

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.21.010

脓毒症合并急性肺损伤患儿 Th1/Th2 比值及细胞因子临床意义分析*

高刘炯, 李小磊, 宁文慧, 苏 军, 金志鹏[△]

郑州大学附属儿童医院/河南省儿童医院/郑州儿童医院内科监护室, 河南郑州 450018

摘 要:目的 探讨脓毒症合并急性肺损伤患儿外周血辅助性 T 细胞 1 型/辅助性 T 细胞 2 型(Th1/Th2) 比值及细胞因子水平变化与病情及预后的关系。**方法** 选取河南省儿童医院收治的脓毒症合并急性肺损伤患儿 56 例(脓毒症急性肺损伤组)作为研究对象。依据小儿危重症评分标准将研究对象分为非危重组($n=26$)、危重组($n=18$)和极危重组($n=12$);根据研究对象 28 d 内临床结局分为存活组($n=45$)和死亡组($n=11$);另选择同期未合并器官损伤的普通脓毒症患儿 50 例(普通脓毒症组)及健康儿童 50 例(对照组)作为对照。采用流式细胞术检测所有受试儿外周血 Th1、Th2 细胞百分比,并计算 Th1/Th2 比值;采用酶联免疫吸附法测定血清中 γ 干扰素(IFN- γ)、白细胞介素-4(IL-4)水平,并计算 IFN- γ /IL-4 比值。**结果** 与普通脓毒症组及对照组比较,脓毒症急性肺损伤组患儿血清 IFN- γ 水平、IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值均显著降低,IL-4 水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);极危重组组 IL-4 水平、IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值明显高于非危重组和危重组,IFN- γ 水平明显低于非危重组,差异有统计学意义($P<0.05$);与存活组相比,死亡组 IL-4 水平升高,IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值降低,差异有统计学意义($P<0.05$)。IFN- γ 和 IL-4 水平及 IFN- γ /IL-4 比值、Th1/Th2 比值预测 28 d 结局的曲线下面积分别为 0.619、0.681、0.695 及 0.767。**结论** Th1/Th2 比值及细胞因子水平与脓毒症合并急性肺损伤患儿病情严重程度有关,且对预后评估有一定价值。

关键词:脓毒症; 急性肺损伤; 辅助性 T 细胞; 预后

中图法分类号:R459.7

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)21-2922-04

Clinical significance of Th1/Th2 ratio and cytokines in children with sepsis complicated with acute lung injury*

GAO Liujiang, LI Xiaolei, NING Wenhui, SU Jun, JIN Zhipeng[△]

Department of Pediatric Intensive Care Unit, Children's Hospital of Zhengzhou University/
Henan Children's Hospital/Zhengzhou Children's Hospital, Zhengzhou, Henan 450018, China

Abstract: **Objective** To investigate the relationship between the ratio of helper T cell type 1/helper T cell type 2 (Th1/Th2) and cytokine levels in peripheral blood of children with sepsis complicated with acute lung injury and the disease and prognosis. **Methods** Fifty-six children with sepsis complicated with acute lung injury (sepsis-acute lung injury group) admitted to Henan Children's Hospital were selected as the research objects. The subjects were divided into non-critical group ($n=26$), critical group ($n=18$) and extremely critical group ($n=12$) according to the pediatric critical illness score. According to the clinical outcomes within 28 days, the subjects were divided into survival group ($n=45$) and death group ($n=11$). In addition, 50 children with common sepsis (common sepsis group) and 50 healthy children (control group) without organ damage during the same period were selected as controls. The percentage of Th1 and Th2 cells in peripheral blood of all subjects was detected by flow cytometry, and the ratio of Th1/Th2 was calculated. The serum levels of interferon- γ (IFN- γ) and interleukin-4 (IL-4) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay, and the ratio of IFN- γ /IL-4 was calculated. **Results** Compared with the normal sepsis group and the control group, the IFN- γ level, IFN- γ /IL-4 ratio and Th1/Th2 ratio of children in the sepsis acute lung injury group were significantly decreased, and IL-4 level was significantly increased, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The IL-4 level, IFN- γ /IL-4 ratio and Th1/Th2 ratio of the extremely critical group were significantly higher than those in the non-critical group and critical group, and the IFN- γ level was significantly lower than the non-critical group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). Compared with the sur-

* 基金项目:河南省 2018 年科技发展规划(182102310427);河南省 2018 年医学科技攻关计划联合共建项目(2018020615)。

作者简介:高刘炯,男,主治医师,主要从事儿童重症研究。 [△] 通信作者, E-mail:workerglj123@163.com。

vival group, IL-4 level was increased, IFN- γ /IL-4 ratio and Th1/Th2 ratio were decreased in the death group, the difference was statistically significant ($P<0.05$). The area under the curve of IFN- γ , IL-4 level and IFN- γ /IL-4 ratio, Th1/Th2 ratio for predicting outcome in 28 d were 0.619, 0.681, 0.695 and 0.767, respectively.

Conclusion The ratio of Th1/Th2 and cytokine levels are related to the severity of sepsis complicated with acute lung injury, and have some prognostic value.

Key words: sepsis; acute lung injury; helper T cell; prognosis

脓毒症是指感染所致的全身性炎症反应综合征,随着病情的进展可并发多器官损伤及功能障碍,严重危及患者健康及生命^[1-2],其中并发急性肺损伤是导致脓毒症患者死亡的重要原因^[3]。寻找有效的评估脓毒症合并急性肺损伤病情及预后的指标具有重要的临床价值。既往研究显示,炎症反应平衡失调在脓毒症的发生及发展中起着重要作用^[4]。CD4⁺辅助性T细胞(Th)在抗感染过程中具有重要意义,根据其分泌因子及功能不同可分为Th1细胞和Th2细胞两种,二者的平衡对维持机体正常的免疫应答具有重要作用^[5]。有研究证实Th1/Th2比值及细胞因子水平变化与脓毒症患者免疫功能状态也具有一定的相关性^[6],但Th1/Th2比值及细胞因子水平在小儿脓毒症合并急性肺损伤中的研究鲜有报道。因此,本研究通过观察脓毒症合并急性肺损伤患儿血清中Th1/Th2比值及细胞因子水平变化,探索其对病情预测及预后评估的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集2017年6月至2020年6月河南省儿童医院收治的脓毒症合并急性肺损伤患儿56例(脓毒症急性肺损伤组)作为研究对象。纳入标准:(1)所有患儿均符合儿童脓毒症诊断标准和急性肺损伤诊断标准;(2)年龄2d至14岁;(3)一般及病例资料完整。排除标准:(1)合并自身免疫系统疾病或严重免疫缺陷者;(2)既往有先天性心脏病或肾脏、肝脏及神经系统慢性疾病者;(3)近期服用免疫抑制剂者。依据中华医学会儿科学分会制定的小儿危重症评分(PCIS)标准将研究对象分为非危重组($n=26$)、危重组($n=18$)和极危重组($n=12$);根据研究对象28d内结局将脓毒症急性肺损伤组患儿分为存活组($n=$

45)和死亡组($n=11$)。另选择同期未合并器官损伤的普通脓毒症患者50例(普通脓毒症组)及健康儿童50例(对照组)作为对照。各组性别、年龄比较差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法 患儿入院时采集其外周静脉血3 mL,分离血清和血细胞,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)法测定血清中 γ 干扰素(IFN- γ)和白细胞介素-4(IL-4)水平,并计算IFN- γ /IL-4比值,使用IFN- γ /IL-4比值表示Th1/Th2细胞因子水平^[7]。血细胞制成细胞悬液处理后加入荧光标记的细胞表面抗体CD3-APC、CD4⁺-FITC与细胞内因子抗体IL-4-FITC, IFN- γ -PE,上机采用流式细胞仪检测CD4⁺T细胞中IFN- γ ⁺细胞(代表Th1)与IL-4⁺细胞(代表Th2)比例,计算Th1/Th2比值。

1.3 统计学处理 采用SPSS19.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD- t 检验;两组间比较采用独立样本 t 检验。绘制受试者工作特征曲线(ROC曲线),分析Th1/Th2比值及其细胞因子对预后的评估价值。 $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组患儿外周血Th1/Th2比值及其细胞因子水平比较 与对照组相比,普通脓毒症组及脓毒症急性肺损伤组患儿血清IFN- γ 水平、IFN- γ /IL-4比值及Th1/Th2比值明显降低,IL-4水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);与普通脓毒症组相比,脓毒症急性肺损伤组IFN- γ 水平、IFN- γ /IL-4比值及Th1/Th2比值明显降低,IL-4水平明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表1。

表1 各组患儿外周血Th1/Th2比值及其细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN- γ /IL-4	Th1/Th2
对照组	50	10.93 $\pm$ 1.53	38.02 $\pm$ 10.49	0.31 $\pm$ 0.09	3.24 $\pm$ 1.23
普通脓毒症组	50	10.05 $\pm$ 1.57 [*]	55.06 $\pm$ 11.06 [*]	0.19 $\pm$ 0.04 [*]	1.86 $\pm$ 0.57 [*]
脓毒症急性肺损伤组	56	8.64 $\pm$ 1.29 ^{*#}	73.46 $\pm$ 12.03 ^{*#}	0.12 $\pm$ 0.02 ^{*#}	0.97 $\pm$ 0.29 ^{*#}
<i>F</i>		33.990	130.479	126.566	111.123
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与普通脓毒症组比较,[#] $P<0.05$ 。

2.2 不同程度危重组间外周血Th1/Th2比值及其细胞因子水平比较 极危重组IL-4水平、IFN- γ /IL-4

比值及 Th1/Th2 比值明显高于非危重组和危重组, IFN- γ 水平明显低于非危重组, 差异均有统计学意义 ($P<0.05$); 而危重组与非危重组间 IFN- γ 和 IL-4 水平及 IFN- γ /IL-4 比值、Th1/Th2 比值比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 不同危重组间外周血 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN- γ /IL-4	Th1/Th2
非危重组	26	9.02 $\pm$ 1.13	70.45 $\pm$ 10.60	0.13 $\pm$ 0.02	1.11 $\pm$ 0.25
危重组	18	8.47 $\pm$ 1.32	72.07 $\pm$ 10.85	0.12 $\pm$ 0.02	0.96 $\pm$ 0.27
极危重组	12	8.07 $\pm$ 1.43 [*]	82.06 $\pm$ 13.45 ^{*#}	0.10 $\pm$ 0.02 ^{*#}	0.69 $\pm$ 0.22 ^{*#}
<i>F</i>		2.547	4.515	9.201	11.158
<i>P</i>		0.088	0.015	<0.001	<0.001

注:与非危重组比较,^{*} $P<0.05$;与危重组比较,[#] $P<0.05$ 。

表 3 不同预后组间外周血 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平比较 ($\bar{x}\pm s$)

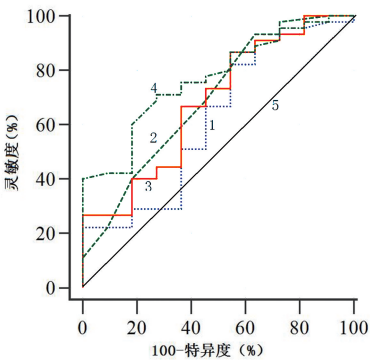
组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN- γ /IL-4	Th1/Th2
存活组	45	8.77 $\pm$ 1.24	71.83 $\pm$ 11.33	0.12 $\pm$ 0.02	1.03 $\pm$ 0.28
死亡组	11	8.12 $\pm$ 1.44	73.46 $\pm$ 12.01 [*]	0.10 $\pm$ 0.03 [*]	0.75 $\pm$ 0.28 [*]
<i>t</i>		1.492	2.113	2.630	2.907
<i>P</i>		0.141	0.039	0.011	0.005

注:与存活组相比,^{*} $P<0.05$ 。

2.4 外周血 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平对脓毒症合并急性肺损伤患儿预后的预测价值 采用 ROC 曲线分析 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平对脓毒症合并急性肺损伤患儿 28 d 内预后的评估价值, 结果显示, IFN- γ 和 IL-4 水平及 IFN- γ /IL-4 比值、

2.3 不同结局组间外周血 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平比较 死亡组 IL-4 水平明显高于存活组, IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值均低于存活组, 差异有统计学意义 ($P<0.05$), 两组患儿 IFN- γ 水平比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 3。

Th1/Th2 比值的曲线下面积(AUC)分别为 0.619、0.681、0.695、0.767。见图 1、表 4。



注:1 为 INF- γ ;2 为 IL-4;3 为 IFN- γ /IL-4 比值;4 为 Th1/Th2 比值;5 为参考线。

图 1 外周血 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平预测脓毒症合并急性肺损伤患儿预后的 ROC 曲线

表 4 外周血 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平预测脓毒症合并急性肺损伤患儿预后的 ROC 曲线分析

指标	AUC	95%CI	约登指数	最佳截断值	灵敏度(%)	特异度(%)
INF- γ	0.619	0.480~0.746	0.277	7.85 ng/L	82.22	45.45
IL-4	0.681	0.543~0.799	0.321	86.55 ng/L	86.67	45.45
IFN- γ /IL-4	0.695	0.577~0.811	0.297	0.10	93.33	36.36
Th1/Th2	0.767	0.635~0.869	0.434	0.80	71.11	72.73

3 讨 论

脓毒症是因严重创伤、感染、外科手术及烧伤等因素诱发,其合并急性肺损伤已成为危重症患者死亡的主要原因之一^[8-9]。因此探索有效的脓毒症合并急性肺损伤严重程度及预后的特异性诊断指标,对降低其死亡风险具有一定临床价值。目前研究显示机体的失调性炎症反应所引起的免疫功能失调是脓毒症发病机制的主要原因^[10]。Th1 和 Th2 细胞是 Th 细胞的主要的两种亚群,在感染、自身免疫性疾病、肿瘤等诸多疾病中发挥着重要的作用^[11]。在正常生理条

件下 Th1 与 Th2 细胞相互调节及制约以保持动态平衡,维持机体正常的免疫反应,而当机体发生感染、脓毒症等疾病时,Th1/Th2 比值及细胞因子的平衡状态被打破^[12-13]。本研究结果显示,普通脓毒症组及脓毒症急性肺损伤组患儿血清 IFN- γ 水平、IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值明显低于对照组,IL-4 水平明显高于对照组,提示当机体发生脓毒症合并急性肺损伤时 Th1/Th2 细胞失衡,Th 细胞主要向 Th2 方向漂移。这可能由于在脓毒症中,机体发生抗炎的同时也产生促炎反应,随着病情进一步的发展,炎症因子产

生减少, Th1 细胞功能受到抑制, 细胞因子产生减少, 而 Th2 细胞功能依然存在, 抗炎细胞因子分泌增加, 导致 Th1 向 Th2 细胞偏移, 使患儿体内细胞免疫功能减弱, 机体抗感染能力下降, 对病原体的易感性增加, 进而加快脓毒症病情的发展, 导致急性肺损伤的发生。此外, 有研究显示, Th1/Th2 比值对疾病的严重程度具有重要影响^[14]。相关研究显示当机发生严重感染及损伤时机体免疫功能发生严重紊乱, 使 Th1 淋巴细胞凋亡增加, Th2 淋巴细胞免疫反应增强, 则加重疾病的进展^[15]。本研究结果显示极危重组 IL-4 水平、IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值明显低于非危重组和危重组, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 极危重组 IFN- γ 水平明显高于非危重组, 提示 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平可反映脓毒症合并急性肺损伤患儿的严重程度。这可能是由于随着病情加重细胞免疫功能严重抑制, 机体主要启动 Th2 细胞抗炎为主的免疫反应, 其 Th1 细胞因子向 Th2 漂移程度逐渐加大^[16]。

此外, 目前研究显示 Th1/Th2 比值及其细胞因子对脓毒症疾病的预后具有一定的影响, Th1/Th2 比值升高则表示机体免疫功能较好, 患者预后较佳, 反之则预示预后较差^[17]。相关研究显示通过干预 Th2 细胞水平, 可扭转 Th1/Th2 比值细胞失衡状态, 提高患者免疫功能, 可改善脓毒症合并急性肺损伤患者病情的炎症程度及预后情况进而降低患者的死亡风险^[18]。本研究结果中发现, 死亡组 IFN- γ 水平、IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值均低于存活组, IL-4 水平高于存活组, 提示 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平可反映脓毒症合并急性肺损伤患儿的预后情况。为了进一步研究 Th1/Th2 比值及其细胞因子水平对脓毒症合并急性肺损伤对预后的评估价值, 本研究运用 ROC 曲线进行分析, 结果显示, IFN- γ /IL-4 比值及 Th1/Th2 比值预测结局的 AUC 分别为 0.695 及 0.767, 提示 Th1/Th2 比值及其细胞因子 IFN- γ /IL-4 比值可作为预测脓毒症合并急性肺损伤患儿预后的相关指标, 具有一定的临床价值。

综上所述, 外周血 Th1/Th2 比值及其细胞因子均随着脓毒症合并急性肺损伤患儿病情进展程度呈逐渐降低趋势, 且均对预后评估有一定价值, 可为临床诊疗决策提供参考。

参考文献

- [1] BROWN R M, SEMLER M W. Fluid management in sepsis[J]. J Intensive Care Med, 2019, 34(5): 364-373.
- [2] 邓欣雨, 赵燕, 罗成玲, 等. 脓毒症急性肺损伤患者外周血 Th22 和 Th17 细胞水平变化及临床意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(4): 498-502.
- [3] LIU Y, GUAN H, ZHANG J L, et al. Acute downregulation of miR-199a attenuates sepsis-induced acute lung injury by targeting SIRT1[J]. Am J Physiol Cell Physiol,

- 2018, 314(4): 449-455.
- [4] 赵辉, 李荣发, 王凯, 等. 益生菌联合早期肠内营养对老年脓毒症患者炎症反应及免疫功能的影响[J]. 中国老年学, 2018, 38(10): 2425-2427.
- [5] 卢可斌, 朱万英, 王迪彬, 等. 哮喘急性发作患儿合并呼吸道感染临床特征及辅助性 T 细胞亚群分析[J]. 中华医院感染学杂志, 2019, 29(16): 2520-2524.
- [6] 李岑, 黄栋, 王子川, 等. Th1/Th2、Th17/Treg 及其相关转录因子在儿童脓毒症早期体液中的变化[J]. 贵州医药, 2018, 42(11): 1286-1288.
- [7] 胡必梅, 江桂林, 梁祥祥, 等. 下呼吸道肺炎支原体感染对患儿肺功能与血清 NO 水平及 Th1/Th2 平衡的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(10): 1159-1163.
- [8] HU Z Q, YAO Y M, CHEN W, et al. Partial depletion of regulatory T cells enhances host inflammatory response against acute pseudomonas aeruginosa infection after sepsis[J]. Inflammation, 2018, 41(5): 1780-1790.
- [9] GAN C S, WONG J J, SAMRANSAMRUJKIT R, et al. Differences between pulmonary and extrapulmonary pediatric acute respiratory distress syndrome: a multicenter analysis[J]. Pediatr Crit Care Med, 2018, 19(10): 504-513.
- [10] 蒋政宇, 卞金俊, 邓小明. 免疫反应代谢调控: 脓毒症研究的新方向[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31(1): 122-125.
- [11] HOU T, LIAO J, ZHANG C, et al. Elevated expression of miR-146, miR-139 and miR-340 involved in regulating Th1/Th2 balance with acute exposure of fine particulate matter in mice[J]. Int Immunopharmacol, 2018, 54(6): 68-77.
- [12] 奚耀, 赵雷, 朱亮, 等. 升降散对脓毒症患者 Th1/Th2 失衡及相关调节因子的干预[J]. 实用医学杂志, 2017, 33(16): 2784-2788.
- [13] 陈新龙, 赵宏胜, 王林华, 等. 细菌性脓毒症患者外周血 Th1 Th2 细胞免疫应答检测及意义分析[J]. 中国急救医学, 2020, 40(1): 20-23.
- [14] YANG J, KIM E K, PARK H J, et al. The impact of bacteria-derived ultrafine dust particles on pulmonary diseases[J]. Exp Mol Med, 2020, 52(3): 338-347.
- [15] 陈丽君, 王佳, 张文静. 脓毒症患者 Th1/Th2 细胞失衡与疾病严重程度、肺损伤的关系[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2020, 12(10): 1315-1318.
- [16] WANG Q, LIAN G, SONG Y, et al. LncRNA MALAT1 promotes tumorigenesis and immune escape of diffuse large B cell lymphoma by sponging miR-195[J]. Life Sci, 2019, 108(42): 1280-1285.
- [17] XU X J, TANG Y M. Dilemmas in diagnosis and management of hemophagocytic lymphohistiocytosis in children[J]. World J Pediatr, 2020, 16(4): 333-340.
- [18] WEI B, CHEN Y, ZHOU W, et al. Interleukin IL-5 alleviates sepsis-induced acute lung injury by regulating the immune response in rats[J]. Bioengineered, 2021, 12(1): 2132-2139.