

尿源性脓毒症患者免疫细胞亚群及其功能指标的动态变化*

陈国昇¹ 文大林² 种慧敏³ 张鹏⁴ 杜娟² 杨堃¹ 张可珺³ 邓进⁵ 张安强²

[摘要] 目的:探索尿源性脓毒症患者免疫细胞亚群及其功能指标的动态变化,分析其应用价值。方法:采用病例对照研究设计,选择 2021 年 3 月—2022 年 3 月由解放军陆军特色医学中心战创伤医学中心重症医学科(ICU)连续收治的 60 例患者作为研究对象,其中脓毒症 30 例,非脓毒症 30 例。按照感染来源,将患者分为尿源性脓毒症患者组 15 例以及非尿源性脓毒症患者组 15 例。采集患者入 ICU 后第 1、3、5 天外周血,用流式细胞仪检测患者淋巴细胞及其亚群的比例、中性粒细胞、单核细胞,并检测各亚群人类白细胞抗原 DR(human leucocyte antigen DR, HLA-DR)、程序性死亡受体 1(programmed death-1, PD-1)以及 CD64 的表达变化, Wilcoxon 秩和检验分析其在各组患者中的差异变化, Pearson 相关性检验分析上述指标与脓毒症严重程度的相关性。结果:尿源性脓毒症患者入 ICU 第 1、3、5 天的序贯器官衰竭评估(SOFA)评分、急性生理学和慢性健康状况评分 II (Acute Physiology and Chronic Health Assessment II, APACHE II)、降钙素原(procalcitonin, PCT)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、白细胞介素-6(Interleukin-6, IL-6)与非尿源性脓毒症患者比较差异均无统计学意义($P > 0.05$)。尿源性脓毒症患者入 ICU 第 1 天的淋巴细胞(Lym)比例以及 B 淋巴细胞比例均显著低于非尿源性脓毒症患者[Lym: (4.50±2.84)% vs (8.32±6.50)%, B 淋巴细胞: (47.88±23.82)% vs (72.33±21.85)%, $P < 0.05$];而 T 淋巴细胞在第 3 天及第 5 天均显著升高[第 3 天: (64.75±9.78)% vs (53.70±16.77)%, 第 5 天: (66.96±9.32)% vs (49.99±20.19)%, $P < 0.05$]。入 ICU 第 5 天中性粒细胞 CD64 指数在尿源性脓毒症患者中显著降低[(1.87±1.62)% vs (3.93±2.71)%, $P < 0.05$]。与非尿源性脓毒症患者相比较,尿源性脓毒症患者入 ICU 第 1、3、5 天 PD-1 在 T 细胞表达水平均显著降低[第 1 天: (16.30±5.47)% vs (21.56±6.99)%, 第 3 天: (16.48±6.98)% vs (25.79±11.07)%, 第 5 天: (15.75±8.12)% vs (24.32±11.64)%, $P < 0.05$];PD-1 在第 1、3 天 CD4⁺T 细胞的表达水平均显著降低[第 1 天: (17.11±6.97)% vs (23.42±7.67)%, 第 3 天: (19.20±12.18)% vs (29.79±15.11)%, $P < 0.05$];PD-1 在第 5 天 CD8⁺T 细胞的表达水平显著降低[(13.70±5.54)% vs (21.71±11.72)%, $P < 0.05$],PD-1 在第 3、5 天调节性 T 细胞(regulatory T cell, Treg)的表达水平均显著降低[第 3 天: (24.88±15.06)% vs (37.07±15.14)%, 第 5 天: (19.77±14.29)% vs (35.79±17.71)%, $P < 0.05$]。相关性分析显示,患者入 ICU 第 3、5 天中性粒细胞与相应时间的 SOFA 评分呈显著正相关($r = 0.593$ 、 0.584 , $P < 0.05$);第 3 天的中性粒细胞比例与 APACHE II 评分呈显著正相关($r = 0.753$, $P = 0.003$),第 3 天的 Treg 细胞比例与 SOFA 评分呈显著正相关($r = 0.622$, $P = 0.018$);第 5 天淋巴细胞比例与 SOFA 评分呈显著负相关($r = -0.658$, $P = 0.014$),在第 3、5 天与 APACHE II 评分呈显著负相关($r = -0.747$ 、 -0.624 , $P < 0.05$)。结论:免疫细胞及其亚群在不同感染来源的脓毒症患者中存在显著差异,尿源性脓毒症患者外周血各淋巴细胞亚群 PD-1 的表达水平显著降低,尿源性脓毒症患者的免疫细胞亚群的变化可用于评估脓毒症严重程度。

[关键词] 尿源性脓毒症;免疫细胞亚群;功能指标;动态变化;相关性分析

DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2024.05.011

[中图分类号] R699 [文献标志码] A

Dynamic changes in immune cell subsets and their functional indicators in patients with urine-derived sepsis

CHEN Guosheng¹ WEN Dalin² CHONG Huimin³ ZHANG Peng⁴ DU Juan²
YANG Kun¹ ZHANG Kejun³ DENG Jin⁵ ZHANG Anqiang²

(¹Department of Urology, Anshun People's Hospital of Guizhou Province, Anshun, Guizhou, 561000, China; ²National Key Laboratory of Trauma and Chemical Poisoning, PLA Army Specialty Medical

*基金项目:国家自然科学基金(No:81971830);重庆市自然科学基金(No: cstc2021jcyj-msxmX0445)

¹贵州省安顺市人民医院泌尿外科(贵州安顺,561000)

²解放军陆军特色医学中心创伤与化学中毒全国重点实验室

³解放军陆军特色医学中心检验科

⁴重庆市渝北区中医院重症医学科

⁵贵州医科大学附属医院急诊科

通信作者:张安强, E-mail: zhangnqiang@126.com

引用本文:陈国昇,文大林,种慧敏,等.尿源性脓毒症患者免疫细胞亚群及其功能指标的动态变化[J].临床泌尿外科杂志,2024,39(5):431-437,442. DOI:10.13201/j.issn.1001-1420.2024.05.011.

Center; ³Department of Clinical Laboratory, PLA Army Specialty Medical Center; ⁴Department of Critical Care Medicine, Yubei District Hospital of TCM; ⁵Department of Emergency, Affiliated Hospital of Guizhou Medical University)

Corresponding author: ZHANG Anqiang, E-mail: zhangnqiang@163.com

Abstract Objective: To explore the dynamic changes of immune cell subpopulations and functional indicators in patients with urinary sepsis, and analyze their application value. **Methods:** Using a case-control study design, 30 sepsis patients and 30 non sepsis patients who were continuously admitted to the Intensive Care Unit(ICU) of PLA Army Specialty Medical Center from March 2021 to March 2022 were selected as the study subjects. According to the source of infection, the patients were divided into a group of 15 patients with urinary sepsis and a group of 15 patients with non urinary sepsis. The peripheral blood of patients on the 1st, 3rd and 5th days after admission to the ICU was collected, and the proportion of neutrophils, monocytes and lymphocytes subsets in patients was detected by flow cytometry. The expression changes of HLA-DR, PD-1 and CD64 were detected in each subpopulation, Wilcoxon rank sum test was used to analyze the difference between patients in each group. Pearson correlation test was used to analyze its correlation with the severity of sepsis patients. **Results:** There was no significant difference in SOFA score, APACHE II score, PCT, CRP, IL-6 between patients with urinary sepsis and non urinary sepsis patients on the 1st, 3rd, and 5th day of admission to the ICU($P > 0.05$). The proportion of lymphocytes and B cells on the first day of ICU admission in patients with urine-induced sepsis were significantly lower than those in patients with non-urinary sepsis (Lym: $[4.50 \pm 2.84]\%$ vs $[8.32 \pm 6.50]\%$, B cells: $[47.88 \pm 23.82]\%$ vs $[72.33 \pm 21.85]\%$, $P < 0.05$). However, T lymphocytes significantly elevated on both day 3 and 5(D3: $[64.75 \pm 9.78]\%$ vs $[53.70 \pm 16.77]\%$, D5: $[66.96 \pm 9.32]\%$ vs $[49.99 \pm 20.19]\%$, $P < 0.05$). Neutrophil CD64 index on day 5 of ICU admission significantly reduced in patients with urine-derived sepsis ($[1.87 \pm 1.62]\%$ vs $[3.93 \pm 2.71]\%$, $P < 0.05$). Compared with patients with non-urinary sepsis, the expression levels of PD-1 in T cells on the 1st, 3rd and 5th days of admission in patients with urinary sepsis significantly reduced(D1: $[16.30 \pm 5.47]\%$ vs $[21.56 \pm 6.99]\%$, D3: $[16.48 \pm 6.98]\%$ vs $[25.79 \pm 11.07]\%$, D5: $[15.75 \pm 8.12]\%$ vs $[24.32 \pm 11.64]\%$, $P < 0.05$). The expression levels of PD-1 in CD4⁺ T cells on the first and third days significantly reduced(D1: $[17.11 \pm 6.97]\%$ vs $[23.42 \pm 7.67]\%$, D3: $[19.20 \pm 12.18]\%$ vs $[29.79 \pm 15.11]\%$, $P < 0.05$). The expression level of PD-1 in CD8⁺ T cells on day 5 significantly reduced ($[13.70 \pm 5.54]\%$ vs $[21.71 \pm 11.72]\%$, $P < 0.05$), and the expression level of PD-1 in Treg cells on days 3 and 5 significantly reduced(D3: $[24.88 \pm 15.06]\%$ vs $[37.07 \pm 15.14]\%$, D5: $[19.77 \pm 14.29]\%$ vs $[35.79 \pm 17.71]\%$, $P < 0.05$). Correlation analysis showed that neutrophils on the 3rd and 5th days of ICU admission were positively correlated with the SOFA score at the corresponding time($r = 0.593$ and 0.584 , $P < 0.05$). The proportion of neutrophils on day 3 was positively correlated with the APACHE II score($r = 0.753$, $P = 0.003$), and the proportion of Treg cells on day 3 was positively correlated with the SOFA score($r = 0.622$, $P = 0.018$). The proportion of lymphocytes was significantly negatively correlated with SOFA score on day 5($r = -0.658$, $P = 0.014$), and on days 3 and 5, it was negatively correlated with APACHE II score($r = -0.747$, -0.624 , both $P < 0.05$). **Conclusion:** Lymphocytes and their subsets differ significantly in patients with sepsis of different origins, and the expression levels of PD-1 in various lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with urinary sepsis significantly reduced. Thus, and changes in immune cell subsets in patients with urine-derived sepsis can be used to assess disease severity.

Key words urinary sepsis; immune cell subsets; functional indicators; dynamic changes; correlation analysis

脓毒症被定义为由宿主对感染的反应失调导致的高发生率及高死亡率的器官功能障碍^[1],其中由尿路感染导致的脓毒症约占 30%^[2],有一项研究指出全球有 4 890 万脓毒症患者,导致 1 100 万人死亡,占全球 2020 年总死亡人数的 19.7%^[3]。越来越多的证据表明,脓毒症诱导的免疫抑制被认为是脓症患者死亡的主要危险因素之一^[4]。目前对脓毒症患者的免疫功能变化的研究是一个热点,早期监测和评估脓毒症患者的免疫功能变化,及时诊断和风险分层,有利于及时采取措施改善脓毒症的预后^[5]。随着泌尿外科以及泌尿道腔镜技术的发展,尿源性脓毒症的发生率逐年增加,但是

对尿源性脓毒症患者的免疫功能的变化,尤其是对免疫细胞亚群及其功能指标的表达研究较少。

在脓毒症的不同阶段,免疫细胞亚群的功能和百分比的变化对机体炎症反应的方向有很大的影响。细胞表面标志物,如人类白细胞抗原 DR(human leucocyte antigen DR, HLA-DR),其在人类适应性免疫的发展过程中起着重要的作用,并且单核细胞人白细胞抗原-DR(monocyte human leucocyte antigen-DR, mHLA-DR)被认为是评估免疫抑制的可靠标志物,中性粒细胞 CD64 平均荧光强度作为诊断脓毒症的生物标志物已被研究多年,具有良好的灵敏性和特异性,以及程序性死亡受体 1

(programmed death-1, PD-1), 均是脓毒症检测、诊断和预后的很有前途的标志物^[6]。其中 PD-1/程序性死亡配体 1(programmed cell death-ligand 1, PD-L1)通路的激活可导致 T 细胞增殖减少以及凋亡增加,进而发生免疫抑制^[7]。本研究纳入脓毒症与非脓毒症患者各 30 例,主要是对尿源性脓毒症患者免疫功能状态变化的初步探索,分析尿源性脓毒症患者免疫细胞亚群及其功能指标在入重症监护病房(intensive care unit, ICU)的第 1、3、5 天的动态变化,筛选出在尿源性脓毒症患者与非尿源性脓毒症患者有显著差异的指标,分析这些指标与尿源性脓毒症严重程度的相关性,待后续在多中心、大样本量的研究中进行验证,以期为后续对患者的诊治提供新的思路。

1 资料与方法

1.1 临床资料

本研究选择 2021 年 3 月—2022 年 3 月由陆军军医大学特色医学中心 ICU 连续收治的 60 例患者作为研究对象,其中 30 例为脓毒症患者,30 例为非脓毒症患者。按照感染来源,尿源性脓毒症患者 15 例,非尿源性脓毒症患者 15 例。纳入标准:脓毒症患者为符合 Sepsis-3 诊断标准的 18~70 岁患者。排除标准:①患有免疫系统疾病,包括自免性疾病,免疫缺陷疾病以及患者有任何部位肿瘤的患者。②患有乙肝、结核及梅毒等传染病的患者,孕妇和哺乳期患者。本研究由解放军陆军特色医学中心重症医学科护理人员进行样本采集,由贵州省安顺市人民医院泌尿外科、贵州医科大学附属医院急诊科和解放军陆军特色医学中心创伤与化学中毒国家重点实验室的研究人员完成指标检测、数据收集和分析。本研究符合医学伦理学标准,已通过解放军陆军特色医学中心医学伦理委员会批准(No:2019-137)。

1.2 研究方法

从临床电子医疗系统收集患者临床资料,随访时间及收集资料的时间为住院 28 d,包括患者原发疾病以及人口学信息,常规实验室检测指标、感染部位、感染病原菌类型以及目前临床状态和患者疾病严重程度并进行分析。患者的疾病严重程度由急性生理学和慢性健康状况评分 II (acute physiology and chronic health assessment II, APACHE II)和序贯器官衰竭评分(sequential organ failure assessment, SOFA)进行评估。使用流式细胞仪检测患者入 ICU 第 1、3、5 天外周血中性粒细胞(neutrophils, Neu)、单核细胞(monocyte, Mon)以及淋巴细胞(lymphocyte, Lym)各亚群比例,检测 HLA-DR、CD64、PD-1 在各亚群的表达水平,收集降钙素原(procalcitonin, PCT)、C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)及白细胞介素-6(interleukin-

6, IL-6)的临床化验结果,并分析上述指标在各组间的差异以及与脓毒症严重程度的相关性。参考《严重脓毒症和脓毒症休克管理指南》中的诊断标准:脓毒症为感染明确,SOFA ≥ 2 分;严重脓毒症为感染明确,SOFA ≥ 2 分,伴有急性器官功能障碍;脓毒症休克为患者在进行体液复苏治疗后,需要辅助血管活性药物维持血压平衡,平均动脉压 > 65 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa),血乳酸 ≥ 2 mmol/L。脓毒症患者的疾病严重程度还可以根据 APACHE II 评分来判定,理论最高值为 71 分, ≥ 15 分为重症, < 15 分为非重症。

1.3 样本采集

分别于入 ICU 后第 1、3、5 天用乙二胺四乙酸二钠(EDTA-2Na)抗凝真空管采集外周全血 2 mL,混匀后室温放置待用。

1.4 外周血免疫细胞各亚群比例及功能指标的检测

各细胞免疫指标选择不同荧光直接标记的抗体(美国 Beckman Coulter 公司)与对应指标分子特异性结合,通过 Navios 多通道流式细胞分析仪(美国 Beckman Coulter 公司)检测患者外周血细胞 CD45、CD3、CD4、CD8、CD16、CD56、CD25、CD127、CD19、CD64、CD279、HLA-DR 表达水平,所有血液样本在采集后及时完成检测。使用 Kaluza 流式分析软件分析 Neu、Mon、Lym 细胞及其亚群的比例,淋巴细胞亚群主要有 T 细胞(CD3⁺)、B 细胞(CD3⁻CD19⁺)、CD4⁺T、CD8⁺T、调节性 T 细胞(Treg)(CD3⁺CD4⁺CD25⁺CD127^{lo})、自然杀伤(NK)细胞(CD16⁺、CD56⁺、CD16⁺CD56⁺总和),并分析 HLA-DR、CD64、PD-1 在各亚群的表达水平,比较上述各细胞亚群及其功能指标在患者入 ICU 第 1、3、5 天的变化规律,分析其在脓毒症与非脓毒症患者中的表达差异,分析尿源性脓毒症患者与非尿源性脓毒症患者之间的表达差异,分析上述指标与脓毒症严重程度的相关性。

1.5 统计学方法

使用 SPSS 27.0 软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{X} \pm S$ 表示,组间的比较采用 *t* 检验;非正态分布的计量资料以 $M(Q_1, Q_3)$ 表示,组间比较采用 Mann-Whitney *U* 检验。计数资料以例(%)表示,比较采用 χ^2 检验,两变量之间相关性分析采用 Pearson 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 危重症患者基本资料

纳入非脓毒症患者 30 例,其中创伤患者 11 例,消化系统疾病患者 8 例,泌尿系统疾病患者 2 例,卒中患者 6 例以及心脏疾病患者 3 例;脓毒症患者 30 例,其中尿源性脓毒症患者 15 例,非尿源

性脓毒症患者 15 例。尿源性脓毒症患者与非尿源性脓毒症患者性别、年龄、ICU 住院时间比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。2 组 SO-

FA 评分、PCT、CRP、IL-6、APACHE II 评分在第 1、3、5 天比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 脓毒症患者与非脓毒症患者基线资料 例(%), $\bar{X} \pm S, M(Q_1, Q_3)$

指标	非脓毒症(30 例)	脓毒症(30 例)		P 值
		尿源性(15 例)	非尿源性(15 例)	
性别(男性)	21(70.00)	8(53.33)	11(73.33)	0.256
年龄/岁	56.93±9.82	56.27±10.92	57.60±8.92	0.717
ICU 住院时间/d	12.07±0.09	16.13±13.43	14.93±9.83	0.782
SOFA 评分				
第 1 天	6.27±3.79	7.00±4.11	6.53±3.85	0.751
第 3 天	5.55±3.34	7.29±4.20	8.07±5.11	0.658
第 5 天	4.89±3.54	6.85±4.90	6.93±5.30	0.967
APACHE II 评分				
第 1 天	17.53±4.64	16.80±6.29	17.93±4.73	0.582
第 3 天	16.45±4.80	14.77±5.00	16.60±4.79	0.332
第 5 天	16.64±5.36	14.23±4.82	16.64±5.33	0.230
PCT/(ng/mL)				
第 1 天	0.41(0.17,3.40)	21.63(4.02,68.15)	8.65(2.71,62.42)	0.539
第 3 天	0.81(0.25,5.20)	5.87(1.94,29.50)	9.69(2.38,36.46)	0.813
第 5 天	0.33(0.13,1.74)	2.91(1.16,2.91)	4.16(1.29,10.98)	0.728
CRP/(mg/mL)				
第 1 天	79.88±62.91	156.69±70.56	150.98±81.21	0.839
第 3 天	106.21±77.56	136.61±77.78	134.64±80.09	0.949
第 5 天	71.87(31.00,140.53)	153.52(22.74,196.10)	77.73(38.93,180.92)	0.424
IL-6/(ng/L)				
第 1 天	86.60(44.16,407.00)	211.90(61.26,575.92)	133.60(80.56,614.05)	0.744
第 3 天	58.63(27.12,113.20)	150.95(31.15,341.58)	87.00(44.58,194.35)	0.579
第 5 天	47.35(20.12,65.88)	52.64(19.56,188.25)	70.86(27.70,152.50)	0.721
住院 28 d 死亡率	7(23.33)	4(26.67)	5(33.33)	0.690

2.2 尿源性脓毒症患者与非尿源性脓毒症患者免疫细胞亚群的比较

与非尿源性脓毒症患者相比较,尿源性脓毒症患者 Lym 比例在入院第 1 天显著降低 ($P < 0.05$), T 细胞的比例在第 3、5 天显著升高 ($P < 0.05$), B 细胞的比例在第 5 天显著降低 ($P < 0.05$)。其他免疫细胞亚群在第 1、3、5 天的比例差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 2。

2.3 尿源性脓毒症患者与非尿源性脓毒症患者各免疫细胞亚群 HLA-DR、CD64 以及 PD-1 的比较

与非尿源性脓毒症患者相比较,尿源性脓毒症患者 Neu CD64 index 在第 5 天显著降低 ($P < 0.05$), 第 1 天 PD-1 在 T 细胞、CD4⁺ T 细胞的表达显著降低 ($P < 0.05$), 第 3 天 PD-1 在 T 细胞、CD4⁺ T 细胞以及 Treg 细胞的表达显著降低 ($P <$

0.05), 第 5 天 PD-1 在 T 细胞、CD8⁺ T 细胞以及 Treg 细胞的表达显著降低 ($P < 0.05$), 其他细胞亚群的功能指标在各组间差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 3。

2.4 脓毒症患者中各指标动态变化以及与患者临床表现的相关性

根据随访脓毒症患者住院 28 d 的预后, 将患者临床表现分为病情加重、预后不良(死亡组 9 例), 与病情减轻、预后良好(存活组 21 例)。在死亡组患者中, 随着病程进展有显著升高的指标主要是: WBC、Neu、Mon、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、Treg 细胞、B 细胞、Lym PD-1、CD3⁺ PD-1、CD4⁺ PD-1、CD8⁺ PD-1、Treg PD-1; 显著下降的指标: CD3⁺ T 细胞、NK 细胞、Mon HLA-DR、Neu CD64 index; 其余指标无显著变化。在存活组患者中, 显

著升高的指标有: Mon、CD3⁺ T 细胞、CD4⁺ T 细胞、Treg 细胞; 显著降低的指标有: WBC; 其余指标无显著变化。

2.5 各细胞亚群与尿源性脓毒症严重程度的相关性

尿源性脓毒症患者入 ICU 第 3、5 天 Neu 比例与相应时间的 SOFA 评分呈显著正相关 ($P < 0.05$); 第 3 天的 Neu 比例与 APACHE II 评分呈

显著正相关 ($P = 0.003$), 第 3 天的 Treg 比例与 SOFA 评分呈显著正相关 ($P = 0.018$); 第 5 天 Lym 比例与 SOFA 评分呈显著负相关 ($P = 0.014$), 在第 3、5 天与 APACHE II 评分呈显著负相关 ($P < 0.05$)。其余各细胞亚群与尿源性脓毒症患者疾病严重程度无明显相关性 ($P > 0.05$)。见表 4。

表 2 尿源性脓毒症与非尿源性脓毒症患者免疫细胞亚群比例

% , $\bar{X} \pm S$

指标	非脓毒症(30 例)	脓毒症(30 例)		P 值
		尿源性(15 例)	非尿源性(15 例)	
Mon				
第 1 天	5.31 ± 2.87	2.92 ± 2.31	4.19 ± 2.49	0.157
第 3 天	5.57 ± 2.24	3.16 ± 1.83	4.13 ± 2.76	0.275
第 5 天	6.74 ± 2.31	5.72 ± 4.33	5.25 ± 3.30	0.756
Neu				
第 1 天	83.31 ± 11.78	87.49 ± 13.38	86.92 ± 7.03	0.884
第 3 天	85.49 ± 8.24	89.04 ± 4.14	85.98 ± 10.51	0.318
第 5 天	82.60 ± 7.40	82.38 ± 12.79	83.73 ± 12.73	0.789
Lym				
第 1 天	9.02 ± 6.46	4.50 ± 2.84	8.32 ± 6.50	0.046
第 3 天	8.05 ± 6.09	5.79 ± 3.79	6.99 ± 5.53	0.505
第 5 天	9.15 ± 6.01	8.42 ± 7.40	6.35 ± 4.14	0.386
CD3 ⁺				
第 1 天	67.67 ± 13.33	56.87 ± 15.26	51.77 ± 17.70	0.405
第 3 天	67.38 ± 14.49	64.75 ± 9.78	53.70 ± 16.77	0.038
第 5 天	69.83 ± 11.68	66.96 ± 9.32	49.99 ± 20.19	0.012
CD4 ⁺				
第 1 天	57.74 ± 13.36	59.96 ± 10.07	58.55 ± 10.80	0.726
第 3 天	57.55 ± 14.07	67.26 ± 11.50	62.33 ± 10.08	0.231
第 5 天	61.69 ± 13.73	65.35 ± 14.09	64.76 ± 9.19	0.903
CD8 ⁺				
第 1 天	35.05 ± 12.17	36.06 ± 11.54	35.07 ± 10.11	0.811
第 3 天	34.16 ± 11.32	28.54 ± 10.24	31.38 ± 9.91	0.440
第 5 天	30.12 ± 10.92	30.76 ± 13.20	31.00 ± 8.83	0.959
Treg				
第 1 天	7.39 ± 5.80	8.42 ± 2.58	7.19 ± 3.26	0.258
第 3 天	7.64 ± 3.53	8.16 ± 3.54	7.94 ± 4.41	0.885
第 5 天	7.50 ± 3.88	9.11 ± 4.38	8.21 ± 2.89	0.553
CD3 ⁻ CD19 ⁺				
第 1 天	53.68 ± 17.23	57.66 ± 26.72	56.76 ± 27.66	0.929
第 3 天	50.52 ± 15.93	50.91 ± 21.29	63.98 ± 22.83	0.122
第 5 天	52.99 ± 16.74	47.88 ± 23.82	72.33 ± 21.85	0.014
NK 细胞				
第 1 天	41.99 ± 16.99	37.00 ± 23.99	40.02 ± 26.55	0.747
第 3 天	38.20 ± 21.94	35.54 ± 18.73	32.45 ± 23.24	0.696
第 5 天	32.42 ± 23.01	34.51 ± 21.11	23.75 ± 22.34	0.228

表 3 尿源性脓毒症与非尿源性脓症患者免疫细胞亚群功能指标的表达水平

$\bar{X} \pm S$

指标	非脓毒症(30 例)	脓毒症(30 例)		P 值
		尿源性(15 例)	非尿源性(15 例)	
Mon HLA-DR				
第 1 天	30.17±21.42	12.62±5.75	13.90±10.03	0.637
第 3 天	29.56±20.03	12.92±6.00	13.04±7.93	0.965
第 5 天	29.61±18.90	14.43±11.96	10.31±6.64	0.304
Neu CD64 index				
第 1 天	1.62±1.17	3.09±1.99	4.48±4.33	0.274
第 3 天	1.25±1.10	3.14±2.76	2.79±1.62	0.689
第 5 天	1.75±2.15	1.87±1.62	3.93±2.71	0.036
Lym PD-1				
第 1 天	10.76±6.97	12.07±3.33	12.59±5.57	0.762
第 3 天	10.49±6.50	14.90±8.01	15.26±7.29	0.899
第 5 天	10.48±6.44	14.23±6.02	13.50±6.01	0.764
CD3 ⁺ PD-1				
第 1 天	14.50±8.92	16.30±5.47	21.56±6.99	0.029
第 3 天	13.90±8.00	16.48±6.98	25.79±11.07	0.014
第 5 天	13.88±9.04	15.75±8.12	24.32±11.64	0.048
CD4 ⁺ PD-1				
第 1 天	16.65±9.43	17.11±6.97	23.42±7.67	0.029
第 3 天	16.45±8.45	19.20±12.18	29.79±15.11	0.047
第 5 天	16.06±11.02	20.21±9.68	25.96±13.55	0.232
CD8 ⁺ PD-1				
第 1 天	13.74±10.61	13.78±5.64	16.92±7.52	0.206
第 3 天	12.77±9.49	15.50±9.37	20.97±9.87	0.138
第 5 天	12.24±7.24	13.70±5.54	21.71±11.72	0.044
Treg PD-1				
第 1 天	21.11±12.94	25.74±14.58	29.70±14.19	0.457
第 3 天	18.95±9.75	24.88±15.06	37.07±15.14	0.039
第 5 天	19.55±12.90	19.77±14.29	35.79±17.71	0.023

注: Neu CD64 index=(中性/淋巴)/(单核/中性)。

表 4 各细胞亚群与尿源性脓毒症严重程度的相关性分析

指标	SOFA 评分			APACHE II 评分			指标	SOFA 评分			APACHE II 评分		
	第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 1 天	第 3 天	第 5 天		第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 1 天	第 3 天	第 5 天
Neu							CD8 ⁺ T						
r	0.267	0.593	0.584	-0.084	0.753	0.468	r	-0.166	-0.362	-0.094	-0.337	-0.468	-0.197
P 值	0.336	0.025	0.036	0.756	0.003	0.107	P 值	0.589	0.203	0.759	0.260	0.107	0.518
Mon							Treg						
r	0.195	0.055	-0.313	-0.023	-0.055	-0.312	r	0.453	0.622	-0.092	0.099	0.429	-0.200
P 值	0.487	0.853	0.298	0.936	0.857	0.300	P 值	0.090	0.018	0.765	0.727	0.144	0.513
Lym							NK 细胞						
r	0.162	-0.493	-0.658	-0.029	-0.747	-0.624	r	0.135	-0.112	-0.005	0.227	0.010	0.051
P 值	0.565	0.073	0.014	0.917	0.003	0.023	P 值	0.632	0.703	0.987	0.416	0.975	0.870
CD3 ⁺ T							CD3 ⁻ CD19 ⁺						
r	-0.328	-0.295	-0.349	0.032	-0.128	-0.319	r	-0.120	0.240	0.239	-0.167	0.204	0.120
P 值	0.233	0.306	0.243	0.911	0.676	0.288	P 值	0.671	0.390	0.431	0.552	0.505	0.695
CD4 ⁺ T													
r	0.169	0.435	0.146	0.314	0.536	0.255							
P 值	0.547	0.120	0.634	0.255	0.059	0.401							

3 讨论

免疫系统在脓毒症的发病机制中起着关键作用,目前的研究发现免疫状态的失衡,才是脓毒症病程发展中的重要环节,固有免疫系统的功能障碍,与适应性免疫系统发生免疫抑制,是导致脓毒症器官功能障碍的主要原因^[8]。明确脓毒症引起的免疫细胞亚群及其功能指标的变化,监测免疫状态并提供免疫调节治疗可提高脓毒症诱导的免疫抑制患者的生存率。并且了解脓毒症的异质性,了解脓毒症不同阶段的动态,应用精确、个体化治疗是未来研究的目标^[9]。多项研究证明逆转脓毒症患者的免疫抑制状态可有效地改善预后情况^[6]。

尿源性脓毒症是由尿路感染引起的器官功能障碍,与其他感染来源引起的脓毒症的发病机制相同^[10],但本研究发现两者之间的免疫细胞亚群及其功能指标的变化又有所区别。目前的研究表明,T淋巴细胞消耗是脓毒症免疫抑制的一个主要特征^[11]。其发生的机制主要包括细胞表面负性共刺激因子的过表达,其中对PD-1的研究较为明确^[7]。它主要是通过抑制T淋巴细胞的活化和增殖或诱导细胞凋亡来导致T淋巴细胞的消耗^[5]。目前PD-1在各种免疫细胞亚群上的表达可被广泛接受为脓症患者免疫功能评价的指标^[12]。PD-1信号通路可作为监测脓毒症或脓毒症休克患者免疫状态的指标,对脓毒症患者的风险分层和预后预测具有重要意义。动物实验已经证实,阻断PD-1信号通路可以提高存活率,逆转器官损伤^[13]。本研究发现尿源性脓毒症患者中PD-1在T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞以及Treg细胞的表达水平均显著低于非尿源性脓毒症患者,而T细胞的数量显著升高,而其他的细胞亚群及其功能指标与非尿源性脓毒症患者无显著差异,提示尿源性脓毒症患者的免疫抑制程度可能较其他感染来源的脓毒症轻。并且Lym比例与尿源性脓毒症的严重程度呈显著负相关,可以作为评估脓毒症严重程度的指标。

Neu是感染时率先被募集至炎症部位的固有免疫效应细胞,也是急性炎症过程中导致组织损伤的重要效应细胞,参与脓毒症的发生发展。具有清除病原体、介导炎症和免疫调节等功效^[14]。CD64是一种IgG结合受体,由Neu、Mon和Lym表达,以响应细菌感染过程中释放的细胞因子,已有研究证明,nCD64指数可作为预测脓毒症病程的有价值的生物标志物^[15],并且nCD64指数是细菌感染临床诊断的敏感指标,特别是在监测感染和评估抗生素疗效方面^[16]。本研究的结果表明,中性粒细胞的CD64指数在尿源性脓毒症患者中显著降低,提示患者的炎症水平低于其他来源的脓毒症患者。并且Neu的比例与尿源性脓毒症严重程度呈显著正相关,可以作为评估脓毒症严重程度的指标。

综上所述,通过分析尿源性脓毒症患者的免疫细胞亚群及其功能指标,结果表明其免疫抑制及疾病的严重程度可能较其他来源的脓毒症轻,并且免疫细胞亚群的比例及其功能指标的表达水平可用于评估尿源性脓毒症的严重程度。通过初步筛选的指标,目前已计划在多中心收集患者血液样本,并进行实验,通过在大样本及多中心中进行验证,之后会进一步分析这些指标在尿源性脓毒症的早期诊断、风险分层及治疗中的作用。本研究的局限性及不足之处主要有以下几点:①单中心小样本量研究,限制了普遍性,不能反映尿源性脓毒症患者免疫功能状态的真实水平,有望在大样本量的研究中进一步验证。②随访时间较短,无法评估免疫功能的改变对远期生存状态及生活质量的评估。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315(8):801-810.
- [2] Daneman N, Rishu AH, Pinto R, et al. A pilot randomized controlled trial of 7 versus 14 days of antibiotic treatment for bloodstream infection on non-intensive care versus intensive care wards[J]. Trials, 2020, 21(1):92.
- [3] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality, 1990-2017: analysis for the Global Burden of Disease Study[J]. Lancet, 2020, 395(10219):200-211.
- [4] SepNet Critical Care Trials Group. Incidence of severe sepsis and septic shock in German intensive care units: the prospective, multicentre INSEP study[J]. Intensive Care Med, 2016, 42(12):1980-1989.
- [5] van der Poll T, Shankar-Hari M, Wiersinga WJ. The immunology of sepsis[J]. Immunity, 2021, 54(11):2450-2464.
- [6] Misra AK, Levy MM, Ward NS. Biomarkers of Immunosuppression[J]. Crit Care Clin, 2020, 36(1):167-176.
- [7] Ruan WS, Feng MX, Xu J, et al. Early Activation of Myeloid-Derived Suppressor Cells Participate in Sepsis-Induced Immune Suppression via PD-L1/PD-1 Axis[J]. Front Immunol, 2020, 11:1299.
- [8] Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome [J]. Immunol Rev, 2016, 274(1):330-353.
- [9] Liu D, Huang SY, Sun JH, et al. Sepsis-induced immunosuppression: mechanisms, diagnosis and current treatment options[J]. Mil Med Res, 2022, 9(1):56.
- [10] Guliciuc M, Maier AC, Maier IM, et al. The Urosepsis-A Literature Review [J]. Medicina (Kaunas), 2021, 57(9):872.

- 定在隐匿性阴茎治疗中的应用[J]. 海南医学, 2019, 30(1):78-80.
- [4] 文健辉, 关飞, 胡景辉, 等. 改良 Devine 术联合包皮远端皮瓣转移治疗小儿重度隐匿性阴茎的临床效果观察[J]. 医学理论与实践, 2020, 33(15):2531-2532.
- [5] 周鸿杰, 王柳娟, 崔冠华, 等. 改良 Devine 术治疗儿童隐匿性阴茎的临床研究[J]. 黑龙江医学, 2022, 46(1):37-39.
- [6] 崔琪. 改良 Brisson 手术治疗隐匿性阴茎的临床效果观察[J]. 医药前沿, 2020, (36):141-142.
- [7] 李燕芳, 吴志清, 谢正悦. 改良 Brisson 术治疗隐匿性阴茎患儿的效果观察[J]. 华夏医学, 2022, 35(3):19-22.
- [8] 赵卫珠, 冯海英, 刘娟. 特发性性早熟女童心理状态与生活质量的相关性及应对措施分析[J]. 中国妇幼保健, 2020, 35(7):1249-1252.
- [9] 王誉都, 李鹏, 高亚, 等. 改良 Devine 术治疗小儿隐匿性阴茎对患儿术后阴茎长度和生长发育的影响[J]. 国际泌尿系统杂志, 2020(1):99-102.
- [10] 徐奥, 李雪, 张志博, 等. 带蒂岛状包皮瓣阴茎成形术与 Sugita 术矫治完全型隐匿阴茎的疗效比较[J]. 中国修复重建外科杂志, 2020, 34(11):1423-1428.
- [11] Ge W, Zhu X, Xu Y, et al. Therapeutic effects of modified Devine surgery for concealed penis in children [J]. Asian J Surg, 2019, 42(1):356-361.
- [12] 李旺. 改良 Devine 术与传统 Shiraki 治疗小儿隐匿性阴茎的临床探讨[J]. 医学食疗与健康, 2022, 20(18):33-35, 39.
- [13] Wenning KE, Yilmaz E, Schildhauer TA, et al. Comparison of lumbopelvic fixation and iliosacral screw fixation for the treatment of bilateral sacral fractures [J]. J Orthop Surg Res, 2021, 16(1):604.
- [14] 张伟同, 冯勋强, 刘翠苹, 等. 渐进性皮瓣转移技术联合改良 Devine 术治疗小儿隐匿性阴茎的效果评价[J]. 临床外科杂志, 2022, 30(4):376-378.
- [15] 胡蒸蒸. 改良 Brisson 术与改良 Devine 术治疗小儿重型隐匿型阴茎的效果观察[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(23):4536-4538.
- [16] 蒋明珠, 范应中, 李福凯. 改良 Devine 术和改良 Shiraki 术治疗完全型隐匿性阴茎的临床疗效分析[J]. 河南外科学杂志, 2019, 25(1):24-25.
- [17] 李灵, 蒋爱民, 向慧, 等. Devine 术和改良 Brisson 术治疗儿童隐匿性阴茎的比较[J]. 微创泌尿外科杂志, 2021, 10(5):335-338.
- [18] 夏凡, 章奇, 周高熙, 等. 改良 Brisson 术联合阴茎周围脂肪剔除术治疗肥胖儿童隐匿性阴茎的临床研究[J]. 岭南现代临床外科, 2022, 22(3):276-279, 284.
- [19] 肖智祥, 徐迪, 何少华. 改良 Brisson 术联合皮瓣裁剪技术治疗儿童重度隐匿阴茎[J]. 中华男科学杂志, 2020, 26(9):820-825.

(收稿日期:2023-08-09)

(上接第 437 页)

- [11] Pauken KE, Wherry EJ. SnapShot: T Cell Exhaustion [J]. Cell, 2015, 163(4):1038-1038. e1.
- [12] Sari MI, Ilyas S. The Expression Levels and Concentrations of PD-1 and PD-L1 Proteins in Septic Patients: A Systematic Review [J]. Diagnostics (Basel), 2022, 12(8):2004.
- [13] Chen R, Zhou L. PD-1 signaling pathway in sepsis: Does it have a future? [J]. Clin Immunol, 2021, 229:108742.
- [14] 谢楠茜, 张亚星, 李甜甜, 等. 中性粒细胞在脓毒症中的作用及研究进展[J]. 中国免疫学杂志, 2022, 38(14):1767-1776.
- [15] Pham HM, Nguyen D, Duong MC, et al. Neutrophil CD64-a prognostic marker of sepsis in intensive care unit: a prospective cohort study [J]. Front Med (Lausanne), 2023, 10:1251221.
- [16] Gao Y, Lin L, Zhao J, et al. Neutrophil CD64 index as a superior indicator for diagnosing, monitoring bacterial infection, and evaluating antibiotic therapy: a case control study [J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1):892.

(收稿日期:2023-12-28)