

• 临床检验研究论著 •

sTREM-1 和中性粒细胞表面 CD64 表达在脓毒症早期诊断的价值

张 羿¹, 易思华¹, 张晓微², 金凤玲^{1△}

(兰州大学第一医院:1. 检验科;2. 中心实验室 730000)

摘要:目的 探讨血清可溶性髓系细胞表达触发蛋白-1(sTREM-1)及中性粒细胞表面 CD64 表达水平对脓毒症的早期诊断价值。**方法** 应用双抗体夹心酶联免疫吸附法(ELISA)测定血清 sTREM-1 浓度,应用流式细胞技术测定中性粒细胞表面分子 CD64 的表达,应用受试工作特征 ROC 曲线研究 sTREM-1、CD64 的诊断效能。**结果** 脓毒症组、SIRS 组与健康对照组血清 sTREM-1 中位数水平分别为 255.34、184.58 和 128.64 pg/mL,三组间比较,差异有统计学意义, $P < 0.01$;脓毒症组 CD64 阳性百分率中位数为 79.96%,高于 SIRS 组和健康对照组(分别为 47.50%、16.37%),三组间比较差异有统计学意义, $P < 0.05$ 。血清 sTREM-1 诊断脓毒症 ROC 曲线下面积为 0.75,在临界值取 208.86 时 sTREM-1 诊断脓毒症的敏感性 74%,特异性 70%。CD64 阳性百分率以 57.83%为界时,诊断脓毒症的敏感度为 85%,特异性为 75%,ROC 曲线下面积为 0.77。2 项指标联合检测,ROC 曲线下面积为 0.86,敏感性达 90%,特异性为 62%。**结论** 外周血 sTREM-1、中性粒细胞表面 CD64 检测对于脓毒症的诊断及鉴别具有一定价值,两者联合检测对早期诊断可能更具意义。

关键词:脓毒症; 可溶性髓系细胞表达触发受体-1; CD64

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.13.022

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)13-1590-03

Value of sTREM-1 and CD64 on surface of neutrophil for the early diagnosis of sepsis

Zhang Yi¹, Yi Sihua¹, Zhang Xiaowei², Jin Fengling^{1△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Central Laboratory, the First Affiliated Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China)

Abstract: **Objective** To investigate the diagnostic value of serum soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1 (sTREM-1) and CD64 expression on the surface of neutrophil in patients with sepsis. **Methods** sTREM-1 was measured by double-antibody sandwich enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). CD64 was measured by automatic flow cytometry. The diagnostic value of sTREM-1 and CD64 were assessed by receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. **Results** Median concentrations of Serum sTREM-1 in sepsis, non-infectious SIRS and control groups were 255.34, 184.58 and 128.64 pg/mL, respectively. Level of sTREM-1 in patients with sepsis was significantly higher than in patients with non-infectious SIRS and control group ($P < 0.01$). Level of peripheral blood neutrophil CD64 in sepsis group (79.96%) was significantly higher than that in the other two groups (47.50% and 16.37%, $P < 0.05$). The area under ROC curve of sTREM-1 for the diagnosis of sepsis was 0.75, taking cut-off level of 208.86 pg/mg, with sensitivity of 74% and specificity of 70%. At cut-off level of 57.83%, the sensitivity and specificity of CD64 were 85% and 75% respectively, and the area under ROC curve for the diagnosis of sepsis was 0.77. The area under ROC curve of combination was 0.86. **Conclusion** Serum sTREM-1 and CD64 detection might have diagnostic value for sepsis. Combined detection might be with better diagnostic value.

Key words: sepsis; soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1; CD64

脓毒症是临床上最常见也是最危险的感染性疾病,病死率很高。重症脓毒症病死率为 20%~25%,如果初始治疗不当,病死率可达 50%以上。目前,脓毒症诊断主要依靠全身炎症综合征合并临床可疑感染,微生物培养阳性为金标准。然而,微生物培养结果缺乏及时性及敏感性,致使治疗延迟甚至患者死亡率增加。髓系细胞触发受体-1(TREM-1)是近年来发现的一种表达于中性粒细胞和单核细胞免疫球蛋白超家族,其可溶形式 sTREM-1 作为一种诊断炎症反应的新指标越来越受到关注。CD64 作为中性粒细胞表面标志物,在感染后表达水平升高,可作为炎症反应的早期指标。本实验通过对 55 例 SIRS 患者外周血中上述两种指标的检测分析,探讨血清 sTREM-1 及中性粒细胞表面分子 CD64 表达对脓毒症诊断的价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 研究对象为 2010 年 5~7 月在本院住院患者 55 例。脓毒症患者 35 例,其中男 21 例,女 14 例;年龄 20~89 岁,平均(51±19)岁。非感染 SIRS 患者 20 例,男 10 例,女 10

例;平均年龄(50±20)岁。以上两组患者均符合美国胸科医师学会/危重病医学会(ACCP/SCCM)与 1992 年提出的脓毒症诊断标准。另选 10 例健康体检者为健康对照组,男、女各 5 例,平均年龄(48±10)岁。三组对象的性别和年龄差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。35 例脓毒症患者中,肺部感染 14 例,菌血症 10 例,腹腔感染 8 例,泌尿系感染 2 例,肺脓肿 1 例。脓毒症患者平均体温(38.4±0.5)℃,平均白细胞计数(14.66±6.35)×10⁹/L;SIRS 组患者体温(38.3±0.3)℃,白细胞计数(13.88±2.49)×10⁹/L;健康对照组体温(36.4±0.3)℃,白细胞计数(7.01±1.53)×10⁹/L。脓毒症组与 SIRS 组间两组数据差异无统计学意义,显著高于健康对照组($P < 0.05$)。

1.2 仪器与试剂 sTREM-1 检测试剂盒(上海沪峰生物科技有限公司),Bio-RAD model 680 酶标仪(美国 Bio-RAD 公司)。CD64PE 及同型对照 IgG1PE(美国 Beckman Coulter 公司),EPICS-XL 流式细胞仪(美国 Beckman Coulter 公司),Q-PREP 型全血细胞制备仪(美国 Beckman Coulter 公司)。

△ 通讯作者, E-mail: jfljkh@163.com。

1.3 方法 采集研究对象入组当天空腹静脉血 2 mL,置于 1.5 mg/mL 乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管中,用于中性粒细胞 CD64 测定;3 mL 置于促凝集生化管,离心后取血清保存于-20 ℃,用于血清 sTREM-1 水平测定。血清 sTREM-1 测定采用双抗体夹心酶免分析法,操作严格按照试剂盒中使用说明进行。CD64 测定:加入 20 μL 单克隆抗体和同型对照;分别向试管中加入混匀的 100 μL 抗凝血;混匀,避光,室温孵育 15~20 min;在 Q-PREP 全血细胞制备仪溶血,裂解红细胞;上机测样,界定粒细胞群,计数 10 000 个细胞,记录百分率。

1.4 统计学处理 统计软件采用 SPSS16.0,对于满足正态分布的计量资料(年龄、体温、白细胞计数)用 $\bar{x}\pm s$ 表示,并采用方差分析方法;对于不满足正态分布的计量资料(sTREM-1、CD64)以中位数表示并采用非参数检验。绘制 ROC 曲线比较 sTREM-1 与 CD64 的 AUC 面积,AUC 面积比较采用 Z 检验。所有统计分析显著性水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

2.1 血清 sTREM-1、中性粒细胞表面 CD64 水平的变化 此 2 项指标在脓毒症组中表达高于 SIRS 组和健康对照组,三组间差异有统计学意义。三组 sTREM-1 中位数分别为 255.24、184.58、128.64 pg/mL;三组中性粒细胞表面 CD64 阳性百分率中位数水平分别 79.96%、47.50%、16.37%,见表 1。

表 1 三组间 sTREM-1、CD64 水平			
指标	脓毒症组	SIRS 组	健康对照组
sTREM-1(pg/mL)	255.24△▼	184.58	128.64
CD64(%)	79.96◆◇	47.50	16.37

△: $P=0.002$,◆: $P=0.037$,与 SIRS 组比较;▼: $P<0.001$,◇: $P<0.001$,与健康对照组比较。

2.2 血清 sTREM-1、CD64 工作曲线 血清 sTREM-1、CD64 在脓毒症组与 SIRS 组间差异具有统计学意义,绘制 2 项指标脓毒症的受试者工作特征曲线,见图 1。

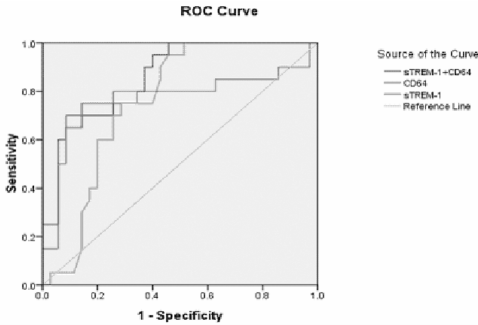


图 1 血清 sTREM-1、CD64 诊断脓毒症与 SIRS 的 ROC 曲线

分析受试者工作曲线(ROC),sTREM-1 其曲线下面积(AUC)为 0.75(95%CI,0.63~0.88), $P=0.002$;CD64 曲线下面积(AUC)为 0.77(95%CI,0.61~0.92), $P=0.001$;2 项指标联合测定后其曲线下面积为 0.86(95%CI,0.76~0.96), $P<0.001$,见表 2。

表 2 sTREM-1、CD64 曲线下面积			
指标	AUC	95%CI	P
sTREM-1	0.75	0.63~0.88	=0.002
CD64	0.77	0.61~0.92	=0.001
sTREM-1+CD64	0.86	0.76~0.96	<0.001

选取敏感性大于 70%以上似然比最大的数值为 cut off 值,以 208.86 为界时,sTREM-1 诊断脓毒症的敏感性为 74%,特异度为 70%;以 57.83%为 cut off 值时,CD64 诊断脓毒症的敏感性为 85%,特异性为 75%,见表 3。

表 3 2 项指标诊断脓毒症的诊断效能						
指标	cut off	敏感性	特异性	阳性预测值	阴性预测值	似然比
sTREM-1(pg/mL)	208.86	0.74	0.70	0.69	0.68	2.4
CD64(%)	57.83	0.85	0.75	0.85	0.63	3.4
sTREM-1/CD64	≥209/58	0.90	0.62	0.98	0.45	2.4

2.3 sTREM-1、CD64 在不同病因的脓毒症中比较 本实验中脓毒症的前三位病因分别为肺炎、菌血症和腹腔感染。在肺炎引起的脓毒症组 sTREM-1 水平较后两组高,其中肺炎与菌血症引起的脓毒症血清 sTREM-1 水平显著高于 SIRS 组($P<0.05$)。腹腔感染引起的脓毒症组 sTREM-1 水平虽高于 SIRS 组,但差异无统计学意义($P>0.05$)。而 CD64 在三个亚组与 SIRS 组间差异均无统计学意义($P>0.05$),见表 4。

表 4 不同病因脓毒症与 SIRS 组 sTREM-1 与 CD64 比较				
指标	SIRS	脓毒症		
		肺炎	菌血症	腹腔感染
sTREM-1(pg/mL)	184.58	334.40	321.70	226.00
P 值	—	<0.001	0.017	0.239
CD64(%)	47.50	74.50	72.51	60.79
P 值	—	0.096	0.153	0.360

—:无数据。

2.4 不同病原菌感染患者两组数据比较 本次实验中,革兰阴性杆菌感染组与革兰阳性球菌感染组 sTREM-1 中位数分别为 309.90 和 278.41 pg/mL;革兰阴性杆菌感染组与革兰阳性球菌感染组 CD64 水平分别为 88.07%和 70.67%。两组数据之间差异无统计学意义($P>0.05$),见表 5。

表 5 革兰阳性球菌与革兰阴性杆菌感染间两组数据比较			
指标	革兰阳性球菌	革兰阴性杆菌	P 值
sTREM-1(pg/mL)	278.41	309.90	0.631
CD64(%)	70.67	88.07	0.065

3 讨 论

脓毒症是感染、创伤、烧伤、休克等临床危重症患者的严重并发症之一,病死率极高。以往脓毒症主要通过白细胞计数、分类、C 反应蛋白、细菌培养等方法进行诊断,但上述方法均存在局限性。因此,寻找快速、准确诊断脓毒症的生物学指标已成为目前研究的热点和难点。

髓样细胞触发受体(TREM)于 2000 年发现,是一种表达于髓样细胞的免疫球蛋白超家族,其中成员 TREM-1 在炎症反应的发生发展中起重要作用^[1-2]。伴随 TREM-1 在炎症反应中表达增高,可溶形式的 TREM-1(sTREM-1)也随之增多,后者可能是由于蛋白水解作用从膜上脱落的、缺乏跨膜域及胞内域的一种形式^[2]。虽然有关 sTREM-1 的确切来源尚未证实,但在感染早期 sTREM-1 即可释放入体液且表达上调^[3]。在脓毒症诊断研究中,sTREM-1 相对于 C 反应蛋白(CRP)和前降钙素(PCT)更具有敏感性和特异性^[4-5]。在另一项研究中表明^[6],sTREM-1 在 SIRS 与感染的鉴别中同样有高的敏感性

和特异性,当临界值选取 230 pg/mL 时 sTREM-1 的敏感性达 96%,特异性达 91%。但是也有研究对该结论提出质疑,Bopp 等^[7]提出在 SIRS、脓毒症、严重脓毒症、感染性休克患者及健康对照组间血浆 sTREM-1 水平无明显差异。Kofoed 等^[8]研究结果显示,sTREM-1 在单独诊断感染时 ROC 曲线下面积仅为 0.61。在本实验中,脓毒症较 SIRS 及健康对照组间血浆 sTREM-1 水平显著升高,同时,在选取临界值为 208.86 pg/mL 时,其敏感性和特异性分别为 74%和 70%,AUC 为 0.75。虽然该结果低于文献报道^[4-5],但却印证了脓毒症时 sTREM-1 水平是显著升高的,并与 SIRS 及健康对照组相比差异有统计学意义。总体而言,实验数据提示 sTREM-1 在脓毒症的诊断上具有一定的意义。

此外,值得注意的是,实验中还发现在肺炎和菌血症引起的脓毒症患者 sTREM-1 水平明显高于 SIRS 组,提示该指标对于肺炎或菌血症引起的脓毒症有更好的诊断价值。这可能是由于肺炎引起的脓毒症患者常合并低氧血症和代谢性酸中毒,在组织缺氧和乳酸血症的情况下,某些促炎因子大量释放进一步上调 sTREM-1 表达。此外,菌血症时炎性因子释放入血快速、直接;而腹腔感染患者初始感染部位局限,促炎因子产生“瀑布效应”需要一定反应时间,并且在进入血循环过程中可能被胆汁、胰液等灭活,因此,外周血中测得 sTREM-1 含量较肺炎、菌血症引起的脓毒症患者低。但由于本实验样本量较小,数据可能发生偏倚,需要进一步研究证实。

CD64 是 IgG 的 Fc 段受体之一,属免疫球蛋白超家族成员。在外周血中主要分布于单核细胞、巨噬细胞及树突细胞等抗原递呈细胞表面。正常情况下,CD64 呈低水平表达,在机体感染时,数小时内可使 CD64 在中性粒细胞表面大量表达,且与其配体结合后,启动并放大免疫反应,促使细胞因子大量释放^[9]。近年来,CD64 在脓毒症诊断方面越来越受到重视。Zeitoun 等^[10]研究表明,CD64 在诊断脓毒症时,敏感性达 92%,1 项 meta 分析表明,在细菌感染时 CD64 诊断敏感性为 79%,特异性为 91%^[11]。本实验研究结果表明,脓毒症组外周血中性粒细胞 CD64 表达明显高于 SIRS 组和健康对照组,当 CD64 阳性率取值为 57.83% 时,诊断脓毒症的敏感性为 85%,特异性为 75%,说明 CD64 是诊断脓毒症的较好指标。

比较两组指标,sTREM-1 与 CD64 诊断脓毒症的 ROC 曲线下面积分别为 0.75(95%CI,0.63~0.88)和 0.77(95%CI,0.61~0.92),但是 CD64 的敏感性及特异性均高于 sTREM-1。同时,CD64 的阳性预测值、阴性预测值和似然比分别为 85%、63%和 3.4,均高于 sTREM-1。相对而言,CD64 具有更好的预测值,其诊断脓毒症的结果较 sTREM-1 更为可靠。但是中性粒细胞 CD64 在一部分自身免疫性疾病中呈高表达,对于单独测定外周血中性粒细胞 CD64 鉴别细菌感染和自身免疫性疾病存在争议。联合 sTREM-1 测定在一定程度上减少中性粒细胞 CD64 诊断感染作用的局限性,联合检测能互为补充,提高脓毒症的检出率,提高诊断效率,降低漏诊率。上述 2 项指标联合检测后 ROC 曲线下面积可达到 0.86(95%CI,0.76~0.96),敏感性达 90%,阳性预测值 98%,表明应用 CD64 和 sTREM-1 联合测定对于脓毒症的早期筛查诊断价值更大。

许多病原微生物均能导致脓毒症发生,但临床上由革兰阴性杆菌和革兰阳性球菌引发的脓毒症占 95%以上^[12]。本研究对 35 例脓毒症患者的致病菌进行分析后发现,sTREM-1 水平和 CD64 在革兰阴性杆菌感染时略高于革兰阳性球菌感染患者,但差异均无统计学意义。关于 sTREM-1 和 CD64 表达是

否与细菌种类有关,在临床实践中能否借此判断致病菌大致分类等问题本次研究尚无数据支持,还需进一步探讨。

综上所述,外周血 sTREM-1 和 CD64 的测定对诊断脓毒症具有一定价值,两者联合检测更具意义。但是,由于本实验纳入脓毒症患者样本量偏小,对于 sTREM-1 和 CD64 在不同程度感染的脓毒症患者中表达差异,需要更深入研究证实。此外,上述生物学指标必须与临床紧密联系,在临床表现的基础上发挥其辅助诊断价值,才能提高对脓毒症诊断的可靠性。

参考文献

- [1] Colonna M, Bouchon A, Dietrich J. Cutting edge: inflammatory responses can be triggered by TREM-1, a novel receptor expressed on neutrophils and monocytes[J]. *Journal of Immunology*, 2000, 164(10):4991-4995.
- [2] Gomez-Pina V, Soares Schanoski A, Rodriguez-Rojas A, et al. Metalloproteinases shed TREM-1 ectodomain from lipopolysaccharide-stimulated human monocytes[J]. *Journal of Immunology*, 2007, 179(6):4065-4073.
- [3] 郭光辉, 蒋巧雅, 束振华. 可溶性髓系细胞触发受体-1 在细菌性脑膜炎诊断中意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(9):951-954.
- [4] Gibot S, Oravoisy A, Kolopp-Sarda MN, et al. Time-course of sTREM(soluble triggering receptor expressed on myeloid cells)-1, procalcitonin, and C-reactive protein plasma concentrations during sepsis[J]. *Critical Care Medicine*, 2005, 33(4):792-796.
- [5] Gibot S. Clinical review: role of triggering receptor expressed on myeloid cells-1 during sepsis[J]. *Critical Care*, 2005, 9(5):485-489.
- [6] Rivera-Chavez F, A and JP. Minei, Soluble Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1 Is an Early Marker of Infection in the Surgical Intensive Care Unit[J]. *Surgical Infections*, 2009, 10(5):435-439.
- [7] Bopp C, Hbfer S, Bouchon A, et al. Soluble TREM-1 is not suitable for distinguishing between systemic inflammatory response syndrome and sepsis survivors and nonsurvivors in the early stage of acute inflammation[J]. *European Journal of Anaesthesiology*, 2009, 26(6):504-507.
- [8] Kofoed K, Andersen O, Kronborg G, et al. Use of plasma C-reactive protein, procalcitonin, neutrophils, macrophage migration inhibitory factor, soluble urokinase-type plasminogen activator receptor, and soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in combination to diagnose infections: a prospective study[J]. *Critical Care*, 2007, 11(2).
- [9] Danikas D, Karakantza M, Theodorou G, et al. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis. Correlation to CD64 and CD14 antigen expression[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2008, 154(1):87-97.
- [10] Zeitoun AA, Gad SS, Attia FM, et al. Evaluation of neutrophilic CD64, interleukin 10 and procalcitonin as diagnostic markers of early- and late-onset neonatal sepsis[J]. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 2010, 42(4):299-305.
- [11] Cid J, Aguinaco R, Sanchez R, et al. Neutrophil CD64 expression as marker of bacterial infection: a systematic review and meta-analysis[J]. *Journal of Infection*, 2010, 60(5):313-319.
- [12] 伏建峰. 脓毒症的发病机制及防治药物研发新思路[J]. *国际检验医学杂志*, 2011, 32(1):66-68.