

论著 · 临床研究

## 肺泡灌洗液 Th17 细胞水平对脓毒症 急性肺损伤患儿预后的影响

熊燚 王健 魏笛 赵君 叶梅

(遵义市第二人民医院急诊科, 贵州 遵义 563000)

**[摘要]** **目的** 研究脓毒症急性肺损伤患儿肺泡灌洗液 Th17 细胞水平的变化及与预后的关系。**方法** 以 50 例脓毒症急性肺损伤患儿为研究对象, 采用流式细胞仪检测肺泡灌洗液 Th17 细胞比例, 同时在入院 24 h 内对患儿进行小儿危重病例评分 (PCIS)。按 PCIS 评分分为极危重组、危重组及非危重组; 根据临床预后分为存活组及死亡组; 分别比较 Th17 细胞在各组的差异及其与 PCIS 分数的相关性。**结果** 随着病情危重程度的增加, 肺泡灌洗液中 Th17 细胞水平逐渐增高, 差异有统计学意义 ( $P<0.05$ )。Th17 细胞水平与 PCIS 评分呈负相关 ( $r=-0.853$ ,  $P<0.01$ )。死亡患儿 Th17 细胞水平显著高于存活患儿, PCIS 评分低于存活患儿 ( $P<0.05$ )。**结论** 脓毒症急性肺损伤患儿肺泡灌洗液中 Th17 细胞水平的增加与其病情严重程度及预后密切相关, 提示其可作为病情严重程度及预后的预测指标。 [中国当代儿科杂志, 2015, 17(9): 942-945]

**[关键词]** Th17 细胞; 脓毒症; 急性肺损伤; 小儿危重病例评分; 儿童

### Prognostic values of Th17 cells level in bronchoalveolar lavage fluid in children of sepsis with acute lung injury

XIONG Yi, WANG Jian, WEI Di, ZHAO Jun, YE Mei. Department of Emergency Medicine, Second People's Hospital of Zunyi City, Zunyi 563000, China (Email: xiongyi060608@163.com)

**Abstract: Objective** To observe the changes in Th17 cell levels in bronchoalveolar lavage fluid in children of sepsis with acute lung injury and the relationship between the Th17 cell levels and prognosis. **Methods** Fifty children of sepsis with acute lung injury were enrolled in the study. The percentages of Th17 cells in bronchoalveolar lavage fluid were measured by flow cytometry. The patients of sepsis with acute lung injury were classified into three groups based on the Pediatric Critical Illness Score (PCIS): extremely critical, critical and non-critical. According to the clinical prognosis, the patients were classified into survival and death groups. Th17 cell levels were compared between the two groups. The relationship between Th17 cell levels and the PCIS scores was analyzed. **Results** With the increase in the severity of sepsis, Th17 cell levels in bronchoalveolar lavage fluid were gradually increased ( $P<0.05$ ). The Th17 cell levels were negatively correlated to the PCIS scores ( $r=-0.853$ ;  $P<0.01$ ). The Th17 cell levels were significantly higher in the death group than in the survival group. Moreover, compared with the survival group, the PCIS scores were lower in the death group ( $P<0.05$ ). **Conclusions** The increased Th17 cell levels in children of sepsis with acute lung injury are closely related to the severity and prognosis of patients, suggesting that Th17 cell levels can be used as a predictor of the severity and prognosis. [Chin J Contemp Pediatr, 2015, 17(9): 942-945]

**Key words:** Th17 cell; Sepsis; Acute lung injury; Pediatric Critical Illness Score; Child

脓毒症是儿童急性肺损伤最常见的诱因, 也是造成危重症患儿死亡的主要原因之一<sup>[1]</sup>, 因此寻找到能准确预测患儿病情并评估其预后的指标, 具有重要的临床意义。近年来, 研究发现了一种

新的 T 细胞亚群 (Th17 细胞), 其分泌的 IL-17 在炎症调控网络过程中发挥着重要的作用<sup>[2]</sup>。Th17 细胞在机体外周血及组织中广泛存在, 通过上调炎症反应, 参与了疾病的发生发展过程<sup>[3]</sup>。研究证

[收稿日期] 2014-12-25; [接受日期] 2015-03-02

[基金项目] 遵义市科技计划基金项目 (遵市科合社字 [2011]39 号)。

[作者简介] 熊燚, 男, 硕士, 主治医师。

实 Th17 细胞与哮喘及慢性阻塞性肺疾病的预后具有密切的相关性<sup>[4-5]</sup>。同时有研究显示脓毒症患者外周血 Th17 细胞比例明显升高,证实了 Th17 细胞参与了脓毒症的发生发展过程<sup>[6]</sup>,但 Th17 细胞与脓毒症肺损伤的相关性及预后的关系如何,目前尚不完全清楚。本研究拟通过检测脓毒症急性肺损伤患儿肺泡灌洗液中 Th17 细胞比例及其与小儿危重病例评分(PCIS)的相关分析,以期探讨 Th17 细胞在预测脓毒症急性肺损伤的病情严重程度及预后评价的临床价值。

## 1 资料与方法

### 1.1 研究对象

选取 2012 年 8 月至 2014 年 8 月在我院儿科重症监护病房收治住院的脓毒症肺损伤患儿 50 例。所有患儿均符合儿童脓毒症诊断标准,同时伴有急性呼吸窘迫综合征的表现。其中男 26 例、女 24 例,平均年龄  $27 \pm 25$  个月。原发疾病主要包括中毒性细菌痢疾 11 例、颅内感染 5 例、重症肺炎 19 例、皮肤感染 4 例、感染性心内膜炎 7 例及中毒(煤气/食物)4 例。

脓毒症诊断标准:依据《2012 国际严重脓毒症和脓毒症休克治疗指南》<sup>[7]</sup>,包括具有以下临床表现两项:体温  $>38^\circ\text{C}$  或  $<36^\circ\text{C}$ ;心率  $>90$  次/min;呼吸急促,频率  $>20$  次/min,或过度通气, $\text{PaCO}_2 < 32$  mm Hg;外周血白细胞计数  $>12 \times 10^9/\text{L}$  或  $<4 \times 10^9/\text{L}$ ,或未成熟中性粒细胞比例  $>10\%$ 。

急性肺损伤诊断标准:有相应的原发病或诱因和危险因素;急性起病,出现呼吸困难或窘迫;低氧血症,氧合指数( $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$ )  $<300$ ;胸片显示双肺浸润,肺动脉楔压  $<18$  mm Hg,无左心房高压表现<sup>[8]</sup>。排除标准:排除免疫缺陷疾病、自身免疫性疾病、肿瘤、肝炎及近期使用免疫抑制剂治疗的患儿。

支气管肺泡灌洗指征:诊断不明的肺部感染;有发热及肺部罗音;进行性的呼吸困难;胸片显示双肺浸润性炎性改变<sup>[9]</sup>。

PCIS 评分:依据中华医学会儿科学分会制定的 PCIS 标准对患儿进行评分。 $>80$  分为非危重组;71~80 分为危重组; $<70$  分为极危重组。

本研究获得了我院伦理委员会的批准及家长书面知情同意。

### 1.2 临床资料收集

记录患儿入院 24 h 内常规检查指标的检测结果,包括血常规、电解质、肝肾功能、血气分析、X 线胸片及痰培养等,以及支气管肺泡灌洗液中 Th17 细胞检测结果。

### 1.3 支气管肺泡灌洗液采集

患儿行支气管镜检查前均禁食 12 h,术前 60 min 肌注阿托品 0.02 mg/kg 以减少呼吸道分泌物,术前 10 min 静脉推注咪达唑仑 0.2 mg/kg 镇静。行支气管镜检查时,首先进入健侧支气管检查,再进入患侧进行灌洗,灌洗液采用  $37^\circ\text{C}$  生理盐水,按 10 mL/kg 流量,每次注入 5~10 mL。负压吸取灌洗液,1000 r/min,离心 5 min,取上清,测量细胞浓度。

### 1.4 流式细胞技术检测肺泡灌洗液 Th17 细胞比例

将上清液移入 EP 管内,在避光条件下加入 CD4 抗体 20  $\mu\text{L}$ ,孵育 20 min;再加入抗 IL-17 抗体 20  $\mu\text{L}$ ,孵育 15 min,加入染色固定液 1 mL,震荡混匀后上机检测。

### 1.5 统计学分析

采用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用成组  $t$  检验;计数资料用率(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,相关分析采用 Spearman 相关法, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 不同危重组间 Th17 细胞比例水平的比较

极危重组、危重组及非危重组间肺泡灌洗液中 Th17 细胞比例的差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),其中极危重组 Th17 细胞比例最高,危重组次之,非危重组最低( $P < 0.05$ ),见图 1、表 1。3 组间 PCIS 评分及病死率差异也具有统计学意义,其中极危重组患儿病死率最高,危重组次之,非危重组最低,见表 1。

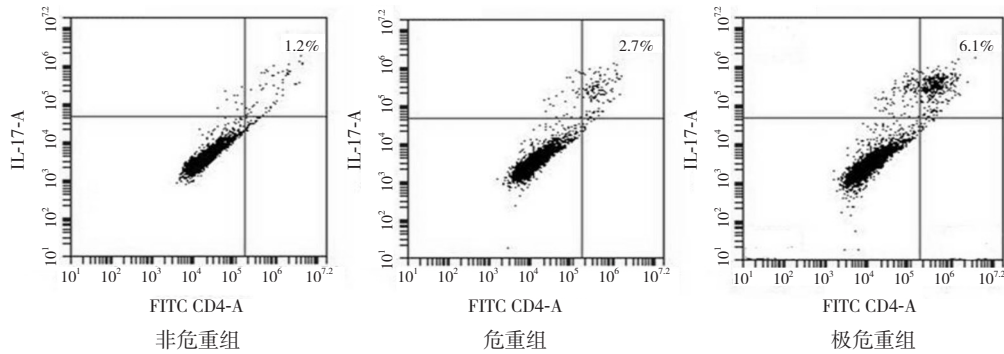


图 1 流式细胞仪检测各组间 Th17 细胞比例

表 1 不同危重组患儿 Th17 细胞比例、PCIS 评分及病死率比较

| 组别         | 例数 | Th17 细胞<br>( $\bar{x} \pm s$ , %) | PCIS<br>( $\bar{x} \pm s$ , 分) | 病死率<br>[ $n(\%)$ ]   |
|------------|----|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| 非危重组       | 20 | $1.2 \pm 0.7$                     | $85 \pm 7$                     | 1(5)                 |
| 危重组        | 16 | $2.7 \pm 0.5^a$                   | $72 \pm 6^a$                   | 3(19)                |
| 极危重组       | 14 | $6.1 \pm 0.7^{a,b}$               | $64 \pm 5^{a,b}$               | 8(57) <sup>a,b</sup> |
| <i>F</i> 值 |    | 6.31                              | 4.13                           | 9.35                 |
| <i>P</i> 值 |    | 0.003                             | 0.028                          | 0.013                |

注: a 示与非危重组比较,  $P < 0.05$ ; b 示与危重组比较,  $P < 0.05$ 。

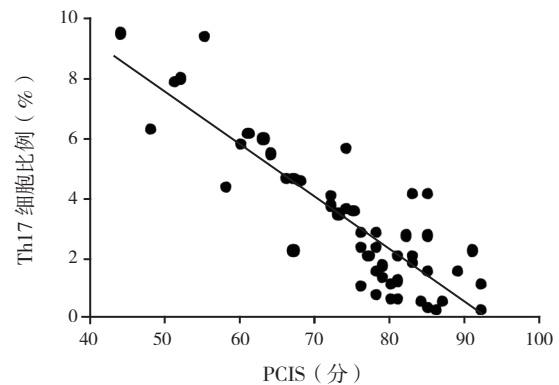


图 2 Th17 细胞水平与 PCIS 评分的相关性

## 2.2 不同预后组间 Th17 细胞比例水平的比较

死亡组肺泡灌洗液中 Th17 细胞比例明显高于存活组; 同时, PCIS 评分也明显低于存活组, 差异有统计学意义 ( $P < 0.05$ ), 见表 2。将 Th17 细胞比例与患儿病死率进行相关分析, 结果显示两者呈正相关 ( $r = 0.36$ ,  $P < 0.001$ )。

表 2 不同预后组患儿 Th17 细胞亚群水平及 PCIS 比较  
( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别         | 例数 | Th17 细胞 (%)     | PCIS (分)     |
|------------|----|-----------------|--------------|
| 存活组        | 38 | $1.8 \pm 0.8$   | $78 \pm 8$   |
| 死亡组        | 12 | $4.9 \pm 1.1^a$ | $63 \pm 5^a$ |
| <i>t</i> 值 |    | 2.56            | 4.92         |
| <i>P</i> 值 |    | 0.019           | $< 0.001$    |

注: a 示与存活组比较,  $P < 0.05$ 。

## 2.3 Th17 细胞比例与 PCIS 评分的相关性分析

脓毒症肺损伤患儿肺泡灌洗液 Th17 细胞比例与 PCIS 评分呈显著负相关, Th17 细胞比例越高, PCIS 评分越低, 病情越危重 ( $r = -0.853$ ,  $P < 0.001$ ), 见图 2。

## 3 讨论

脓毒症是由不同感染因素导致机体发生失控性炎症反应, 进一步引起全身多器官功能障碍, 其中急性肺损伤是重症监护病房脓毒症患者死亡的主要原因<sup>[10]</sup>。目前, 脓毒症急性肺损伤的早期临床诊断及预后仍缺乏特异性的指标。降钙素原、C 反应蛋白及抗凝血酶Ⅲ等作为传统的炎症指标, 对于诊断脓毒症急性肺损伤有一定的参考价值, 但也并不能很好地反映脓毒症急性肺损伤的严重程度及预后<sup>[11]</sup>。因此, 寻找一种能准确预测脓毒症急性肺损伤病情及预后的指标, 具有重要的临床意义。

随着脓毒症急性肺损伤相关研究的不断深入, 大量研究证实机体免疫功能在脓毒症急性肺损伤的发生发展过程中起着重要的作用<sup>[12]</sup>。T 淋巴细胞亚群维持着人体正常的细胞免疫功能, 其比例的变化参与了炎症性疾病的发生过程。Th17 细胞主要由原始 T 细胞分化, 以分泌 IL-17 为主, 参与上调炎症反应<sup>[2]</sup>。相关研究显示, Th17 细胞比例可以反映哮喘、类风湿性关节炎及支气管炎等

疾病的严重程度及预后<sup>[3,13]</sup>。本研究发现肺泡灌洗液中 Th17 细胞与病情严重程度有显著相关性,即 Th17 与 PCIS 评分呈负相关,提示在脓毒症急性肺损伤患儿中,病情越危重,其肺泡灌洗液中 Th17 细胞水平越高,相应的预后也越差。同时本研究结果显示,脓毒症急性肺损伤的死亡患儿肺泡灌洗液 Th17 细胞水平显著高于存活患儿,PCIS 评分也明显低于存活患儿,且随着病情严重程度的增加,Th17 细胞水平越高,病死率也越高,提示肺泡灌洗液 Th17 细胞水平可反映脓毒症肺损伤的病情严重程度及预后。

相关研究显示,全身炎症反应综合征患者体内 Th17 细胞呈现高水平,在机体炎症反应及免疫功能方面具有重要作用<sup>[14]</sup>。Th17 细胞能分泌 IL-17,有效动员中性粒细胞,促进炎症反应的进一步放大。进一步研究证实,抑制体内 Th17 细胞及其分泌的 IL-17 水平,可以明显降低炎症反应,改善炎症性疾病患者预后<sup>[15]</sup>。针对脓毒症急性肺损伤患者,通过检测肺泡灌洗液 Th17 细胞水平,不仅可作为评判病情严重程度及预后的有效指标,还可能为其治疗提供新的靶点。

综上,脓毒症急性肺损伤患儿体内 Th17 细胞水平随着病情的发展,呈明显升高趋势,能有效地反映病情的严重程度,同时对预后评估也有一定的参考价值。

#### [参 考 文 献]

- [1] 刑柏,曾琦,谭世峰,等.呼吸指数对严重脓毒症患者预后的评估价值[J].中国全科医学,2013,16(7B):2398-2400.
- [2] Ganjalikhani Hakemi M, Ghaedi K, Homayouni V, et al. Positive and negative regulation of Th17 cell differentiation: evaluating the impact of RORC2[J]. Cell J, 2014, 16(3): 343-352.
- [3] 姚斌,李敏,庞英.草分枝杆菌对哮喘小鼠 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>调节性 T 细胞和 Th17 细胞平衡的影响[J].中国当代儿科杂志,2013,15(11):1018-1022.
- [4] Irvin C, Zafar I, Good J, et al. Increased frequency of dual-positive TH2/TH17 cells in bronchoalveolar lavage fluid characterizes a population of patients with severe asthma[J]. J Allergy Clin Immunol, 2014, 134(5): 1175-1186.
- [5] 马丽,霍建民. Th17<sup>+</sup> T 细胞吸烟与慢性阻塞性肺疾病的相关性研究进展[J].中华临床医师杂志(电子版),2013,7(12):5561-5563.
- [6] Brunialti MK, Santos MC, Rigato O, et al. Increased percentages of T helper cells producing IL-17 and monocytes expressing markers of alternative activation in patients with sepsis[J]. PLoS One, 2012, 7(5): e37393.
- [7] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012[J]. Crit Care Med, 2013, 41(2): 580-637.
- [8] 马晓春,王辰,方强,等.急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断和治疗指南(2006)[J].中国危重病急救医学,2006,18(12):706-710.
- [9] Adamzik M, Broll J, Steinmann J, et al. An increased alveolar CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> T-regulatory cell ratio in acute respiratory distress syndrome is associated with increased 30-day mortality[J]. Intensive Care Med, 2013, 39(10): 1743-1751.
- [10] 齐英征.降钙素原与小儿危重病例评分对脓毒症患儿预后的影响[J].中国当代儿科杂志,2014,16(2):190-193.
- [11] 周光耀,张明,金玲湘,等.前降钙素原和 C 反应蛋白对脓毒症早期诊断及预后评估的临床价值[J].中华医院感染学杂志,2014,24(4):1027-1029.
- [12] 张育才.儿科脓毒症的定义及诊断[J].中国实用儿科杂志,2011,26(12):883-884.
- [13] Lubberts E. Role of T lymphocytes in the development of rheumatoid arthritis. implications for treatment[J]. Curr Pharm Des, 2014, 21(2): 142-146.
- [14] Akinosoglou K, Alexopoulos D. Use of antiplatelet agents in sepsis: a glimpse into the future[J]. Thromb Res, 2014, 133(2): 131-138.
- [15] Lin CW, Lo S, Hsu C, et al. T-cell autophagy deficiency increases mortality and suppresses immune responses after sepsis[J]. PLoS One, 2014, 9(7): e102066.

(本文编辑:王庆红)