

· 论 著 ·

冠心病合并肺部感染患者中性粒细胞 CD64 及 Toll 样受体的表达及临床意义*

刘京伟, 许风霞, 周倩[△]

临沂市中心医院/山东第一医科大学附属临沂医院检验科, 山东临沂 276400

摘要:目的 探讨冠心病合并肺部感染患者中性粒细胞 CD64、Toll 样受体 (TLR) 的表达水平及临床意义。方法 将 2019 年 7 月至 2022 年 7 月该院收治的冠心病患者 86 例纳入研究, 依据是否合并肺部感染分为感染组 (35 例) 与非感染组 (51 例)。另外, 选取进行体检的健康志愿者 50 例作为对照组, 比较 3 组中性粒细胞 CD64 指数、TLR2、TLR4 水平的差异, 分析 CD64 指数与 TLR2、TLR4 的相关性, 绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 CD64 指数、TLR2、TLR4 诊断冠心病合并肺部感染的效能。结果 3 组 CD64 指数、TLR2、TLR4 水平比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 感染组上述各指标均高于非感染组与对照组 ($P < 0.05$); 非感染组上述各指标均高于对照组 ($P < 0.05$)。Pearson 相关分析显示, TLR2、TLR4 均与中性粒细胞 CD64 指数呈正相关 ($P < 0.05$)。ROC 曲线显示, CD64 指数与 TLR2、TLR4 用于冠心病合并肺部感染诊断的曲线下面积 (AUC) 分别为 0.922、0.929、0.662, CD64 指数、TLR2 有较高诊断效能, 当取最佳界值时, CD64 指数和 TLR2 的灵敏度、特异度分别为 0.943、0.804 和 0.914、0.902。结论 中性粒细胞 CD64、TLR2、TLR4 表达在冠心病患者发生肺部感染时明显增加, CD64 指数与 TLR2 在冠心病合并肺部感染中有较高诊断效能。

关键词: 冠心病; 肺部感染; 中性粒细胞 CD64; Toll 样受体

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2023.14.007

中图法分类号: R446.63

文章编号: 1673-4130(2023)14-1700-04

文献标志码: A

Expression and clinical significance of neutrophil CD64 and Toll-like receptor in patients with coronary heart disease complicated with pulmonary infection*

LIU Jingwei, XU Fengxia, ZHOU Qian[△]

Department of Clinical Laboratory, Linyi Central Hospital/Linyi Hospital Affiliated to Shandong First Medical University, Linyi, Shandong 276400, China

Abstract: Objective To investigate the expression levels and clinical significance of neutrophil CD64 and Toll-like receptor (TLR) in patients with coronary heart disease complicated with pulmonary infection. **Methods** A total of 86 patients with coronary heart disease admitted to the hospital from July 2019 to July 2022 were enrolled in the study. According to whether they were complicated with pulmonary infection, they were divided into infection group (35 cases) and non-infection group (51 cases). In addition, 50 healthy volunteers who underwent physical examination were enrolled as the control group. The differences of neutrophil CD64 index, TLR2 and TLR4 levels in the three groups were compared, and the correlation between CD64 index and TLR2 and TLR4 was analyzed. Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to analyze the efficacy of CD64 index, TLR2 and TLR4 in the diagnosis of coronary heart disease complicated with pulmonary infection. **Results** There were significant differences in CD64 index, TLR2 and TLR4 levels among the three groups ($P < 0.05$). The infection group had significantly higher levels of the above indicators than the non-infection group and the control group ($P < 0.05$). The above indicators in the non-infection group were higher than those in the control group ($P < 0.05$). Pearson correlation analysis showed that both TLR2 and TLR4 were positively correlated with neutrophil CD64 index ($P < 0.05$). The ROC curve showed that the area under the curve (AUC) of CD64 index, TLR2 and TLR4 for the diagnosis of coronary heart disease complicated with pulmonary infection was 0.922, 0.929 and 0.662, respectively. CD64 index and TLR2 had high diagnostic efficiency. The sensitivity and specificity of CD64 index and TLR2 were 0.943, 0.804 and 0.914, 0.902, respectively. **Conclusion** The expression of neutrophil CD64, TLR2 and TLR4 is significantly increased in patients

* 基金项目: 山东省自然科学基金项目 (ZR2020MH121)。

作者简介: 刘京伟, 男, 副主任技师, 主要从事检验科免疫相关标志物的研究。 △ 通信作者, E-mail: z123youxiang2022@163.com。

with coronary heart disease complicated with pulmonary infection. CD64 index and TLR2 have high diagnostic efficacy in coronary heart disease complicated with pulmonary infection.

Key words: coronary heart disease; pulmonary infection; neutrophil CD64; Toll-like receptor

冠心病是一种常见心血管疾病,多见于老年群体^[1-2]。随着我国老龄化程度的加深,冠心病患病率与死亡率均不断上升且有年轻化趋势,严重危害着人民健康^[3-4]。冠状动脉血管壁炎症能够促进血小板黏附并将其激活,血管内免疫细胞聚集诱导动脉硬化斑块形成、破裂,致使血管闭塞,是冠心病发生的重要病理基础^[5]。冠心病患者多伴基础疾病,机体免疫功能下降,肺部易遭受细菌侵入而发生感染,肺部感染可加剧炎症反应,促使冠心病进展加快,导致患者预后不良^[6]。因此,探寻有效的指标用于冠心病合并肺部感染的早期诊断,并及时干预或者预防,对患者预后改善至关重要。中性粒细胞是一种重要的固有免疫细胞,机体发生感染时,中性粒细胞 CD64 水平可在感染发生后 12 h 内快速升高。中性粒细胞在免疫复合物清除、炎症介质释放及细胞吞噬等过程中发挥重要作用^[7]。Toll 样受体 (TLRs) 能够参与机体免疫应答过程并进行调控,可有效识别外来病原体,并相应地

开启防御机制^[8]。鉴于此,本研究旨在探讨冠心病合并肺部感染患者中性粒细胞 CD64 指数、TLR2、TLR4 水平变化及相关性,了解冠心病合并肺部感染的相关免疫机制,为临床诊断提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 7 月至 2022 年 7 月本院收治的冠心病患者 86 例,依据是否合并肺部感染进行分组,感染组 35 例,非感染组 51 例。另外,选取同期进行体检的健康志愿者 50 例作为对照组。纳入标准:冠心病诊断符合文献^[9]中的标准,肺部感染诊断参照文献^[10]中的相关标准。排除标准:(1)合并心肌炎、先天性心脏病等心脏类疾病;(2)有肝肾等脏器的严重功能障碍;(3)合并恶性肿瘤;(4)合并感染性或者免疫性疾病;(5)处于妊娠期或者哺乳期的女性。3 组一般资料比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$),见表 1。本研究符合《赫尔辛基宣言》。患者签署知情同意书。

表 1 3 组一般资料比较

组别	n	男/女(n/n)	年龄($\bar{x} \pm s$, 岁)	BMI($\bar{x} \pm s$, kg/m ²)	吸烟史[n(%)]	高血压史[n(%)]	糖尿病史[n(%)]
感染组	35	18/17	48.43 ± 4.41	21.58 ± 2.73	11(31.43)	12(34.29)	8(22.86)
非感染组	51	29/22	49.14 ± 4.71	21.71 ± 3.02	17(33.33)	16(31.37)	11(21.57)
对照组	50	26/24	48.70 ± 4.52	21.33 ± 2.87	15(30.00)	14(28.00)	10(20.00)
χ^2/F		0.336	0.267	0.225	0.131	1.007	1.857
P		0.845	0.766	0.799	0.937	0.604	0.395

1.2 方法

1.2.1 中性粒细胞 CD64 指数的计算和比较 于入院次日或于体检当日,所有研究对象均抽取空腹静脉血 4 mL,加入 EDTA-K₂ 进行抗凝,置于 4 °C 冰箱保存待测。采用流式细胞术对中性粒细胞 CD64 水平进行测定。以鼠抗人 CD64-PE、鼠 IgG1-PE(美国 Becton-Dickinson 公司)直接进行免疫荧光染色,完成后于室内避光环境中,向血液标本中加入溶血剂,溶解红细胞 10 min 后,1 mL PBS 缓冲液进行处理,1 200 r/min 离心 5 min,分离掉上清液,再以 1 mL PBS 缓冲液进行重悬,结束后以 1%多聚甲醛予以固定,固定好上机测定。设备为 Coulter FC500 流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司),每标本计数 10 000 个细胞,测定中性粒细胞、单核细胞以及淋巴细胞 CD64 表达水平,以其平均荧光强度 (MFI) 表示,计算中性粒细胞 CD64 指数,CD64 指数 = (MFI 中性粒细胞/MFI 淋巴细胞)/(MFI 单核细胞/MFI 中性粒细胞)。比较 3 组中性粒细胞 CD64 指数的差异。

1.2.2 TLR2、TLR4 水平检测和比较 采用流式细胞术测定 TLR2、TLR4 水平。取 1.2.1 中制备的血液标本,加入小鼠抗人 PE-TLR2 抗体 (10 μL/100 μL),于室内避光环境下,加入溶血剂溶解红细胞 10 min,加入 1 mL PBS 缓冲液,1 200 r/min 离心 5 min,去除上清液,重复操作 2 次后,加入 0.3 mL PBS 缓冲液进行重悬,结束后以 1%多聚甲醛予以固定,应用流式细胞仪测定 TLR2 水平,试剂由美国 eBioscience 公司生产。TLR4 测定参照 TLR2 检测方法,应用抗 TLR4 抗体测定 TLR4 水平。比较 3 组 TLR2、TLR4 水平的差异。

1.3 统计学处理 使用 SPSS22.0 软件进行统计分析。应用进行绘图分析。计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用单因素 ANOVA 方差检验,进一步两两比较采用 SNK-q 检验。采用 Pearson 相关分析 CD64 指数与 TLR2、TLR4 的相关性。绘制受试者工作特征 (ROC) 曲线分析 CD64 指数、

TLR2、TLR4 诊断冠心病患者合并肺部感染的效能, 曲线下面积(AUC)的比较采用 Z 检验。检验水准取双侧 $\alpha=0.05$ 。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组中性粒细胞 CD64 指数比较 感染组中性粒细胞 CD64 指数为 4.67 ± 1.36 , 非感染组 CD64 指数为 2.51 ± 0.37 , 对照组 CD64 指数为 1.01 ± 0.26 。 3 组中性粒细胞 CD64 指数比较, 差异有统计学意义 ($F=165.015, P<0.001$)。 其中, 感染组 CD64 指数高于非感染组与对照组 ($P<0.05$); 非感染组 CD64 指数高于对照组 ($P<0.05$)。

2.2 3 组 TLR2、TLR4 水平比较 3 组 TLR2、TLR4 水平比较, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。 其中, 感染组 TLR2、TLR4 水平均高于非感染组与对照组 ($P<0.05$); 非感染组 TLR2、TLR4 水平均高于对照组 ($P<0.05$)。 见表 2。

表 2 3 组 TLR2、TLR4 水平比较 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	TLR2	TLR4
感染组	35	31.84 ± 2.93^{ab}	30.18 ± 5.99^{ab}
非感染组	51	26.01 ± 2.57^a	25.93 ± 5.02^a
对照组	50	14.49 ± 2.08	17.78 ± 4.60
F		604.325	53.261
P		<0.001	<0.001

注: 与对照组比较, ^a $P<0.05$; 与非感染组比较, ^b $P<0.05$ 。

2.3 中性粒细胞 CD64 指数与 TLR2、TLR4 的相关性 对于总体、感染组、非感染组及对照组, TLR2、TLR4 均与中性粒细胞 CD64 指数呈正相关 ($P<0.05$), 见表 3。

表 3 CD64 指数与 TLR2、TLR4 的相关性

CD64 指数	TLR2		TLR4	
	r	P	r	P
总体	0.861	<0.001	0.808	<0.001
感染组	0.702	<0.001	0.753	<0.001
非感染组	0.606	<0.001	0.697	<0.001
对照组	0.532	<0.001	0.728	<0.001

2.4 ROC 曲线分析 绘制 ROC 曲线分析 CD64 指数与 TLR2、TLR4 诊断冠心病合并肺部感染的效能, 结果显示, CD64 指数与 TLR2、TLR4 的 AUC 分别为 0.922、0.929、0.662, CD64 指数、TLR2 有较高诊断效能。 AUC 成对比较发现, CD64 指数与 TLR2 的 AUC 比较, 差异无统计学意义 ($Z=0.173, P=0.862$), CD64 指数、TLR2 的 AUC 大于 TLR4, 差异均有统计学意义 ($Z=0.747、0.767, P<0.05$)。 当取最佳界值时, CD64 指数和 TLR2 的灵敏度、特异度分别为 0.943、0.804 和 0.914、0.902。 见表 4、图 1。

表 4 CD64 指数与 TLR2、TLR4 诊断冠心病合并肺部感染的效能

指标	AUC	SE	最佳界值	约登指数	灵敏度	特异度	95%CI	P
CD64 指数	0.922	0.027	3.230	0.747	0.943	0.804	0.869~0.975	<0.001
TLR2	0.929	0.030	28.72%	0.816	0.914	0.902	0.871~0.988	<0.001
TLR4	0.662	0.061	29.69%	0.347	0.543	0.804	0.542~0.782	<0.001

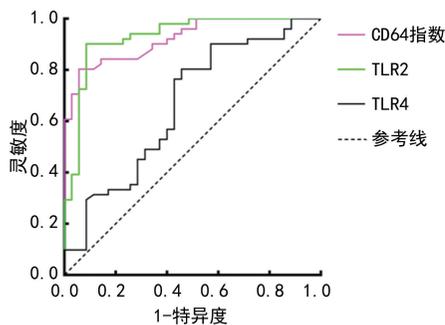


图 1 CD64 指数与 TLR2、TLR4 诊断冠心病合并肺部感染的 ROC 曲线

3 讨论

肺部感染常见于临床, 在机体免疫力下降、防御修复功能损伤、病原体大量入侵等状态下, 发生肺部感染的风险明显增加^[11]。 肺部感染发生可使炎性因子活化, 增加炎症反应, 是动脉粥样硬化斑块稳定性的直接影响因素, 可增加冠心病患者预后不良的风险^[12]。 冠心病合并肺部感染病因较为复杂, 临床症状及表现缺少特异性, 现阶段临床上尚无相应的诊断

“金标准”, 易出现误诊、漏诊等情况^[13]。 目前临床多采用下呼吸道病原学诊断方法, 操作简单, 对技术要求较低, 然而培养时间相对较长, 容易出现假阳性, 影响肺部感染早期诊断准确率^[14]。 因此, 寻找更为高效的用于冠心病合并肺部感染的指标, 及时进行抗感染干预, 对患者预后至关重要。

机体遭受病原菌侵入发生感染时, 中性粒细胞会吞噬病原体, 促进细胞因子分泌, 诱导巨噬细胞、肥大细胞等参与免疫调节^[15]。 新型细胞因子 CD64 是吞噬细胞抗体 IgG 表面 Fc 段高亲和力受体, 能够特异性地识别 IgG, 并与其相结合, 加强了体液免疫与细胞免疫相互间的联系。 通常状态下, 中性粒细胞表面 CD64 水平较低, 机体发生感染时, 中性粒细胞被激活, 促炎症因子水平明显升高, 感染后 1~6 h, 中性粒细胞 CD64 水平会快速上升至正常水平的 5~10 倍^[16]。 中性粒细胞 CD64 指数可用于细菌感染的早期诊断, 该指标不但没有生理性变化, 也不会受年龄影响^[17]。 TLRs 是一种先天免疫受体分子, 能够对入

侵病原体进行有效识别,同时也能够介导多种免疫细胞激活核转录因子 κB , 促进 Th2 型辅助性 T 细胞转变为 Th1 型, 调节促炎症因子水平, 还能够加速调节性 T 细胞成熟来影响获得性免疫^[18]。TLRs 家族在冠状动脉粥样硬化发生、进展乃至斑块破裂等不同时期发挥关键作用^[19]。

本研究显示, 3 组中性粒细胞 CD64 指数比较差异明显, 感染组高于非感染组及对照组 ($P < 0.05$), 非感染组高于对照组 ($P < 0.05$)。3 组 TLR2、TLR4 水平比较有明显差异, 其中, 感染组 TLR2、TLR4 水平均高于非感染组与对照组 ($P < 0.05$), 非感染组 TLR2、TLR4 水平均高于对照组 ($P < 0.05$), 提示冠心病患者合并肺部感染时中性粒细胞 CD64、TLR2 及 TLR4 表达明显增加, 肺部感染可能通过促进 TLRs 表达参与冠心病病情发展。分析中性粒细胞 CD64 指数与 TLR2、TLR4 的相关性发现, TLR2、TLR4 均与中性粒细胞 CD64 指数呈正相关, 提示发生肺部感染时可能借助中性粒细胞表面受体, 使不同信号传导途径得以激活, 来加强免疫应答反应; CD64、TLRs 相互间可能存在互相促进的关系。此外, 进一步采用 ROC 曲线分析了 CD64 指数、TLR2、TLR4 诊断冠心病合并肺部感染的效能发现, CD64 指数、TLR2、TLR4 的 AUC 分别为 0.922、0.929、0.662, CD64 指数、TLR2 有较高的诊断效能。当取最佳界值时, CD64 指数和 TLR2 的灵敏度、特异度分别为 0.943、0.804 和 0.914、0.902。

综上所述, 肺部感染与冠心病病情发展密切相关。中性粒细胞 CD64、TLR2、TLR4 表达在冠心病患者发生肺部感染时明显增加, CD64 指数与 TLR2 在冠心病合并肺部感染中有较高诊断效能。

参考文献

- [1] LIU H T, JIANG Z H, YANG Z B, et al. Monocyte to high-density lipoprotein ratio predict long-term clinical outcomes in patients with coronary heart disease: a meta-analysis of 9 studies[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2022, 101(33): e30109.
- [2] MA R, GAO J, MAO S, et al. Association between heart rate and cardiovascular death in patients with coronary heart disease: a NHANES-based cohort study[J]. *Clin Cardiol*, 2022, 45(5): 574-582.
- [3] 王亚芳, 付晓丽, 朱晓娟, 等. 合并泛血管疾病的老年冠心病患者介入治疗后的远期预后[J]. *中华老年心脑血管病杂志*, 2021, 23(11): 1166-1169.
- [4] 高燕, 钟萍, 张长青. 心率减速力变化对老年稳定性冠心病患者长期预后的影响[J]. *山东医药*, 2022, 62(19): 62-65.
- [5] 吕昀, 柳景华, 王韶屏, 等. 不同血运重建策略对合并射血分数降低心力衰竭的冠心病患者预后的影响[J]. *中华医学杂志*, 2021, 101(26): 2071-2076.
- [6] 石珊, 苏芳, 杨芳, 等. 外周血单核细胞 IL-12、IL-15、ISG15 表达与老年冠心病并发肺部感染预后的关系[J]. *中华医院感染学杂志*, 2022, 32(1): 46-50.
- [7] 高雪丹, 蔡宜含, 冯伟华, 等. 改良中性粒细胞 CD64 指数鉴别诊断感染的临床应用效能[J]. *实用医学杂志*, 2021, 37(11): 1418-1422.
- [8] 吉晓理, 吕有凯, 罗江宾, 等. 中老年冠心病患者病情发展中 Notch 信号通路与 Toll 样受体 4 相互作用[J]. *中国老年学杂志*, 2022, 42(11): 2815-2819.
- [9] 中华人民共和国卫生部. 冠状动脉粥样硬化性心脏病诊断标准: WS 319-2010[S]. 北京: 中国标准出版社, 2010.
- [10] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. *中华医学杂志*, 2001, 81(5): 314-320.
- [11] 赵晓茜, 骆雷鸣. 不同估算肾小球滤过率的老年肺部感染患者病原学和炎性指标特征及其与不良预后的关系研究[J]. *中国全科医学*, 2021, 24(32): 4068-4073.
- [12] 姚滨, 周荣, 王建忠, 等. 呼吸机相关肺部感染对老年冠心病急性左心衰竭患者预后的影响[J]. *中国老年学杂志*, 2017, 37(1): 75-77.
- [13] 王丽萍, 孙常铭, 于海明, 等. 冠心病与合并肺部感染患者 E-选择素第二及 IV 外显子基因型分布比较[J]. *中华医院感染学杂志*, 2018, 28(10): 1492-1495.
- [14] VOUTILAINEN A, BRESTER C, KOLEHMAINEN M, et al. Epidemiological analysis of coronary heart disease and its main risk factors; are their associations multiplicative, additive, or interactive[J]. *Ann Med*, 2022, 54(1): 1500-1510.
- [15] BAE G H, KIM Y S, PARK J Y, et al. Unique characteristics of lung-resident neutrophils are maintained by PGE2/PKA/Tgm2-mediated signaling[J]. *Blood*, 2022, 140(8): 889-899.
- [16] 刘倩倩, 高岩, 邵凌云, 等. 中性粒细胞 CD64 在感染性疾病诊断中的应用现状[J]. *中华传染病杂志*, 2020, 38(6): 381-384.
- [17] 牟娜, 谢春艳, 牟佳, 等. 降钙素原、人中性粒细胞载脂蛋白和中性粒细胞 CD64 检测在细菌性感染早期诊断中的应用[J]. *中国感染与化疗杂志*, 2017, 17(6): 633-636.
- [18] 汪琦, 崔传义, 李屏, 等. 高血压合并冠心病患者 PCI 术后外周血 TLR2、TLR4、TNF- α 、IL-1 β 的表达及意义[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(10): 1190-1193.
- [19] 吴军, 文亚红, 唐永江. 冠心病合并糖尿病患者 PCI 术后 TLR3、TLR4、IL-10、TNF- α 的表达变化及意义[J]. *中国循证心血管医学杂志*, 2018, 10(4): 493-497.

(收稿日期: 2022-11-12 修回日期: 2023-03-28)