

白细胞介素-35 在脓毒症中的变化及其与病情严重程度的相关性

马玉仓,方长太,黄利娟,陈园园,程高翔

(安徽医科大学附属安庆医院重症医学科,安徽 安庆 246003)

摘要:目的 观察脓症患者血清白细胞介素-35(IL-35)的变化规律,探讨其与脓毒症病情严重程度的关系及对疾病预后的预测价值。方法 采用前瞻性单中心单盲临床研究,选择在安徽医科大学附属安庆医院重症医学科 2016 年 10 月至 2017 年 10 月间住院的脓症患者中筛选出符合研究要求的病例 74 例,并根据全身感染严重程度及有无器官功能不全,将脓症患者分为一般脓毒症组和脓毒症性休克组。同期选择 60 例健康志愿者作为健康对照组。患者入院 6 h、48 h、d5 取血,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测降钙素原(PCT)、IL-35,计算序贯器官衰竭(SOFA)评分;同时记录患者转归。分析脓症患者 IL-35 与上述指标的相关性;绘制受试者工作特征曲线(ROC)获得 IL-35 诊断感染的价值。结果 血清 IL-35 中位值比较,一般脓毒症组 $45.56 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 和脓毒症性休克组 $47.77 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 较健康对照组 $0.34 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 明显升高 ($Z = 1.314, P < 0.01$),随病情严重程度增加,脓症患者 PCT 中位值明显上升[一般脓毒症组 $35.00 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$,脓毒症性休克组 $1.15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, ($Z = -6.253, P < 0.001$)]。一般脓毒症组患者随病情好转,SOFA 评分、PCT、IL-35 逐渐下降;脓毒症性休克组患者随病情加重,SOFA 评分、PCT、IL-35 逐渐升高。IL-35 与 SOFA 评分随入院时间的增长呈显著正相关。ROC 曲线分析显示 IL-35、PCT 诊断感染的 ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.76、0.94。当 IL-35 截断值为 $41.97 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的敏感度为 94.00%,特异度为 60.00%;当 PCT 截断值为 $3.65 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时敏感度为 88.00%,特异度为 80.00%。结论 脓症患者入院时血清 IL-35 即明显上升,与 PCT 水平呈正相关,对脓毒症的病情变化有诊断意义;血浆 IL-35 与脓毒症严重程度有关,其变化趋势对脓毒症患者的预后提示意义。

关键词:脓毒症;白细胞介素-35;降钙素原

doi:10.3969/j.issn.1009-6469.2018.10.014

Changes of plasma interleukin-35 in patients with sepsis and its correlation with severity of disease

MA Yucang, FANG Changtai, HUANG Lijuan, CHEN Yuanyuan, CHENG Gaoxiang

(Department of Severe Medicine, Anqing Hospital of Anhui Medical University, Anqing, Anhui 246003, China)

Abstract: Objective To observe the changes of plasma interleukin-35 (IL-35) in patients with sepsis, and to explore its relationship with the severity of sepsis and its predictive value for disease prognosis. **Methods** A prospective single center single blind clinical research methods was used to select 74 cases of sepsis patients hospitalized from October 2016 to October 2017 in Department of Severe Medicine, Anqing Hospital Affiliated to Medical University Of Anhui. According to the severity of systemic infection and without organ dysfunction, patients with sepsis were assigned into general sepsis group and septic shock group. At the same time, 60 healthy volunteers were selected as healthy control group. Patients were hospitalized with 6 h, 48 h and d5, enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect procalcitonin (PCT) and IL-35 in blood, sequential organ failure (SOFA) scores were calculated, and patients' prognosis was recorded. The correlation between IL-35 and the above indexes in patients with sepsis was analyzed, and the working characteristic curve (ROC) was drawn to obtain the value of IL-35 in diagnosis of infection. **Results** Serum IL-35 in general sepsis group ($45.56 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) and septic shock group ($47.77 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) was increased significantly than that in healthy control group ($0.34 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$) ($Z = 1.314, P < 0.01$), PCT increased significantly in sepsis with the severity of the disease increased ($Z = -6.253, P < 0.001$), PCT in general sepsis group was $35.00 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, PCT in septic shock group was $1.15 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. In general sepsis group, the SOFA score, PCT and IL-35 decreased gradually with the improvement of the disease; the SOFA score, PCT and IL-35 gradually increased with the aggravation of the disease in the septic shock group. IL-35 and SOFA score were positively correlated with the increase of admission time. ROC curve analysis showed that the area under the ROC curve (AUC) of IL-35 and PCT for diagnosis of infection was 0.76 and 0.94. When the cutoff value of IL-35 was $41.97 \text{ ng} \cdot \text{L}^{-1}$, the sensitivity was 94%, the specificity was 60%; the sensitiv-

基金项目:安徽省公益性技术应用研究联动项目(1704f0804036)

通信作者:方长太,男,主任医师,硕士生导师,研究方向为急危重症, E-mail:fangchangtai@163.com

ity was 88% and the specificity was 80% when the cut-off value of PCT was $3.65 \mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$. **Conclusions** Serum IL-35 in patients with sepsis is increased significantly at admission, which is positively correlated with the level of PCT, and has a diagnostic significance for the change of sepsis, and the change trend of plasma IL-35 is related to the severity of sepsis, its tendency is helpful to the prognosis of patients with sepsis.

Key words: Sepsis; Interleukin-35; Procalcitonin

脓毒症为临床常见的一类高死亡率的危重症^[1-2],据相关资料统计,脓毒症的死亡率高达25%~63%^[3]。脓症患者死亡的主因是由感染引发的炎症反应失控而最终导致的多器官功能衰竭^[4]。新研究提示 IL-35 在参与脓毒症的发生和发展的过程中表现为抑制炎症反应,可在炎症、自身免疫疾病以及其他免疫紊乱的疾病中作为一个具有优势的免疫抑制性治疗因子^[5-6]。最新研究提示 IL-35 在新生儿脓毒症作为早期预警因子敏感性较高^[7],但仅仅局限于新生儿,缺乏对 IL-35 的全面系统性的研究。本研究拟通过观察成年人脓症患者血清 IL-35 水平随时间的变化,研究其在脓症患者及健康人群之间的差异,探索其在脓毒症病情演变以及对脓毒症预后的评估意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究符合一般医学伦理学要求,已经通过安徽医科大学附属安庆医院伦理委员会的批准,且获得了患者或其近亲属的知情同意。采用前瞻性临床研究方法进行本课题的研究。从2016年10月至2017年10月,在安徽医科大学附属安庆医院重症医学科入住的脓症患者中选择,纳入标准:感染的诊断依据即临床症状、体征,影像学检查,病原菌、实验室感染指标的检测及病理活检等结果符合在第45届危重病医学年会上(2016年2月)SCCM/ESICM联合发布脓毒症3.0定义及诊断标准并在ICU住院治疗存活时间 ≥ 7 d且年龄 ≥ 18 岁;排除标准:患有脑血管意外疾病、冠心病,急、慢性心力衰竭,血液系统疾病、自身免疫性疾病、慢性肾功能衰竭、恶性肿瘤或免疫缺陷疾病等,且半年内使用过影响免疫功能的药物,同时排除生存时间在7 d以内的患者,因其不能收集完整的实验所需要的血清,进而失去进行研究的可能。对照组选择标准:采用分层抽样法选择在我院体检中心进行体检的,身体健康的(同实验组要求的排除条件)且年龄 ≥ 18 岁的人群。

1.2 病例分组 最终得到符合纳入标准的观察组(74例),按照病情的严重程度分为:一般脓毒症组(40例)、脓毒症休克组(34例),得到符合的对照组:健康志愿者(60例)。

1.3 样本的采集 将纳入观察的患者在进入ICU后即进行序贯器官衰竭(SOFA)评分,分别按入院6 h内、48 h、d5留取充足的血液样本,检测降钙素原(PCT)、血常规及血生化等,同时留取10 mL外周静脉血液,在室温下静置20 min,然后离心机(离心半径7.5 cm、离心速率为 $3\,500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$)中离心30 min,取最上面的血清2 mL至EP管中,放置于 -80°C 冰箱内,以备检验使用。健康对照组同样留取外周静脉血,操作同前,置于 -80°C 冰箱保存备用。

1.4 检测及观察指标 观察组在入住ICU后监测患者的生命体征并进行序贯器官衰竭(SOFA)评分同时记录,观察患者临床病情变化。PCT采用化学发光法检测,IL-35的检测采用酶联免疫吸附试验(ELISA)。

1.5 统计学方法 采用SPSS 21.0软件处理分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。计数资料的比较应用 χ^2 检验方法,多组满足参数检验的定量数据采用单因素方差分析的方法;不满足参数检验的多组间的数据意义的比较应用Kruskal-wallis秩和检验方法,相关分析的分析应用Spearman等级相关的方法,采用重复测量方差分析对脓毒症患者的SOFA评分、PCT及IL-35水平的变化趋势进行分析(对数据进行正态转换后行Manuchly's球形假设检验,对Manuchly's P 值 < 0.05 的通过Greenhouse & Geisser方法矫正),偏态分布的数据应用中位数及四分位数间距[$M(QR)$]表示,不满足参数检验的两组资料比较应用Mann-whitney秩和检验方法。

2 结果

2.1 一般情况的比较 三组性别、年龄等一般情况的比较,均差异无统计学意义($P > 0.05$),说明两组之间有可比性,而三组之间的SOFA评分、PCT以及IL-35比较均差异有统计学意义(均 $P < 0.01$)。见表1。

2.2 两脓毒症组入院后6 h、48 h、d5的SOFA评分及血清中PCT、IL-35水平比较 一般脓毒症组患者的SOFA评分及血清中PCT、IL-35水平随着治疗时间逐渐下降,差异有统计学意义(校正后 F 值分别为14.203、4.084、5.377,均 $P < 0.05$)。脓毒症休克组SOFA评分及血清中PCT、IL-35水平随着治

表1 三组一般情况及入院时SOFA评分、PCT、IL-35比较

组别	例数	性别/例		年龄/ (岁, $\bar{x} \pm s$)	SOFA/ [分, $M(Q_R)$]	PCT/ [$\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$, $M(Q_R)$]	IL-35/ [$\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$, $M(Q_R)$]
		男性	女性				
健康对照组	60	30	30	69.03 \pm 11.25	—	—	0.34(0.07)
一般脓毒症组	40	16	24	71.90 \pm 12.17	6.00(3.00)	1.15(1.34)	45.56(10.66)
脓毒症休克组	34	18	16	65.94 \pm 10.21	9.00(3.25)	35.00(50.35)	47.77(20.61)
$F(Z)[\chi^2]$ 值		[1.452]		2.566	(-5.974)	(-6.253)	(1.314)
P 值		0.484		0.081	<0.001	<0.001	<0.001

表2 两脓毒症组入院后6 h、48 h、d5 SOFA评分及血清中PCT、IL-35水平比较/ $\bar{x} \pm s$

组别	例数	指标	检测时点			F 值	P 值
			6 h	48 h	d5		
一般脓毒症	40	SOFA/分	6.30 \pm 1.36	4.60 \pm 2.09	3.00 \pm 2.00	14.203	<0.001
		PCT/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	2.22 \pm 1.15	1.84 \pm 1.49	1.04 \pm 0.25	4.084	0.025
		IL-35/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	51.30 \pm 12.90	45.66 \pm 10.31	40.37 \pm 20.44	5.377	0.009
脓毒症休克	34	SOFA/分	10.00 \pm 2.89	11.41 \pm 4.11	17.71 \pm 6.24	42.044	<0.001
		PCT/ $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$	38.23 \pm 30.54	48.51 \pm 35.46	60.28 \pm 40.87	8.327	0.001
		IL-35/ $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$	51.93 \pm 26.17	64.90 \pm 26.00	82.11 \pm 28.46	26.925	<0.001

疗过程中病情的加重逐渐上升,差异有统计学意义(校正后 F 值分别为42.044、8.327、26.925,均 $P < 0.05$)。一般脓毒症组患者的死亡率为27.50%,脓毒症休克组患者的死亡率为82.35%。见表2。

2.3 两脓毒症组入院后6 h、48 h、d5的IL-35水平与SOFA评分及与PCT的相关性 脓毒症患者的IL-35与SOFA评分及PCT随着入住ICU治疗时间的增加,其相关程度明显由弱变强,见表3。

表3 两脓毒症组74例入院后6 h、48 h、d5的IL-35水平与SOFA评分及与PCT的相关性

指标	6 h		48 h		d5	
	r_s 值	P 值	r_s 值	P 值	r_s 值	P 值
IL-35与SOFA	0.107	0.365	0.342	0.003	0.777	<0.001
IL-35与PCT	0.02	0.869	0.341	0.003	0.647	<0.001

2.4 血清IL-35对脓毒症病情的诊断价值 根据ROC曲线计算IL-35、PCT诊断感染的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.76、0.94。当IL-35截断值为41.97 $\text{ng} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的敏感度为94.00%,特异度为60.00%;当PCT截断值为3.65 $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$ 时的敏感度为88.00%,特异度为80.00%。见图1。

3 讨论

IL-35由小鼠体内的调节性T细胞(Treg细胞)产生,一直以来Treg被认为是一种细胞接触、细胞因子非依赖的方式发挥抑制作用,恰好IL-35在不依赖Treg的作用即可对效应T细胞(Teff细胞)产

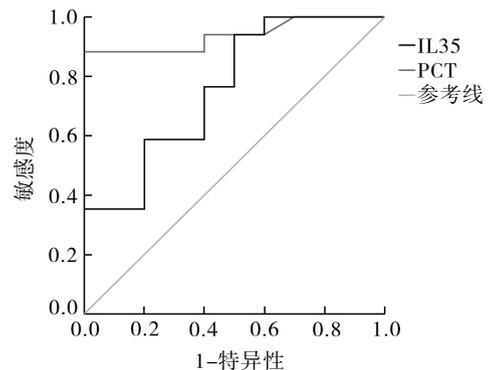


图1 脓症患者入住ICU治疗过程中血清IL-35、PCT对病情变化的ROC曲线

生抑制效应,IL-35对Teff的抑制效应的强度与Treg中IL-35的表达的量有相关性,IL-35在抑制Teff的同时激活Treg的功能。IL-35在脓毒症复杂的免疫调控网络中发挥负向调节作用,通过抑制Teff免疫活性,影响Teff功能及增殖,限制免疫应答的范围,减低免疫调控的程度,缩短调控免疫应答作用时间,将不恰当的免疫反应抑制,最终达到复杂的免疫反应被调控在合理范围^[8-10]。本研究结果发现,IL-35水平的表达,脓毒症组较健康对照组明显上升,提示脓毒症时IL-35表达水平是升高的。曾有研究表明,在脓毒症早期的诊断中PCT是特异性较高的炎症指标,且其在革兰阴性杆菌所致的全身感染性疾病中表达的水平升高的更为显著,而在胰腺炎等非感染性疾病中,相较之下,PCT表达水平的提升甚微,不高于0.5 $\mu\text{g} \cdot$

L^{-1} [11-13]。高艳霞等研究表明^[14], PCT 表达水平在胆源性感染引起的胰腺炎中明显高于其他原因所致的胰腺炎,且 PCT 与其它传统炎症指标如体温、白细胞、CRP、IL-6 等相比更能准确明了的观察机体炎症因子升高情况,进而反映出疾病严重程度、转归以及其预后,同时 SOFA 评分亦对评估脓毒症的病情及预后有重要意义^[15-17]。本研究结果显示脓毒症患者 IL-35 水平与 PCT 水平、SOFA 评分均有正相关性($r_s = 0.647, P < 0.001$)、($r_s = 0.777, P < 0.001$),因此推断 IL-35 也可以反映感染的存在,此结果于 2016 年程高翔等研究结果基本相同^[18],且由 ROC 曲线可见,血浆 IL-35 水平的 AUC 为 0.76,对感染有诊断意义,IL-35 截断值为 $41.97 \text{ ng} \cdot L^{-1}$ 时的敏感度为 94.00%,而当 PCT 截断值为 $3.65 \text{ ug} \cdot L^{-1}$ 时的敏感度为 88.00%,明显看出 IL-35 较 PCT 对感染的诊断更为敏感,由此提示 IL-35 在脓毒症疾病初始可作为“预警因子”预测病情。

本研究还显示脓毒症患者血清 IL-35 水平在一般脓毒症组及脓毒症休克组逐层上升,且其水平与 SOFA 评分呈正相关($r_s = 0.777, P < 0.001$),即 SOFA 评分增大,IL-35 及 PCT 水平随之升高,同时患者病死率亦升高,其差异有统计学意义,由此可推断脓毒症时血清 IL-35 水平能够提示患者病情演变的严重程度,故此我们猜想将 PCT、SOFA 评分、IL-35 这三种联合在一起,然后采用多种方式进行对脓毒症的病情评估以及预后做出判断,这种假设是否可能判断更为准确,有待于进一步研究。另有研究表明^[19],IL-35 能够调节免疫表达过程促进 IL-10 的水平升高,而通过免疫调理的方式提升抗炎因子 IL-10 的水平,提升细胞免疫中 CD4 + T 细胞的水平,降低促炎因子 TNF- α 的表达,脓毒症患者的生存预后改善,生存率可随之有所提升。由此不难看出通过对 IL-35 的相关免疫通路的干预或对 IL-35 的相关免疫环节进行免疫调理,使得免疫表达合理,改善患者治疗效果,最终可能降低脓毒症患者的病情,甚至能够改善脓毒症患者的预后。

综上所述,在对脓毒症病情的演变方面,IL-35 有着不可或缺的意义。尽管研究得到了良好结果,但尚有一些亟待改进的地方,其一,尚未对不同原发病及不同细菌来源的脓毒症患者的 IL-35 水平的差异进行研究;其二,实验样本量小,研究的范围也是限制于本地区,研究结果或出现偏倚可能较大。

参考文献

- [1] BOOMER JS, TO K, CHANG KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure [J]. *JAMA*, 2011, 306(23):2594-2605.
- [2] STEARNS-KUROSAWA DJ, OSUCHOWSKI MF, VALENTINE C, et al. The pathogenesis of sepsis [J]. *Annual Review of Pathology*, 2011, 6:19-48.
- [3] DELLINGER RP, LEVY MM, RHODE S A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012 [J]. *Crit Care Med*, 2013, 41(2):580-637.
- [4] SU L, LI H, XIE A, et al. Dynamic changes in amino acid concentration profiles inpatients with sepsis [J]. *PLoS One*, 2015, 10(4):e021933. DOI:10.1371/journal.pone.0121933.
- [5] RITTIRSCH D, FLIERL MA, WARD PA. Ward. Harmful molecular mechanisms in sepsis [J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(10):776-787.
- [6] 刘芬, 文丽君, 刘海燕. IL-35 研究进展 [J]. *免疫性杂志*, 2011, 28(7):630-632.
- [7] DU WX, HE Y, JIANG HY, et al. Interleukin 35: a novel candidate biomarker to diagnose early onset sepsis in neonates [J]. *Clinica Chimica Acta*, 2016(462):90-95.
- [8] COLLISON LW, WORKMAN CJ, KUO TT, et al. The inhibitory cytokine IL-35 contributes to regulatory T-cell function [J]. *Nature*, 2007, 450(7169):566-569.
- [9] COLLISON LW, PILLAI MR, CHATURVEDI V, et al. Regulatory T cell suppression is potentiated by target T cells in a cell contact, IL-35- and IL-10- dependent manner [J]. *Immunol*, 2009, 182(10):6121-6128.
- [10] JIANG LN, YAO YM, SHENG ZY. The role of regulatory T cells in the pathogenesis of sepsis and its clinical implication [J]. *J Interferon Cytokine Res*, 2012, 32(8):341-349.
- [11] TANG BM, ESLICK GD, CRAIG JC, et al. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2007, 7(3):210-217.
- [12] 刘慧琳, 刘桂花, 马青变. 降钙素原对急诊脓毒症患者早期诊断的价值 [J]. *中国危重病急救医学*, 2012, 24(5):298-301.
- [13] 邢豫宾, 戴路明, 赵芝焕, 等. 血清降钙素原和常用炎症指标结合 SOFA 评分对脓毒症早期诊断和预后价值的评价 [J]. *中国危重病急救医学*, 2008, 20(1):23-28.
- [14] 高艳霞, 李莉, 李毅, 等. 降钙素原在急性胰腺炎病情判断中的意义 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2014, 20(3):201-204.
- [15] 王桥生, 符晖, 汤石林, 等. 早期血清降钙素原对脓毒性休克患者预后判断的价值 [J]. *广东医学*, 2013, 34(17):2666-2669.
- [16] 杜斌, 陈德昌, 潘佳琦, 等. 降钙素原与白介素-6 的相关性优于传统的炎症指标 [J]. *中国危重病急救医学*, 2002, 14(8):474-477.
- [17] 俞娅芬, 陈德昌, 宋秀琴. 早期诊断严重脓毒症脓毒性休克研究进展 [J]. *中国急救医学*, 2007, 27(2):154-156.
- [18] 程高翔, 方长太, 查君敬, 等. 白细胞介素-35 在脓毒症病情评估及预后中的应用 [J]. *安徽医药*, 2017, 21(4):672-675.
- [19] 黄顺伟, 管向东, 陈娟, 等. 免疫调理治疗改善脓毒症炎症因子、体液和细胞免疫以及预后的作用 [J]. *中华临床医师杂志 (电子版)*, 2009, 3(10):1645-1652. DOI:10.3969/j.issn.1674-0785.2009.10.010.