

# 重症急性胰腺炎患者外周血 Th22 细胞水平变化及临床意义

焦 艳 张永辉

**摘要** 目的 探讨外周血 Th22 细胞在重症急性胰腺炎(SAP)患者中的水平变化及临床意义。方法 选择2015年1月~2018年12月于笔者医院住院的100例SAP患者为观察组,100例普通轻型急性胰腺炎(AP)患者为对照组。采用流式细胞术检测两组外周血 Th22 细胞水平;酶联免疫吸附法检测相关因子及炎性指标如白介素-1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素-22(IL-22)、淀粉酶(AMY)及内毒素水平。分别比较两组上述指标的差异,评价外周血 Th22 细胞水平与 SAP 患者临床指标的相关性及早期诊断价值。结果 与对照组比较,观察组患者外周血 Th22 细胞、IL-22、IL-1 $\beta$ 、AMY 及内毒素水平显著升高( $P < 0.05$ );与对照组比较,观察组病情严重程度评分(MCTSI 评分、Ranson 评分及 APACHE II 评分)均显著升高;SAP 患者外周血 Th22 细胞与 IL-22、IL-1 $\beta$ 、AMY 及内毒素水平呈显著正相关( $r = 0.930, P = 0.000; r = 0.825, P = 0.000; r = 0.782, P = 0.007; r = 0.803, P = 0.002; r = 0.680, P = 0.012$ );同时与病情严重程度评分(MCTSI 评分、Ranson 评分及 APACHE II 评分)呈显著正相关( $r = 0.820, P = 0.000; r = 0.830, P = 0.000; r = 0.747, P = 0.009$ )。ROC 曲线分析显示,外周血 Th22 细胞水平曲线下面积为 0.908(95% CI: 0.839~0.976),其最佳工作点为 3.08,此时评估 SAP 患者早期诊断价值的敏感度和特异性分别为 87.88% 和 80.00%。结论 外周血 Th22 细胞及其相关细胞因子在 SAP 患者中明显升高,对于 SAP 患者早期诊断,具有重要的临床运用价值。

**关键词** Th22 细胞 重症急性胰腺炎 白介素-22 诊断

中图分类号 R657.5

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2019.12.009

**Changes and Clinical Value of Th22 Cells in Peripheral Blood in Patients with Severe Acute Pancreatitis.** Jiao Yan, Zhang Yonghui. Department of Intensive Care Unit, First Affiliated Hospital of Army Medical University (Third Military Medical University), Chongqing 400038, China

**Abstract Objective** To study the changes and clinical value of Th22 cells in peripheral blood in patients with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods** Totally 100 patients with SAP were selected as observation group and 100 patients with general mild acute pancreatitis (AP) were selected as control group, which were admitted to our hospital from January 2015 to December 2018. The levels of Th22 cells in peripheral blood were measured by flow cytometry. The levels of related factors and inflammatory markers such as interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-22 (IL-22), amylase (AMY) and endotoxin were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). The differences of the above indicators between the two groups were compared and the correlation between Th22 cells levels in peripheral blood and clinical indicators of SAP patients and the early diagnostic value of Th22 cells was evaluated. **Results** Compared with the control group, the levels of Th22 cells, IL-22, IL-1 $\beta$ , AMY and endotoxin in peripheral blood of the observation group were significantly increased ( $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the severity scores (MCTSI score, Ranson score and APACHE II) of the observation group were significantly increased ( $P < 0.05$ ). The correlation analysis showed that Th22 cells in peripheral blood of SAP patients was positively correlated with IL-22, IL-1 $\beta$ , AMY and endotoxin levels ( $r = 0.930, P = 0.000; r = 0.825, P = 0.002; r = 0.782, P = 0.007; r = 0.803, P = 0.002; r = 0.680, P = 0.012$ ). Meanwhile, there was a significant positive correlation with severity score of SAP (MCTSI score, Ranson score and APACHE II score) ( $r = 0.820, P = 0.000; r = 0.830, P = 0.000; r = 0.747, P = 0.009$ ). ROC curves analysis showed that the area under curve of Th22 cells in peripheral blood was 0.908 (95% CI: 0.839-0.976), and optimal operating point (OOP) was 3.08, which had 87.88% sensitivity and 80.00% specificity in predicting the early diagnostic value of SAP patients. **Conclusion** Th22 cells in peripheral blood and related cytokines were significantly elevated in SAP patients, which had important clinical value for early diagnosis of SAP patients.

**Key words** Th22 cells; Severe acute pancreatitis; Interleukin-22; Diagnosis

基金项目:国家自然科学基金资助项目(81300197)

作者单位:400038 重庆,陆军军医大学(第三军医大学)第一附属医院重症医学科

通讯作者:张永辉,电子信箱:xhycq01@163.com

急性胰腺炎(AP)是临床常见的急腹症,有研究报道显示,有15%~20%的AP患者可进展为重症急性胰腺炎(SAP),进一步导致多器官功能障碍,病情凶险,病死率极高<sup>[1]</sup>。随着基础与临床研究的深入,SAP的发病机制及相关临床诊断已取得了较大进展,但早期诊断率仍较低。因此,明确SAP发病机制,针对SAP病情的准确评估与治疗,是提高该病治疗效果及预后的关键。近年来,已有研究表明,SAP的发生与机体免疫系统介导的炎症反应的激活密切相关<sup>[2,3]</sup>,SAP的免疫防治作为重要的治疗手段而备受关注。辅助型T细胞是免疫炎症反应的重要组成部分,在炎症性疾病的发生、发展过程中扮演着重要的作用<sup>[4,5]</sup>。其中,Th22细胞作为重要的亚群之一,其特异性的分泌促炎细胞因子IL-22,可激活下游炎症通路,放大炎症反应<sup>[6]</sup>。然而,在SAP患者体内外周血Th22细胞与疾病发生、发展的相关性如何,目前尚未阐明。本研究通过观察SAP患者外周血Th22细胞及相关细胞因子水平,探讨外周血Th22细胞对SAP的临床诊断价值。

### 资料与方法

1. 研究对象:选取2015年1月~2018年12月于笔者医院就诊住院的SAP患者100例作为观察组,其中男性55例,女性45例,患者年龄34~78岁,中位年龄54.5岁。致病原因:胆囊及胆管结石(62例)、暴饮暴食及酒精性(14例)、高脂血症(8例)、药物性(5例)、其他(11例),所有患者均符合SAP诊断与治疗指南<sup>[7]</sup>。排除标准:合并恶性肿瘤、全身严重感染的患者;合并严重肝、肾功能不全的患者;存在其他自身免疫性疾病和免疫缺陷的患者;近半年使用免疫抑制剂的患者。同时选取同期100例普通轻型AP患者为对照组,所有对照组患者均满足AP诊断及治疗指南,同时需排除符合SAP诊断的患者。记录患者一般临床资料如年龄、性别、基础疾病等,同时记录患者入院12h的修正CT严重指数评分(MCTSI)、Ranson评分及APACHEII评分。各组间在性别、年龄、致病原因、基础疾病等方面比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。本研究获得了陆军军医大学第一附属医院伦理学委员会的批准并征得了患者家属书面知情同意。

2. 主要设备及试剂:(1)主要设备:流式细胞分析仪(美国BD公司);酶标仪(美国Emax公司)。(2)主要试剂:人淋巴细胞分离液、RPMI 1640细胞培养液、佛波酯、离子霉素、莫能菌素、细胞固定液及细胞破膜剂(美国Sigma公司);鼠抗人CD4单抗及鼠抗人IL-22单抗(美国eBioscience公司);人血清IL-22和IL-1 $\beta$ 酶联免疫吸附(ELISA)试剂盒(中国博士德公司);AMY、内毒素的ELISA试剂盒(中国南京建成生物公司)。

3. 流式细胞术检测外周血Th22细胞水平:分别抽取两组患者清晨空腹静脉血3ml,经肝素抗凝后,加入淋巴细胞分离液,震荡混匀,经离心后提取单核细胞。取6孔细胞培养板,将上述提取的单核细胞接种于该培养板,同时加入等体积的RPMI-1640培养基。随后加入相关抗菌素(50 $\mu$ l佛波酯,16 $\mu$ l离子霉素及16 $\mu$ l莫能菌素)后,吹打混匀,孵育箱孵育6h。加入抗人CD4单抗10 $\mu$ l,吹打混匀后,室温避光孵育1h,随后加入100 $\mu$ l细胞固定液,经离心后,加入100 $\mu$ l破膜液及5 $\mu$ lIL-22单抗。混匀后加入染色固定液200 $\mu$ l,最后经流式细胞仪检测Th22细胞水平。

4. 外周血相关因子及炎症指标的检测:取两组患者清晨空腹静脉血3ml,离心后收集上清,采用ELISA法测定各组间外周血IL-1 $\beta$ 、IL-22、AMY及内毒素水平,具体操作依据试剂盒说明书进行。

5. 统计学方法:采用SPSS 19.0统计学软件对数据进行统计分析与处理。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。采用Pearson相关法分析外周血Th22细胞水平与相关细胞因子及病情严重程度评分的相关性。运用Graphpad软件做ROC曲线分析,计算外周血Th22细胞水平的ROC曲线下面积(AUC)、最佳工作点(OOP)、敏感度及特异性,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

### 结 果

1. 外周血Th22细胞及相关炎症指标比较:与对照组比较,观察组患者外周血Th22细胞、IL-22、IL-1 $\beta$ 、AMY及内毒素水平显著升高,差异有统计学意义( $P > 0.05$ ),详见表1及图1。

表1 两组患者外周血Th22细胞及相关炎症指标水平比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	Th22 (%)	IL-22 (pg/ml)	IL-1 $\beta$ (pg/ml)	AMY (mmol/L)	内毒素 (U/L)
对照组	100	1.2 $\pm$ 0.4	17.32 $\pm$ 5.59	30.08 $\pm$ 6.83	280.12 $\pm$ 42.37	140.12 $\pm$ 30.20
观察组	100	3.4 $\pm$ 0.5*	37.42 $\pm$ 8.20*	37.32 $\pm$ 9.20*	402.35 $\pm$ 55.30*	220.21 $\pm$ 40.20*

与对照组比较,\* $P < 0.05$

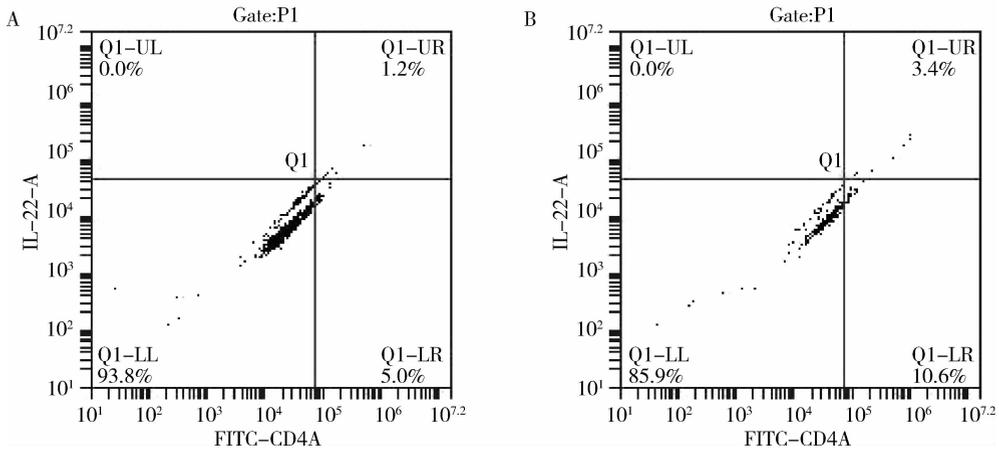


图 1 外周血 Th22 细胞的流式细胞分析图

A. 对照组; B. 观察组

2. 病情严重程度评分比较:与对照组比较,观察组病情严重程度评分(MCTSI 评分、Ranson 评分及 APACHE II 评分)均显著升高( $P < 0.05$ )。

表 2 两组患者病情严重程度评分比较(分,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	MCTSI 评分	Ranson 评分	APACHE II 评分
对照组	100	2.30 ± 0.46	4.27 ± 0.42	11.26 ± 3.10
观察组	100	4.01 ± 0.35*	2.38 ± 0.40*	18.50 ± 4.20*

与对照组比较, \*  $P < 0.05$

3. 相关性分析:SAP 患者外周血 Th22 细胞与 IL-22、IL-1 $\beta$ 、AMY 及内毒素水平呈显著正相关( $r = 0.930, P = 0.000; r = 0.825, P = 0.000; r = 0.782, P = 0.007; r = 0.803, P = 0.002; r = 0.680, P = 0.012$ );同时与病情严重程度评分(MCTSI 评分、Ranson 评分及 APACHE II 评分)呈显著正相关( $r = 0.820, P = 0.000; r = 0.830, P = 0.000; r = 0.747, P = 0.009$ )。

4. 外周血 Th22 细胞水平对 SAP 患者早期诊断价值的 ROC 曲线分析:通过以外周血 Th22 细胞水平来评估 SAP 患者早期诊断价值,绘制 ROC 曲线。外周血 Th22 细胞水平的曲线下面积(AUC)为 0.908(95% CI: 0.839 ~ 0.976),其最佳工作点(OOP)分别为 3.08,提示按此最佳工作点对 SAP 患者进行早期诊断预测,其敏感度和特异性分别为 87.88% 和 80.00%,见图 2。

### 讨 论

近年来,SAP 的发生率及病死率均呈上升趋势,虽然相关基础与临床研究对 SAP 的发病机制及诊

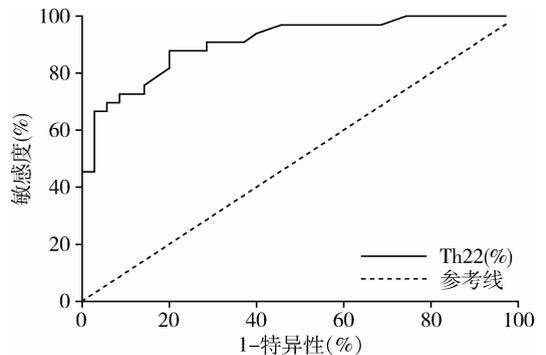


图 2 外周血 Th22 细胞对 SAP 患者早期诊断价值的 ROC 曲线分析

断、治疗取得了一定进展,但病死率仍居高不下<sup>[8]</sup>。主要原因为胰酶激活,导致机体炎性因子过度释放,常并发多器官功能障碍,造成病情进行性恶化<sup>[9]</sup>。相关研究显示,早期诊断 SAP,可有效的减少并发症及患者病死率<sup>[10]</sup>。SAP 患者机体炎性反应进行性放大的具体机制尚不完全清楚,但随着近年来炎症免疫研究的进展,辅助型 T 细胞介导的炎性反应在多种自身免疫及炎性疾病中的作用,越来越受到关注<sup>[11,12]</sup>。特别是以 Th22 细胞为代表的新型辅助型 T 细胞亚群,通常情况下,机体 Th22 细胞处于抑制状态,当受促炎细胞因子如 IL-6、TNF- $\alpha$  的刺激作用下,可由 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞转化而来,分泌 IL-22,随后激活下游炎性通路,产生炎性级联反应<sup>[13,14]</sup>。相关研究已显示,外周血 Th22 细胞参与了炎性疾病的发生、发展过程<sup>[15,16]</sup>。SAP 作为炎性疾病之一,外周血 Th22 细胞可能在 SAP 的早期诊断及病情变化的评估过程中,具有重要的临床价值。

相关研究显示,急性胰腺损伤时,体内炎性通路可显著激活,辅助型 T 细胞如 Th17 细胞可显著激活,进一步导致下游 IL-17 及 TNF- $\alpha$  水平显著升高,抑制 Th17 细胞激活,可显著降低急性胰腺炎模型大鼠体内炎性反应,减轻胰腺损伤<sup>[17,18]</sup>。作为一类新型的辅助型 T 淋巴细胞亚群,外周血 Th22 细胞是否参与了 SAP 的发生,同时与病情严重程度关系如何,目前尚不清楚。本研究结果显示,SAP 患者外周血 Th22 细胞及相关下游炎性因子如 IL-22、IL-1 $\beta$  等显著升高,表明 SAP 患者体内存在持续的炎性状态,其可能参与并促进了 SAP 的发展过程。

为进一步分析外周血 Th22 细胞与 SAP 体内炎性细胞因子及病情严重程度关系,通过相关性分析显示,外周血 Th22 细胞与 IL-22、IL-1 $\beta$ 、AMY 及内毒素水平呈显著正相关,提示外周血 Th22 细胞的激活,可进一步导致相关炎性细胞因子表达增加;同时 SAP 患者体内外周血 Th22 细胞水平还与病情严重程度评分(MCTSI 评分、Ranson 评分及 APACHE II 评分)呈显著正相关,提示外周血 Th22 细胞可一定程度反映 SAP 患者病情严重程度,可能对 SAP 患者病情严重程度的评估,具有一定的临床运用价值。通过 ROC 曲线分析外周血 Th22 细胞水平对 SAP 患者早期诊断的评估价值,其结果显示,ROC 曲线下面积较大,预测价值较高。外周血 Th22 细胞是炎性反应发起及进一步放大的重要环节,有研究显示,通过有效的抑制体内 Th22 细胞的激活,可显著降低炎性反应的级联放大,改善炎症性疾病的预后<sup>[19,20]</sup>。因此,外周血 Th22 细胞水平不仅可作为评估 SAP 患者早期诊断的可靠指标,还可能成为其治疗的有效靶标。

综上所述,外周血 Th22 细胞参与了 SAP 患者的炎性反应,但有关 Th22 细胞在 SAP 发生、发展中的调节机制还有待于进一步研究。

参考文献

- 1 Cherkun OY, Sytnik DA, Kaliuzhka AS, *et al.* Evaluation of the effectiveness of surgical management in local purulent-septic complications of acute pancreatitis [J]. *Wiad Lek*, 2018, 71(6):1231-1234
- 2 Li M, Zhang X, Wang B, *et al.* Effect of JAK2/STAT3 signaling pathway on liver injury associated with severe acute pancreatitis in rats [J]. *Exp Ther Med*, 2018, 16(3):2013-2021
- 3 汤伟胜,林冬华,丘永平,等.重症急性胰腺炎患者血清 RAAS 分子检测及与全身炎症反应及靶器官功能的关系[J]. *海南医学院学报*,2018, 24(9): 915-917,922
- 4 徐浩,吴淋淋,洪雪莲,等.类风湿性关节炎患者外周血的 Th17/

- Treg 细胞平衡的意义[J]. *中国卫生检验杂志*,2017, 27(23): 3444-3445,3448
- 5 张占强,吴春艳,方彬,等. Th17/Treg、IL-17 在慢性阻塞性肺疾病患者中的表达及与肺功能的相关性[J]. *现代中西医结合杂志*,2018, 27(22): 2419-2423,2494
- 6 Tamasauskiene L, Sitkauskiene B. Role of Th22 and IL-22 in pathogenesis of allergic airway diseases: pro-inflammatory or anti-inflammatory effect? [J]. *Pediatr Neonatol*, 2018, 59(4):339-344
- 7 Maraví Poma E, Zubia Olascoaga F, Petrov MS, *et al.* SEMICYUC 2012. Recommendations for intensive care management of acute pancreatitis [J]. *Med Intensiva*, 2013, 37(3):163-179
- 8 Fei Y, Liu XQ, Gao K. Analysis of influencing factors of severity in acute pancreatitis using big data mining [J]. *Rev Assoc Med Bras (1992)*, 2018, 64(5):454-461
- 9 Portelli M, Jones CD. Severe acute pancreatitis: pathogenesis, diagnosis and surgical management [J]. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2017, 16(2):155-159
- 10 Chen Y, Ke L, Meng L, *et al.* Endothelial markers are associated with pancreatic necrosis and overall prognosis in acute pancreatitis: a preliminary cohort study [J]. *Pancreatol*, 2017, 17(1):45-50
- 11 何晗,刘新君,魏炯. 外周血 Th17 细胞对脓毒症急性肾损伤的早期诊断价值[J]. *检验医学与临床*,2018, 15(11): 1597-1599
- 12 李燕,曾兰瑶,王艺淳,等. 外周血 Treg 细胞与 Th17 细胞在寻常型银屑病中的表达及临床意义[J]. *实用预防医学*,2018, 25(1): 93-95
- 13 Moy AP, Murali M, Kroshinsky D, *et al.* T-helper immune phenotype may underlie 'paradoxical' tumour necrosis factor- $\alpha$  inhibitor therapy-related psoriasiform dermatitis [J]. *Clin Exp Dermatol*, 2018, 43(1):19-26
- 14 雷波,玄秀云,樊卫平,等. Th22 细胞分泌 IL-22 激活 STAT3 通路促进人卵巢癌发展[J]. *免疫学杂志*, 2018, 34(6): 492-498
- 15 甄瑾,马翔凌,田晓艳,等. 外周血 Th22/Treg 细胞在多发硬化患者中的水平及与严重程度的关系[J]. *中国老年学杂志*, 2018, 38(19): 4701-4703
- 16 杨英,马春茂,兰德彬. Th22 细胞在评估脓毒症病情及预后中的临床意义[J]. *医学研究杂志*,2018, 47(5): 161-163,187
- 17 Thomson JE, Brand M, Fonteh P. The immune imbalance in the second hit of pancreatitis is independent of IL-17A [J]. *Pancreatol*, 2018, 18(3):246-252
- 18 陈静. 急性胰腺炎患者外周血中 Th17 和 Treg 细胞及其细胞因子水平变化[J]. *空军医学杂志*, 2016, 32(6): 368-371
- 19 Shabgah AG, Navashenag JG, Shabgah OG, *et al.* Interleukin-22 in human inflammatory diseases and viral infections [J]. *Autoimmun Rev*, 2017, 16(12):1209-1218
- 20 RøADB, Simpson MR, RøTB, *et al.* Reduced Th22 cell proportion and prevention of atopic dermatitis in infants following maternal probiotic supplementation [J]. *Clin Exp Allergy*, 2017, 47(8):1014-1021

(收稿日期:2019-04-02)

(修回日期:2019-04-04)