

• 论 著 •

血清人抗菌肽 LL-37 对重症肺炎患者临床转归的预测价值*

王 妍,李 涛,宋 超
秦皇岛军工医院重症医学科,河北秦皇岛 066000

摘 要:**目的** 探讨血清人抗菌肽 LL-37 对重症肺炎患者临床转归的预测价值。**方法** 选取 2017 年 5 月至 2019 年 10 月该院收治的 150 例重症肺炎患者作为研究对象,根据入院 28 d 转归情况(生存或死亡)将其分为存活组(87 例)、死亡组(63 例)。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 LL-37 表达水平,采用急性生理学及慢性健康状况评分Ⅱ(APACHEⅡ评分)评估重症肺炎患者病情严重程度,另外收集研究对象性别、年龄、体质量指数(BMI)、吸烟史、高血压比例、糖尿病比例等一般资料并进行组间比较。采用 Spearman 相关分析重症肺炎患者血清 LL-37 表达水平与 APACHEⅡ评分的相关性;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 LL-37 对重症肺炎患者 28 d 死亡的预测价值;采用多因素 Logistic 回归分析影响重症肺炎患者 28 d 生存状况的因素。**结果** 存活组与死亡组在性别、BMI、吸烟史、高血压比例方面比较,差异均无统计学意义($P>0.05$);与存活组相比,死亡组年龄更大,糖尿病比例、APACHEⅡ评分、血清 LL-37 表达水平均更高($P<0.05$);Spearman 相关分析结果显示,重症肺炎患者血清 LL-37 表达水平与 APACHEⅡ评分呈正相关($r=0.558, P<0.05$);血清 LL-37 预测重症肺炎患者 28 d 死亡的曲线下面积(AUC)为 0.848,最佳截断值为 744.13 $\mu\text{g/L}$,对应的灵敏度、特异度分别为 79.40%、81.60%;多因素 Logistic 回归分析结果显示,年龄 ≥ 60 岁、APACHEⅡ评分 ≥ 20 分、LL-37 高表达均是重症肺炎患者 28 d 死亡的独立危险因素($P<0.05$)。**结论** LL-37 与重症肺炎患者病情严重程度及预后转归情况密切相关,可用于病情评估及转归情况预测。

关键词:人抗菌肽 LL-37; 重症肺炎; 临床转归
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2021.15.015 **中图法分类号:**R563.1
文章编号:1673-4130(2021)15-1862-04 **文献标志码:**A

Predictive value of serum human antibacterial peptide LL-37 on clinical outcome of patients with severe pneumonia*

WANG Yan, LI Tao, SONG Chao
Department of Intensive Care Medicine, Qinhuangdao Jungong Hospital,
Qinhuangdao, Hebei 066000, China

Abstract: Objective To investigate the predictive value of serum human antibacterial peptide LL-37 on the clinical outcome of the patients with severe pneumonia. **Methods** A total of 150 patients with severe pneumonia admitted to the hospital from May 2017 to October 2019 were selected as the research subjects and divided into the survival group (87 cases) and death group (63 cases) according to the outcome (survival or death) of 28 d after admission. The expression level of serum LL-37 was detected by the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), the severity of severe pneumonia was assessed by the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation Ⅱ (APACHEⅡ), in addition the general data such as the gender, age, body mass index (BMI), smoking history, proportion of hypertension history and diabetes were collected and the inter-group caparison was performed; the Spearman correlation analysis was used to analyze the correlation between serum LL-37 expression level and APACHEⅡ score in the patients with severe pneumonia; the ROC curve was used to evaluate the predictive value of serum LL-37 for 28 d death of the patients with severe pneumonia; the multivariate Logistic regression was used to analyze the factors influencing the 28 d survival status of the patients with severe pneumonia. **Results** There was no statistically significant difference in the gender, BMI, smoking

* 基金项目:河北省秦皇岛市重点研发计划科技支撑项目(201902A159)。
作者简介:王妍,女,主管护师,主要从事急危重症诊疗研究。
本文引用格式:王妍,李涛,宋超.血清人抗菌肽 LL-37 对重症肺炎患者临床转归的预测价值[J].国际检验医学杂志,2021,42(15):1862-1865.

history and proportion of hypertension between the survival group and death group ($P > 0.05$); compared with those in the survival group, the age, proportion of diabetes, APACHE II score and serum LL-37 expression level in the death group were higher ($P < 0.05$); the Spearman correlation analysis showed that the expression level of serum LL-37 in the patients with severe pneumonia was positively correlated with the APACHE II score ($r = 0.558, P < 0.05$); the area under the curve (AUC) of serum LL-37 for predicting 28 d mortality in the patients with severe pneumonia was 0.848, the cut-off value was 744.13 $\mu\text{g/L}$, and the corresponding sensitivity and specificity were 79.40% and 81.60%, respectively; the multivariate Logistic regression analysis results showed that age ≥ 60 years old, APACHE II score ≥ 20 points and high expression of LL-37 were the independent risk factors of 28 d death in the patients with severe pneumonia ($P < 0.05$). **Conclusion** LL-37 is closely correlated to the severity and prognosis of the patients with severe pneumonia, which may be used for disease condition evaluation and prognosis prediction.

Key words: human antibacterial peptide LL-37; severe pneumonia; clinical outcome

重症肺炎是临床常见危急病,由细支气管肺泡及间质在各种病原菌持续作用下引发炎症反应导致,治疗难度较大,可导致多器官功能障碍,患者病死率高。随着经济发展及人口老龄化趋势加快,人们对抗菌药物的敏感性降低,再加上病原体变异等因素,重症肺炎的发生率呈不断上升趋势^[1]。急性生理学及慢性健康状况评分 II (APACHE II 评分)是急危重症严重程度的传统评估方法,但实施过程较为烦琐^[2],而寻找检测简便的血清标志物来评估重症肺炎患者病情严重程度是当前的研究热点。人抗菌肽 LL-37 含 37 个氨基酸,且 N 端前两个氨基酸残基是亮氨酸,因此得名 LL-37^[3]。LL-37 具有广谱抗微生物功能,且不易产生耐药菌株,可对真菌、细菌及部分具有包膜的病毒发挥作用,与支气管哮喘^[4]、慢性阻塞性肺疾病^[5]、脓毒症^[6]等疾病均有关。目前,LL-37 与重症肺炎患者临床转归的关系较少见报道,本文就此展开相关研究,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2017 年 5 月至 2019 年 10 月本院收治的 150 例重症肺炎患者作为研究对象,其中男 99 例、女 51 例,年龄 37~86 岁,体质指数(BMI)为 21.46~26.72 kg/m^2 。诊断标准:主要标准,(1)需机械通气;(2)感染性休克,需血管活性药物治疗。次要标准,(1)呼吸频率 ≥ 30 次/分;(2)氧合指数 ≤ 250 mm Hg;(3)多肺叶可见浸润;(4)意识和(或)定向障碍;(5)血清尿素氮 ≥ 20 mg/L;(6)白细胞计数 $< 4 \times 10^9/\text{L}$;(7)血小板计数 $< 100 \times 10^9/\text{L}$;(8)体温低于 36 $^{\circ}\text{C}$;(9)血压低,需积极液体复苏。符合主要标准中的任意一条及以上或符合次要标准中的任意三条及以上者即可诊断为重症肺炎。纳入标准:(1)满足重症肺炎诊断标准^[7];(2)年龄 > 18 岁;(3)临床资料完整。排除标准:(1)合并肺结核者;(2)入院 24 h 内死亡者;(3)近 3 个月有糖皮质激素等免疫抑制剂使用史者;(4)过敏体质者;(5)酒精或药物依赖者;(6)妊娠、哺

乳期女性;(7)合并心、肝、肾严重功能不全者;(8)合并恶性肿瘤者;(9)合并免疫系统、血液系统疾病者。根据研究对象入院 28 d 转归情况(生存或死亡)将其分为两组:存活组(87 例)、死亡组(63 例)。本研究经医院伦理委员会批准,研究对象及家属均知情同意。

1.2 方法

1.2.1 血清 LL-37 表达水平检测 研究对象均于入院 24 h 内采集 5 mL 静脉血,低温离心(4 $^{\circ}\text{C}$, 3 000 r/min 离心 10 min),将血清保存于-80 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中。血清标本检测前放置至室温,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 LL-37 表达水平。采用美国 Thermo Labsystems 公司 MULTISKAN MK3 酶标仪检测 450 nm 处的吸光度,并绘出标准曲线,由此计算血清标本中 LL-37 表达水平,试剂盒购自美国 R&D 公司,操作严格按照试剂盒说明书进行。将血清 LL-37 表达水平依据平均数(733.59 $\mu\text{g/L}$)分为高、低表达。

1.2.2 APACHE II 评分 采用 APACHE II 评分系统评估重症肺炎患者病情严重程度,APACHE II 评分系统包括 3 个部分:急性生理评分、慢性健康状况、年龄,总分为 71 分,分值越高,提示病情越严重。另外收集研究对象性别、年龄、吸烟史、高血压史、糖尿病史等一般资料。

1.3 统计学处理 采用 SPSS25.0 统计软件处理数据。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Spearman 相关分析重症肺炎患者血清 LL-37 表达水平与 APACHE II 评分的相关性;采用受试者工作特征(ROC)曲线评估血清 LL-37 对重症肺炎患者 28 d 死亡的预测价值;采用多因素 Logistic 回归分析影响重症肺炎患者 28 d 生存状况的因素。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 存活组、死亡组一般资料比较 存活组与死亡组在性别、BMI、吸烟史、高血压比例方面比较,差异

均无统计学意义($P>0.05$),与存活组相比,死亡组年龄较大,糖尿病比例、APACHE II 评分均较高($P<$

0.05)。见表 1。

表 1 存活组、死亡组一般资料比较[$\bar{x}\pm s$ 或 $n(\%)$]

组别	<i>n</i>	男性	年龄(岁)	BMI(kg/m ²)	吸烟史	高血压	糖尿病	APACHE II 评分(分)
存活组	87	56(64.37)	62.25±7.52	23.57±2.46	27(31.03)	41(47.13)	18(20.67)	17.71±2.76
死亡组	63	43(68.25)	67.94±8.47	23.10±2.41	26(41.27)	33(52.38)	24(38.10)	22.41±4.29
χ^2/t		0.246	4.336	1.165	1.675	0.404	5.691	8.190
<i>P</i>		0.620	<0.001	0.246	0.196	0.525	0.017	<0.001

2.2 存活组、死亡组血清 LL-37 表达水平比较 与存活组[(650.48±125.51)μg/L]相比,死亡组血清 LL-37 表达水平[(848.36±158.46)μg/L]更高($t=8.527, P<0.05$)。

2.3 重症肺炎患者血清 LL-37 表达水平与 A-PACHE II 评分的相关性分析 Spearman 相关分析结果显示,重症肺炎患者血清 LL-37 表达水平与 A-PACHE II 评分呈正相关($r=0.558, P<0.05$)。

2.4 血清 LL-37 对重症肺炎患者 28 d 死亡的预测价值 血清 LL-37 预测重症肺炎患者 28 d 死亡的曲线下面积(AUC)为 0.848(95%CI:0.785~0.912),最佳截断值为 744.13 μg/L,对应的灵敏度、特异度分别为 79.40%、81.60%,见图 1。

2.5 影响重症肺炎患者 28 d 生存状况的多因素 Logistic 回归分析 以重症肺炎患者 28 d 生存状况为因变量,存活赋值为 0,死亡赋值为 1,以年龄、糖尿病、APACHE II 评分、LL-37 为自变量进行多因素 Logistic 回归分析。将年龄<60 岁、不合并糖尿病、A-PACHE II 评分<20 分、LL-37 低表达均赋值为 0,相

应地将年龄≥60 岁、合并糖尿病、APACHE II 评分≥20 分、LL-37 高表达均赋值为 1。多因素 Logistic 回归分析结果显示,年龄≥60 岁、APACHE II 评分≥20 分、LL-37 高表达均是重症肺炎患者 28 d 死亡的独立危险因素($P<0.05$)。见表 2。

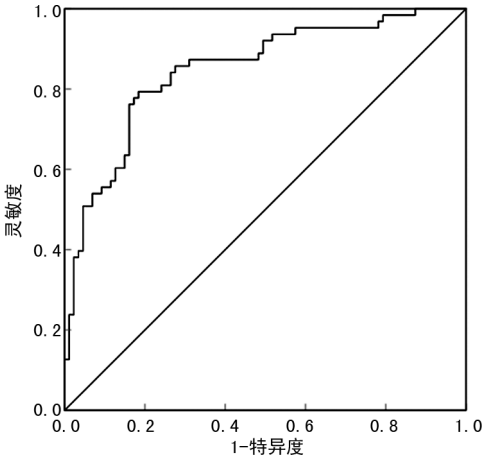


图 1 血清 LL-37 预测重症肺炎患者 28 d 死亡的 ROC 曲线

表 2 影响重症肺炎患者 28 d 生存状况的多因素 Logistic 回归分析结果

变量	<i>B</i>	<i>SE</i>	Wald χ^2	<i>OR</i>	95% <i>CI</i>	<i>P</i>
年龄(<60 岁 <i>vs.</i> ≥60 岁)	0.777	0.211	13.562	2.175	1.438~3.289	<0.001
糖尿病(不合并 <i>vs.</i> 合并)	0.490	0.348	1.981	1.632	0.825~3.228	0.159
APACHE II 评分(<20 分 <i>vs.</i> ≥20 分)	1.000	0.349	8.208	2.718	1.371~5.387	0.004
LL-37(低表达 <i>vs.</i> 高表达)	0.846	0.299	8.011	2.331	1.297~4.188	0.005

3 讨 论

重症肺炎由肺部感染引起,因病原体激活的免疫细胞可释放大量细胞因子,进而引起机体发生过度的瀑布样炎症反应,持续加重肺部炎症,最终导致重症肺炎的发生。患者可表现为胸痛、发热等症状,可能引发神经系统疾病、肾脏损伤等并发症,严重威胁患者生命安全。尽管目前抗感染治疗、器官支持等技术水平有明显提升,但重症肺炎患者预后仍未得到显著改善^[8]。正确评估重症肺炎患者病情及预后有利于早期进行有效、合理的干预,对改善患者预后具有重

要的临床意义。目前尚缺乏能够有效评估重症肺炎预后的生物标志物^[9-10]。

抗菌肽是新近发现的天然免疫多肽物质,在机体呼吸道、消化道、皮肤黏膜中广泛存在,参与调节免疫反应、炎症反应。LL-37 是一种阳离子肽类物质,由核糖体合成,其前体肽 hCAP-18 主要由中性粒细胞、巨噬细胞产生,可经丝氨酸蛋白酶 3 等水解产生具生物活性的 C 端片段^[4,11]。LL-37 是宿主防御系统的重要部分,在机体广泛存在,肺泡巨噬细胞及呼吸道上皮细胞中均有分布,可调控免疫细胞、非免疫细胞分

泌的炎症因子,进而参与炎性反应。机体发生严重感染时,LL-37 可转录到细胞核中,以转录因子角色调控基因表达,参与疾病演变,在多种感染性疾病中呈高表达^[12-14]。已有研究发现,LL-37 在多种感染性疾病中发挥重要作用,血清中高表达的 LL-37 可加剧支气管炎患者的病情进展;结核分枝杆菌感染患者可见血清 LL-37 表达水平明显升高;LL-37 也可通过诱导尿路上皮细胞的凋亡而诱发尿路感染^[12]。另有研究发现,脓毒症患者血清 LL-37 高表达,且与患者病情严重程度及预后结局密切相关^[6,15]。

本研究发现,重症肺炎患者血清 LL-37 表达水平与 APACHE II 评分呈正相关,提示 LL-37 高表达意味着重症肺炎患者病情更严重,其机制可能与机体感染时的固有免疫反应有关,LL-37 或可成为临床评估重症肺炎患者病情严重程度的生物学指标,且该血清学指标更便于临床监测,利于临床工作者掌握患者病情进展情况,制订合适的治疗方案,以改善预后。进一步研究发现,与存活组相比,死亡组血清 LL-37 表达水平较高,提示 LL-37 与重症肺炎患者预后转归情况有关,可用于预测重症肺炎患者预后。ROC 曲线结果显示,血清 LL-37 预测重症肺炎患者 28 d 死亡的 AUC 为 0.848,最佳截断值为 744.13 $\mu\text{g/L}$,对应的灵敏度、特异度分别为 79.40%、81.60%,进一步证实 LL-37 对重症肺炎患者预后情况有一定预测价值。多因素 Logistic 回归分析结果表明,年龄 ≥ 60 岁、APACHE II 评分 ≥ 20 分、LL-37 高表达均是重症肺炎患者 28 d 死亡的独立危险因素,与既往研究结果一致^[16-17],提示应对重症肺炎患者实施分层管理,对合并高危因素的重症肺炎患者应重点关注,以预防不良预后的发生。但本研究为单中心、小样本研究,结果可能存在偏倚,需进行多中心、大样本研究以证实结论,另 LL-37 对重症肺炎的具体作用机制尚不清楚,将在以后工作中围绕此内容开展研究。

综上所述,LL-37 与重症肺炎患者病情严重程度及预后转归情况密切相关,对重症肺炎患者 28 d 死亡有一定预测价值,且是重症肺炎患者 28 d 死亡的独立危险因素,可成为重症肺炎病情评估及预后预测的生物学指标。

参考文献

- [1] 郑贵军,张杰根,袁亚松,等.降钙素原清除率对重症肺炎患者临床转归的评估价值[J].中华危重病急救医学,2019,31(5):566-570.
- [2] MNATZAGANIAN G,BISH M,FLETCHER J,et al. Application of accelerated time models to compare performance of two comorbidity-adjusting methods with APACHE II in predicting short-term mortality among the critically ill[J]. Methods Inf Med,2018,57(1):81-88.

- [3] LI Z,SONG Y,YUAN P,et al. Antibacterial fusion protein BPI21/LL-37 modification enhances the therapeutic efficacy of hUC-MSCs in Sepsis[J]. Mol Ther,2020,28(8):1806-1817.
- [4] 郭彩云,张金凤,魏楚洪,等.血浆 LL-37 抗菌肽在支气管哮喘患儿发病中的作用研究[J].中国医药科学,2018,8(2):45-48.
- [5] 杨冀萌,张洪胜,孙铁英.慢性阻塞性肺疾病与支气管哮喘患者血浆抗菌肽 LL-37 水平的比较[J].国际呼吸杂志,2020,40(8):561-565.
- [6] 董照刚,郑喜胜,冯永利,等.肝素结合蛋白联合人体抗菌肽 LL-37 对脓毒症患者预后的评估价值[J].广东医学,2020,41(4):396-399.
- [7] 中国医师协会急诊医师分会.中国急诊重症肺炎临床实践专家共识[J].中国急救医学,2016,36(2):97-107.
- [8] KIM W Y,JO E J,EOM J S,et al. Combined vitamin C, hydrocortisone, and thiamine therapy for patients with severe pneumonia who were admitted to the intensive care unit: propensity score-based analysis of a before-after cohort study[J]. J Crit Care,2018,47(1):211-218.
- [9] 田鑫.重症肺炎患者血清中 sTREM-1、纤维蛋白原及 D-二聚体水平变化及临床意义[J].临床肺科杂志,2018,23(9):1699-1702.
- [10] 李瑞萍,宋伟.血浆 sTREM-1、sFLT-1 及 APACHE II 评分对重症肺炎患者预后评估价值[J].国际呼吸杂志,2018,38(13):968-971.
- [11] 唐启亚.中性粒细胞外诱捕网在慢性阻塞性肺部疾病免疫发病机制中的研究进展[J].医学研究生学报,2018,31(8):869-873.
- [12] 司佳,陈羲.人类抗菌肽 CAMP 及其活性产物 LL-37 在疾病发生发展中的作用[J].重庆医学,2019,48(23):4090-4092.
- [13] WONG A,BRYZEK D,DOBOSZ E,et al. A novel biological role for peptidyl-arginine deiminases: citrullination of cathelicidin LL-37 controls the immunostimulatory potential of cell-free DNA[J]. J Immunol,2018,200(7):2327-2340.
- [14] WENG J Z,WANG Y,SUN T Y. Cathelicidin LL-37 restoring glucocorticoid function in smoking and lipopolysaccharide-induced airway inflammation in rats[J]. Chin Med J (Engl),2019,132(5):569-576.
- [15] 郭巍娜,王春梅,霍方捷,等.人抗菌肽 LL-37 对老年脓毒症患者预后的评估价值[J].中华危重病急救医学,2018,30(11):1011-1016.
- [16] 梁欢,高焱,苗常青,等.中性粒细胞/淋巴细胞比值对重症肺炎患者 28 d 死亡风险的预测价值[J].中华危重病急救医学,2019,31(7):827-831.
- [17] 路兴志,周雪玲,单魁中,等.老年重症肺炎的病原学特点及死亡危险因素的分析[J].临床肺科杂志,2018,23(5):122-125.