

论著·临床研究

铜绿假单胞菌痰培养阳性患者抗菌肽 LL-37、CRP 水平变化及临床意义*

肖倩^{1,2}, 黄柳霞³, 曾建明^{1,2}, 李有强^{1,2}, 张伟铮^{1,2}, 陈茶^{1,2△}, 陈富^{1,2}

(1. 广东省中医院检验医学部, 广州 510120; 2. 广州中医药大学

第二附属医院检验医学部, 广州 510006; 3. 重庆医科大学医学检验系, 重庆 400016)

摘要:目的 探讨铜绿假单胞菌痰培养阳性患者的抗菌肽 LL-37 和 C 反应蛋白(CRP)水平变化情况及相互关系。方法 选取广东省中医院 2016 年 9 月至 2017 年 5 月收治的铜绿假单胞菌痰培养阳性患者 50 例、健康体检 27 例作为研究对象, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验法检测抗菌肽 LL-37 水平, 免疫比浊法检测 CRP 水平。结果 铜绿假单胞菌痰培养阳性患者组的抗菌肽 LL-37 和 CRP 水平均显著高于健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 两者呈正相关($r = 0.411, P < 0.05$)。结论 铜绿假单胞菌痰培养阳性时, 抗菌肽 LL-37 和 CRP 水平升高, 对评估患者感染的早期诊断有一定临床应用价值。

关键词: 抗菌肽 LL-37; C 反应蛋白; 铜绿假单胞菌

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.02.006

中图法分类号: R446.5

文章编号: 1673-4130(2018)02-0146-03

文献标识码: A

Changes and clinical significance of antimicrobial peptide LL-37 and CRP in patients with *Pseudomonas aeruginosa* positive sputum culture*

XIAO Qian^{1,2}, HUANG Liuxia³, ZENG Jianming^{1,2}, Li Youqiang^{1,2},ZHANG Weizheng^{1,2}, CHEN Cha^{1,2△}, CHEN Fu^{1,2}

(1. Department of Laboratory Medicine, Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510120, China; 2. Department of Laboratory Science, Second Affiliated Hospital of Guangzhou University of Chinese Medicine, Guangzhou, Guangdong 510006, China; 3. Faculty of Laboratory Medicine, Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of antimicrobial peptide LL-37 and C-reactive protein (CRP) in the patients with *Pseudomonas aeruginosa* positive sputum culture and their mutual relation. **Methods** Fifty cases of *Pseudomonas aeruginosa* positive sputum culture and 27 cases undergoing physical examination in the Guangdong Provincial Hospital of Chinese Medicine from September 2016 to May 2017 were selected as the research subjects. The level of antimicrobial peptide LL-37 was detected by double antibody sandwich ELISA and the CRP level was detected by immunoturbidimetry. **Results** The levels of antimicrobial peptide LL-37 and CRP in the *Pseudomonas aeruginosa* positive sputum culture group were significantly higher than those in the healthy control group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$), and they showed the positive correlation ($r = 0.411, P < 0.05$). **Conclusion** In positive sputum culture of *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial peptide LL-37 and CRP levels are increased, which has a certain clinical application value for the early diagnosis of infection.

Key words: antimicrobial peptide LL-37; C-reactive protein; *Pseudomonas aeruginosa*

铜绿假单胞菌是一种常见的医院获得性感染的革兰阴性条件致病菌, 常引起呼吸道感染等, 危害着人类的健康^[1]。抗菌肽是天然免疫系统重要的效应分子, 是机体抵抗微生物感染的第一道功能性和生理性屏障, 在疾病的发生发展中扮演重要的角色。抗菌肽 LL-37 是在人体内唯一发现的 cathelicidin 内源性

抗菌肽^[2-3], 有广谱的抗微生物活性, 趋化活性及结合并中和脂多糖的活性。研究表明抗菌肽 LL-37 产生于多种免疫细胞, 并且在机体中呈诱导性表达——当机体出现感染、炎症、创伤刺激时, 抗菌肽 LL-37 表达上调, 参与宿主的防御反应^[4]。C 反应蛋白(CRP)主要是肝脏合成的急性时相反应物, 也是急慢性炎症反

* 基金项目: 广东省医学科研基金项目(A2015457); 广东省中医药局科研项目(20172075); 广东省中医院中医药科学技术研究专项资助项目(YN2016QJ13)。

作者简介: 肖倩, 女, 主管技师, 主要从事临床生化免疫检验与临床微生物检验研究。△ 通信作者, E-mail: chench906@163.com。

本文引用格式: 肖倩, 黄柳霞, 曾建明, 等. 铜绿假单胞菌痰培养阳性患者抗菌肽 LL-37、CRP 水平变化及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(2): 146-148.

应的敏感标志物,一直以来是临床感染研究的热点。由于目前尚无临床数据表明在铜绿假单胞菌感染的患者中抗菌肽 LL-37 的水平情况,因此本研究以铜绿假单胞菌痰培养阳性患者为研究对象,探讨抗菌肽 LL-37 和 CRP 水平变化及其关系。现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 本研究选取广东省中医院 2016 年 9 月至 2017 年 5 月收治的铜绿假单胞菌痰培养阳性患者 50 例(铜绿假单胞菌痰培养阳性组),其中 36 例单纯铜绿假单胞菌痰培养阳性患者(单纯组),男 23 例,年龄 20~92 岁,平均(67.9±22.7)岁,女 13 例,年龄 32~95 岁,平均(62.9±17.7)岁;14 例铜绿假单胞菌合并其他菌痰培养如鲍曼不动杆菌、肺炎克雷伯菌阳性患者(合并其他菌感染组),男 10 例,年龄 51~87 岁,平均(70.9±16.2)岁,女 4 例,年龄 32~87 岁,平均(65.0±23.4)岁。另选取广东省中医院体检中心无心肺疾病且近期无呼吸道感染史的健康志愿者 27 例作为健康对照组,其中男 16 例,女 11 例,年龄 21~79 岁,平均(42.37±15.86)岁。所有入选者均知情并签署知情同意书,并经医院伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 MK3 全自动酶标检测仪,罗氏 Cobas8000 全自动生化分析仪。抗菌肽 LL-37 试剂盒购自武汉华美生物科技有限公司,CRP 试剂盒购自积水医疗科技(中国)有限公司。

1.3 方法 收集血清进行抗菌肽 LL-37 和 CRP 检测,抗菌肽 LL-37 采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验试剂盒说明书进行,CRP 采用免疫比浊法检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行统计学分析,符合正态分布的实验数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 GraphPad Prism 5.0 软件进行统计绘图,两组间数据比较采用独立样本 *t* 检验,各组间数据比较采用单因素方差分析,两组计量资料之间的相关性应用 Pearson's 相关性分析, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组抗菌肽 LL-37、CRP 水平比较 铜绿假单胞菌痰培养阳性组、单纯组和合并其他菌感染组抗菌肽 LL-37、CRP 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);单纯组和合并其他菌感染组抗菌肽 CRP 水平比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

表 1 各组血清抗菌肽 LL-37、CRP 水平比较($\bar{x} \pm s$)				
组别	<i>n</i>	抗菌肽 LL-37 (ng/mL)	CRP (mg/L)	
铜绿假单胞菌痰培养阳性组	50	1.599±1.411*	45.172±60.739*	
单纯组	36	1.617±1.454*	34.789±38.258*▲	
合并其他菌感染组	14	1.550±1.344*	71.870±94.330*	
健康对照组	27	0.096±0.087	1.552±1.571	

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$;与合并其他菌痰感染组比较,▲ $P < 0.05$

2.2 抗菌肽 LL-37 与 CRP 的相关性分析 为进一步探讨抗菌肽 LL-37 在铜绿假单胞菌痰培养阳性感染中的临床意义,本研究将抗菌肽 LL-37 与 CRP 进行相关性分析。结果显示抗菌肽 LL-37 与 CRP 水平呈正相关($r=0.411, P < 0.05$)。见图 1。

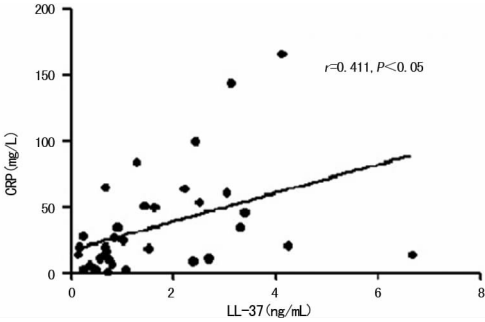


图 1 抗菌肽 LL-37 与 CRP 的相关性分析

3 讨论

铜绿假单胞菌是医院常见的感染致病菌,也是呼吸科、重症监护室患者感染的主要致病菌,尤其在弥漫性泛细支气管炎、社区获得性肺炎,以及肺部慢性反复感染中扮演重要的角色^[5-6]。CRP 是在各种炎症或组织坏死时产生的异常蛋白,检测 CRP 可以推测体内有无炎症性病灶,或用于观察病变过程及判断治疗效果。有研究发现铜绿假单胞菌引起的呼吸道感染中,CRP 水平升高,在判断病情及评判疗效方面具有优势,现已成为临床上常见的炎症判断指标^[7]。本研究结果显示,铜绿假单胞菌痰培养阳性患者体内血清 CRP 水平高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);进一步分为单纯组和合并其他菌感染组发现,合并其他菌感染组 CRP 水平比单纯组高,差异有统计学意义($P < 0.05$),与其他文献报道结果基本一致^[8]。

抗菌肽 LL-37 是先天免疫的重要组成部分,由宿主基因编码,hCAP18 为抗菌肽 LL-37 的前体,水解后生成活性成分抗菌肽 LL-37。抗菌肽 LL-37 可发挥抗微生物、抗病毒、中和内毒素等多种生物学活性^[9]。有研究显示,抗菌肽 LL-37 广泛存在于人中性粒细胞,巨噬细胞和包括气道上皮细胞在内的多种上皮细胞中,在支气管肺泡灌洗液及鼻黏膜分泌物中也存在 LL-37^[10]。另外实验证实炎症、感染和损伤刺激下,抗菌肽 LL-37 表达上调^[11],肺部感染的儿童支气管肺泡灌洗液中抗菌肽 LL-37 约可上升到 20 $\mu\text{g/mL}$ ^[12],尚未在铜绿假单胞菌感染患者的血清抗菌肽 LL-37 与感染的关系。本研究通过双抗体夹心酶联免疫吸附试验法检测铜绿假单胞菌痰培养阳性患者抗菌肽 LL-37 水平,发现其血清抗菌肽 LL-37 明显高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),提示抗菌肽 LL-37 的升高与铜绿假单胞菌引起的感染发生有一定关系,可见抗菌肽参与宿主的防御反应,且炎症微环境可能促使其表达增加,与疾病的发生存在一定相关性。单纯组和合并其他菌感染组的抗菌肽

LL-37 水平比较差异无统计学意义($P>0.05$),由此提示抗菌肽 LL-37 与铜绿假单胞菌混合感染关系不密切,与病情的进展程度没有密切相关。

基于抗菌肽 LL-37 在铜绿假单胞菌痰培养阳性患者中表达增加,本研究选取了与疾病活动度,病情进展相关的检测指标 CRP 与其作进一步的相关分析,初步评估抗菌肽 LL-37 在感染中的临床意义。结果显示,铜绿假单胞菌痰培养阳性患者的抗菌肽 LL-37 与 CRP 呈正相关($r=0.411, P<0.05$),在一定程度上反映了感染,两者可作为预测指标具有重要意义,具备一定的临床应用前景。

综上所述,铜绿假单胞菌痰培养阳性时,抗菌肽 LL-37 和 CRP 水平升高,对评估患者感染的早期诊断有一定临床应用价值,可进一步深入研究抗菌肽 LL-37 的功能和表达调控奠定实验基础,也为抗菌肽 LL-37 成为临床常见的预测感染筛查新指标提供实验依据。

参考文献

[1] HAMBLETT N, ROSENFELD M, GIBSON R L, et al. *Pseudomonas aeruginosa* in vitro phenotypes distinguish cystic fibrosis infection stages and outcomes[J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2014, 190 (3): 289-297.

[2] FAHY R J, WEWERS M D. Pulmonary defense and the human cathelicidin hCAP-18/LL-37[J]. *Immu Res*, 2005, 31(2): 75-89.

[3] NIYONSABA E, USHIO H, NAKANO N, et al. Antimicrobial peptides human beta-defensins stimulate epidermal keratinocyte migration, proliferation and production of proinflammatory cytokines and chemokines[J]. *J Invest Dermatol*, 2007, 127(3): 594-604.

[4] D'ALDEBERT E, MJBB M, MERGEY M, et al. Bile salts control the antimicrobial peptide cathelicidin through nuclear receptors in the human biliary epithelium[J]. *Gas-*

troen, 2009, 136(4): 1435-1443.

[5] LYCZAK J B, CANNON C L, PIER G B. Establishment of *Pseudomonas aeruginosa* infection; lessons from a versatile opportunist[J]. *Microbes Infect*, 2000, 22(9): 1051-1060.

[6] BURKETT A, VANDEMHEEN K L, GIESBRECHT L T, et al. Persistency of *Pseudomonas aeruginosa* in sputum cultures and clinical outcomes in adult patients with cystic fibrosis[J]. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2012, 31(7): 1603-1610.

[7] 刘金花, 徐吟亚, 付波. 血清降钙素原、超敏 C 反应蛋白及白细胞介素 6 在慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者中的临床应用[J]. *国际检验医学杂志*, 2013, 34(18): 2381-2382.

[8] 何静, 卢卫国. 联合测定血清 PCT 与 CRP 对感染性疾病的诊断价值[J]. *检验医学与临床*, 2012, 9(15): 1904-1905.

[9] VANDAMME D, LANDUYT B, LUYTEN W, et al. A comprehensive summary of LL-37, the factotum human cathelicidin peptide[J]. *Cell Immunol*, 2012, 280(1): 22-35.

[10] BERGSSON G, REEVES E P, MCNALLY P, et al. LL-37 complexation with glycosaminoglycans in cystic fibrosis lungs inhibits antimicrobial activity, which can be restored by hypertonic saline[J]. *J Immu*, 2009, 183(1): 543-551.

[11] BUCKI R, LESZCZYNSKA K, NAMIOT A, et al. Cathelicidin LL-37: a multitask antimicrobial peptide[J]. *Archivum Immu*, 2010, 58(1): 15-25.

[12] SUSANNE S, BANDREAS S, ROBERT B. Increased levels of antimicrobial peptides in tracheal aspirates of newborn infants during infection[J]. *Am J Res Med*, 2002, 165(7): 992-995.

(收稿日期: 2017-07-20 修回日期: 2017-09-28)

(上接第 145 页)

[9] LEE T H, MCCULLY B H, UNDERWOOD S J, et al. Correlation of conventional thrombelastography and rapid thrombelastography in trauma[J]. *Am J Surg*, 2013, 205(5): 521-527.

[10] 李双涛, 于长春, 张晶, 等. 急性脑梗死患者血栓弹力图与凝血功能相关性研究[J]. *中国临床医生杂志*, 2015, 20(4): 52-55.

[11] SANKARANKUTTY A, NASCIMENTO B, TEODORO D L, et al. TEG(R) and ROTEM(R) in trauma: similar test but different results[J]. *World J Emerg Surg*, 2012, 7(1): 433-434.

[12] KAWANO-CASTILLO J, WARD E, ELLIOTT A, et al. Thrombelastography detects possible coagulation disturbance in patients with intracerebral hemorrhage with he-

matoma enlargement[J]. *Stroke*, 2014, 45(3): 683-688.

[13] 谭延国, 张岩, 王芳, 等. TEG 血栓弹力图同常规凝血试验的关系及 TEG 血小板图试验的临床应用[J]. *中国实验诊断学*, 2012, 16(1): 81-85.

[14] 陈冠伊, 欧阳锡林, 吴靖辉, 等. 血栓弹力图与常规凝血四项评价临床患者凝血功能的对比研究[J]. *中国实验血液学杂志*, 2015, 32(2): 546-551.

[15] 范晓理, 王海嵘, 潘曙明, 等. 血栓弹力图在急性脑梗死患者溶栓前后的差异性研究[J]. *临床误诊误治*, 2014, 27(4): 58-60.

[16] ELLIOTT A, WETZEL J, ROPER T, et al. Thromboelastography in patients with acute ischemic stroke [J]. *Int J Stroke*, 2015, 10(2): 194-201.

(收稿日期: 2017-07-24 修回日期: 2017-10-18)