

## 研究论著

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.04.009

# Th1/Th2型细胞因子谱在革兰阴性菌或阳性菌脓毒血症中的鉴别诊断及预后预测价值研究

曾素芬 谢果晋 张素贞 周湧

**【摘要】** 目的 研究1型或2型辅助性T淋巴细胞(Th1/Th2)细胞因子谱在革兰阴性菌或革兰阳性菌(G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup>)脓毒血症中的鉴别诊断意义及预后预测价值。方法 收集120例脓毒血症患者的临床资料,按照患者的细菌学培养结果分为G<sup>-</sup>感染组(G<sup>-</sup>组,65例)和G<sup>+</sup>感染组(G<sup>+</sup>组,55例),并根据患者随访28d时是否生存分为死亡组(41例)和生存组(79例),分别比较G<sup>-</sup>组和G<sup>+</sup>组患者、生存组和死亡组中Th1/Th2细胞因子谱IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ 水平的组间差异。分析IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 联合检测对G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup>患者的鉴别诊断及预后评估的价值。结果 G<sup>-</sup>组和G<sup>+</sup>组患者的IL-2、IL-4以及TNF- $\alpha$ 水平比较差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ ),G<sup>+</sup>组患者的IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 均低于G<sup>-</sup>组患者( $P$ 均 $<0.05$ )。生存组和死亡组患者的IL-2、IL-4以及TNF- $\alpha$ 水平比较差异均无统计学意义( $P$ 均 $>0.05$ ),生存组患者的IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 均低于死亡组患者。IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 联合检测对鉴别诊断G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup>感染以及预测患者死亡的特异度高于单一检测;受试者操作特征曲线分析显示,针对G<sup>+</sup>感染,IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 诊断临界值分别为72.56、10.58、2.52 ng/L;针对死亡患者,IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 诊断临界值分别为189.55、77.11、4.89 ng/L。结论 Th1/Th2细胞因子谱IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 水平可用于鉴别诊断G<sup>-</sup>或G<sup>+</sup>脓毒血症,并能有效评估患者预后。

**【关键词】** 脓毒血症;细胞感染;辅助性T淋巴细胞;白介素-6;白介素-10;干扰素- $\gamma$ ;鉴别诊断;预后

**Significance of Th1/Th2 cytokine spectrum in differential diagnosis and prognostic prediction of G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup> bacterial sepsis** Zeng Sufen<sup>△</sup>, Xie Guojin, Zhang Suzhen, Zhou Yong. <sup>△</sup>Clinical Laboratory, Dongguan Binhai Bay Central Hospital, Dongguan 523900, China

Corresponding author, Zeng Sufen, E-mail: fantaszeng@163.com

**【Abstract】** **Objective** To study the significance of Th1/Th2 cytokine spectrum in the differential diagnosis and prognostic prediction of Gram-negative/Gram-positive bacterial sepsis. **Methods** Clinical data of 120 patients with sepsis were collected. According to the bacterial culture results, all patients were divided into the Gram-negative infection (G<sup>-</sup> group,  $n=65$ ) and Gram-positive groups (G<sup>+</sup> group,  $n=55$ ). Based on the 28 d follow-up outcomes, all patients were assigned into the death ( $n=41$ ) and survival groups ( $n=79$ ). The Th1/Th2 cytokine profile including interleukin (IL) -2, IL-4, IL-6, IL-10, interferon (IFN) - $\gamma$  and TNF- $\alpha$  was compared between the G<sup>-</sup> and G<sup>+</sup> groups, and between the death and survival groups, respectively. The significance of combined detection of IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$  in the differential diagnosis and prognostic assessment of G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup> was evaluated. **Results** There were no significant differences in IL-2, IL-4 and TNF- $\alpha$  levels between G<sup>-</sup> and G<sup>+</sup> groups (all  $P > 0.05$ ), whereas IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$  levels in the G<sup>+</sup> group were significantly lower than those of G<sup>-</sup> group (all  $P < 0.05$ ). There were no significant differences in IL-2, IL-4 and TNF- $\alpha$  levels between the survival and death groups (all  $P > 0.05$ ), while IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$  levels in the survival group were lower compared with those in the death group. Combined detection of IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$  yielded higher specificity in the differential diagnosis and prognostic prediction of G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup> bacterial infection than the detection of single biomarker. ROC curve analysis showed that the diagnostic cut-off values of IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$  were 72.56, 10.58, and 2.52 ng/L for patients infected with G<sup>+</sup> bacteria, and 189.55, 77.11 and 4.89 ng/L in the death group, respectively. **Conclusion** Th1/Th2 cytokine profile including IL-6, IL-10 and IFN- $\gamma$  can be used in the differential diagnosis and prognostic evaluation of patients with G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup> bacterial sepsis.

**【Key words】** Sepsis; Cell infection; T helper lymphocyte; Interleukin-6; Interleukin-10; Interferon- $\gamma$ ; Differential diagnosis; Prognosis

作者单位: 523900 东莞, 东莞市滨海湾中心医院检验科(曾素芬, 张素贞, 周湧), 重症医学科(谢果晋); 523900 东莞, 东莞市虎门中医院检验科(曾素芬)

通信作者, 曾素芬, E-mail: fantaszeng@163.com

脓毒症是临床较为凶险重症，疾病的进展较快，尤其是感染革兰阴性菌（G<sup>-</sup>）的脓毒症患者，一旦发生诊断错误，极易造成死亡<sup>[1]</sup>。既往的研究显示，脓毒症患者通常合并免疫功能缺陷<sup>[2]</sup>。所以在临床诊断中，对患者感染的病原体进行快速诊断，并根据结果采取针对性的治疗措施以改善患者预后具有重要的意义。目前对于脓毒症的确证主要依赖于血病原体培养<sup>[3]</sup>。在临床实践中，病原体培养的耗时长，检测效能低。所以临床上早期对于脓毒血症的诊断和治疗主要还是通过临床医师的经验治疗，或是直接采用广谱抗生素<sup>[4]</sup>。1型辅助性T淋巴细胞（Th1）以及Th2的动态平衡对于维持机体正常的细胞以及体液免疫具有重要的意义<sup>[5]</sup>。当人体被病毒、细菌感染后，Th1/Th2平衡会出现失调，其中由Th1分泌的TNF- $\alpha$ 和Th2分泌的IL-6和IL-10水平与感染性休克严重程度显著相关，其水平的高低与患者预后一致<sup>[6]</sup>。本研究主要通过Th1/Th2细胞因子谱在G<sup>-</sup>/G<sup>+</sup>菌脓毒血症鉴别诊断意义及预后关系研究，为临床诊断提供科学依据。

## 对象与方法

### 一、研究对象

收集2019年1月至2021年6月在东莞市滨海湾中心医院治疗的120例脓毒血症患者临床资料。其中男59例、女61例，年龄（65.33 $\pm$ 2.69）岁，BMI（24.44 $\pm$ 2.97）kg/m<sup>2</sup>，按照细菌学培养结果进行分组，其中G<sup>+</sup>感染的55例患者纳入G<sup>+</sup>组，G<sup>-</sup>感染的65例患者纳入G<sup>-</sup>组<sup>[7]</sup>。对所有患者开展为期28d随访并根据随访结果分组，其中死亡的41例患者纳入死亡组、生存的79例纳入生存组。该研究方案已通过东莞市滨海湾中心医院医学伦理委员会审查批准（批件号：2023006）。

### 二、病例纳入与排除标准

病例纳入标准：①所有患者均符合脓毒症诊断标准；②入院时未使用抗菌药物<sup>[8]</sup>。排除标准：

①近半年内曾应用免疫抑制剂；②患有其他免疫系统疾病；③年龄<18岁或>80岁；④合并妊娠及其他不适宜本研究的患者。

### 三、观察指标

记录并比较G<sup>+</sup>组与G<sup>-</sup>组患者的性别、年龄、BMI、急性生理学和慢性健康状况评价（APACHE II）评分以及序贯性器官功能衰竭（SOFA）评分之间的差异。收集患者血液标本，应用流式细胞术免疫磁珠法（CBA）检测120例脓毒血症患者血清中Th1/Th2细胞因子谱，包括IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 和TNF- $\alpha$ 水平，并比较G<sup>+</sup>组与G<sup>-</sup>组、生存组与死亡组的差异。绘制受试者操作特征（ROC）曲线分析IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 和联合检测（并联法）预测G<sup>+</sup>感染患者预后的诊断效能。

### 四、统计学处理

使用SPSS 19.0对研究数据进行统计分析。计量资料经检验均符合正态分布，以 $\bar{x} \pm s$ 表示，组间比较采用 $t$ 检验；计数资料以例（%）表示，组间比较采用 $\chi^2$ 检验，检验指标间的灵敏度与特异度比较采用配对资料McNemar检验，多重比较采用Bonferroni法校正检验水准。对IL-6、IL-10和IFN- $\gamma$ 水平间的关系采用Pearson相关性分析。 $\alpha = 0.05$ 。

## 结果

### 一、G<sup>+</sup>组和G<sup>-</sup>组脓毒血症患者的一般资料比较

2组脓毒血症患者的性别构成、年龄、BMI、APACHE II评分以及SOFA评分间比较差异均无统计学意义（ $P$ 均>0.05）。见表1。

### 二、G<sup>+</sup>组和G<sup>-</sup>组脓毒血症患者的Th1/Th2细胞因子谱水平比较

2组脓毒血症患者的血IL-2、IL-4以及TNF- $\alpha$

表1 G<sup>+</sup>组和G<sup>-</sup>组脓毒血症患者的一般资料比较

组别	例数	性别/例(男/女)	年龄/岁	BMI/(kg/m <sup>2</sup> )	APACHE II评分/分	SOFA评分/分
G <sup>+</sup> 组	55	26/19	65.22 $\pm$ 5.11	24.40 $\pm$ 2.56	27.27 $\pm$ 7.21	12.54 $\pm$ 2.02
G <sup>-</sup> 组	65	33/32	65.42 $\pm$ 5.22	24.48 $\pm$ 1.98	27.03 $\pm$ 7.91	12.34 $\pm$ 2.03
$\chi^2/t$ 值		0.525	0.212	0.189	0.174	0.539
$P$ 值		0.487	0.833	0.851	0.862	0.591

水平比较差异无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ ),  $G^+$  组患者的 IL-6 ( $t = 63.148, P < 0.001$ )、IL-10 ( $t = 315.329, P < 0.001$ )、IFN- $\gamma$  ( $t = 39.882, P < 0.001$ ) 均低于  $G^-$  组患者。见表 2。

### 三、生存组与死亡组脓毒血症患者的 Th1/Th2 细胞因子谱水平比较

2 组脓毒血症患者的血 IL-2、IL-4 以及 TNF- $\alpha$  水平比较差异无统计学意义 ( $P$  均  $> 0.05$ ), 生存组患者的 IL-6 ( $t = 56.380, P < 0.001$ )、IL-10 ( $t = 67.608, P < 0.001$ )、IFN- $\gamma$  ( $t = 21.913, P < 0.001$ ) 均低于死亡组患者。见表 3。

### 四、血 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$ 水平在 $G^+/G^-$ 脓毒血症中的诊断鉴别及预后预测的效能

IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  联合检测对  $G^+$  感染以及患者预后的特异度均高于单独检测 ( $P$  均  $< 0.008$ )。见表 4。

### 五、ROC 曲线分析

ROC 曲线显示, IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  鉴别诊断  $G^+$  感染的临界值分别为 72.56、10.58、2.52 ng/L; IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$  预测  $G^+$  脓毒血症患者死亡的临界值分别为 189.55、77.11、4.89 ng/L。见表 5、图 1。

表 2  $G^+$  组和  $G^-$  组脓毒血症患者的 Th1/Th2 细胞因子谱水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

单位: ng/L

组别	例数	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	IFN- $\gamma$	TNF- $\alpha$
$G^+$ 组	55	2.99 $\pm$ 0.97	2.58 $\pm$ 0.61	72.52 $\pm$ 10.11	10.22 $\pm$ 1.09	2.83 $\pm$ 0.36	6.69 $\pm$ 2.69
$G^-$ 组	65	2.59 $\pm$ 1.57	2.45 $\pm$ 0.99	189.54 $\pm$ 10.12	77.02 $\pm$ 1.23	4.87 $\pm$ 0.13	6.56 $\pm$ 2.97
$t$ 值		1.705	0.880	63.148	315.329	39.882	0.251
$P$ 值		0.091	0.381	0.001	0.001	0.001	0.802

表 3 生存组与死亡组脓毒血症患者的 Th1/Th2 细胞因子谱水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

单位: ng/L

组别	例数	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	IFN- $\gamma$	TNF- $\alpha$
生存组	79	3.03 $\pm$ 1.66	2.66 $\pm$ 1.37	72.43 $\pm$ 10.69	10.72 $\pm$ 5.21	2.11 $\pm$ 0.59	6.49 $\pm$ 2.77
死亡组	41	2.42 $\pm$ 1.59	2.39 $\pm$ 1.39	189.44 $\pm$ 10.83	77.58 $\pm$ 5.10	5.09 $\pm$ 0.76	6.29 $\pm$ 2.12
$t$ 值		1.963	1.014	56.380	67.608	21.913	0.440
$P$ 值		0.052	0.313	0.001	0.001	0.001	0.661

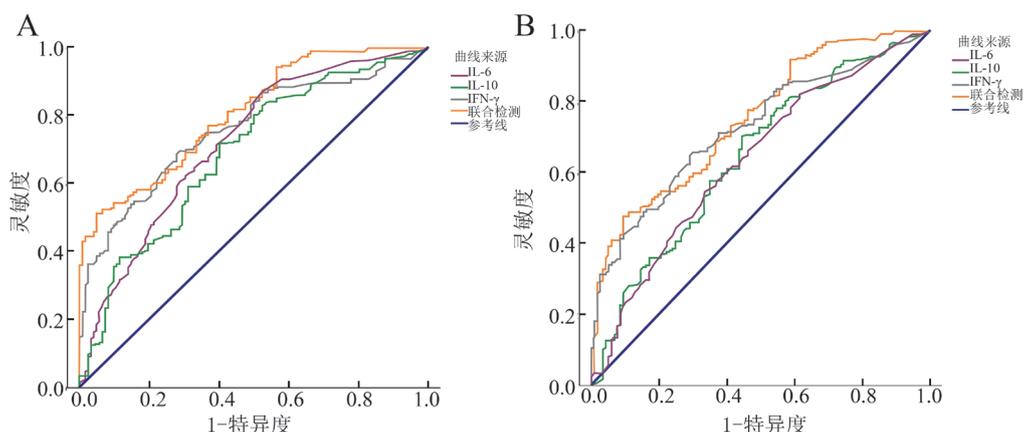
表 4 血 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  水平联合检测在  $G^+/G^-$  中的诊断鉴别及预后预测的效能

项目	指标	真阳性 / 例	假阳性 / 例	真阴性 / 例	假阴性 / 例	准确率 / %	灵敏度 / %	特异度 / %	阳性预测值 / %	阴性预测值 / %
鉴别诊断	IL-6	45	48	17	10	51.67	81.82	26.15 <sup>a</sup>	48.39	62.96
	IL-10	41	52	13	14	45.00	74.55	20.00 <sup>a</sup>	44.09	48.15
	IFN- $\gamma$	42	42	23	13	54.17	76.36	35.38 <sup>a</sup>	50.00	63.89
预测死亡	联合检测	40	5	60	15	83.33	72.73	95.38	88.89	80.00
	IL-6	32	49	30	9	51.67	78.05	37.97 <sup>a</sup>	39.51	76.92
	IL-10	39	50	29	2	56.67	95.12	36.71 <sup>a</sup>	43.82	93.55
	IFN- $\gamma$	35	41	38	6	60.83	85.37	48.10 <sup>a</sup>	46.05	86.36
	联合检测	31	4	75	10	88.33	75.61	94.94	88.57	88.24

注: 与联合检测比较, <sup>a</sup> $P < 0.05/6 = 0.008$ 。

表 5 ROC 曲线分析

项目	指标	标准误	AUC	95%CI	$P$ 值
鉴别诊断	IL-6	11.231	0.775	0.520~0.872	$< 0.001$
	IL-10	9.252	0.603	0.600~0.746	$< 0.001$
	IFN- $\gamma$	9.665	0.822	0.230~0.974	$< 0.001$
	联合检测	12.365	0.967	0.226~0.999	$< 0.001$
预测死亡	IL-6	8.995	0.523	0.256~0.589	$< 0.001$
	IL-10	9.885	0.445	0.263~0.889	$< 0.001$
	IFN- $\gamma$	10.442	0.878	0.632~0.902	$< 0.001$
	联合检测	12.366	0.923	0.442~0.996	$< 0.001$



注: A 为血 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  水平联合检测在 G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup> 中诊断鉴别效能的 ROC 曲线; B 为血 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  水平联合检测在 G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup> 中预后预测效能的 ROC 曲线。

图 1 血 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  水平联合检测在 G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup> 中的诊断鉴别及预后预测的 ROC 曲线分析

## 讨 论

脓毒症的病理基础为全身性的炎症反应<sup>[9]</sup>。当机体炎症细胞的损伤因子被过度激活后,大量的炎性因子释放,机体的炎性反应呈现级联反应,机体逐步丧失对炎性因子的控制,进而病情加重,患者的生命安全受到严重威胁<sup>[10]</sup>。在对患者疾病进展的研究中,脓毒性休克是其重要的致命综合征<sup>[11]</sup>。当人体感染 G<sup>-</sup> 菌后, G<sup>-</sup> 菌分泌内毒素,机体产生免疫应答,导致 IL-10 水平升高。G<sup>+</sup> 菌的胞壁肽 (MDP) 及 G<sup>-</sup> 菌的内毒素是 IL-6 合成和释放的诱导因子,感染时 IL-6 在受到外在刺激的 30 min~2 h 内就可出现在血浆中,因此, IL-6 可作为感染早期诊断的敏感指标<sup>[12]</sup>。高水平的 IL-6 可显著提高细菌的增殖能力,使感染更难受控,是难愈性感染的可能发生机制之一<sup>[13]</sup>。国内外已有研究表明,细胞因子与感染之间存在密切联系,人体的 Th1/Th2 细胞因子谱 (IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$ ) 主要来源于 T 淋巴细胞和单核巨噬细胞,是参与炎症反应的重要因子。当人体被病毒、细菌感染后, Th1/Th2 平衡会出现失调,其中由 Th1 分泌的 TNF- $\alpha$  和 Th2 分泌的 IL-6 和 IL-10 水平与感染性休克严重程度相关<sup>[14]</sup>。

本研究中, IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  联合检测 G<sup>+</sup> 感染以及预测患者死亡的特异度高于单一检测。有研究显示,脓毒症早期严重的全身炎症反应综合征 (SIRS) 会直接导致患者的死亡<sup>[15]</sup>。随着支持治疗技术的进步,绝大部分患者能度过严重的 SIRS 阶段;少部分未得到有效治疗的患者会进入

更加复杂的免疫抑制状态,此时造成患者直接死亡的原因就是深度感染。细胞因子与感染之间存在密切联系<sup>[16]</sup>。本研究中, G<sup>-</sup> 组 IL-6、IL-10 水平较 G<sup>+</sup> 组升高,提示 IL-6、IL-10 水平对临床病原菌的分类有提示作用。在脓毒血症患者的免疫抑制机制研究中, IL-10 的持续释放可能有助于增强脓毒血症诱导的免疫抑制,从而增加继发性微生物感染的易感性。在脓毒症动物模型中,阻断 IL-10 能逆转脓毒症诱导的免疫抑制,提高存活率<sup>[17]</sup>。IL-6 在血中可以作为判断细菌感染严重程度以及脓毒血症患者预后的指标。杨琰<sup>[18]</sup>在对血液肿瘤病患儿的研究中发现,随着患儿的 G<sup>+</sup> 感染的风险升高,患者的 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  显著下降,与本研究结果一致。

综上所述, Th1/Th2 细胞因子谱 IL-6、IL-10 和 IFN- $\gamma$  在 G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup> 菌脓毒血症鉴别诊断以及预后评价中有一定的意义,建议可在临床推广应用。

## 参 考 文 献

- [1] 林耀国. 血液净化对重度脓毒血症患者血清炎性细胞因子及预后的影响. 临床医学工程, 2021, 28 (2): 197-198.
- [2] 孙必强, 李美珍, 李果丽, 等. 大承气汤对肠源性脓毒血症大鼠细胞因子 IL-6、IL-10、TNF- $\alpha$  表达的影响. 内蒙古中医药, 2019, 38 (11): 146-148.
- [3] 邓罗华, 方代华, 刘洋. Th1/Th2 细胞因子谱在脓毒血症儿童中的表达研究. 临床检验杂志 (电子版), 2020, 9 (2): 38.
- [4] 黄华庚, 胡军涛. 乌司他丁辅助治疗重症脓毒血症的效果及对细胞因子的影响分析. 中外医学研究, 2018, 16 (15): 117-118.

- [5] 唐亚纯, 符浩, 郭涛, 等. 硫化氢对尿源性脓毒症肾组织细胞因子表达的影响分析. 黑龙江医学, 2018, 42 (7): 642-644.
- [6] 骆付丽, 华维, 钱民, 等. T淋巴细胞亚群及Th1/Th2细胞因子谱早期鉴别细菌尿源性脓毒症. 中华医院感染学杂志, 2021, 31 (4): 502-506.
- [7] 董青青, 黄怡, 姚妙恩, 等. 基于CiteSpace的中医药治疗脓毒症血症研究现状分析. 海南医学, 2021, 32 (7): 930-935.
- [8] 张玉红, 张斌, 任辉邦, 等. 硫化氢对脓毒症血症诱导急性肾损伤大鼠肾功能影响. 中国公共卫生, 2021, 37 (3): 508-511.
- [9] 魏红芳, 王飞, 陈永学, 等. 右美托咪定在脓毒症血症患者合并肝功能损伤中的应用. 基因组学与应用生物学, 2019, 38 (8): 3872-3876.
- [10] 徐恩平, 周政清. 早期连续性血液净化治疗重症脓毒症血症急性肾损伤老年患者的临床效果. 现代诊断与治疗, 2020, 31 (1): 10-11.
- [11] Karamouzos V, Giamarellos-Bourboulis E J, Velissaris D, et al. Cytokine production and outcome in MDR versus non-MDR gram-negative bacteraemia and sepsis. Infect Dis, 2021, 53 (10): 764-771.
- [12] Edinger F, Schmitt C, Koch C, et al. Application of alpha1-antitrypsin in a rat model of veno-arterial extracorporeal membrane oxygenation. Sci Rep, 2021, 11 (1): 15849.
- [13] 宋立, 刘鹏, 宋明强, 等. 黏液型铜绿假单胞菌刺激淋巴细胞过度产生IL-6与难愈性感染的潜在联系. 新医学, 2020, 51 (10): 741-746.
- [14] Aschbacher K, Hagan M, Steine I M, et al. Adversity in early life and pregnancy are immunologically distinct from total life adversity: macrophage-associated phenotypes in women exposed to interpersonal violence. Transl Psychiatry, 2021, 11 (1): 391.
- [15] Xue Q, Liu X, Chen C, et al. Erlotinib protects against LPS-induced parthanatos through inhibiting macrophage surface TLR4 expression. Cell Death Discov, 2021, 7 (1): 181.
- [16] Zhang N, Zhao W, Hu Z J, et al. Protective effects and mechanisms of high-dose vitamin C on sepsis-associated cognitive impairment in rats. Sci Rep, 2021, 11 (1): 14511.
- [17] Wolff N S, Jacobs M C, Wiersinga W J, et al. Pulmonary and intestinal microbiota dynamics during Gram-negative pneumonia-derived sepsis. Intensive Care Med Exp, 2021, 9 (1): 35.
- [18] 杨琰. Th1/Th2细胞因子谱在血液肿瘤病儿童G<sup>+</sup>/G<sup>-</sup>菌脓毒症血症鉴别诊断中的意义. 杭州: 浙江大学, 2011.

(收稿日期: 2022-04-18)

(本文编辑: 林燕薇)

