

外周血淋巴细胞亚群对静脉注射免疫球蛋白 无反应型川崎病患儿的预测价值

薛燕¹ 尹晶² 许俐¹ 党利亨¹ 王朝¹ 崔亚琼¹ 张新杰¹ 李崇巍²

(1. 天津市儿童医院(天津大学儿童医院)天津市儿科研究所/天津市儿童出生缺陷防治重点实验室, 天津 300134; 2. 天津市儿童医院(天津大学儿童医院)风湿免疫科, 天津 300134)

[摘要] **目的** 基于外周血淋巴细胞亚群及常见实验室检查指标, 构建静脉注射免疫球蛋白(intravenous immunoglobulin, IVIG)无反应型川崎病(Kawasaki disease, KD)预测评分体系。**方法** 纳入2021年1月—2023年3月于天津市儿童医院住院的KD患儿为研究对象(IVIG敏感型185例, IVIG无反应型41例)。选取年龄、性别匹配的健康儿童46例为对照。采用流式细胞仪检测外周血淋巴细胞亚群比例和绝对计数。采用多因素logistic回归分析探讨IVIG无反应型KD的预测因素, 并构建IVIG无反应型KD预测评分体系。**结果** 多因素logistic回归分析显示, CD4⁺T细胞绝对计数、自然杀伤细胞绝对计数、血清钠水平、球蛋白水平及总胆红素水平是IVIG无反应型KD的预测因素($P<0.05$)。基于这些预测因素建立的IVIG无反应型KD的预测评分体系的灵敏度为70.7%, 特异度为83.8%。**结论** 外周血淋巴细胞亚群可作为儿童IVIG无反应型KD的预测指标; 引入该指标建立的评分体系对预测儿童IVIG无反应型KD有较高的准确度。

[中国当代儿科杂志, 2023, 25(12): 1211-1218]

[关键词] 川崎病; 外周血淋巴细胞亚群; 静脉注射免疫球蛋白无反应; 评分体系; 儿童

Predictive value of peripheral blood lymphocyte subsets for children with intravenous immunoglobulin-resistant Kawasaki disease

XUE Yan, YIN Jing, XU Li, DANG Li-Heng, WANG Chao, CUI Ya-Qiong, ZHANG Xin-Jie, LI Chong-Wei. Department of Rheumatology & Immunology, Tianjin Children's Hospital (Children's Hospital of Tianjin University), Tianjin 300134, China (Li C-W, Email: leechongwei@126.com)

Abstract: Objective Based on peripheral blood lymphocyte subsets and common laboratory test indexes, this study aimed to construct a predictive scoring system for intravenous immunoglobulin (IVIG)-resistant Kawasaki disease (KD). **Methods** Children hospitalized in Tianjin Children's Hospital from January 2021 to March 2023 were included in the study (185 cases of IVIG-sensitive KD and 41 cases of IVIG-resistant KD). Forty-six healthy children matched for age and gender were selected as controls. The relative percentage and absolute counts of peripheral lymphocyte subsets were measured by flow cytometry. Multivariate logistic regression was used to identify the predictive factors for IVIG-resistant KD and to construct a predictive scoring system for predicting IVIG-resistant KD. **Results** The multivariate logistic regression analysis showed that CD4⁺T cell absolute count, natural killer cell absolute count, serum sodium level, globulin level, and total bilirubin level were identified as predictive factors for IVIG-resistant KD ($P<0.05$). The predictive scoring system based on these factors achieved a sensitivity of 70.7% and a specificity of 83.8% in predicting IVIG-resistant KD. **Conclusions** Peripheral blood lymphocyte subsets can serve as predictive indicators for IVIG-resistant KD in children. The introduction of this indicator and the establishment of a scoring system based on it can provide a higher accuracy in predicting IVIG-resistant KD in children.

[Chinese Journal of Contemporary Pediatrics, 2023, 25(12): 1211-1218]

Key words: Kawasaki disease; Peripheral blood lymphocyte subsets; Resistance to intravenous immunoglobulin; Scoring system; Child

[收稿日期] 2023-05-17; [接受日期] 2023-09-24

[基金项目] 天津市卫生健康科技项目(ZC20066); 天津市医学重点学科(专科)建设项目(TJYXZDXK-040A)。

[作者简介] 薛燕, 女, 硕士, 研究实习生。

[通信作者] 李崇巍, 男, 主任医师。Email: leechongwei@126.com。

川崎病 (Kawasaki disease, KD) 是一种急性免疫性血管炎性疾病, 心血管系统受累在KD中表现突出, 以冠状动脉病变 (coronary artery lesion, CAL) 最为多见, 已成为儿童后天性心脏病的最常见病因^[1]。目前, 静脉注射免疫球蛋白 (intravenous immunoglobulin, IVIG) 联合阿司匹林是KD的标准治疗, 但仍有10%~20%的患儿对该治疗无反应, 其CAL发生率较IVIG敏感患儿明显升高^[2]。早期识别IVIG无反应患儿, 有助于尽早采取积极的强化治疗, 从而降低IVIG耐药率和CAL发生率, 改善患儿预后^[3-4]。

目前KD的发病机制尚不清楚, 但在疾病的急性期能观察到中性粒细胞比例和绝对计数增多, 以及淋巴细胞比例和绝对计数减少, 因此固有免疫与适应性免疫的不平衡被认为是KD的关键致病因素^[5-6]。淋巴细胞亚群作为适应性免疫的重要组成部分, 是评估细胞免疫和体液免疫功能的重要指标。与正常对照相比, 急性KD患儿外周血中B、T细胞等显著降低, 可以选择性地从外周血招募到冠状动脉, 从而引起CAL^[7]。有研究表明, 淋巴细胞亚群参与多种免疫性疾病的发生发展, 可用于监测自身免疫性疾病的病情进展和治疗转归^[8]。淋巴细胞亚群在IVIG无反应型与IVIG敏感型KD之间存在显著差异, 但其在IVIG无反应型KD预测体系中的作用尚未见报道。本研究就治疗前外周血淋巴细胞亚群在IVIG无反应型KD中的特征及其在IVIG无反应型KD早期预测中的临床价值进行探讨, 建立IVIG无反应型KD的早期预测模型, 并评估其预测效能。

1 资料与方法

1.1 研究对象

回顾性纳入2021年1月—2023年3月期间在我院住院的KD患儿226例。纳入标准: (1) 根据2017年美国心脏协会的标准诊断的完全性KD或不完全性KD^[9]; (2) 发病10 d内入院, 且首次治疗均为IVIG (2 g/kg); (3) 临床资料完整, 且治疗前采集外周血进行淋巴细胞亚群检测。排除标准: (1) 复发KD、KD休克综合征; (2) 合并有其他自身免疫疾病、血液疾病或恶性肿瘤等; (3) 患儿于外院确诊KD, 且诊疗过程已使用IVIG治疗。

IVIG无反应型KD诊断标准: 首次IVIG输注结束后36 h, 患儿仍有持续发热的表现, 或在治疗

2~7 d后再次出现发热并伴随至少1种以上的KD临床症状^[9]。根据此标准, 将纳入对象分为IVIG敏感组 (185例) 和IVIG无反应组 (41例)。

另选取同期0.5~5岁的健康儿童46例作为对照组, 其年龄和性别构成与KD组相匹配。

1.2 临床资料收集

(1) 一般资料: 年龄、性别和发病时间等。

(2) IVIG治疗前常见实验室检查指标: 中性粒细胞比例 (neutrophil percentage, N%)、血小板计数 (platelet count, PLT)、谷草转氨酶 (aspartate aminotransferase, AST)、谷丙转氨酶 (alanine aminotransferase, ALT)、球蛋白 (globulin, GLB)、白蛋白 (albumin, ALB)、血清钠 (serum sodium, Na⁺)、总胆红素 (total bilirubin, TB)、C反应蛋白 (C reactive protein, CRP)、铁蛋白 (ferritin, Ferr)、红细胞沉降率 (erythrocyte sedimentation rate, ESR)、白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6)。

1.3 淋巴细胞亚群检测

所有患儿治疗前予EDTA抗凝管静脉采血2 mL, 采用流式细胞仪FACScanto II (BD Bioscience, 美国)、BD multitest 6-color TBNK试剂 (BD Bioscience, 美国) 及绝对计数微球试剂盒 (北京同生时代, 中国) 检测淋巴细胞亚群, 包括总T细胞 (CD3⁺)、CD4⁺T细胞 (CD3⁺CD4⁺)、CD8⁺T细胞 (CD3⁺CD8⁺)、B细胞 (CD3⁺CD19⁺) 和自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK细胞) (CD3⁺CD16⁺/CD56⁺) 的比例和绝对计数。

1.4 5种不同预测评分体系

应用Kobayashi等^[10]、Egami等^[11]、Sano等^[12]、Yang等^[13]、Wu等^[14] 5种评分体系 (表1), 对本研究226例KD患儿进行评分, 分别计算各个评分体系对本研究中IVIG无反应型KD患儿预测的灵敏度和特异度。

1.5 统计学分析

使用SPSS 26.0统计软件对数据进行统计学分析。呈正态分布的计量资料以均值±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 组间比较采用两样本 t 检验; 非正态分布资料以中位数 (四分位数间距) [$M (P_{25}, P_{75})$] 表示, 组间比较采用Mann-Whitney U 检验。计数资料以频数和百分率 (%) 表示, 组间比较使用卡方检验。将单因素分析后 $P < 0.05$ 的变量纳入多因素logistic回归分析, 评估IVIG无反应型KD的预测因素。为了便于操作, 对每个预测因素进行赋值以建立一个简化的预测评分体系^[14]。

表 1 5 种不同预测评分体系

评分体系	发表时间/国家	评分项目及赋分	预测风险及界值
Kobayashi 评分 ^[10]	2006 年/日本	年龄≤1 岁 (1 分); 病程 4 d 内使用 IVIG (2 分); N%≥80% (2 分); PLT ≤300×10 ⁹ /L (1 分); CRP≥80 mg/L (1 分); AST≥100 IU/L (2 分); Na ⁺ ≤133 mmol/L (2 分)	低风险 (0~3 分); 高风险 (≥4 分)
Egami 评分 ^[11]	2006 年/日本	年龄<0.5 岁 (1 分); 病程 4 d 内使用 IVIG (1 分); PLT≤300×10 ⁹ /L (1 分); CRP≥80 mg/L (1 分); ALT≥80 IU/L (2 分)	低风险 (0~2 分); 高风险 (≥3 分)
Sano 评分 ^[12]	2007 年/日本	CRP≥70 mg/L (1 分); TB≥0.9 mg/dL (1 分); AST≥200 IU/L (1 分)	低风险 (0~1 分); 高风险 (≥2 分)
Yang 评分 ^[13]	2019 年/中国	CRP≥90 mg/L (3 分); N%≥70% (2.5 分); Na ⁺ <135 mmol/L (3 分); ALB<35 g/L (2.5 分); TB>20 μmol/L (5 分)	低风险 (0~5 分); 高风险 (≥6 分)
Wu 评分 ^[14]	2020 年/中国	年龄≤2 岁 (3 分); 中性粒细胞计数≥10×10 ⁹ /L (3 分); 淋巴细胞计数 ≤3×10 ⁹ /L (3.5 分); 平均血小板体积≥10.5 fL (3.5 分); ALB≤37 g/L (2.5 分)	低风险 (0~6 分); 高风险 (≥6.5 分)

注: [IVIG] 静脉注射免疫球蛋白; [N%] 中性粒细胞比例; [PLT] 血小板计数; [CRP] C 反应蛋白; [AST] 谷草转氨酶; [Na⁺] 血清钠; [ALT] 谷丙转氨酶; [TB] 总胆红素; [ALB] 白蛋白。

2 结果

2.1 研究对象的一般资料

共 226 例 KD 患儿纳入研究, 其中 IVIG 敏感组 185 例, IVIG 无反应组 41 例。IVIG 敏感组中, 女性 73 例 (39.5%), 男性 112 例 (60.5%), 中位发病年龄 2 (1, 3) 岁。IVIG 无反应组 41 例, 其中女性 19 例 (46.3%), 男性 22 例 (53.7%), 中位发病年龄 2 (1, 3) 岁。两组之间年龄、性别的比较差异无统计学意义 (分别 $P=0.795$ 、 0.417)。

对照组共 46 例, 其中男性 31 例 (67.4%), 女

性 15 例 (32.6%), 中位年龄 2 (1, 3) 岁。KD 组共 226 例, 其中男性 134 例 (59.3%), 女性 92 例 (40.7%)。两组年龄、性别的比较差异无统计学意义 (分别 $P=0.599$ 、 0.305)。

2.2 IVIG 敏感组和 IVIG 无反应组常见临床数据的比较

与 IVIG 敏感组相比, IVIG 无反应组 Ferr、IL-6、AST、ALT、TB、N% 及 CRP 显著升高, Na⁺、GLB 及 PLT 显著降低, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。两组其余指标的比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 2。

表 2 IVIG 敏感组和 IVIG 无反应组常见临床数据的比较

指标	IVIG 敏感组 ($n=185$)	IVIG 无反应组 ($n=41$)	$t/Z/\chi^2$ 值	P 值
发病年龄≤1 岁 [例(%)]	21(11.4)	2(4.9)	1.538	0.215
病程 4 d 内使用 IVIG [例(%)]	82(44.3)	29(70.7)	2.523	0.112
Ferr [$M(P_{25}, P_{75})$, ng/mL]	157.4(107.9, 199.4)	177.3(121.6, 270.9)	-2.082	0.037
IL-6 [$M(P_{25}, P_{75})$, pg/mL]	48.2(25.7, 97.3)	139.5(66.7, 258.8)	-4.862	<0.001
Na ⁺ [$M(P_{25}, P_{75})$, mmol/L]	135(133, 137)	134(131, 135)	-3.393	0.001
AST [$M(P_{25}, P_{75})$, IU/L]	29.0(24.0, 40.5)	43.0(25.0, 103.0)	-2.380	0.017
ALT [$M(P_{25}, P_{75})$, IU/L]	19.0(12.0, 46.0)	50.0(14.0, 169.5)	-3.111	0.002
GLB ($\bar{x} \pm s$, g/L)	24 ± 4	23 ± 3	2.071	0.040
ALB [$M(P_{25}, P_{75})$, g/L]	39.7(37.6, 41.7)	39.3(37.7, 42.5)	-0.243	0.808
TB [$M(P_{25}, P_{75})$, μmol/L]	5.3(3.8, 7.6)	8.9(6.1, 17.5)	-4.863	<0.001
N% ($\bar{x} \pm s$, %)	64 ± 13	73 ± 12	-4.099	<0.001
PLT [$M(P_{25}, P_{75})$, ×10 ⁹ /L]	352.0(298.5, 437.5)	295.0(228.5, 364.0)	-3.691	<0.001
CRP [$M(P_{25}, P_{75})$, mg/L]	45.4(27.0, 74.6)	71.8(42.8, 86.1)	-2.676	0.007
ESR [$M(P_{25}, P_{75})$, mm/h]	57.0(42.5, 73.5)	51.0(34.5, 70.5)	-1.413	0.158

注: [Ferr] 铁蛋白; [IL-6] 白细胞介素-6; [Na⁺] 血清钠; [AST] 谷草转氨酶; [ALT] 谷丙转氨酶; [GLB] 球蛋白; [ALB] 白蛋白; [TB] 总胆红素; [N%] 中性粒细胞比例; [PLT] 血小板计数; [CRP] C 反应蛋白; [ESR] 红细胞沉降率; [IVIG] 静脉注射免疫球蛋白。

2.3 KD 组与对照组淋巴细胞亚群的比较

与对照组相比, KD 组 B 细胞比例及 CD4⁺/CD8⁺ 比值显著升高 ($P<0.05$), 总 T 细胞、CD8⁺T 细胞、

NK 细胞的比例显著下降 ($P<0.05$); KD 组总 T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、NK 细胞的绝对计数均明显低于对照组 ($P<0.05$)。见表 3。

表 3 KD 组和对照组淋巴细胞亚群的比较 $[M(P_{25}, P_{75})]$

指标	对照组 ($n=46$)	KD 组 ($n=226$)	Z 值	P 值
细胞比例 (%)				
总 T 细胞	63.7(60.4, 68.0)	60.3(53.5, 67.7)	-3.351	0.001
CD8 ⁺ T 细胞	22.0(19.2, 26.0)	18.1(14.3, 23.8)	-4.110	<0.001
CD4 ⁺ T 细胞	37.7(31.9, 40.0)	36.8(31.1, 41.1)	-0.133	0.894
NK 细胞	10.7(8.0, 13.2)	8.3(5.6, 12.2)	-2.806	0.005
B 细胞	23.4(18.0, 25.3)	27.6(22.2, 34.5)	-5.124	<0.001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 比值	1.6(1.2, 2.1)	1.9(1.4, 2.6)	-3.177	0.001
细胞绝对计数 (个/ μ L)				
总 T 细胞	3 063.0(2 373.2, 3 635.1)	1 939.8(1 268.9, 3 025.0)	-4.476	<0.001
CD8 ⁺ T 细胞	1 051.2(776.9, 1 442.5)	623.0(420.6, 947.7)	-5.741	<0.001
CD4 ⁺ T 细胞	1 697.0(1 215.7, 2 211.3)	1 199.8(704.5, 1 894.4)	-3.420	0.001
NK 细胞	512.8(365.6, 601.5)	268.9(144.5, 465.4)	-4.779	<0.001
B 细胞	1 016.6(688.8, 1 319.9)	925.4(562.7, 1 294.1)	-1.156	0.248

注: [NK 细胞] 自然杀伤细胞; [KD] 川崎病。

2.4 IVIG 无反应组和 IVIG 敏感组淋巴细胞亚群的比较

IVIG 无反应组总 T 细胞和 CD4⁺T 细胞的比例明显低于 IVIG 敏感组 ($P<0.05$); IVIG 无反应组总 T

细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、B 细胞及 NK 细胞的绝对计数明显低于 IVIG 敏感组 ($P<0.05$)。两组其余指标的比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。见表 4。

表 4 IVIG 敏感组和 IVIG 无反应组淋巴细胞亚群的比较 $[M(P_{25}, P_{75})]$

指标	IVIG 敏感组 ($n=185$)	IVIG 无反应组 ($n=41$)	Z 值	P 值
细胞比例 (%)				
总 T 细胞	61.2(55.1, 68.1)	57.2(49.7, 62.3)	-2.632	0.008
CD8 ⁺ T 细胞	18.1(14.4, 23.8)	18.2(13.3, 23.6)	-0.548	0.584
CD4 ⁺ T 细胞	37.7(32.5, 42.7)	31.9(27.8, 37.6)	-2.950	0.003
NK 细胞	8.3(5.4, 12.1)	8.4(5.6, 14.7)	-0.672	0.502
B 细胞	27.2(22.1, 33.7)	29.3(22.4, 40.0)	-1.216	0.224
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 比值	2.0(1.5, 2.7)	1.9(1.3, 2.4)	-0.983	0.325
细胞绝对计数 (个/ μ L)				
总 T 细胞	2 128.8(1 466.9, 3 208.3)	1 226.5(706.9, 2 265.8)	-3.967	<0.001
CD8 ⁺ T 细胞	652.6(447.7, 992.5)	424.2(203.0, 681.9)	-3.486	<0.001
CD4 ⁺ T 细胞	1 271.0(787.5, 1 981.4)	723.8(323.6, 1 513.8)	-3.988	<0.001
NK 细胞	277.2(155.5, 489.0)	192.3(77.4, 358.0)	-2.140	0.032
B 细胞	962.8(606.8, 1 406.9)	666.0(450.0, 958.1)	-3.185	0.001

注: [NK 细胞] 自然杀伤细胞; [IVIG] 静脉注射免疫球蛋白。

2.5 多因素 logistic 回归分析

单因素分析后, 将 IVIG 敏感组与 IVIG 无反应组之间差异有统计学意义的变量 ($P<0.05$) 纳入多因素 logistic 回归分析, 共纳入 17 个连续变量作为

自变量, 包括 10 个常见实验室检查指标 (Ferr、IL-6、Na⁺、AST、ALT、GLB、TB、N%、PLT、CRP) 及 7 个淋巴细胞亚群指标 (总 T 细胞和 CD4⁺T 细胞比例, 以及总 T 细胞、CD8⁺T 细胞、

CD4⁺T 细胞、NK 细胞、B 细胞绝对计数)，以患儿对 IVIG 治疗的敏感性为因变量。多因素 logistic 回归分析显示，CD4⁺T 细胞绝对计数、NK 细胞绝对计数、Na⁺、GLB 和 TB 这 5 个变量是 IVIG 无反应型 KD 的预测因素 ($P<0.05$)，见表 5，并建立 logistic 回归模型： $Y(X) = 26.863 - 0.001X_1(\text{CD4}^+\text{T 细胞绝对计数}) + 0.002X_2(\text{NK 细胞绝对计数}) - 0.193X_3$

$(\text{Na}^+) - 0.117X_4(\text{GLB}) + 0.078X_5(\text{TB})$ 。受试者操作特征曲线 (receiver operating characteristic curve, ROC 曲线) 分析显示，以模型得分 ≥ -1.51 为截断值，该模型预测 IVIG 无反应型 KD 的灵敏度、特异度分别为 70.7%、78.9%，约登指数为 0.496，曲线下面积 (area under the curve, AUC) 为 0.801 (95%CI: 0.725~0.878)。

表 5 IVIG 无反应型 KD 影响因素的 logistic 回归分析

指标	<i>B</i>	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95%CI	
						下限	上限
常数项	26.863	12.614	4.535	0.033			
CD4 ⁺ T 细胞绝对计数	-0.001	0.000	7.290	0.007	0.999	0.998	1.000
NK 细胞绝对计数	0.002	0.001	6.780	0.009	1.002	1.001	1.004
Na ⁺	-0.193	0.091	4.464	0.035	0.825	0.689	0.986
GLB	-0.117	0.057	4.211	0.040	0.889	0.795	0.995
TB	0.078	0.028	7.749	0.005	1.081	1.023	1.142

注：[NK 细胞] 自然杀伤细胞；[Na⁺] 血清钠；[GLB] 球蛋白；[TB] 总胆红素；[KD] 川崎病；[IVIG] 静脉注射免疫球蛋白。各变量均为连续变量。

2.6 简化评分体系

根据 ROC 曲线分析结果，将以上 logistic 回归模型中的 5 个变量转化为二分类变量，再次进行多因素 logistic 回归分析。各变量的截断值如下：CD4⁺T 细胞绝对计数 ≤ 960.9 个/ μL ，NK 细胞绝对计数 ≤ 157.2 个/ μL ，Na⁺ ≤ 135 mmol/L，GLB ≤ 22.4 g/L，TB ≥ 5.9 $\mu\text{mol/L}$ 。多因素 logistic 回归分析结果显示，CD4⁺T 细胞绝对计数 ≤ 960.9 个/ μL ，Na⁺ ≤ 135 mmol/L，GLB ≤ 22.4 g/L，TB ≥ 5.9 $\mu\text{mol/L}$ 为 IVIG 无反应型 KD 的预测因素。根据各预测因素的 *OR* 值对变量赋分 (表 6)，建立评分体系：CD4⁺T 细胞绝对计数 ≤ 960.9 个/ μL 为 3 分，Na⁺ ≤ 135 mmol/L 为 3 分，GLB ≤ 22.4 g/L 为 3 分，TB ≥ 5.9 $\mu\text{mol/L}$ 为 5 分。ROC 曲线分析显示，总分 ≥ 11 分为截断值时，此评分体系预

测 IVIG 无反应型 KD 的约登指数最大 (0.545)，灵敏度、特异度分别为 70.7%、83.8%，AUC 为 0.816 (95%CI: 0.745~0.888)，见表 7 和图 1。

2.7 与已有的 5 种评分体系预测 IVIG 无反应型 KD 的预测效能的比较

将 5 种国内外评分体系^[10-14]分别应用于本研究的 226 例 KD 患儿，对 IVIG 无反应型 KD 进行预测。结果显示，Sano 评分^[12]、Yang 评分^[13]、Wu 评分^[14]的灵敏度均低于 50%，Kobayashi 评分^[10]和 Egami 评分^[11]的特异度均低于 75%，5 种评分体系的约登指数均低于 0.4 (范围：0.174~0.358)。与以上 5 种评分体系相比，本研究建立的评分体系的灵敏度和特异度明显增高，约登指数为 0.545，见表 8。

表 6 多因素 logistic 回归法分析 IVIG 无反应型 KD 的预测指标

指标	<i>B</i>	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>P</i>	<i>OR</i>	95%CI		赋分
						下限	上限	
常数项	-4.164	0.586	50.558	<0.001				
CD4 ⁺ T 细胞绝对计数 ≤ 960.9 个/ μL	1.185	0.397	8.909	0.003	3.271	1.502	7.122	3
Na ⁺ ≤ 135 mmol/L	0.964	0.468	4.273	0.040	2.622	1.047	6.566	3
GLB ≤ 22.4 g/L	1.133	0.402	7.944	0.005	3.104	1.412	6.825	3
TB ≥ 5.9 $\mu\text{mol/L}$	1.520	0.466	10.637	0.001	4.570	1.834	11.391	5

注：[Na⁺] 血清钠；[GLB] 球蛋白；[TB] 总胆红素；[KD] 川崎病；[IVIG] 静脉注射免疫球蛋白。

表 7 不同截断值下本研究建立的预测评分体系的预测效能

截断值	灵敏度 (%)	特异度 (%)	约登指数
3 分	97.6	15.7	0.133
6 分	92.7	51.4	0.441
8 分	82.9	63.8	0.467
9 分	70.7	82.2	0.529
11 分	70.7	83.8	0.545
14 分	22.0	96.2	0.182

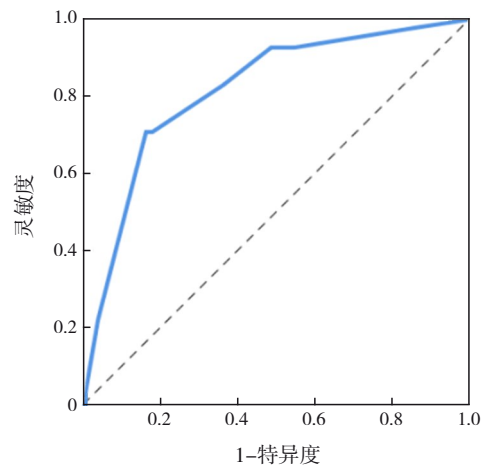


图 1 预测 IVIG 无反应型 KD 的 ROC 曲线

表 8 6 种评分体系对 IVIG 无反应型 KD 的预测效能

评分体系	AUC	灵敏度 (%)	特异度 (%)	阳性预测值 (%)	阴性预测值 (%)	约登指数
Kobayashi 评分 ^[10]	0.618	61.0	62.7	26.88	87.97	0.237
Egami 评分 ^[11]	0.679	63.4	72.4	33.77	89.93	0.358
Sano 评分 ^[12]	0.614	24.4	98.4	76.92	85.45	0.228
Yang 评分 ^[13]	0.587	29.3	88.1	35.29	84.90	0.174
Wu 评分 ^[14]	0.614	45.0	77.9	30.00	87.06	0.229
本研究建立的评分	0.816	70.7	83.8	43.08	92.35	0.545

注：[AUC] 曲线下面积；[KD] 川崎病；[IVIG] 静脉注射免疫球蛋白。

3 讨论

现有 IVIG 无反应型 KD 评分体系主要基于临床特点和炎症指标所构建，缺乏免疫指标，存在灵敏度不高的缺陷。KD 作为一种急性的自身免疫性血管炎，免疫机制在其中发挥着重要作用。KD 发病初期存在免疫细胞活化，免疫指标的引入或许能增加预测体系的效能。因此本研究检测总 T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞及 NK 细胞在急性期治疗前的表达水平，结合现有评分体系提示的多个预测因素，构建预测评分体系，探讨其在 IVIG 无反应型 KD 预测中的作用。

近年越来越多的证据表明，固有免疫与适应性免疫的不平衡是 KD 的关键致病因素^[7, 15]。目前 KD 患儿外周血中总淋巴细胞比率和绝对计数减少已成共识^[16-17]，但各淋巴细胞亚群的变化趋势仍有争议，尤其是 B 细胞和 T 细胞亚群的比例及绝对计数^[18-20]。为此，2022 年 Xie 等^[7]通过生物信息学方法，收集高通量基因表达数据库中所有 KD 相关数据集，分析 101 个健康儿童及 480 个急性期 KD 患儿的资料，归纳淋巴细胞亚群比例和绝对计数

的变化趋势，建立 KD 外周血免疫细胞图谱，显示 KD 患儿外周血中总 T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、B 细胞的比例和绝对计数均明显低于健康儿童，NK 细胞的绝对计数明显低于健康儿童。本研究中淋巴细胞亚群（除 B 细胞外）的绝对计数结果与之一致；总 T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK 细胞比例结果也与之一致，不同在于本研究中 KD 患儿 CD4⁺T 细胞比例与健康对照相比没有显著差异，B 细胞比例则明显高于健康儿童。这可能是由于细胞比例易受个体的亚群及总淋巴细胞两者降低程度的影响，导致结果不稳定。因此，我们认为淋巴细胞亚群绝对计数更能客观反映免疫细胞变化趋势。此外，KD 患儿的各淋巴细胞亚群绝对计数还与 IVIG 敏感性有关。本研究结果表明 IVIG 无反应型 KD 患儿治疗前的总 T 细胞、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、NK 细胞及 B 细胞绝对计数明显低于 IVIG 敏感型，与国内外研究结果^[18, 20]基本一致，但能否作为预测 IVIG 治疗反应的潜在生物标志物尚缺乏研究。

在本研究建立的评分体系中，CD4⁺T 细胞绝对计数 ≤ 960.9 个/ μL 为 KD 患儿 IVIG 无反应的预测因

素。既往研究发现KD小鼠模型中早期损伤的冠状动脉壁可见大量CD4⁺T细胞浸润,而正常小鼠冠状动脉中未见到CD4⁺T细胞^[6],提示CD4⁺T细胞参与KD急性期的血管壁炎症反应,导致外周血中CD4⁺T细胞过度消耗。而本研究发现IVIG无反应组外周血中CD4⁺T细胞绝对计数低于IVIG敏感组,推测IVIG无反应组有更多CD4⁺T细胞参与血管壁的炎症反应。在本研究建立的logistic回归模型中,除了CD4⁺T细胞绝对计数,NK细胞绝对计数也是IVIG无反应的预测因素。Choi等^[21]发现在诊断时(IVIG输注之前),IVIG无反应型KD患者的CD56⁺CD16⁺亚型NK细胞水平明显低于IVIG敏感型,且其水平与IVIG反应性、发热持续时间、CAL以及颈部淋巴结等临床表现相关,也与氨基酸B型钠尿肽前体、CRP和ALT水平以及淋巴细胞和中性粒细胞计数有关。但需要进一步的研究来验证CD56⁺CD16⁺亚型NK细胞的KD特异性,特别是在IVIG治疗的背景下,并阐明NK细胞受体表达和功能失调的分子机制。

已有研究表明淋巴细胞亚群绝对计数对儿童难治性肺炎支原体肺炎具有早期预测作用^[22]。本研究将淋巴细胞亚群绝对计数纳入IVIG无反应型KD预测评分体系中,建立的评分体系包括接受IVIG治疗前的4个变量:CD4⁺T细胞绝对计数 $\leq 960.9/\mu\text{L}$ (3分)、 $\text{Na}^+ \leq 135 \text{ mmol/L}$ (3分)、 $\text{GLB} \leq 22.4 \text{ g/L}$ (3分)、 $\text{TB} \geq 5.9 \mu\text{mol/L}$ (5分)。当总分 ≥ 11 分时,KD患儿被认定为IVIG耐药的高危人群,应警惕IVIG治疗可能无反应。此评分体系预测IVIG无反应型KD的AUC、灵敏度和特异度分别为0.816、70.7%和83.8%,预测效能优于其他5种国内外评分体系^[10-14]。

本研究为单中心回顾性研究,可能存在选择偏倚,这是本研究的局限性。另外,本研究建立的IVIG无反应型KD的预测评分体系的效能需要进一步内部验证和外部验证。因此,未来的研究应着重于前瞻性的随机对照研究,以优化预测模型,并需要更严格的内部和外部验证。

综上所述,本研究显示,外周血淋巴细胞亚群的检测可在预测IVIG无反应型KD中发挥重要作用。本研究基于外周血淋巴细胞亚群及常见实验室检查指标建立的预测评分体系可用于预测KD患儿是否对IVIG有反应,与目前使用的风险评分体系相比,具有更好的准确性,对指导临床医生选择合适的个体化治疗以减少KD患儿CAL的发生具

有重要意义。

利益冲突声明:所有作者声明无利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Brogan P, Burns JC, Cornish J, et al. Lifetime cardiovascular management of patients with previous Kawasaki disease[J]. *Heart*, 2020, 106(6): 411-420. PMID: 31843876. PMCID: PMC7057818. DOI: 10.1136/heartjnl-2019-315925.
- [2] 陕西省川崎病诊疗中心, 陕西省儿童内科疾病临床医学研究中心, 陕西省人民医院儿童病院, 等. 静脉输注免疫球蛋白在儿童川崎病中应用的专家共识[J]. *中国当代儿科杂志*, 2021, 23(9): 867-876. PMID: 34535199. PMCID: PMC8480171. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2107110.
- [3] Ae R, Abrams JY, Maddox RA, et al. Corticosteroids added to initial intravenous immunoglobulin treatment for the prevention of coronary artery abnormalities in high-risk patients with Kawasaki disease[J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(17): e015308. PMID: 32811256. PMCID: PMC7660775. DOI: 10.1161/JAHA.119.015308.
- [4] Hamada H, Suzuki H, Onouchi Y, et al. Efficacy of primary treatment with immunoglobulin plus ciclosporin for prevention of coronary artery abnormalities in patients with Kawasaki disease predicted to be at increased risk of non-response to intravenous immunoglobulin (KAICA): a randomised controlled, open-label, blinded-endpoints, phase 3 trial[J]. *Lancet*, 2019, 393(10176): 1128-1137. PMID: 30853151. DOI: 10.1016/S0140-6736(18)32003-8.
- [5] Hedrich CM, Schnabel A, Hospach T. Kawasaki disease[J]. *Front Pediatr*, 2018, 6: 198. PMID: 30042935. PMCID: PMC6048561. DOI: 10.3389/fped.2018.00198.
- [6] Noval Rivas M, Lee Y, Wakita D, et al. CD8⁺ T cells contribute to the development of coronary arteritis in the *Lactobacillus casei* cell wall extract-induced murine model of Kawasaki disease[J]. *Arthritis Rheumatol*, 2017, 69(2): 410-421. PMID: 27696768. PMCID: PMC5274597. DOI: 10.1002/art.39939.
- [7] Xie Z, Huang Y, Li X, et al. Atlas of circulating immune cells in Kawasaki disease[J]. *Int Immunopharmacol*, 2022, 102: 108396. PMID: 34890998. DOI: 10.1016/j.intimp.2021.108396.
- [8] 熊晓, 余理, 冯园, 等. 淋巴细胞亚群在儿科临床的应用[J]. *中华临床免疫和变态反应杂志*, 2022, 16(5): 504-510. DOI: 10.3969/j.issn.1673-8705.2022.05.010.
- [9] McCrindle BW, Rowley AH, Newburger JW, et al. Diagnosis, treatment, and long-term management of Kawasaki disease: a scientific statement for health professionals from the American Heart Association[J]. *Circulation*, 2017, 135(17): e927-e999. PMID: 28356445. DOI: 10.1161/CIR.0000000000000484.
- [10] Kobayashi T, Inoue Y, Takeuchi K, et al. Prediction of intravenous immunoglobulin unresponsiveness in patients with Kawasaki disease[J]. *Circulation*, 2006, 113(22): 2606-2612. PMID: 16735679.

- DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.105.592865.
- [11] Egami K, Muta H, Ishii M, et al. Prediction of resistance to intravenous immunoglobulin treatment in patients with Kawasaki disease[J]. *J Pediatr*, 2006, 149(2): 237-240. PMID: 16887442. DOI: 10.1016/j.jpeds.2006.03.050.
- [12] Sano T, Kurotobi S, Matsuzaki K, et al. Prediction of non-responsiveness to standard high-dose gamma-globulin therapy in patients with acute Kawasaki disease before starting initial treatment[J]. *Eur J Pediatr*, 2007, 166(2): 131-137. PMID: 16896641. DOI: 10.1007/s00431-006-0223-z.
- [13] Yang S, Song R, Zhang J, et al. Predictive tool for intravenous immunoglobulin resistance of Kawasaki disease in Beijing[J]. *Arch Dis Child*, 2019, 104(3): 262-267. PMID: 30026252. DOI: 10.1136/archdischild-2017-314512.
- [14] Wu S, Liao Y, Sun Y, et al. Prediction of intravenous immunoglobulin resistance in Kawasaki disease in children[J]. *World J Pediatr*, 2020, 16(6): 607-613. PMID: 32232677. DOI: 10.1007/s12519-020-00348-2.
- [15] Lo MS. A framework for understanding Kawasaki disease pathogenesis[J]. *Clin Immunol*, 2020, 214: 108385. PMID: 32173601. DOI: 10.1016/j.clim.2020.108385.
- [16] Matsuguma C, Wakiguchi H, Suzuki Y, et al. Dynamics of immunocyte activation during intravenous immunoglobulin treatment in Kawasaki disease[J]. *Scand J Rheumatol*, 2019, 48(6): 491-496. PMID: 31272272. DOI: 10.1080/03009742.2019.1604992.
- [17] Zhang C, Zhang X, Shen J, et al. Changes in peripheral blood neutrophils, lymphocytes and IL-10 in children with Kawasaki disease from different age groups undergoing intravenous immunoglobulin: a retrospective study[J]. *Mediators Inflamm*, 2020, 2020: 5213451. PMID: 33293897. PMCID: PMC7691014. DOI: 10.1155/2020/5213451.
- [18] Ding Y, Li G, Xiong LJ, et al. Profiles of responses of immunological factors to different subtypes of Kawasaki disease[J]. *BMC Musculoskelet Disord*, 2015, 16: 315. PMID: 26497060. PMCID: PMC4619387. DOI: 10.1186/s12891-015-0744-6.
- [19] Burns JC, Hsieh LE, Kumar J, et al. Characterization of circulating immune cells in acute Kawasaki disease suggests exposure to different antigens[J]. *Clin Exp Immunol*, 2020, 202(3): 263-272. PMID: 32812215. PMCID: PMC7670149. DOI: 10.1111/cei.13506.
- [20] 黎璇, 钱为国, 钱光辉, 等. 661例川崎病急性期淋巴细胞亚群变化分析[J]. *中国血液流变学杂志*, 2019, 29(2): 155-157. DOI: 10.3969/j.issn.1009-881X.2019.02.008.
- [21] Choi IS, Lee MJ, Choi SA, et al. Circulating immune cell profile and changes in intravenous immunoglobulin responsiveness over the disease course in children with Kawasaki disease[J]. *Front Pediatr*, 2022, 9: 792870. PMID: 35186822. PMCID: PMC8855096. DOI: 10.3389/fped.2021.792870.
- [22] 李娜, 穆亚平, 陈静, 等. 淋巴细胞亚群绝对计数对儿童难治性肺炎支原体肺炎的早期预测作用[J]. *中国当代儿科杂志*, 2019, 21(6): 511-516. PMID: 31208501. PMCID: PMC7389588. DOI: 10.7499/j.issn.1008-8830.2019.06.003.
- (本文编辑: 邓芳明)
- (版权所有©2023中国当代儿科杂志)