

外周免疫细胞变化与急性脑梗死患者预后关系的研究

毛 蕾 王 博 刘团结 沈 滔 徐玉萍

摘 要 **目的** 探讨急性脑梗死患者外周免疫细胞变化与早期预后的关系。**方法** 收集 2014 年 8 月~2016 年 8 月于笔者医院 24h 内诊断为急性脑梗死患者,收集患者一般临床资料,并在入院后 3h 内进行相关血液指标检查。采用单因素分析初步筛选影响患者预后的潜在因素,随后利用 COX 回归分析影响脑梗死预后的独立危险因素,最后采用 ROC 曲线分析各危险因素在预测脑梗死转归上的诊断价值。并且采用 χ^2 检验以及 Kaplan-Meier 生存曲线比较一般临床资料、生存结局以及感染发生情况在嗜酸性粒细胞升高及降低组间存在的差异。**结果** 共纳入 262 例急性脑梗死患者,其中预后不良患者 48 例。单因素分析结果表明,预后良好组嗜酸性粒细胞、淋巴细胞、中性粒细胞、中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)、平均血糖水平、C 反应蛋白 C(C-reactive protein, CRP)含量及平均脑梗死面积是潜在影响患者脑梗死预后的危险因素;COX 比例风险模型进一步表明嗜酸性粒细胞减少、中性粒细胞增加及 NLR 增加均是影响脑梗死患者预后的危险因素(HR = 2.15, $P = 0.031$; HR = 1.91, $P = 0.022$; HR = 3.61, $P = 0.000$);ROC 结果显示,中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及 NLR 预测脑梗死患者预后的曲线下面积(area under curve, AUC)分别为 0.808、0.748 和 0.642。并且 Kaplan-Meier 生存曲线显示,嗜酸性粒细胞减少患者的病死率以及感染率明显高于未减少组。**结论** 嗜酸性粒细胞减少、中性粒细胞增加及 NLR 增加有潜力成为急性脑梗死患者预后的危险因素,并且嗜酸性粒细胞减少的脑梗死患者脑梗死风险较高。

关键词 嗜酸性粒细胞 中性粒细胞 急性脑梗死 预后

中图分类号 R743.3

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.01.018

Correlation between Changes of Peripheral Immune Cell Number and Outcome in Patients with Acute Brain Infarction. Mao Lei, Wang Bo, Liu Tuanjie, et al. Neurology Department, Shanghai First People's Hospital Baoshan Branch, Shanghai 200940, China

Abstract **Objective** To investigate the correlation between changes of peripheral immune cell number and outcome in patients with acute brain infarction. **Methods** The patients with acute cerebral infarction were collected in our hospital for the first 24 hours, and peripheral immune cell number was detected within 3 hours after admission. The general clinical data the serum biochemical parameters were collected. Univariate analysis was used to find the potential risk factors of cerebral infarction patients with poor outcomes, and Cox regression model was further used to identify the independent risk factors. Finally, the ROC curve was used to evaluate the value of these factors in forecasting the outcome of cerebral infarction patients. Furthermore, Chi-square test and Kaplan-Meier survival curve were used to compare the differences of infection rates and survival outcomes between the two groups with or without eosinophilia. **Results** Totally, 262 patients were included in the survey, 48 of which had poor prognosis. Univariate analysis showed that the number of neutrophils, eosinophil, neutrophil to lymphocyte ratio (NLR), serum level of glucose, serum level of CRP and cerebral infarction area had potential effects on the prognosis of cerebral infarction patients. COX regression model further revealed that hypoeosinophilia, elevated neutrophils and elevation of NLR level were the independent risk factors of the prognosis of cerebral infarction patients(HR = 2.15, $P = 0.031$; HR = 1.91, $P = 0.022$; HR = 3.61, $P = 0.000$). ROC curve showed that the AUC of number of neutrophils, eosinophil and NLR were 0.808, 0.748 and 0.642, respectively. Kaplan-Meier survival curve showed that the mortality and infection rate of patients with eosinopenia were higher than the other groups. **Conclusion** Hypoeosinophilia, elevated neutrophils and elevation of NLR were novel predictive factor for complications after acute cerebral infarction. Stroke patients with eosinopenia should be monitored carefully for infection.

Key words Eosinophils; Neutrophils; Acute cerebral infarction; Prognosis

脑血管病发病急,其致死率、后遗症发生率及致残率均较高,因此患者入院后评估其预后是合理选择

治疗方案、与家属有效沟通的必要条件^[1~3]。梗死部位以及严重程度是决定患者转归的重要因素,但对于梗死部位相近的患者而言,尚缺乏足够的指标对此类患者的预后进行预测。血常规是临床常规检测指标,近年有研究表明,血中性粒细胞计数、中性粒细胞与淋巴细胞比例可用于脑梗死及心肌梗死患者预后的

基金项目:上海市科学技术委员会科研计划项目(16411972900)

作者单位:200940 上海市第一人民医院宝山分院神经内科

通讯作者:王博,副主任医师,电子信箱:wangbodoc@sina.com

预测,但各指标在预测预后的敏感度和特异性上均存在一定的不足,需要挖掘更多的潜在指标对此类患者的预后进行联合预测以提高准确率^[4,5]。嗜酸性粒细胞是免疫细胞中的重要组分,有研究发现嗜酸性粒细胞升高与慢性阻塞性肺疾病、心肌梗死的预后有关,且认为此联系与患者的发病时机体的应激状态相关^[6,7]。但截至目前,仅有少数证据表明该类型细胞与脑梗死患者预后的潜在关系。为证明嗜酸性粒细胞与患者预后的潜在关系,本研究对脑梗死急性期嗜酸性粒细胞水平与患者手术预后进行相关性研究,旨在探讨其对急性脑梗死患者预后可能的预测价值,以期为临床医师判断脑梗死预后提供更多的参考指标。

对象与方法

1. 研究对象:随机选择 2013 年 8 月~2015 年 8 月于笔者医院收治的急性脑梗死患者 362 例作为研究对象。所有病例均符合中华神经学会,中华神经外科学会制定的急性脑梗死诊断标准,且均经头颅 CT 或 MRI 检查证实梗死灶,发病 24h 内被确诊^[8]。排除标准:①外伤性、医源性脑梗死;②复发性脑梗死;③出血性脑梗死;④合并其他颅内病变(如血肿、肿瘤等);⑤近 3 个月内有手术史、创伤史、服用抗炎药物或激素史;⑥合并严重感染、肝脏肾脏疾病、恶性肿瘤。所有研究对象家属均获知情同意,本研究获笔者医院伦理委员会批准。

2. 一般临床资料的收集:患者入院后,根据其病情情况进行对症处理,并积极给予治疗。详细询问患者家属,收集患者发病前一般临床资料,包括是否存在高血压、糖尿病等慢性疾病,同时了解患者发病前是否存在有吸烟、饮酒等不良嗜好。

3. 相关诊断指标的收集:外周静脉血的采集以及全血细胞计数:患者突发脑梗死入院后 3h 内采集患者外周静脉血,采用全血细胞分析仪 XE-5000(日本 Sysmex 公司)计数血液其中包括中性粒细胞、嗜酸性粒细胞及淋巴细胞在内的目的各类细胞的数目,计算中性粒与淋巴细胞的比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)。当嗜酸性粒细胞占白细胞百分比低于 0.5% 时定义为嗜酸性粒细胞减少。C 反应蛋白含量测定:采用血液生化分析仪 TBA-2000FR(日本 Toshiba 公司)分析血液中 CRP 含量。糖化血红蛋白含量的测定:利用糖化血红蛋白分析仪 HLC-723G8(日本 Tosoh Bioscience 公司)测定患者入院时血液中糖化血红蛋白的含量。同时利用头颅 CT 或 MRI 技

术对患者脑梗死病灶及病情进行评估,确定患者的病变部位及面积。以上指标均由笔者医院经验丰富的技术人员进行检测,以保证结果的准确性。

4. 随访:对所有参与研究的 362 例患者进行为期 60 天的随访,首次随访为脑梗死 1 个月后,之后 1 个月电话或门诊复查随访 1 次。本研究将临床终点事件定义为:①脑梗死后 2 个月内由于疾病相关因素发生死亡(包括术中死亡、住院期间死亡);②脑梗死后 2 个月内发生严重的感染事件,感染事件定义为:术后发生高热,体液样品细菌培养呈现阳性。随访将末次随访记录作为结果,记录患者发生不良预后的人数。患者拒绝访问、中途退出、死于其他与研究无关的原因定义为失访。

5. 统计学方法:所有数据均采用 SPSS 20.0 统计学软件对数据进行分析处理,符合正态分布的计量资料采用均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料采用百分比(%)表示。根据预后将患者分为两组,组间计量资料的比较采用单因素方差分析或非参数检验。计数资料的比较采用 χ^2 检验。在此基础上,利用 COX 模型分析寻找影响脑梗死转归的独立影响因素,并采用 ROC 曲线分析各影响因素在单用及联用时预测急性脑梗死患者预后的准确率。为分析嗜酸性粒细胞减少对脑梗死预后的潜在影响,利用 Kaplan-Meier 生存曲线及 χ^2 检验比较生存时间及死亡原因与嗜酸性粒细胞减少之间的关系,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. 两组患者的一般临床资料比较:在 262 例患者中,有 15 例患者由于各种原因失访,其余患者均通过不同方式记录最终结果,预后不良者 48 例。结果如表 1 所示:预后良好组嗜酸性粒细胞、淋巴细胞($t = 9.272, P = 0.000$)高于预后不良组($t = 1.355, P = 0.032$);而中性粒细胞、NLR、平均血糖水平、CRP 含量及平均脑梗死面积均小于预后不良组,差异有统计学意义(P 均 < 0.05)。其他基线资料,如年龄、性别构成等比较,差异均无统计学意义(P 均 > 0.05)。

2. 影响脑梗死患者早期预后的因素分析:由于本研究对象仅为血中免疫细胞和脑梗死预后的关系,且 CRP 及平均脑梗死面积在许多研究中已表明是影响脑梗死患者预后的独立危险,因此 COX 比例风险模型仅纳入血免疫细胞相关指标,COX 分析结果显示,嗜酸性粒细胞减少、中性粒细胞增加及 NLR 增加均

表 1 两组患者基线资料比较

项目	预后良好 (n = 199)	预后不良 (n = 48)	统计值	P
年龄 (岁)	64.1 ± 12.1	63.2 ± 10.272	3.507	0.801
男性 [n (%)]	37 (51.4)	165 (57.3)	0.814	0.366
嗜酸性粒细胞 (× 10 ⁶ /ml)	0.42 ± 0.22	0.10 ± 0.19	9.274	0.000
淋巴细胞 (× 10 ⁶ /ml)	1.52 ± 0.74	1.25 ± 0.93	1.355	0.032
中性粒细胞 (× 10 ⁶ /ml)	6.05 ± 2.73	9.95 ± 3.82	-8.165	0.000
NLR	4.21 ± 1.62	10.85 ± 5.74	-14.212	0.000
糖尿病 [n (%)]	28 (38.9)	119 (41.3)	0.140	0.707
高血脂 [n (%)]	31 (43.1)	137 (47.6)	0.471	0.492
平均血糖水平 (mg/dl)	134.8 ± 17.39	165.4 ± 20.43	-11.691	0.000
糖化血红蛋白含量 (%)	6.28 ± 1.42	6.67 ± 1.82	-1.693	0.091
CRP (mg/L)	3.68 ± 2.22	7.26 ± 2.73	-10.272	0.046
平均脑梗体积 (cm ³)	30.84 ± 9.89	50.09 ± 12.89	-11.670	0.000

是影响脑梗死患者预后的危险因素 (HR = 2.15, P = 0.031; HR = 1.91, P = 0.022; HR = 3.61, P = 0.000)。详见表 2。

表 2 急性脑梗死患者预后与危险因素的 COX 多因素分析

危险因素	HR	95% CI	P
嗜酸性粒细胞减少	2.15	1.676 ~ 2.758	0.032
淋巴细胞减少	1.33	1.014 ~ 1.667	0.079
中性粒细胞增加	1.91	1.284 ~ 2.812	0.022
NLR 水平增加	3.61	2.776 ~ 4.694	0.000

3. 血细胞相关指标预测脑梗死预后的 ROC 曲线

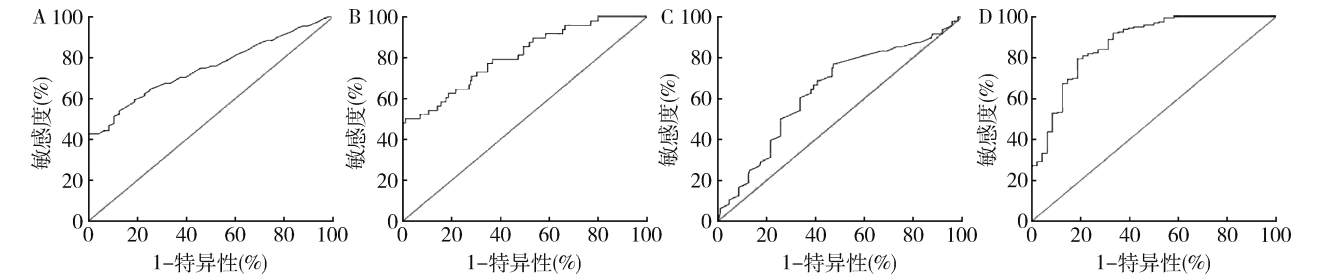


图 1 各指标的 ROC 分析结果

A. 嗜酸性粒细胞; B. 中性粒细胞; C. NLR 比值; D. 联合

4. 嗜酸性粒细胞减少组和非减少组死亡原因比较: 由于既往研究对嗜酸性粒细胞研究较少, 因此笔者对该型细胞和脑梗死的预后进行深入研究。根据嗜酸性粒细胞是否减低将患者分为嗜酸性粒细胞减少组与非减少组, 比较两组患者死因的差异。结果如表 3 所示, 嗜酸性粒细胞减少组患者主要死因为感染 (8.60%), 非减少组患者主要死因为脑源性因素 (16.88%)。为了解嗜酸性粒细胞减少的患者是否易发生感染, 将发生院内感染作为终点事件, 利用 Kaplan - Meier 生存曲线比较两组患者之间发生院内

结果: 对在 COX 回归分析中产生统计学差异的血细胞指标绘制 ROC 曲线, 结果如图 1 所示。嗜酸性粒细胞鉴别脑梗死预后的 AUC 为 0.748, 最佳诊断点为 $0.393 \times 10^6/\text{ml}$, 其敏感度为 42.70%, 特异性为 97.08%; 中性粒细胞的 AUC 为 0.808, 最佳诊断点为 $6.035 \times 10^6/\text{ml}$, 其敏感度为 89.60%, 特异性为 53.30%; NLR 的 AUC 为 0.642, 最佳诊断点为 5.228, 其敏感度为 77.1%, 特异性为 52.8%。将 AUC 较大的两个指标嗜酸性粒细胞与中性粒细胞进行联合诊断, 联合后的 AUC 为 0.870, 显著高于单独诊断的 AUC。

感染是否存在明显的差异, 结果显示嗜酸性粒细胞减少组患者有着更高的院内感染发生率, 差异有统计学意义 (P = 0.032), 详见图 2。

表 3 嗜酸性粒细胞减少组与非减少组患者死因比较 [n (%)]

死亡原因	嗜酸性粒细胞 减少组 (n = 93)	嗜酸性粒细胞 非减少组 (n = 154)	χ^2	P
脑源性	5 (5.37)	26 (16.88)	6.995	0.008
心源性	0 (0)	2 (1.30)	1.218	0.270
感染	8 (8.60)	23 (1.95)	6.034	0.014
其他	2 (2.15)	2 (1.30)	0.264	0.607

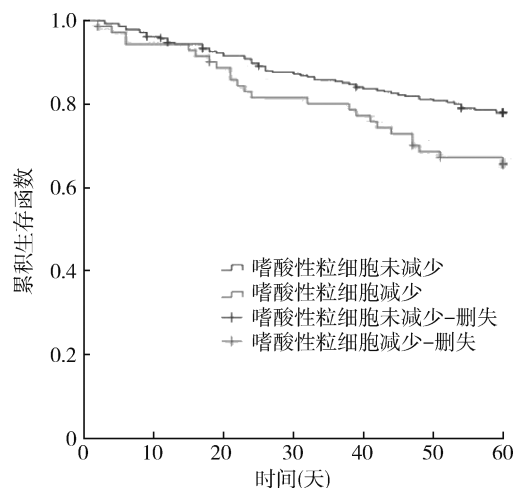


图 2 嗜酸性粒细胞减少与患者感染率之间的关系

讨 论

随着中国城市化推进以及老龄化人口数的增加,中国疾病负担已经集中于以脑卒中、缺血性心脏病以及慢性阻塞性肺炎为主的非感染性疾病^[9-11]。其中,急性缺血性卒中是一种常见的脑血管急症,目前主要依靠外科手术进行治疗,但是由于其起病迅速、病情危急的特点常导致患者预后较差^[12, 13]。因此,研究可以预测患者手术预后的相关指标是近年来的研究热点,通过对此类患者进行合理地预测,有利于医师选择合理治疗措施,同时也有助于与患者家属有效地沟通。

脑局部组织缺血或缺血后再灌注会引起该部位细胞发生死亡或凋亡,并导致局部炎症的发生。炎症反应中的细胞因子会在病变募集中性粒细胞等,而后者则会通过释放炎症因子和蛋白水解酶参与破坏血-脑脊液屏障,参与脑梗死患者病情的发展,因此中性粒细胞和脑梗死的预后具有相关性。研究中发现脑梗死患者早期中性粒细胞水平与脑梗死面积呈正相关关系^[14]。而 Zhou 等^[15]在其研究中也发现,中性粒细胞水平升高会增加脑梗死患者预后不良的发生率。本研究进一步表明,中性粒细胞预测脑梗死预后的 AUC 为 0.808,最佳诊断点为 $6.035 \times 10^6/\text{ml}$,具有一定的参考价值。与中性粒细胞比较,NLR 受机体生理状态影响较少,有研究发现在预后不良的冠心病患者常伴有 NLR 升高,且急性卒中患者中也证实 NLR 水平升高是发生院外死亡的独立危险因素。本研究也表明,NLR 水平亦可作为预测脑梗死患者预后的影响因素(AUC = 0.642)。嗜酸性粒细胞和中性粒细胞同属于重要的血液白细胞,在菌血

症、慢性阻塞性肺炎以及心肌梗死中,嗜酸性粒细胞数目减少均有潜力成为预测疾病预后的因子^[16]。在应激损伤研究中存在“应激后免疫抑制”现象,即在严重生理、心理创伤的患者中会出现机体免疫反应下调的现象,主要体现在免疫细胞数量以及活性的减少,并且应激的强度和免疫细胞数量变化常呈正相关^[17, 18]。与之对应,本研究也发现嗜酸性粒细胞与脑梗死患者的预后相关,其预测预后的 AUC 为 0.748。但同属于免疫细胞的中性粒细胞却在脑梗死患者中呈上升趋势,因此导致体液免疫细胞在脑梗死患者的不同变化的原因可能是细胞不同的生理功能导致,但确切原因还需后续进一步研究证实。同时,笔者将 AUC 较大的中性粒细胞与嗜酸性粒细胞进行联合预测脑梗死患者预后,联合后的 AUC 最高为 0.870,显著高于单独诊断的 AUC,因此在临床上具有一定的参考价值。

严重的急性脑梗死患者常发生的脑水肿以及包括肺部感染在内的一系列并发症,而由脑水肿导致的脑疝则是患者病死率较高的原因之一^[19]。但是在本研究中,笔者发现与嗜酸性粒细胞非减少组比较,减少组死于感染的患者比例明显较高(52.3% vs 6.2%, $P = 0.000$),差异有统计学意义。以院内感染作为终点事件,Kaplan - Meier 生存曲线也显示嗜酸性粒细胞减少组感染的发生率明显高于未减少组。因此,有理由认为嗜酸性粒细胞减少组预后不良有可能是由于此类患者感染的发生率较高导致的,进一步说明与嗜酸性粒细胞的减少而患者机体的免疫力较弱,验证了“应激后免疫抑制”假说。因此,针对嗜酸性粒细胞减少的脑梗死患者,医护人员应当注重预防此类患者中潜在感染事件,以期尽可能改善预后。

本研究仍有一定不足,本研究为单中心研究,纳入例数有限,有可能存在选择偏倚,且本研究属于回顾性分析,只是在数据分析中发现这一值得注意的现象,对于嗜酸性粒细胞减少在部分预后不良的急性脑梗死患者的机制与意义尚不清楚。因此,需要基础研究对其分子机制进行研究。

综上所述,嗜酸性粒细胞减少、中性粒细胞增加及 NLR 增加有潜力成为急性脑梗死患者预后的危险因素,并且嗜酸性粒细胞减少的脑梗死患者预后不良风险较高。

参考文献

- 1 邱学荣,于丽君. H 型高血压与脑卒中相关性的研究进展[J]. 医学研究杂志, 2017, 46(1):178-179