
ESR/ (mm/h)						
脓毒症组	63	28.81 \pm 8.23	30.21 \pm 9.69	32.14 \pm 10.68	36.81 \pm 12.24	25.12 \pm 10.44
严重脓毒症组	39	32.12 \pm 11.85	33.35 \pm 12.82	36.64 \pm 12.32	44.02 \pm 14.21 ^①	33.69 \pm 16.55 ^①
脓毒性休克组	24	34.09 \pm 13.95	35.14 \pm 13.94	39.01 \pm 15.83 ^①	50.32 \pm 16.94 ^{①②}	46.24 \pm 18.47 ^{①②}

续表 5

组别	n	入院时	6 h	1 d	3 d	7 d
PCT/ (ng/ml)						
脓毒症组	63	0.35 ± 0.10	0.36 ± 0.12	0.34 ± 0.09	0.33 ± 0.07	0.22 ± 0.03
严重脓毒症组	39	2.23 ± 0.67	2.55 ± 0.74	2.12 ± 0.63	1.98 ± 0.43	1.31 ± 0.25
脓毒性休克组	24	16.82 ± 4.26 ^①	17.21 ± 4.43 ^①	15.21 ± 4.11 ^①	14.92 ± 3.38 ^①	12.21 ± 3.19 ^①
CRP/ (mg/L)						
脓毒症组	63	50.34 ± 10.21	52.21 ± 11.54	30.01 ± 6.19	15.71 ± 5.53	10.21 ± 5.04
严重脓毒症组	39	66.87 ± 17.96	69.64 ± 12.21	64.05 ± 8.17	50.21 ± 6.94	42.02 ± 11.15
脓毒性休克组	24	116.42 ± 18.85 ^①	140.34 ± 19.73 ^①	120.32 ± 10.74 ^①	114.34 ± 10.71 ^①	108.85 ± 11.69 ^①
IL-6/ (pg/ml)						
脓毒症组	63	49.65 ± 9.12 ^①	66.93 ± 12.21 ^①	50.34 ± 6.11 ^①	41.06 ± 8.12 ^①	22.34 ± 5.17 ^①
严重脓毒症组	39	58.86 ± 10.21 ^②	83.31 ± 15.67 ^②	66.48 ± 12.21 ^②	52.04 ± 9.81 ^②	30.36 ± 6.14 ^②
脓毒性休克组	24	66.14 ± 13.35	107.42 ± 18.86	82.14 ± 15.64	66.25 ± 10.74	35.17 ± 8.85
IL-10/ (pg/ml)						
脓毒症组	63	26.17 ± 6.64 ^①	45.83 ± 9.12 ^①	34.17 ± 8.21 ^①	29.96 ± 8.17 ^①	21.11 ± 6.78 ^①
严重脓毒症组	39	41.25 ± 9.31 ^②	66.74 ± 12.85 ^②	60.01 ± 12.01 ^②	55.96 ± 10.21 ^②	30.36 ± 8.48 ^②
脓毒性休克组	24	68.18 ± 11.43	83.17 ± 19.14	80.12 ± 14.05	78.95 ± 14.96	45.02 ± 9.17
TNF-α/ (pg/ml)						
脓毒症组	63	22.01 ± 5.19 ^①	28.15 ± 6.48 ^①	25.85 ± 6.21 ^①	24.01 ± 5.73 ^①	21.15 ± 5.14 ^①
严重脓毒症组	39	27.74 ± 7.21 ^②	33.41 ± 8.85 ^②	29.94 ± 8.12 ^②	27.12 ± 6.43 ^②	25.83 ± 7.11 ^②
脓毒性休克组	24	55.01 ± 12.43	45.96 ± 13.59	40.11 ± 9.05	32.85 ± 8.86	31.04 ± 8.12
HMGB-1/ (pg/ml)						
脓毒症组	63	61.34 ± 19.21	62.01 ± 20.25	65.21 ± 22.44	60.25 ± 15.84	48.41 ± 12.21 ^①
严重脓毒症组	39	62.23 ± 20.34	63.13 ± 21.15	66.19 ± 23.18	62.31 ± 16.71	52.56 ± 12.97 ^②
脓毒性休克组	24	63.01 ± 22.19	63.85 ± 22.44	68.01 ± 25.12	65.04 ± 20.26	60.23 ± 15.96

注: ①与严重脓毒症组比较, $P < 0.05$; ②与脓毒性休克组比较, $P < 0.05$ 。

表 6 外周血 T 淋巴细胞亚群与炎症因子的相关性

项目	ESR	PCT	CRP	IL-6	IL-10	TNF-α	HMGB-1
CD4 ⁺	-0.102	-0.569 [†]	-0.439 [†]	-0.532 [†]	-0.612 [†]	-0.433 [†]	-0.421 [†]
CD8 ⁺	0.115	0.511 [†]	0.482 [†]	0.491 [†]	0.451 [†]	0.392 [†]	0.472 [†]
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	-0.131	-0.612 [†]	-0.512 [†]	-0.581 [†]	-0.473 [†]	-0.439 [†]	-0.592 [†]

注: † $P < 0.05$ 。

3 讨论

脓毒症患者的免疫失调机制尚未完全阐明, 主要认为炎症细胞因子的系统性释放诱发 SIRS 的发生,

而炎症因子风暴被认为是脓毒症发生发展及预后不良的关键机制^[6]。TNF-α 是一种由活化巨噬细胞等分泌的小分子蛋白, 过度表达时可激活炎症级联反

应, 促进 IL-6 等炎症介质的合成与释放, 导致炎症反应失控。动物研究表明, 脓毒症大鼠呈现明显的 TNF- α 过度表达, 且以脓毒性休克大鼠水平最高, 在受到攻击后 1 h 即有明显升高并持续至 24 h^[7]。IL-6 是一种二级炎症反应介质, 对炎症细胞及血管内皮细胞具有直接激活和毒性作用, 且可诱导各类急性时相蛋白的生成, 促进和放大炎症反应, 已有研究证实其与 SIRS 严重程度及其致死率密切相关^[8]。因 IL-6 在循环中代谢清除速度较为缓慢容易检测, 故被视为脓毒症病情严重程度的重要指标。ESR、PCT 和 CRP 是临床监测急性感染的常用指标, 其中 ESR 的敏感性较高但特异性较低, 不适用于疾病诊断, 而 PCT 及 CRP 被证实与脓毒症的病情及预后密切相关。CRP 在感染 4~6 h 即可急剧升高, 2 d 左右即可达峰值, 且随着病情好转可迅速降低; PCT 作为一种刺激炎症因子, 其本身无法启动脓毒症的发生, 但可在 IL-6、TNF- α 等诱导下大量生成, 可扩大和加重脓毒症的病理生理进程, 也是感染的早期敏感标志物之一^[9]。HMGB-1 是新近发现的晚期炎症细胞因子, 在受到炎症等攻击后约 9~16 h 分泌, 约 24 h 后达峰值, 其生成晚于 IL-6、TNF- α 等早期炎症因子但持续时间较长, 可由 IL-1 β 或 TNF- α 等刺激单核/巨噬细胞分泌, 也可由坏死细胞释放并转移至细胞外。HMGB-1 高表达又可导致巨噬细胞进一步活化, 促进 IL-6、TNF- α 等细胞因子的释放^[10]。部分研究证实, HMGB-1 过度表达与病死率密切相关, 如杨婉等^[11] 研究显示, 入院时 HMGB-1 高水平脓毒症休克 (>35 pg/ml) 患者在 7 d 后 APACHE II 评分低于低水平者 (≤ 35 pg/ml), 且 3 个月内存活率明显降低 (44.4% VS 80.00%)。提示 HMGB-1 高表达将增加脓毒症的病情严重程度及治疗难度, 影响临床预后。本研究结果显示, 脓症患者入院时血清 ESR、PCT、CRP、IL-6、TNF- α 及 HMGB-1 水平均高于对照组, 且严重脓毒症、脓毒性休克者的血清 IL-6、TNF- α 进一步升高, 提示脓毒症患者的病情越重, 其促炎细胞因子水平越高。动态观察各组的血清炎症细胞因子水平变化显示, IL-6 及 TNF- α 水平的峰值出现在入院后 6 h, 此后逐步下降, 与温前宽等^[12] 报道基本一致。HMGB-1 则在入院 24 h 后达峰值并持续 72 h, 此后有所下降但仍维持较高水平。可见与其他早期炎症因子比较, 脓毒症患者的 HMGB-1 变化相对较晚但持续时间更长, 可能与脓毒症的晚期炎症损伤有关。上述研究结果可见,

持续性、压倒性 SIRS 可能是导致病情进展或最终发展为脓毒性休克的主要原因。但研究结果亦显示, 经过治疗 7 d 后, 血 ESR、PCT、CRP、IL-6、TNF- α 、HMGB-1 水平仍高于对照组, 推测 SIRS 并非脓毒症的唯一原因, 故引出 CARS 的概念。

既往观点认为, 抗炎因子的升高是有利于防控炎症反应的损伤, 但近年来研究显示, 过度抗炎作用也将诱发免疫失衡, 抗炎反应与促炎反应通常相伴发生。动物研究显示, 脓毒症死亡动物模型的抗炎因子 IL-10 峰值出现时间较促炎因子 TNF- α 更早^[13]; 还有临床研究显示, 随访 28 d 内死亡脓毒症患者的早期血清 IL-10 水平升高且高于脓症患者, 且随着病情进展 IL-10 有持续升高趋势^[14]。由此可见, 脓毒症患者的早期免疫抑制状态可能较 SIRS 发生更早, 且在脓毒症发生及发展过程中抗炎反应持续存在。岳茂兴等^[15] 研究则显示, 创伤性脓毒症患者的血清 IL-6、IL-10 及 TNF- α 等细胞因子水平均在确诊后第 1 天即有明显升高, 且在第 3 天达峰值, 这与本研究结果略有差异, 可能与患者入院前病程长短及病情严重程度不一有关。总体而言, 认为在脓毒症发病初期即有大量促炎细胞因子如 IL-6、TNF- α 等释放而诱发 SIRS, 同时伴有抗炎细胞因子如 IL-10 等生成引起 CARS, 两者之间呈现动态变化。在入院治疗 7 d 后, 各组的 ESR、PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 及 HMGB-1 水平虽有不同程度的下降, 但仍未恢复正常, 尤其是脓毒性休克组的各指标水平仍处于较高水平, 认为炎症反应并非影响患者病情变化的唯一因素。

临床研究显示, 相比于早期炎症反应而言, 超过 80% 的脓症患者死于免疫抑制状态下的感染, 故免疫抑制可能是导致患者预后不良的关键因素^[16]。关于炎症细胞因子尤其是 IL-10 等抗炎细胞因子对脓症患者免疫功能及临床预后的影响目前尚无定论, 大部分研究认为 IL-10 能够抑制 IL-6、TNF- α 促炎细胞因子的过度表达。新近研究发现, 过度促炎反应可导致机体免疫损伤加重; 同时, 过度抗炎反应也可引起免疫功能紊乱, 削弱机体对致病菌的杀伤或清除能力, 重则诱发免疫麻痹状态, 增加继发性感染风险^[17]。T 淋巴细胞是机体是影响免疫应答的关键细胞, T 淋巴细胞功能及数量紊乱在脓毒症发生及发展过程中具有核心作用, 其中 CD4⁺T 淋巴细胞主要发挥协助体液和细胞免疫的作用, CD8⁺T 淋巴细胞则主要发挥抑制和杀伤作用, 可诱导和维持免疫耐受。因此, CD4⁺/CD8⁺

比值能够较好地预估机体免疫状态, CD4⁺ 细胞无反应或反应性降低均可导致其对 CD8⁺ 细胞的辅助能力减弱, 进而导致细胞的杀伤、溶解功能降低, 即免疫应答的负调节占据相对优势^[18]。本研究结果显示, 脓毒症患者入院初期即存在明显的 T 淋巴细胞亚群失衡, 抑制性 T 细胞比例升高而辅助性 T 细胞比例下降, 表现为 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显降低, 提示脓毒症患者早期即存在明显的机体免疫抑制。进一步监测不同时间点 T 淋巴细胞亚群变化显示, 各组 CD4⁺、CD8⁺ 在入院第 1 天时达到谷值, 此后逐步升高, 但 CD4⁺/CD8⁺ 在入院第 3 天时仍持续下降, 第 7 天时方有所回升, 且仍处于较低水平, 尤其是脓毒性休克组的 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 低于正常范围。由此可见, 脓毒症发展后期仍具有明显的免疫抑制, 这可能也是影响临床预后的重要因素。进一步 Pearson 相关性分析显示, 观察组患者的 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与血清 PCT、CRP、IL-6、IL-10、TNF- α 和 HMGB-1 均呈负相关, 与 CD8⁺ 呈正相关, 与文献报道^[19-20] 基本相符。表明脓毒症患者存在明显的免疫-炎症调节功能紊乱, 且两者之间相互影响而导致病情加重。但本研究未见 T 淋巴细胞亚群与 ESR 的明显相关性, 可能与 ESR 在脓毒症瀑布中的效应不明确有关。

综上所述, 脓毒症患者存在明显的免疫功能紊乱及促炎/抗炎细胞因子失衡, 且两者间相互作用进一步影响患者的病情, 加强对 T 淋巴细胞亚群及炎症细胞因子的动态监测对脓毒症的临床诊疗及预后评估具有一定的指导意义。但不同炎症介质的变化时间特性存在一定的差异, 且其在脓毒症发生、发展过程中的作用机制仍需进一步研究。

参 考 文 献:

- [1] SINGER M, DEUTSCHMAN C S, SEYMOUR C W, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (sepsis-3)[J]. JAMA, 2016, 315(8): 801-810.
- [2] 姚咏明, 张艳敏. 脓毒症发病机制最新认识[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(7): 678-683.
- [3] 李维勤. 脓毒症诊疗的新挑战—持续炎症、免疫抑制和分解代谢综合征[J]. 医学研究生学报, 2017, 30(7): 673-677.
- [4] CITRO A, BARNABA V, MARTINI H. From T cell apoptosis to chronic immune activation in inflammatory diseases[J]. Int Arch Allergy Immunol, 2014, 164(2): 140-146.
- [5] EVANS L E, ALHAZZANI W, LEVY M M, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016.[J]. Intensive Care Med, 2017, 43(3): 304-377.
- [6] 贺能英, 严启滔, 郭振辉, 等. 脓毒症的免疫反应与炎症[J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27(6): 435-438.
- [7] 崔瑶, 陈建丽, 方艺, 等. 脓毒症大鼠肝脏细胞 TLR4 和 TNF- α 表达及细胞凋亡研究[J]. 贵州医药, 2017, 41(4): 339-341.
- [8] 马冬璞. 脓毒症患者血清 NT-proBNP、IL-6 及 TNF- α 水平与预后的关系[J]. 广东医学, 2015, 14(12): 1910-1911.
- [9] 左姝, 于凯江, 王洪亮, 等. 动态监测血清 CRP 和 PCT 水平对脓毒症患者预后判断的临床价值[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(24): 4664-4667.
- [10] 沈文明, 岳茂兴, 李瑛, 等. 动态监测创伤脓毒症患者血浆中高迁移率族蛋白 B1 含量的意义[J]. 中华卫生应急电子杂志, 2015, 1(6): 28-30.
- [11] 杨婉, 张平安, 韩瑞玲. 脓毒症休克患者血浆高迁移率族蛋白 B1 表达水平动态变化及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(4): 433-435.
- [12] 温前宽, 李彦, 杨建萍, 等. 严重脓毒症患者炎症因子的动态变化及预后意义[J]. 中华急诊医学杂志, 2015, 24(7): 779-783.
- [13] OSUCHOWSKI M F, WELCH K, SIDDIQUI J, et al. Circulating cytokine/inhibitor profiles reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality[J]. J Immunol, 2006, 177(3): 1967-1974.
- [14] 孙荣青, 张少雷. 脓毒症早期血清白细胞介素-18 和 10 在疾病严重程度及预后评估中的价值研究[J]. 中华危重病急救医学, 2011, 23(5): 299-301.
- [15] 岳茂兴, 徐冰心, 李瑛, 等. 创伤脓毒症患者血浆中 IL-12 p70、TNF- α 、IL-1 β 、IL-6、IL-8、IL-10 的变化及其意义[J]. 中华创伤杂志, 2012, 28(12): 1117-1119.
- [16] 桂海波, 杜晓刚, 陈雪梅. T 淋巴细胞凋亡在脓毒症患者免疫抑制和预后中的作用[J]. 重庆医科大学学报, 2016, 41(7): 738-746.
- [17] 刘淑岩, 赵宇辉, 李莉, 等. 重度烧伤患者血清 IL-6、IL-10 变化及其与脓毒症发生及预后的关系[J]. 中国老年学杂志, 2014, 34(6): 1497-1499.
- [18] SHARMA A, YANG W L, MATSUO S, et al. Differential alterations of tissue T-cell subsets after sepsis[J]. Immunol Lett, 2015, 168(1): 41-50.
- [19] 樊锐, 沈健, 窦维嘉, 等. 脓毒症血症患者血清 IL-6、IL-10 的表达水平及其对免疫功能的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2015, 36(22): 3250-3252.
- [20] 刘杰, 李虎年, 赵旭, 等. 脓毒症患者免疫功能障碍与炎症的相关性分析[J]. 中国临床药理学杂志, 2018, 34(9): 1045-1047.

(张西倩 编辑)