

Th22 细胞在评估脓毒症病情及预后中的临床意义

杨 英 马春茂 兰德彬

摘要 目的 探讨外周血辅助型 T22 (Th22) 细胞在评估脓毒症患者病情严重程度及预后中的临床意义。**方法** 选取 2013 年 1 月 ~ 2017 年 1 月到笔者医院就诊的脓毒症患者 220 例为研究对象,根据脓毒症患者病情严重程度将其分为低危组 (84 例)、中危组 (74 例) 和高危组 (62 例)。按脓毒症患者临床结局将其分为存活组 (195 例) 和死亡组 (25 例)。检测各组外周血 Th22 细胞、白介素 - 22 (IL - 22) 及 C - 反应蛋白 (CRP) 水平,同时记录急性生理学与慢性健康状况 (APACHE II) 评分情况;采用受试者工作特征曲线 (ROC) 评估外周血 Th22 细胞对脓毒症死亡的预测价值。**结果** 低危组、中危组及高危组间外周血 Th22 细胞、IL - 22 及 APACHE II 评分水平比较,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。其中,高危组最高,中危组次之,低危组最低。死亡组外周血 Th22、IL - 22 水平及 APACHE II 评分明显高于存活组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。相关性分析显示,外周血 Th22 细胞与 IL - 22、APACHE II 评分呈正相关 (IL - 22: $r = 0.70, P < 0.01$; APACHE II 评分: $r = 0.75, P < 0.01$)。外周血 Th22 细胞 $> 3.3\%$ 为评估脓毒症预后不佳界限时,其敏感度和特异性分别为 84.4% 和 86.1%。**结论** 外周血 Th22 细胞及其 IL - 22 与脓毒症病情严重程度及预后密切相关,其作为一项有效的评估指标,具有重要的临床运用价值。

关键词 Th22 细胞 脓毒症 预后 白细胞介素 - 22

中图分类号 R593

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2018.05.039

Clinical Significance of Th22 Cells in Assessing the Severity and Prognosis of Patients with Sepsis. Yang Ying, Ma Chunmao, Lan Debin. Emergency Department, Pengzhou People's Hospital, Sichuan 611930, China

Abstract Objective To investigate the clinical significance of peripheral blood T - helper (Th22) cells in assessing the severity and prognosis of patients with sepsis. **Methods** A total of 220 patients with sepsis in our hospital from January 2013 to January 2017 were enrolled in the study. According to the severity of sepsis, these patients were divided into low risk group (84 cases), middle risk group (74 cases) and high risk group (62 cases). According to the clinical outcome of sepsis, these patients were divided into survival group (195 cases) and death group (25 cases). The levels of Th22 cells, IL - 22 and CRP in the peripheral blood were measured, and the acute physiology and chronic health status (APACHE II) score were recorded, the predictive value of peripheral blood Th22 cells in death of sepsis was assessed by the receiver operating characteristic curve (ROC). **Results** The levels of Th22 cells, IL - 22 and APACHE II in the low - risk group, the intermediate - risk group and the high - risk group were statistically significant ($P < 0.05$). The high - risk group was highest, followed by the intermediate - risk group, the low - risk group was lowest among them. The levels of Th22, IL - 22 and APACHE II scores of the death group were significantly higher than those in the survival group ($P < 0.05$). The correlation analysis showed that the Th22 cells in peripheral blood were positively correlated with IL - 22 ($r = 0.70, P < 0.01$) and APACHE II scores ($r = 0.75, P < 0.01$). When Th22 cells in peripheral blood $> 3.3\%$ for the assessing the poor prognosis of sepsis boundaries, the sensitivity and specificity were 84.4% and 86.1%. **Conclusion** The Th22 cells in peripheral blood and IL - 22 are closely related to the severity and prognosis of sepsis, serving as an assessing index and have important clinical value.

Key words Th22 cells; Sepsis; Prognosis; Interleukin - 22

脓毒症是各种原因如严重感染、创伤、烧伤等引发的全身炎症反应,其可损伤血管内皮功能,导致患者出现不同程度的微循环障碍,引起组织器官缺血缺氧,严重者甚至危及生命^[1,2]。近年来,脓毒症患者的发生率和病死率正呈现逐年升高趋势,其病死率

高达 18% ~ 29%,尤其对于病情严重的患者,其病死率可高达 60%^[3]。因此,针对脓毒症病情危重程度的早期评估,对于改善其临床预后至关重要。相关研究证实,脓毒症的发生、发展过程与其自身免疫功能的紊乱密切相关,不同的 CD4⁺ T 细胞参与其中^[4]。Th22 细胞是近年来新发现的辅助型 T 细胞亚群,其特征性分泌 IL - 22,在多种炎症性疾病、自身免疫性疾病、恶性肿瘤的发生、发展过程中扮

作者单位:611930 彭州市人民医院急诊科

通讯作者:兰德彬,电子邮箱:landebin02@163.com

演着重要的角色^[5-7]。本研究通过检测脓毒症患者外周血 Th22 细胞及相关细胞因子的变化,评估其在脓毒症病情严重程度及预后中的临床意义。

资料与方法

1. 临床资料:选取 2013 年 1 月~2017 年 1 月四川省彭州市人民医院收治的脓毒症患者 220 例作为研究对象,其中男性 118 例,女性 102 例,患者年龄 22~79 岁,中位年龄 50.1 岁,所有患者均满足脓毒症与感染性休克国际共识指南^[8]。排除标准:合并自身免疫系统疾病的患者;存在严重慢性疾病的患者;近期(3 个月内)使用免疫抑制剂的患者。根据急性生理与慢性健康状况评分(acute physiology and chronic health evaluation, APACHE II)标准将入选患者按病情严重程度进行分组,依次分为低危组(APACHE II 评分 < 10 分)84 例、中危组(APACHE II 评分 10~20 分)74 例和高危组(APACHE II 评分 > 20 分)62 例。根据患者临床预后水平将其分为存活组(195 例)与死亡组(25 例)。脓毒症各组间在性别、年龄等方面差异无统计学意义($P > 0.05$)。该研究方案获得了四川省彭州市人民医院伦理委员会的批准并征得了患者及家属书面知情同意。

2. 研究方法:(1)流式细胞术检测外周血 Th22 细胞水平:分别抽取不同脓毒症组患者清晨空腹静脉血 4ml,经肝素抗凝后,加入相同体积的淋巴细胞分离液,提取外周单核核细胞,将外周单核细胞接种于含等体积 RPMI1640 培养基的培养板,加入 50 μ l 佛波酯(1 μ g/ml)、16 μ l 离子霉素(50 μ g/ml)及 16 μ l 莫能菌素(0.1mg/ml)等工作液后,吹打混匀,常温孵育

4~6h。离心收集细胞,加入抗人 CD4 单抗 5 μ l,室温避光孵育 30min 后,加入 100 μ l 细胞固定液,离心及弃上清后,加入破膜液,同时加入 5 μ l IL-22 单抗,最后加入染色固定液 300 μ l,处理完毕后于流式细胞仪进行检测 Th22 细胞。(2)外周血 IL-22 和 CRP 的水平:取脓毒症组患者清晨空腹静脉血 8ml,经肝素抗凝,全血离心后收集血清,采用 ELISA 法测定不同脓毒症组患者外周血 IL-22 水平。另外脓毒症组患者血清用于检测 CRP 水平,其中 CRP 水平采用快速免疫比浊法进行检测。

3. 统计学方法:所有数据均采用 SPSS 18.0 统计学软件进行统计分析,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组间比较采用 t 检验,而多组间比较运用单因素方差分析,相关性采用 Pearson 相关分析,评价外周血 Th22 细胞与 IL-22、APACHE II 评分的相关性。绘制受试者特征操作曲线(ROC),预测患者死亡的 ROC 曲线下面积(AUC)、敏感度和特异性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 不同危重组间外周血 Th22 细胞及相关临床指标的比较:在不同危重组间外周血 Th22 细胞、IL-22、APACHE II 评分及 CRP 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。其中,高危组外周血 Th22 细胞、IL-22 及 APACHE II 评分水平最高,中危组稍低,低危组最低。与低危组比较,高危组和中危组外周血 CRP 明显升高($P < 0.05$),但在高危组和中危组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$,表 1)。

表 1 不同危重组患者外周血 Th22 细胞及相关临床指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th22(%)	IL-22(ng/L)	APACHE II(分)	CRP(mg/L)
低危组	84	1.9 \pm 0.4	20.1 \pm 4.2	7.8 \pm 1.5	9.8 \pm 2.3
中危组	74	3.0 \pm 0.5*	30.4 \pm 3.8*	15.1 \pm 2.6*	17.4 \pm 3.7*
高危组	62	4.6 \pm 0.7**	41.2 \pm 5.5**	23.4 \pm 2.8**	19.2 \pm 4.3*

与低危组比较,* $P < 0.05$;与中危组比较,** $P < 0.05$

2. 不同预后组间外周血 Th22 细胞及相关临床指标的比较:死亡组外周血 Th22、IL-22 水平及 APACHE II 评分明显高于存活组,差异有统计学意义($P < 0.05$,表 2)。

3. 相关性分析:脓毒症患者外周血 Th22 细胞与 IL-22、APACHE II 评分存在显著正相关性(IL-22: $r = 0.70$, $P = 0.005$;APACHE II 评分: $r = 0.75$, $P = 0.004$)。

表 2 不同预后组间外周血 Th22 细胞及相关临床指标的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	Th22(%)	IL-22(ng/L)	APACHE II(分)
存活组	195	2.7 \pm 1.0	28.2 \pm 5.6	13.3 \pm 4.2
死亡组	25	4.0 \pm 0.8*	35.8 \pm 4.1*	19.4 \pm 4.5*
t		8.021	7.136	7.547
P		0.031	0.040	0.035

与存活组比较,* $P < 0.05$

4. ROC 曲线分析外周血 Th22 细胞对脓毒症预后后的评估价值:通过以外周血 Th22 细胞水平来评估脓毒症预后后的评估价值,绘制 ROC 曲线,其曲线下面积(AUC)为 0.835(95% CI: 0.749 ~ 0.915),其最佳工作点(OOP)分别为 3.3%,提示外周血 Th22 细胞 > 3.3%,此时评估脓毒症患者预后不佳的精确率较高(敏感度为 84.4%,特异性为 86.1%,图 1)。

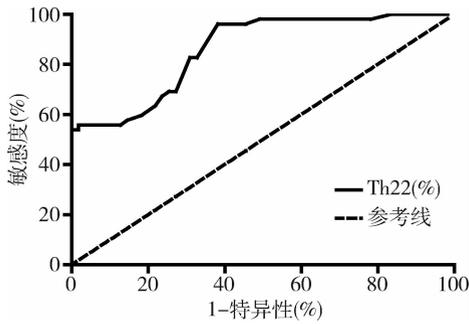


图 1 外周血 Th22 细胞对脓毒症预后不佳的 ROC 曲线

讨 论

虽然相关研究已对脓毒症的发病机制及相关治疗取得了一定进展,但其病死率仍居高不下,特别是对病情严重的患者^[9]。如何有效地早期评估患者病情严重程度,对于改善预后和降低病死率,具有重要的意义。相关研究显示,患者机体免疫功能的紊乱是脓毒症发生、发展的重要病理生理基础^[10]。Th22 细胞是一类新发现的辅助型 T 细胞亚群,该细胞参与了多种自身免疫性疾病、炎症性疾病及恶性肿瘤的发生、发展过程^[11-13]。其可能也在脓毒症病情严重程度及预后的评估过程中,具有重要的临床价值。

相关研究显示,机体免疫功能紊乱时,可通过分化多种特异性 T 细胞,表达多种炎性介质参与调节作用,在脓毒症的发生、发展中,起着的重要作用^[14]。Th22 细胞作为一种辅助性 T 细胞亚群,可以特异性的分泌 IL-22,促进炎性细胞如中性粒细胞、单核细胞向感染部位募集^[15]。在自身免疫性疾病、恶性肿瘤等疾病中,其外周血 Th22 细胞及 IL-22 水平显著升高,并且随着病情严重程度的增加,其水平升高更明显^[16,17]。是否 Th22 细胞与脓毒症的病情严重程度及预后有关,目前尚无研究报道。

本研究结果发现,随着脓症患者病情严重程度的增加,其外周血 Th22 细胞、IL-22 及 APACHE II 评分显著升高,表明外周血 Th22 细胞可能参与了脓毒症的发展过程。进一步通过相关性分析,结果显示脓症患者外周血 Th22 细胞与 APACHE II 评分呈正

相关。脓症患者若未给予早期积极的治疗,常易并发脓毒症休克及多器官功能障碍等,造成极高的病死率^[18]。本研究进一步分析临床结局,结果显示,脓毒症死亡组患者外周血 Th22 细胞及 IL-22 水平显著高于存活组,提示外周血 Th22 细胞水平对于脓症患者预后后的评估,具有一定的临床意义。同时通过 ROC 曲线分析,结果显示当外周血 Th22 细胞诊断截点为 3.3% 时,其评估脓症患者预后不佳的敏感度和特异性较高。已有研究表明,对于恶性肿瘤患者,通过有效抑制其体内 Th22 细胞的激活,可以显著降低体内炎性水平,抑制肿瘤细胞的增殖与分化^[19,20]。对于脓症患者,通过检测其外周血 Th22 细胞水平,其不仅可能作为评估脓症患者病情严重程度及预后的敏感指标,还可能为其治疗提供有效的靶点。

综上所述,外周血 Th22 细胞与脓毒症的病情严重程度及预后密切相关。但本研究存在一定的局限性,首先脓症患者样本量偏少,其次,未对外周血 Th22 细胞在脓症患者治疗效果的评估作用做进一步的研究。今后需要扩大样本量,针对上述局限性展开研究。

参 考 文 献

- 1 Yang Y, Xie JF, Yu KJ, et al. Epidemiological study of sepsis in China; protocol of a cross-sectional survey [J]. Chin Med J: Engl, 2016, 129(24):2967-2973
- 2 Mutschler W, Mutschler M, Graw M, et al. Long-term survival after severe trauma [J]. Unfallchirurg, 2016, 119(7):546-553
- 3 Fan H, Zhao Y, Zhu JH, et al. Ulinastatin and thymosin therapy in adult patients with severe sepsis: a meta-analysis with trial sequential analysis of randomized controlled trials [J]. Iran J Public Health, 2016, 45(9):1234-1235
- 4 Hoogendijk AJ, Garcia-Laorden MI, van Vught LA, et al. Sepsis patients display a reduced capacity to activate nuclear factor- κ B in multiple cell types [J]. Crit Care Med, 2017, 45(5):e524-e531
- 5 Tang MS, Bowcutt R, Leung JM, et al. Integrated analysis of biopsies from inflammatory bowel disease patients identifies SAA1 as a link between mucosal microbes with TH17 and TH22 cells [J]. Inflamm Bowel Dis, 2017, 23(9):1544-1554
- 6 满琦,张安,张源,等. 脑胶质瘤患者外周血中 Th17、Th22 细胞的表达及意义[J]. 山东大学学报:医学版, 2016, 54(10):55-59,70
- 7 韩青青,靳煜,陈海英. 辅助性 T 细胞 22 白细胞介素-22 与类风湿性关节炎及合并间质性肺疾病的相关性研究[J]. 中华风湿病学杂志, 2016, 20(1):13-16
- 8 姚咏明,黄立锋. 《2008 国际严重脓毒症和脓毒性休克治疗指南》概要[J]. 中国危重病急救医学, 2008; 20(3):135-138

(下转第 187 页)

中,笔者证明 dsP53 - 285 可明显激活人肾癌细胞系 ACHN 和 786 - O 中 P53 蛋白的表达,且 P21 蛋白的表达水平也明显升高。因此,笔者认为由 dsP53 - 285 激活的 P53 蛋白是野生型而不是突变型。笔者通过 MTT 法检测和集落形成实验证明 dsP53 - 285 对肾癌的生长具有抑制作用,进一步表明 dsP53 - 285 激活的 P53 蛋白是野生型而非突变型。本研究的不足之处在于,未明确 dsP53 - 285 是否具有其他靶基因位点。下一步将通过靶基因预测筛选 dsP53 - 285 可能存在的所有靶基因位点,并通过体内外实验进一步研究 dsP53 - 285 对肾癌细胞发生、发展的抑制作用。

综上所述,本研究证明 dsP53 - 285 可明显激活人肾癌细胞中 P53 蛋白的表达,且所激活的 P53 蛋白为野生型而非突变型。因此,dsP53 - 285 可能成为新的肾癌靶基因治疗位点。

参考文献

- 1 Siegel RL, Miller KD, Jemal A. Cancer statistics, 2015 [J]. *CA Cancer J Clin*,2015,65(1):5-29
- 2 Calvo E, Schmidinger M, Heng DY, et al. Improvement in survival end points of patients with metastatic renal cell carcinoma through sequential targeted therapy[J]. *Cancer Treat Rev*,2016,50:109-117
- 3 Araki K, Ebata T, Guo AK, et al. p53 regulates cytoskeleton remodeling to suppress tumor progression[J]. *Cell Mol Life Sci*,2015,72(21):4077-4094
- 4 Murata A, Itoh Y, Mano E, et al. One-dimensional search dynamics of tumor suppressor p53 regulated by a disordered C-terminal domain[J]. *Biophys J*,2017,112(11):2301-2314
- 5 Huang V, Qin Y, Wang J, et al. RNAa is conserved in mammalian cells[J]. *PLoS One*,2010,5(1):e8848

- 6 Wang C, Ge Q, Chen Z, et al. A new double stranded RNA suppresses bladder cancer development by upregulating p21 (Waf1/CIP1) expression[J]. *Biomed Res Int*,2015,2015:304753
- 7 Kang MR, Park KH, Yang JO, et al. miR - 6734 up - regulates p21 gene expression and induces cell cycle arrest and apoptosis in colon cancer cells [J]. *PLoS One*,2016,11(8):e160961
- 8 Fimiani C, Goina E, Su Q, et al. RNA activation of haploinsufficient Foxg1 gene in murine neocortex[J]. *Sci Rep*,2016,6:39311
- 9 Li S, Wang C, Yu X, et al. miR - 3619 - 5p inhibits prostate cancer cell growth by activating CDKN1A expression[J]. *Oncol Rep*,2017,37(1):241-248
- 10 Zhu W, Qian J, Ma L, et al. MiR - 346 suppresses cell proliferation through SMYD3 dependent approach in hepatocellular carcinoma [J]. *Oncotarget*,2017,8(39):65218-65229
- 11 Kasim V, Xie YD, Wang HM, et al. Transcription factor Yin Yang 2 is a novel regulator of the p53/p21 axis [J]. *Oncotarget*,2017,8(33):54694-54707
- 12 Molchadsky A, Rotter V. p53 and its mutants on the slippery road from stemness to carcinogenesis [J]. *Carcinogenesis*,2017,38(4):347-358
- 13 Floter J, Kaymak I, Schulze A. Regulation of metabolic activity by p53 [J]. *Metabolites*,2017,7(2):21
- 14 Ferraiuolo M, Verduci L, Blandino G, et al. Mutant p53 protein and the hippo transducers YAP and TAZ: a critical oncogenic node in human cancers [J]. *Int J Mol Sci*,2017,18(5):961
- 15 Georgakilas AG, Martin OA, Bonner WM. p21: A two - faced genome guardian [J]. *Trends Mol Med*,2017,23(4):310-319
- 16 Fischer M, Uxa S, Stanko C, et al. Human papilloma virus E7 oncoprotein abrogates the p53 - p21 - DREAM pathway [J]. *Sci Rep*,2017,7(1):2603

(收稿日期:2017-06-08)

(修回日期:2017-06-13)

(上接第 163 页)

- 9 Faust JS, Weingart SD. The past, present, and future of the centers for medicare and medicaid services quality measure SEP - 1: the early management bundle for severe sepsis/septic shock [J]. *Emerg Med Clin North Am*, 2017, 35(1):219-231
- 10 罗成,余皓月,封明霞,等. 外周血 CD64 指数对脓毒症急性肺损伤的早期诊断价值 [J]. *医学研究杂志*, 2016, 45(9): 98-101
- 11 Olivry T, Mayhew D, Paps JS, et al. Early activation of Th2/Th22 inflammatory and pruritogenic pathways in acute canine atopic dermatitis skin lesions [J]. *J Invest Dermatol*, 2016, 136(10):1961-1969
- 12 Cui D, Zhong F, Lin J, et al. Changes of circulating Th22 cells in children with hand, foot, and mouth disease caused by enterovirus 71 infection [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(17):29370-29382
- 13 许秀华,向晓星,马莉,等. 原发性肝癌患者外周血 Th22 细胞水平的变化及意义 [J]. *中国免疫学杂志*, 2014, 30(9): 1245-1248,1252
- 14 栾樱译,秦庆华,吕奔,等. 调节性 T 细胞对脓毒症中 T 淋巴细胞凋亡的影响 [J]. *临床急诊杂志*, 2016, 17(8): 585-589
- 15 Tang MS, Bowcutt R, Leung JM, et al. Integrated analysis of biopsies

- from inflammatory bowel disease patients identifies SAA1 as a link between mucosal microbes with TH17 and TH22 cells [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2017, 23(9):1544-1554
- 16 Fard NA, Azizi G, Mirshafiey A. The potential role of T helper cell 22 and IL - 22 in immunopathogenesis of multiple sclerosis [J]. *Innov Clin Neurosci*, 2016, 13(7-8):30-36
- 17 Lu T, Liu Y, Yu S, et al. Increased frequency of circulating Th22 cells in patients with B - cell non - Hodgkin's lymphoma [J]. *Oncotarget*, 2016, 7(35):56574-56583
- 18 Polat G, Ugan RA, Cadirci E, et al. Sepsis and septic shock: current treatment strategies and new approaches [J]. *Eurasian J Med*, 2017, 49(1):53-58
- 19 Niccolai E, Taddei A, Ricci F, et al. Intra - tumoral IFN - γ - producing Th22 cells correlate with TNM staging and the worst outcomes in pancreatic cancer [J]. *Clin Sci: Lond*, 2016, 130(4):247-258
- 20 Wang M, Chen P, Jia Y, et al. Elevated Th22 as well as Th17 cells associated with therapeutic outcome and clinical stage are potential targets in patients with multiple myeloma [J]. *Oncotarget*, 2015, 6(20):17958-17967

(收稿日期:2017-08-22)

(修回日期:2017-09-12)