

细胞因子谱、降钙素原、D-二聚体 对预测小儿川崎病冠脉损伤的临床意义

刘芳, 李晓春

(安徽医科大学附属安庆医院儿科, 安徽 安庆 246003)

摘要: **目的** 探讨细胞因子谱、降钙素原(PCT)、血浆 D-二聚体(D-D)与川崎病冠状动脉损伤(CAL)的相关性。**方法** 61例川崎病患儿根据超声心动图检查结果分为 CAL 组(10例)与无 CAL 组(51例);同时选取同期发热 3~5 d 的肺炎住院患儿为对照组(50例)。分别采用酶联免疫吸附法(ELISA)、电化学发光法、免疫比浊法,检测各组治疗前后血清细胞因子谱、PCT、血浆 D-D 的浓度水平,同时对相关因素行 Logistic 回归分析。**结果** (1)川崎病 CAL 组治疗前血清白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、PCT 及血浆 D-D 的浓度水平均显著高于无 CAL 组及对照组,均差异有统计学意义($P < 0.05$);(2)川崎病无 CAL 组治疗前各检测指标浓度水平均大于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);(3)川崎病 CAL 组和无 CAL 组治疗前后 IL-6、IL-8、TNF- α 、PCT、D-D 的浓度水平均差异有统计学意义($P < 0.05$);(4)无 CAL 组 IL-10 治疗前(25.43 ± 1.43) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 与治疗后(21.13 ± 1.29) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 比较,差异无统计学意义($t = 1.59, P = 0.115$);(5)Logistic 回归分析显示,IL-10、TNF- α 、D-D 是川崎病合并冠脉损伤的危险因素。**结论** 早期检测且动态追踪血清 IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、PCT、血浆 D-D 的浓度水平,可在病程早期辅助诊断川崎病并预测川崎病合并冠状动脉损害,从而为临床及时治疗、减少冠脉损伤提供科学依据。

关键词: 川崎病;细胞因子谱;降钙素原;D-二聚体;冠脉损害

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.08.019

The clinical significance of cytokine profiles, procalcitonin and D-dimer in predicting coronary artery injury of children Kawasaki disease

LIU Fang, LI Xiaochun

(Department of Pediatrics, Anqing Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Anqing, Anhui 246003, China)

Abstract: **Objective** To investigate the clinical significance of cytokine profiles procalcitonin (PCT) and plasma D-dimer (D-D) levels in children with Kawasaki disease to explore its correlation with coronary artery injury (CAL) in Kawasaki disease. **Methods** 61 children with Kawasaki disease were enrolled. According to the results of echocardiography they were divided into CAL group (10 cases) and non-coronary artery injury (non-CAL) group (51 cases); children with pneumonia who had a fever for 3-5 days in the same period were selected as the control group (50 cases). The levels of serum interleukin-6 (IL-6), IL-8, IL-10, tumor necrosis factor- α (TNF- α), PCT and plasma D-D before and after treatment were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), electrochemiluminescence and immunoturbidimetry. Logistic regression analysis was used to analyze the related factors. **Results** (1) The levels of serum IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , PCT and plasma D-D in CAL pre-treatment group were significantly higher than those in non-CAL pretreatment group and pneumonia control group, comparative differences were statistically significant ($P < 0.05$). (2) The levels of all test indexes in non-CAL pretreatment group were higher than those in the pneumonia control group, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). (3) The levels of serum IL-6, IL-8, TNF- α , PCT and plasma D-D in children with Kawasaki disease in pre-treatment and post-treatment were significantly different ($P < 0.05$). (4) The levels of IL-10 in the non-CAL pretreatment group were (25.43 ± 1.43) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, higher than the non-CAL post-treatment group (21.13 ± 1.29) $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, but the difference was not statistically significant ($t = 1.59, P = 0.115 > 0.05$). (5) Logistic regression analysis showed that IL-10, TNF- α , D-D was a risk factor for Kawasaki disease complicated with coronary artery lesions. **Conclusion** Early detection and dynamic tracking of serum IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α , PCT and plasma D-D levels can diagnose Kawasaki disease as an auxiliary methods in the early course of the disease and predict Kawasaki disease with coronary artery damage, so as to provide a scientific basis for clinical treatment and reduce coronary lesions.

Key words: Kawasaki disease; Cytokine profiles; Procalcitonin; D-dimer; Coronary artery damage

川崎病 (Kawasaki disease, KD) 是一种急性发热、出疹性小儿变态反应性疾病,其属于自身免疫性疾病范畴^[1],以全身中、小血管特异性炎症为主要病理改变;主要以皮肤、黏膜、淋巴结损害为其临床表现。冠状动脉的损害是 KD 危及生命的主要病变,大部分患儿冠状动脉损害的临床症状不明显,多数患儿最终因心肌梗死、甚至猝死才被发现,随着年龄的增长,其可成为冠心病的潜在危险因素^[2]。目前 KD 的诊断仍以临床表现为准,尚缺乏可靠的血清学指标来早期诊断 KD,进而及早预防、干预 KD 的发展及冠脉受损。本实验通过检测 KD 患儿治疗前后血清中白细胞介素-6(IL-6)、白细胞介素-8(IL-8)、白细胞介素-10(IL-10)、肿瘤坏死因子-α(TNF-α)、降钙素原(PCT)、血浆 D-二聚体(D-D)浓度水平变化并分析其临床意义,探讨其与 KD 冠状动脉损伤(CAL)的相关性,早期辅助诊断并预测 KD 合并冠状动脉损害,为早期发现 KD 冠脉损伤、及时采取有效治疗措施提供科学依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2016 年 9 月至 2017 年 7 月安徽医科大学附属安庆医院收治的 KD 患儿 61 例,入组者均符合《诸福棠实用儿科学》第 8 版中 KD 的诊断标准。在其病程的 5~10 d 均未接受静脉丙种球蛋白、阿司匹林、糖皮质激素等治疗的初治病例;同时除外其他出疹、发热性疾病。61 例中男 38 例,女 23 例;年龄范围为(2.40±1.35)岁。在病程的 7~10 d 后均行超声心动图检查,据其结果将患儿分为 CAL 组(10 例)和无 CAL 组(51 例);选取同期发热 3~5 d 的肺炎患儿为对照组(50 例),其中男 25 例,女 25 例,年龄范围为(2.68±1.44)岁,各组间年龄、性别差异无统计学意义。各入组患儿均予以心电图、心肌酶谱检查除外心肌损害的其他因素,并排除其他合并感染,既往无慢性疾病及其他免疫性疾病、无糖皮质激素使用史。本研究获患儿监护人知情同意且经过安徽医科大学附属安庆医伦理委员会批准。

1.2 方法 各入组患儿采血前均未接受静脉丙球及糖皮质激素治疗,CAL 组和无 CAL 组在其病程中的 5~7 d、对照组在病程的 3~5 d 分别于清晨空腹

抽取静脉血约 10 mL,予以 3 500 r·min⁻¹ 离心 15 min 后获上清液分别采用酶联免疫吸附实验法(ELISA)检测血清 IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α 血清浓度水平,试剂盒均购自深圳晶美生物工程有限公司;免疫比浊法检测血浆 D-D,使用法国 Diagno Stago 公司的 STA-R 凝血分析仪,试剂盒为 Diagno Stago 公司产品;电化学发光法检测 PCT,仪器为罗氏 E170 全自动电化学发光分析仪,试剂盒由 Roche 公司提供。所有的操作步骤均在实验室人员指导下,严格按照 SOP 文件执行。CAL 组和无 CAL 组明确诊断后均加用阿司匹林(30~50 mg·kg⁻¹,每天 1 次)和静脉静滴丙种球蛋白(1 g·kg⁻¹,每天 2 次)治疗,在治疗体温稳定 3~5 d 后再次进行采样复查各项指标。对照组按照肺炎指南规范治疗。

1.3 统计学方法 采用 SPSS 16.0 统计分析软件。计数资料组间比较采用 χ² 检验;呈偏态分布的计量资料数据,采用非参数检验秩和检验,检测结果以中位数 M(QR)形式描述;呈正态分布的计量资料数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两相关样本均数比较采用配对 *t* 检验;多个样本均数比较选用方差分析即 *F* 检验,各组间两两比较采用 LSD-*t* 检验;采用多因素 Logistic 回归分析筛选 KD 合并冠状动脉损害的危险因素。均以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组治疗前各检测指标的比较 CAL 组治疗前血清 IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α、PCT 及血浆 D-D 的浓度水平均显著高于对照组及无 CAL 组,均差异有统计学意义(*P* < 0.05);无 CAL 组治疗前各检测指标浓度水平均大于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)见表 1。

2.2 无 CAL 组治疗前后各检测指标的比较 无 CAL 组治疗前 IL-6、IL-8、TNF-α、PCT、D-D 的水平显著高于治疗体温稳定 3~5 d 后,差异有统计学意义(*P* < 0.001)。IL-10 治疗前后差异无统计学意义(*t* = 1.589, *P* = 0.118)。见表 2。

2.3 CAL 组治疗前后各检测指标的比较 CAL 组治疗前 IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α、PCT、D-D 的浓度水平明显高于 CAL 治疗后,均差异有统计学意义(*P* < 0.05)。见表 3。

表 1 三组治疗前各检测指标的比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	IL-6/ng·L ⁻¹	IL-8/ng·L ⁻¹	IL-10/ng·L ⁻¹	TNF-α/ng·L ⁻¹	PCT/μg·L ⁻¹	D-D/mg·L ⁻¹
对照组	50	10.20±6.53	27.56±14.66	13.32±7.11	16.91±10.72	0.57±0.41	0.63±0.36
CAL 组	10	41.66±7.98 ^{ab}	46.09±15.37 ^{ab}	39.44±13.21 ^{ab}	41.41±4.59 ^{ab}	2.14±0.96 ^{ab}	3.83±2.42 ^{ab}
无 CAL 组	51	27.82±14.20	35.24±13.21	25.43±14.29	31.92±9.18	1.33±1.10	1.83±1.09
<i>F</i> 值		52.868	8.690	27.835	44.697	19.312	44.644
<i>P</i> 值		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001	0.013

注:与无 CAL 组治疗前比较,^a*P* < 0.05;与对照组比较,^b*P* < 0.05

表 2 无 CAL 组治疗前后各检测指标的比较

类别	例数	IL-6/ng · L ⁻¹	IL-8/ng · L ⁻¹	IL-10/ng · L ⁻¹	TNF-α/ng · L ⁻¹	PCT/μg · L ⁻¹	D-D /mg · L ⁻¹
治疗前	51	27.82 ± 14.20	35.24 ± 13.21	25.43 ± 14.29	31.92 ± 9.18	1.33 ± 1.10	1.83 ± 1.09
治疗后	51	5.43 ± 3.27	14.98 ± 6.20	21.13 ± 12.93	16.25 ± 7.87	0.29 ± 0.24	0.61 ± 0.23
t 值		11.340	11.854	1.589	10.543	7.570	8.648
P 值		<0.001	<0.001	0.118	<0.001	<0.001	<0.001

表 3 CAL 组治疗前后各检测指标的比较

类别	例数	IL-6/ng · L ⁻¹	IL-8/ng · L ⁻¹	IL-10/ng · L ⁻¹	TNF-α/μg · L ⁻¹	PCT/μg · L ⁻¹	D-D/mg · L ⁻¹
治疗前	10	41.66 ± 7.98	46.09 ± 15.37	39.44 ± 13.21	41.41 ± 4.59	2.14 ± 0.96	3.83 ± 2.42
治疗后	10	6.30 ± 2.84	23.66 ± 18.53	22.24 ± 11.96	12.95 ± 5.42	0.43 ± 0.37	1.13 ± 0.67
t 值		11.038	3.602	2.461	20.102	7.273	4.480
P 值		<0.001	0.006	0.036	<0.001	<0.001	0.002

2.4 KD 发生冠脉损伤多因素的 Logistic 回归分析

将 KD 合并冠状动脉损伤为因变量,对 IL -6、IL-8、IL-10、TNF-α、PCT、D-D 的浓度水平及年龄、性别进行多因素二分类 Logistic 回归分析,最终选入因素为 IL-10、TNF-α、D-D 的浓度水平,IL-10、TNF-α、D-D 的浓度水平是 KD 合并冠脉损伤的危险因素。各因素的分析结果见表 4。

表 4 KD 合并冠脉损伤多因素的 Logistic 回归分析

指标	β 值	Waldχ ² 值	P 值	OR 值	95% CI 值
IL-10	0.091	6.444	0.011	1.095	1.021 ~ 1.175
TNF-α	0.222	6.464	0.011	1.249	1.052 ~ 1.482
D-D	1.308	5.744	0.017	3.699	1.269 ~ 10.783

3 讨论

KD 组织病理学表现主要为中、小型血管中单核细胞浸润、全身血管炎及内皮细胞坏死^[3,4]。该病的发病机制国内外尚未完全明确,目前研究表明其急性期体内免疫反应被激活,从而引发体内的各种炎性细胞因子产生瀑布样反应,最终使血管内皮受损。Zhang 等^[5]研究表明 KD 急性期各致炎因子升高,且其升高程度与冠脉损伤关系密切。

IL-6 是促炎症细胞因子的一种,主要由活化的 T 细胞,单核、巨噬细胞等分泌^[6];其可刺激 T 淋巴细胞增殖、B 细胞增殖分化分泌抗体及再次的免疫应答,郭艳梅和李晓春^[7]研究表明 IL-6 参与到肺炎支原体肺炎感染的过程和引起肺外并发症的免疫损伤。有研究表明 KD 患儿中,尤其并发冠脉损害时 IL-6 浓度表达也明显升高^[8],本研究结果提示 KD 患儿治疗前血清 IL-6 水平显著地高于其治疗后和肺炎对照组的患儿(*P* < 0.05),同时并发冠脉扩张时 IL-6 水平明显升高;恢复期其浓度水平下降明显。这表明在 KD 的急性发病、并发冠脉损害及其转归中 IL-6 起着重要的作用。疾病早期动态监测

IL-6 浓度水平,对早期诊疗、预防 KD 的并发症具有重要的意义。

IL-8 主要由单核细胞来分泌,为一种趋化性因子,其可趋化、激活中性粒细胞,在防御感染性疾病中发挥重要的作用。其中中性粒细胞相互作用从而加重血管炎性损害,在炎症诱发细胞因子级联反应中发挥重要作用。许晓哲^[9]研究表明 IL-8 参与了 KD 的发生发展,本研究中 KD 患儿血清 IL-8 并发冠脉损伤组高于无冠脉损伤组及对照组,提示 IL-8 对 KD 患儿急性期血管内皮炎症损伤及冠脉损害可能发挥着重要作用。

IL-10 是免疫抑制因子,具有超强抗炎效应,是由 T 细胞、激活的角质细胞、单核/巨噬细胞等分泌。张北宁等^[10]研究示 KD 急性期有大量的 IL-10 分泌,其抑制活性介质和炎症因子从而使机体的抗炎能力提高。本实验结果示冠脉损害 KD 患儿血清中 IL-10 浓度水平高于无冠脉损害及对照组,说明 KD 急性期 IL-10 可作为机体的保护因子,抑制炎症反应进一步发展,同时其可能保护冠脉,避免冠脉进一步损害。有文献报道当 IL-10 浓度水平过高时,使免疫失控,反而加速炎症反应^[11]。本实验中 KD 无冠脉扩张组治疗前 IL-10 浓度水平高于治疗后,但两者差异无统计学意义(*P* = 0.118 > 0.05),是否为 IL-10 抑制炎症能力过强、使其血清浓度持续时间延长,尚需今后实验进一步研究。

TNF-α 也是主要促炎症因子之一,其高浓度水平可直接使血管内皮细胞损伤^[12]。有研究表明形成冠状动脉瘤与多种细胞因子的高表达且持续相关。本研究结果表明 KD 治疗前 TNF-α 浓度显著高于治疗后及对照组,并且冠脉损害组明显高于其他组,与龚本新和卢宏柱^[13]的研究一致,表明 TNF-α 可作为预测 KD 冠脉损害的早期因子。

PCT 为降钙素的前肽物质,没有生物活性,是一

种次级炎症因子,其升高多见于细菌感染、浓度的变化可用于评价感染的程度。在一些炎症性的疾病中,PCT的特异性及敏感性优于CRP。研究表明PCT水平的增高除了见于细菌感染,也可见于各种自身免疫性疾病^[14]。本实验中对对照组、KD及无冠脉损伤组PCT均低于冠脉损伤组,治疗后其浓度水平下降明显,与Okada等^[15]研究一致。表明KD的免疫反应的炎症可用PCT评价,同时予以动态监测PCT浓度水平变化来判断、预测KD的病程及转归。

D-二聚体是纤溶过程中交联纤维蛋白的降解产物,当机体纤溶、凝血系统激活并失衡时,D-二聚体即会早期灵敏性的升高。Flaehs等^[16]研究表明D-二聚体与心血管系统的疾病相关性密切。多用于各种疾病所致高凝状态的检测,可作为预测KD患儿发生冠状损害的指标之一^[17]。KD患儿因其免疫反应所致全身性的血管炎症,使全身血管内皮细胞受损,从而影响到机体凝血和纤溶系统平衡,血液呈高凝的状态、血栓的出现。同时KD时血管内皮损伤,活化血小板可加剧机体的高凝状态^[18]。本实验中KD冠脉损伤组D-二聚体血浆浓度水平明显高于无冠脉损害组,无冠脉扩张组治疗前D-二聚体血浆浓度水平高于对照组及治疗后,提示KD中血液呈高凝状态,凝血及纤溶系统失衡,D-二聚体的升高对预测冠脉损害有着重要的临床价值。

本研究中对IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、PCT、D-D的浓度水平及年龄、性别进行多因素Logistic回归分析,结果显示IL-10、TNF- α 、D-D的浓度水平是KD并发CAL的独立危险因素。付佳等^[19]研究表明年龄、性别为KD并发CAL的危险因素,本研究中年龄、性别在Logistic回归分析时被排除,可能为入选病例例数受限,亦可为部分因素之间具有交互作用,但不代表这些因素与KD并发CAL无关。因此需要实验进一步探讨。

综上所述KD发病过程中既有炎症因子的反应又有凝血、纤溶系统的失衡。KD的诊断标准主要为症状性诊断,目前在临床上尚缺乏特异性指标来早期诊断KD及并发的冠脉损害。本研究中KD患儿CAL组治疗前血清IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、PCT及血浆D-D的浓度水平均显著高于无CAL组治疗前组、肺炎对照组及CAL治疗后组;无CAL组治疗前组IL-6、IL-8、TNF- α 、PCT及血浆D-D的浓度水平均大于对照组及无CAL组治疗后,各组比较均差异有统计学意义($P < 0.05$);IL-10在无CAL组中治疗前浓度高于治疗后,但两者差异无统计学意义。同时对KD发生冠脉损伤多因素的Logistic回归分

析显示,IL-10、TNF- α 、D-D的浓度水平是KD合并冠脉损伤的危险因素。说明早期检测且动态追踪血清IL-6、IL-8、IL-10、TNF- α 、PCT、血浆D-D的浓度水平,可在病程早期辅助诊断KD并预测KD合并冠状动脉损害,从而为临床及时治疗、减少冠脉损伤提供科学依据。

参考文献

- [1] YEUNG RS. Kawasaki disease; update on pathogenesis [J]. Curt Opin Rheumatol, 2010, 22(5): 551-560.
- [2] 徐雯雅, 刘桂英. 川崎病合并冠状动脉损害危险因素研究进展 [J]. 中国医药, 2016, 2(11): 293-297.
- [3] SON MB, NEWBURGER JW. Kawasaki disease [J]. Pediatr Rev, 2013, 34(4): 151-162.
- [4] GERDING R. Kawasaki disease; a review [J]. J Pediatr Health Care, 2011, 25(6): 379-387.
- [5] ZHANG H, PARK Y, WU J, et al. Role of TNF- α in vascular dysfunction [J]. Clin Sci, 2009, 116(3): 219-230.
- [6] TAN Z, YUAN Y, CHEN S, et al. Plasma endothelial microparticles, TNF- α and IL-6 in Kawasaki disease [J]. Indian Pediatr, 2013, 50(5): 501-503.
- [7] 郭艳梅, 李晓春. 细胞因子谱、C-反应蛋白及降钙素原在小儿重症支原体肺炎诊治中的临床意义 [J]. 安徽医药, 2017, 21(5): 900-903.
- [8] 窦焕芝. 川崎病患儿血浆内皮素-1和血清IL-6水平的变化与冠状动脉病的关系 [J]. 心理医生, 2017, 2(23): 121-122.
- [9] 许晓哲. 血清IL-8及CRP与川崎病冠脉损害的相关性研究 [J]. 中国现代药物应用, 2012, 6(8): 30-31.
- [10] 张北宁, 周南, 林淑金. 川崎病患儿血浆IL-10与T细胞亚群关系研究 [J]. 实用医技, 2007, 35(14): 293-297.
- [11] MOORE KW, DE WAAL MALEFYT R, Co. man RL, O'Garra A. Interleukin-10 and interleukin-10 receptor [J]. Annu Rev Immunol, 2001, 19(1): 683-765.
- [12] 闫辉, 杜军保. 抗肿瘤坏死因子 α 治疗川崎病的研究进展 [J]. 中华儿科杂志, 2015, 53(1): 73-75.
- [13] 龚本新, 卢宏柱. 川崎病患儿血清促炎因子检测的临床意义 [J]. 医学信息, 2010, 12(23): 4481-4482.
- [14] BUHAESCU I, YOOD RA, IZZEDINE H. Serum procalcitonin in systemic autoimmune diseases—where are we now? [J]. Semin Arthritis Rheum, 2010, 40(2): 176-183.
- [15] OKADA Y, MINAKAMI H, TOMOMASA T, et al. Serum procalcitonin concentration in patients with Kawasaki disease [J]. J Infect, 2004, 48(2): 199-205.
- [16] FLACHS P, ROSSMEISL M, BRYHN M, et al. Cellular and molecular effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adipose tissue biology and metabolism [J]. Clin Sci (Lond), 2009, 116(1): 1-16.
- [17] 王蕊, 封其华, 宋晓翔. 川崎病D-二聚体的变化与临床意义 [J]. 临床儿科杂志, 2013, 31(12): 1192.
- [18] 傅明鸿, 黄枫玲. D-二聚体、高密度脂蛋白在早期诊断川崎病中的价值 [J]. 包头医学学报, 2016, 32(11): 83-85.
- [19] 付佳, 张宏艳, 杨艳章. 川崎病合并冠状动脉损害的高危因素分析 [J]. 天津医药, 2012, 40(7): 679-681.

(收稿日期: 2017-11-27, 修回日期: 2018-01-14)