

CD64 和 T 细胞亚群的表达在新生儿败血症中的价值

梁红英, 刘光辉[△], 张 健, 程邦宁(安徽医科大学儿科临床学院新生儿科, 合肥 230051)

【摘要】 目的 观察外周血 CD64 及 CD3、CD4、CD8 的表达水平, 探讨 CD64、CD3、CD4、CD8 在新生儿败血症诊断中的临床价值。**方法** 采用流式细胞术检测 30 例败血症新生儿和 50 例非感染新生儿的外周血 CD64、CD3、CD4、CD8 的表达情况, 比较外周血 CD64 分子及 CD3、CD4、CD8 的表达变化, 将败血症组的 CD64 与 C 反应蛋白(CRP)、白细胞计数(WBC)及血培养进行比较, 绘制 ROC 曲线, 比较 CD64 和 CRP 在诊断新生儿败血症中的曲线下面积、临界值、灵敏度及特异度。**结果** 败血症组 CD64 表达水平(6.7±2.9)% 高于非感染组(3.1±1.2)% , 差异有统计学意义($P<0.01$)。通过绘制 ROC 曲线, 得出曲线下面积为 0.903, CD64 临界值为 3.45%, 诊断新生儿败血症的灵敏度为 87.0%, 特异度为 88.0%, 均高于 CRP。CD64 检测败血症的阳性率为 86.7%, 高于血培养结果。败血症组的 CD3(46.2±12.4)%、CD4(32.0±10.1)% 明显低于非感染组 CD3(61.1±12.5)%、CD4(45.4±13.4)% , 差异有统计学意义($P<0.01$), 两组间 CD8 差异无统计学意义。**结论** 联合测定 CD64 与 T 细胞亚群, 有利于新生儿败血症的早期诊断、及时治疗及改善预后。

【关键词】 新生儿; 败血症; CD64; T 细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2013.09.028 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2013)09-1114-03

Clinical value of CD64 and T lymphocyte subsets in neonatal sepsis LIANG Hong-ying, LIU Guang-hui[△], ZHANG Jian, CHENG Bang-ning (Department of Neonatology, Pediatric Clinical Academy of Anhui Medical University, Hefei, Anhui 230051, China)

【Abstract】 Objective To explore the clinical value of CD64, CD3, CD4 and CD8 detection in neonatal sepsis. **Methods** 30 cases of neonatal septicemia and 50 neonates with no-infection were enrolled and detected for the levels of peripheral blood CD64, CD3, CD4 and CD8 by flow cytometry. CD64 and C-reactive protein (CRP), white blood cell (WBC) counting and blood culture were taken for comparison. ROC curves of CD64 and CRP were prepared to calculate and compare the area under ROC curve (AUC), sensitivity and specificity for the diagnosis of neonatal sepsis. **Results** The level of CD64 in sepsis group was significantly higher than that of non-infection group[(6.7±2.9)% vs (3.1±1.2)% , $P<0.01$]. According to ROC curve, the AUC and cut-off value of CD64 were 0.903 and 3.45, with diagnostic sensitivity and specificity of 87.0% and 88.0%, which were higher than CRP. The positive rate of CD64 in sepsis group was 86.7%, higher than that of blood culture. The levels of CD3 and CD4 in sepsis group were significantly lower than those of non-infectious group[CD3:(46.2±12.4)% vs (61.1±12.5)% , $P<0.01$, CD4:(32.0±10.1)% vs (45.4±13.4)% , $P<0.01$]. The level of CD8 had no difference between the two groups. **Conclusion** CD64 could be an effective marker for the early diagnosis of neonatal sepsis. The function of cellular immunity might be disorder in neonatal sepsis. Combination of CD64 and T lymphocyte subsets could be useful for the diagnosis, therapy and prognosis of neonatal sepsis.

【Key words】 neonate; septicemia; CD64; T lymphocyte subsets

新生儿免疫功能尚未发育完善, 容易发生感染尤其是败血症, 由于新生儿败血症临床症状的多样性与非典型性, 使早期诊断新生儿败血症成为难题, 新生儿感染与感染途径、致病原及自身免疫力有关。如何能早期准确地诊断新生儿败血症及评价新生儿的细胞免疫功能, 将对新生儿败血症的治疗及预后有重大的意义。本研究通过检测败血症新生儿与非感染新生儿 CD64 及 CD3、CD4、CD8 的表达情况, 探讨新生儿外周血 CD64 及 CD3、CD4、CD8 的变化与新生儿败血症的关系, 以期明确 CD64 在诊断新生儿败血症中的价值, 并对新生儿细胞免疫功能进行评价, 探讨细胞免疫与败血症的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2012 年 4~9 月安徽省立儿童医院新生儿科病房收治的新生儿作为研究对象, 其中败血症组共 30 例(败血症者 28 例, 败血症合并感染性休克者 2 例), 血培养阳性者 12 例(大肠埃希菌 3 例、肺炎克雷伯杆菌 4 例、绿脓杆菌 1 例、

表皮葡萄球菌 1 例、金黄色葡萄球菌 2 例、阴沟肠杆菌 1 例)。同时选取 50 例非感染患儿(吸入性肺炎、羊水咽下、单纯早产儿等)作为对照组。败血症组患儿胎龄(37.6±1.9)周, 体质量(3 110.2±533.7)g, 日龄(12.5±3.2)d; 非感染组胎龄(38.0±1.6)周, 体质量(3 108.1±592.7)g, 日龄(12.2±3.0)d, 两组胎龄、出生体质量及日龄差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 纳入标准 新生儿败血症的诊断参考第四版《实用新生儿学》, 败血症确诊的诊断指标^[1]为: (1) 具有临床表现, 血培养或无菌体腔内培养出致病菌。(2) 具有临床表现, 如果血培养培养出条件致病菌, 则必须与另一份血或无菌体腔内或导管头培养出同种细菌。满足以上任意一条者, 都可以确诊为败血症。临床诊断指标为: 对于血培养阴性的感染病例, (1) 符合非特异性检查大于或等于 2 条, (2) 血标本病原菌抗原或 DNA 检测阳性, 可以诊断为临床败血症。非特异指标如下等: (1) 具

[△] 通讯作者, E-mail: lgh508@sina.com.

有败血症的临床表现,白细胞总数小于 $5 \times 10^9/L$ 或出生 3 d 后大于 $20 \times 10^9/L$,或杆状核白细胞与多形核细胞之比大于或等于 0.2。(2)具有易发生败血症的诱因及相应的临床表现,C 反应蛋白(CRP)明显升高而无肺炎等其他可使之升高的疾病。排除标准:患有先天性免疫障碍性疾病及除外先天性畸形及遗传代谢性疾病者。

1.3 方法

1.3.1 标本收集 败血症组标本的采集:在确定感染且未用抗生素之前采集上肢静脉血 2 mL,分别进行 CD64、CD3、CD4、CD8、CRP 及血常规检测,同时做血培养;非感染组一次性采集上肢静脉血进行血常规及 CRP、CD3、CD4、CD8 及 CD64 检测。

1.3.2 CD64 检测 全血 $100 \mu L + 20 \mu L$ CD64-异硫氰酸荧光素标记试剂(美国贝克曼库尔特公司产品)混匀,加 1 mL 溶血素,暗处放置 15 min 后用流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司产品)分别测定淋巴细胞和粒细胞的 CD64 平均荧光强度(MFI),计算 CD64 指数。

1.3.3 CD3、CD4、CD8 检测 采用美国 Beckman Coulter Epics-XL4 型单激光 4 色流式细胞仪检测 CD3、CD4、CD8,试剂及质控品均为 Beckman Coulter 公司配套产品。

1.3.4 血常规检测 使用 Sysmex XE-5000 全自动血液分析仪检测血常规。

1.3.5 CRP 检测 采用散射比浊法检测 CRP,试剂及其配套仪器购于深圳市国赛生物技术有限公司。

1.4 统计学方法 采用 SPSS11.0 软件进行数据分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组之间比较采用 *t* 检验,计数资料采用卡方检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。绘制 ROC 曲线确定 CD64 的临界值,计算诊断败血症指标的灵敏度、特异度、阳性预测值和阴性预测值。

2 结果

2.1 CD64、CRP、白细胞计数(WBC)、血培养在诊断新生儿败血症中的比较 见表 1。败血症组的 CD64 表达明显高于非感染组,差异有统计学意义($P < 0.01$),败血症组的 CRP 高于非感染组,差异有统计学意义($P < 0.01$),两组之间 WBC 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 1 CD64、CRP、WBC 在诊断新生儿败血症中的比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD64(%)	WBC($\times 10^9/L$)	CRP(mg/L)
败血症组	30	6.7 \pm 2.9	11.9 \pm 5.2	34.2 \pm 29.3
非感染组	50	3.1 \pm 1.2	11.9 \pm 4.1	3.6 \pm 2.9
<i>t</i>	—	7.711	-0.034	7.423
<i>P</i>	—	0.000	0.973	0.000

注:—表示无数据。

2.2 CD64 与 CRP 在诊断新生儿败血症中的敏感性和特异性比较 将两组数据作 ROC 曲线,计算得 CD64 曲线下面积为 0.903,CD64 临界值为 3.45%,诊断败血症的敏感度为 87.0%,特异度为 88.0%,阳性预测值为 83.9%,阴性预测值 91.8%;CRP 曲线下面积为 0.813,临界值为 80 mg/L,诊断败血症的敏感度为 83.3%,特异度为 70.0%,阳性预测值为 70.6%,阴性预测值 71.4%。

2.3 外周血中性粒细胞 CD64 与血培养在诊断新生儿败血症中的评估 见表 2。30 例败血症患儿中,CD64 的检测阳性率为 86.7%(26/30),血培养中 CRP 检测阳性率为 40.0%(12/30),CD64 与血培养中 CRP 诊断新生儿败血症比较差异有统

计学意义($P < 0.01$)。

表 2 2 项检测阳性率比较[n(%)]

指标	阳性	阴性
CD64	26(86.7)	4(13.3)
血培养	12(40.0)	18(60.0)

2.4 两组新生儿 CD3、CD4、CD8 的比较 见表 3。败血症组的 CD3、CD4 低于非感染组,差异有统计学意义($P < 0.01$),两组 CD8 差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表 3 各组间 CD3、CD4、CD8 的比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	CD3	CD4	CD8
败血症组	30	46.2 \pm 12.4	32.0 \pm 10.1	11.8 \pm 3.9
非感染组	50	61.1 \pm 12.5	45.4 \pm 13.4	13.5 \pm 6.5
<i>t</i>	—	-5.179	-4.653	-1.835
<i>P</i>	—	0.000	0.000	0.070

注:—表示无数据。

3 讨论

目前感染仍是我国新生儿常见疾病与引起新生儿死亡的重要原因之一[2],其中重症感染,如败血症在新生儿监护室中仍有较高的发生率和病死率,在重症监护室的患儿中,至少有 1/3~1/2 的患者最终被诊断为败血症[3]。血培养虽是诊断败血症的金标准,但阳性率低,且病原分离所需时间长,不能达到早期诊断的目的。因此,需要寻找敏感、可靠、能早期诊断败血症的理想指标[4],若能早期诊断新生儿败血症将有利于改善其预后。近年来,中性粒细胞 CD64 表达在早期诊断新生儿败血症的价值得到了重视。

CD64 即 Fc γ R 1,是免疫球蛋白(IgG)的高亲和力受体,正常生理情况下,CD64 在中性粒细胞呈低水平表达,但当机体处于感染状态时,CD64 的表达可增加 5~10 倍[5]。CD64 可以作为早期诊断新生儿感染的有效指标[6]。研究发现 CD64 在败血症发生后 0~24 h 内均保持明显升高,这个时间窗有利于早期诊断新生儿败血症,并且有助于判定感染的程度。本研究发现败血症组的 CD64 表达水平明显高于非感染组,说明 CD64 的表达与新生儿感染密切相关,并随感染程度的加重而升高,与张金萍等[7]研究结果相符。本研究结果显示,败血症组的 CRP 高于非感染组,CRP 随感染的加重而升高,可以作为判断细菌感染的指标;但 CRP 是由胎儿肝脏产生的急性时相蛋白,是非特异性指标,对诊断新生儿败血症的临床价值较低[8]。本研究通过 ROC 曲线得出 CD64 曲线下面积为 0.903,高于 CRP,CD64 临界值为 3.45%时,CD64 诊断新生儿败血症的灵敏度为 87.0%,特异度为 88.0%,阳性预测值 83.9%,阴性预测值 91.8%,说明 CD64 与 CRP 相比较而言,CD64 是诊断新生儿败血症的更为敏感的特异性指标,与 Choo 等[9]研究结果相符。研究显示 CD64 与 CRP 相比而言,是早期诊断新生儿败血症更为可靠的单一指标。另外本研究发现两组间 WBC 的表达差异无统计学意义,说明 WBC 不能作为诊断新生儿败血症的特异指标。血培养虽然是诊断败血症的金标准,但是血培养阳性率低,本研究显示 30 例败血症患儿中,CD64 的检测阳性率为 86.7%,血培养的检测阳性率仅为 40.0%,CD64 的检测阳性率高于血培养,差异有统计学意义($P < 0.01$),说明 CD64 是能早期诊断败血症的敏感性指标。

在抗感染中淋巴细胞可被激活,从而启动免疫抵抗反应,淋巴细胞主要包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞及自然杀伤细胞。其中 T 淋巴细胞是最主要的免疫细胞,CD3 代表 T 淋巴细胞

总数, CD4 代表 T 辅助细胞, CD8 代表 T 抑制细胞, CD4、CD8 细胞是重要的病毒、细菌清除细胞, T 淋巴细胞的相互调节维持机体免疫平衡, 病原体与宿主免疫系统的相互作用贯穿感染过程始终, 并决定感染的发生、发展及结局。但病毒感和长期反复慢性炎症可使体内 CD4、CD8 细胞减少, 导致免疫功能降低, 有研究发现窒息、缺氧导致 T 淋巴细胞亚群紊乱, 不同胎龄的新生儿 T 淋巴细胞亚群的变化不同, 可影响其免疫功能^[10-11]。本研究结果显示, 新生儿败血症者外周血 CD3、CD4 较非感染组降低, 说明 T 细胞功能不完善, 不能有效辅助免疫细胞, 导致重症感染时患儿细胞免疫功能低下, 与邱丽影等^[12]研究结果一致, 说明重症感染患儿细胞免疫功能受到抑制, 同时细胞免疫功能低下亦是新生儿发生重症感染的重要原因之一。

综上所述, 通过联合测定 CD64 及 T 细胞亚群可早期及准确地诊断新生儿败血症, 并能评估患儿的细胞免疫状态, 予以有效、合理的抗生素治疗及提高免疫力, 将有助于患儿病情的缓解及改善预后。

参考文献

[1] 邵肖梅, 叶鸿瑁, 丘小汕. 实用新生儿学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011: 341-342.
 [2] 魏克伦. 我国新生儿感染现状与展望[J]. 中国实用儿科杂志, 2011, 26(1): 1-2.
 [3] Vincent JL, Rello J, Marshall J, et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units[J]. JAMA, 2009, 302(21): 2323-2329.
 [4] Ng PC, Lam HS. Diagnostic markers for neonatal sepsis [J]. Curr Opin Pediatr, 2006, 18(2): 125-131.

[5] Song SH, Kim HK, Park MH, et al. Neutrophil CD64 expression is associated with severity and prognosis of disseminated intravascular coagulation [J]. Thromb Res, 2008, 121(4): 499-507.
 [6] Genel F, Atlıhan F, Gulez N, et al. Evaluation of adhesion molecules CD64, CD11b and CD62L in neutrophils and monocytes of peripheral blood for early diagnosis of neonatal infection[J]. World J Pediatr, 2012, 8(1): 72-75.
 [7] 张金萍, 陈超, 杨毅. CD64 在新生儿感染诊断中的临床意义[J]. 中华围产医学杂志, 2006, 9(5): 320-324.
 [8] Jaye DL, Waites KB. Clinical applications of C-reactive protein in pediatrics[J]. Pediatr Infect Dis J, 1997, 16(8): 735-746.
 [9] Choo YK, Cho HS, Seo IB, et al. Comparison of the accuracy of neutrophil CD64 and C-reactive protein as a single test for the early detection of neonatal sepsis[J]. Korean J Pediatr, 2012, 55(1): 11-17.
 [10] 梅花, 刘春枝, 张亚星. 缺氧缺血性脑病新生儿血清细胞因子及 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 中国新生儿科, 2011, 26(6): 403-405.
 [11] 张金萍, 陈超, 杨毅. 新生儿感染时 CD 分子变化及临床意义[J]. 中国实用儿科杂志, 2005, 20(7): 415-417.
 [12] 邱丽影, 任力群, 资捷, 等. 感染性疾病新生儿淋巴细胞亚群的变化分析[J]. 中国优生与遗传杂志, 2012, 20(3): 77-78.

(收稿日期: 2012-12-25)

(上接第 1113 页)

2000 年, 国外报道人工合成了一条含 CCP, 并以此为抗原, 用 ELISA 检测 RA 患者血清中的抗体, 发现其对 RA 具有很好的敏感性(68%)和特异性(98%), 其后国内外对于这些血清标志物进行了广泛研究。抗 AKA 抗体是一种可以与鼠食管角质层反应的抗体, 其靶抗原主要为鼠食管上皮的 A、B、C 蛋白, 这些蛋白与人表皮中的中间丝体相关蛋白有关联, 其主要以 IgG 型为主^[5-6]。有报道称 IgG 型抗 AKA 抗体在 RA 早期患者的关节液或血清中都可以被检测出来, 甚至出现在临床症状之前, 同时也可以提示预后不良^[7]。

本研究对 169 例 RA 患者和 105 例健康体检者的血清同时进行抗 CCP 抗体、抗 AKA 抗体检测。由表 1 可以看出, RA 组抗 CCP 抗体、抗 AKA 抗体单独检测的灵敏度分别为 80.5%、48.5%, 联合检测的灵敏度为 91.1%, 联合检测 RA 患者的灵敏度显著高于单项检测, 其差异有统计学意义($P < 0.05$)。抗 CCP 抗体、抗 AKA 抗体单独检测的特异性分别为 91.3%、97.1%, 联合检测的特异性为 82.7%, 联合检测特异性显著低于单项检测。由此可见, 抗 CCP 抗体、抗 AKA 抗体检测在 RA 辅助诊断中具有较好的灵敏度和特异性, 联合检测可以提高灵敏度, 有助于降低漏诊率, 可以用于 RA 筛查或体检中, 但是特异性有显著降低, 不利于疾病的判断和区分。

综上所述, 抗 CCP 抗体、抗 AKA 抗体都是诊断 RA 的较好指标, 具有良好的灵敏度和特异性。研究发现联合检测的灵敏度明显高于单项, 由此可见适当的联合检测能缓解因单项检测灵敏度低而给临床早前诊断带来的困扰。因此, 为了提高 RA 诊断的灵敏度, 降低漏检率, 开展适当的联合检测, 并配合临床综合分析, 可弥补单项检测灵敏度较低的影响, 有利于降

低 RA 的漏诊率, 适合于 RA 的筛查或体检, 但特异性降低, 不利于疾病的判断和区分。

参考文献

[1] 尹海琴, 李宝全, 巩路. 类风湿关节炎患者血清自身抗体对其诊断价值分析[J]. 天津医科大学学报, 2011, 17(1): 57-60.
 [2] 张玲, 吴丽华, 李玲, 等. 5 种指标在类风湿关节炎中的诊断价值[J]. 检验医学与临床, 2012, 09(6): 701-703.
 [3] 廖志梅, 陈海娟, 周维霞, 等. 抗环瓜氨酸肽抗体、抗角蛋白抗体与类风湿因子联合检测类风湿关节炎的诊断价值[J]. 医学理论与实践, 2011, 24(6): 629-631.
 [4] 冯永青, 任更朴, 杜鹏. 抗 CCP 抗体与 AKA、RF 联合检测类风湿性关节炎的临床意义[J]. 西部医学, 2011, 23(2): 302-303, 305.
 [5] 刘斌, 刘春霞, 张虹. 探讨 CCP-Ab、AKA、RF 在类风湿关节炎中的诊断意义[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(16): 1425-1427.
 [6] 苏青, 王乙, 王亚男, 等. 联合检测抗 CCP 抗体与 RF 在类风湿关节炎中的临床意义[J]. 中国医疗前沿, 2011, 6(4): 69-70.
 [7] 徐朝焰, 范忠晓, 邓琼, 等. 早期类风湿关节炎血清抗 CCP 抗体、AKA 与 IgM-RF 检测情况分析[J]. 北京医学, 2009, 31(11): 679-681.

(收稿日期: 2012-11-20)