

· 述评 ·

客观评价脓毒症生物标志物的临床意义

姚咏明 栾樱译

脓毒症(sepsis)及其诱发的多器官功能障碍综合征(MODS)仍然是目前重症监护病房(ICU)的主要死因,且其发生率呈上升趋势。由于临床上仍缺乏早期敏感性诊断手段,目前病死率依然很高。随着分子生物学和现代生物技术的不断发展,人们发现多种生物标志物(biomarker)在脓毒症的早期诊断、病情及预后判断、疗效评估中发挥重要作用。因此,深入了解脓毒症病理生理机制中不同生物标志物的意义及价值,对于脓毒症及其并发症的早期识别及干预,降低患者的病死率及提高生活质量具有积极意义。

1 脓毒症中的生物标志物

脓毒症及相关并发症的发生机制十分复杂,可能涉及到炎症反应、凝血功能和免疫功能等一系列环节,任何一个环节的异常,均可以导致并加重脓毒症的发生发展。如何早期、适时、准确地区分脓毒症与其他危重状况引起的炎症反应,迅速准确地诊断脓毒症意义重大。目前发现一些生物标志物的变化有助于鉴别诊断脓毒症或脓毒性休克,早期研究较多的包括白细胞介素(IL-6、IL-8)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、内皮细胞炎症标志物血管生成素-1(Ang-1)等,但由于这些标志物的敏感性和特异性相对较差,不能视为预测脓毒症的可靠生物标志物。近些年探讨较多的主要包括超敏C-反应蛋白(hs-CRP)、降钙素原(PCT)、可溶性髓系细胞表达触发受体-1(sTREM-1)、B型利钠肽(BNP)、N末端-B型利钠肽原(NT-proBNP)和CD64以及调节性T细胞(Treg)的功能评价等。

2 生物标志物在脓毒症辅助诊断中的价值

2.1 hs-CRP: C-反应蛋白(CRP)属于急性期反应蛋白,在炎症反应及组织损伤后迅速产生,其血液浓度可达正常参考值的1000倍^[1-2]。炎症反应时,CRP与配基或单核细胞表面的受体结合,活化受体并激活补体系统,造成血管内皮损伤,促进噬菌作用。作为炎症反应的生物标志物,CRP虽然较体温、白细胞计数等临床指标更易预测感染,但其在区分感染与非感染所致炎症反应方面特异性不高。hs-CRP是采用超敏方法检测到的CRP值,与CRP系同一物质。hs-CRP浓度的上升往往预示机体存在炎症反应或组织损伤,虽然其特异性不佳,不能显著区分脓毒症的严重程度,但具有较高的敏感性,可以作为预测脓毒症的指标。

2.2 PCT: PCT是降钙素激素的前体,被视为细菌感染的可靠生物标志物之一。研究显示,正常人血清PCT浓度为0.033 $\mu\text{g/L}$,非特异性感染、病毒炎症及局部感染等疾病时不增加或轻微增加,在严重全身性感染2~4h内其浓度迅速上升,6~8h达峰值,血液中PCT浓度可达正常人的数百倍^[3-4]。血清PCT值持续升高提示脓毒症的存在,脓症患者血清PCT值明显高于非脓症患者,细菌性脓症患者血清PCT水平明显高于非细菌性脓症患者。脓毒症不同发展阶段血清PCT水平也不尽相同,脓毒症早期PCT水平较低,脓毒性休克等严重脓毒症阶段PCT水平显著升高。此外,PCT可以有效区分真菌感染与细菌感染,在侵入性曲霉病及念珠菌病的研究中发现,细菌性脓症患者PCT水平明显高于真菌性感染^[5]。与CRP相比,特别是在全身炎症反应综合征(SIRS)与脓毒症的鉴别性诊断方面,PCT敏感性为42%~100%、特异性为48%~100%,而CRP敏感性为35%~100%,特异性为18%~84%;进一步荟萃分析(Meta分析)显示,PCT诊断准确优势比(OR)为15.7,95%可信区间(95%CI)为(9.1, 27.1),而CRP的OR仅为5.7^[6]。由此可见,血清PCT水平检测作为一种有效的监测感染的生物标志物,具有较好的特异性和敏感性,在脓毒症的早期识别与诊断中发挥了显著的作用。

2.3 sTREM-1: 髓系细胞表达触发受体-1(TREM-1)作为免疫球蛋白超家族成员之一,选择性表达于中性粒细胞及部分单核细胞亚型,在多种炎症反应中表达上调。机体在细菌或真菌感染时,中性粒细胞和单核/巨噬细胞被激活,其表面TREM-1表达显著增强,脱落入血即为sTREM-1^[7]。脓症患者血液中可以检测到高水平的sTREM-1,在区分脓毒症与SIRS时,sTREM-1可视为可靠的早期参数之一^[8]。理想的脓毒症诊断标志物需要具备良好的敏感性和特异性、高效且低成本的特点,sTREM-1在脓毒症检测中的敏感性和特异

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.09.003

基金项目:国家自然科学基金(81130035, 30971192, 81071545);国家重点基础研究发展计划项目(2012CB518102, 2005CB522602)

作者单位:100048 北京,解放军总医院第一附属医院全军烧伤研究所

通信作者:姚咏明,Email:c_ff@sina.com

性分别为 96%、89%，比 CRP 及 PCT 更具优势。尽管目前并不确定 sTREM-1 是否能作为其他感染疾病的可靠标志物，但在肺炎及脓毒症病理过程中可视为诊断性生物标志物；sTREM-1 不仅是诊断感染和脓毒症的早期指标，而且血浆 sTREM-1 水平的变化趋势可以预示脓毒症患者的预后。

2.4 BNP 和 NT-proBNP: BNP 为活化的神经内分泌激素，由心肌细胞产生，心肌壁及心室壁压力的增加为主要刺激源，并促进 BNP 的释放。BNP 的生理学效应包括利尿、拮抗肾素-血管紧张素-醛固酮系统及刺激鸟苷酸环化酶引起血管扩张^[9]。NT-proBNP 为 BNP 非活化氨基末端，心室容积扩大及心力衰竭(心衰)时，血浆 BNP 和 NT-proBNP 水平升高，是一种有效的心室前负荷和心功能预测标志物。据报道，脓毒症、脓毒性休克及急性心衰与 BNP 和 NT-proBNP 水平的升高有关^[10]。脓症患者血浆 NT-proBNP 水平升高，且心肌损伤组与非心肌损伤组间差异显著，血浆 NT-proBNP 与肌钙蛋白 I 呈正相关，两者升高愈明显，患者病情愈严重^[10]。因此，在一定程度上血浆 BNP 和 NT-proBNP 浓度可以作为识别脓毒症诱发心衰的标志物，且 5 d 时的水平是严重脓毒症预后不良的预测指标之一。

2.5 CD64: CD64 选择性表达于单核/巨噬细胞，而正常人成熟中性粒细胞不表达。中性粒细胞在感染和炎症反应早期即被活化，通过检测细胞表面 CD64 表达可观察细胞的免疫活化状态。有资料观察到脓症患者中性粒细胞表面 CD64 表达增加，可刺激并诱导炎症介质 γ -干扰素和粒细胞集落刺激因子(G-CSF)的释放^[11]。通过采用流式细胞术检测 CD64 表达、自动血球计数仪计数中性粒细胞及不完全性骨髓分化，其结果与回顾性临床评分系统诊断感染或脓毒症存在相关性。与其他实验室参数相比，中性粒细胞表面 CD64 可以作为区分感染、脓毒症和严重组织损伤的诊断性生物标志物，在脓毒症的早期诊断中其敏感性和特异性分别为 65.8%和 64.6%^[12]。

2.6 Treg 细胞功能评价: 近年来，Treg 作为一个具有调节功能的成熟 T 细胞亚群，在急性感染诱发脓毒症方面的研究日益受到关注。笔者的资料显示，严重烧伤后 3~21 d，并发脓毒症者 Treg 细胞膜结合分子表达及 IL-10、转化生长因子- β (TGF- β) 水平均显著高于非脓毒症患者；进一步分析可见，脓症患者中存活组上述生物标志物水平显著低于死亡组。因此，严重烧伤可促进外周血 Treg 的免疫抑制功能成熟，并刺激其分泌大量抑制性细胞因子，从而诱导机体长时间免疫麻痹，这与患者预后不良密切相关^[13]。另有研究指出，及时监测 SIRS 患者外周血 Treg 及可溶性 CD25 的变化，有助于预测 SIRS 因并发感染而发展成脓毒症，对脓毒症的早期诊断具有显著临床意义^[14]。对外周血 Treg 的评价有望成为一种间接反映脓症患者淋巴细胞失能简单有效的检测手段，可使脓毒症时免疫损伤程度的检测成为常规分析^[15]。

3 生物标志物在脓毒症防治中的意义

脓毒症的重要病理生理特征是各种感染因素激活机体防御系统，如单核/巨噬细胞系统、内皮系统、凝血系统等，表现为初始阶段大量炎症介质的合成与释放；随着病程的进展，抗炎介质大量诱导，引起抗炎/促炎介质平衡失调，最终造成炎症反应失控、免疫功能紊乱和组织器官损伤^[16]。上述脓毒症病理生理过程中产生的各种生物标志物在脓毒症早期诊断及防治中可能具有一定临床意义。例如，适当干预某些免疫标记分子可有效调控脓毒症时免疫紊乱过程。在过度性病理损害发生时，对各类生物标志物的早期监测有助于避免脓毒性休克及 MODS 等严重并发症的发生，起到防治作用。

临床观察证实，脓症患者血中细胞因子 IL-6 和 IL-8 水平显著升高，且其升高程度与脓毒症严重程度及预后相关，IL-6 和 IL-8 水平的持续升高将明显增加 MODS 的发生率和病死率。内皮素-1 可以稳定内皮组织，阻滞脉管渗漏，并通过激活受体 Tie-2 抑制促炎因子和凝血基因的表达，脓毒症时其含量减少，通过内皮素-1 转基因的成纤维细胞治疗脓毒症动物，可以明显改善其肺损伤及炎症相关的分子指数^[17]。由于 PCT 能有效区分脓毒症与严重细菌感染，目前已成功用于评估与指导多种疾病的抗菌药物治疗，例如下呼吸道感染、脓毒症、严重脓毒症和脓毒性休克等。PCT 指导抗菌药物的应用不仅避免了抗菌药物滥用，同时快速诊断感染和脓毒症可以显著减少因病情延误而导致的不合理抗菌药物使用，降低了 5%~10% 的病死率^[18]。但值得注意的是，对于 PCT 指导抗感染治疗的价值仍然存在争议。新近完成的一项临床多中心试验发现，依据 PCT 的变化指导抗菌药物治疗并不能够缩短其使用时间，其确切临床指导意义有待更多的证据进一步验证^[19]。早期目标导向治疗(EGDT)是一种对急症患者采取的早期导向治疗方法，通过调节心脏前、后负荷和心肌收缩力，恢复全身氧供应；监测中心静脉压、平均动脉压和中心静脉血氧饱和度，保证患者前 6 h 内有效的组织灌注。有学者认为 EGDT 过程中，血清 sTREM-1 水平的检测有助于对脓症患者病情严重程度的判断，进而缩短病程，降低病死率^[20]。此外，以往 BNP 和 NT-proBNP 主要被视为心功能改变的预测分子，最近研究发现，脓毒症、脓毒性休克和心衰患者血浆 BNP 和 NT-proBNP 水平均明显升高，BNP 和 NT-proBNP 含

量变化与脓毒症所致心衰密切相关,在严重脓毒症早期防治中具有潜在价值。

4 问题与展望

在没有外界急性损害的情况下,机体不同调控系统处于平衡状态并维持各项生命活动的正常运行。但脓毒症及其并发症的病理发展过程非常复杂,机体不仅出现过度的炎症反应,而且存在严重细胞免疫及凝血功能紊乱。机体免疫功能障碍的原因是多方面的,不论是抑制性免疫细胞、细胞因子还是生物标志物的变化均为免疫调控发挥作用的重要途径^[16]。虽然生物标志物在脓毒症的诊断与防治过程可能具有一定价值,但目前仍存在许多重要科学问题亟待解决。例如,关于脓毒症的早期识别与及时诊断,除了实验室指标或辅助检查,采用特异性生物标志物是否能更有效地区分脓毒症和其他危重状态引起的全身炎症反应?由于单一生物标志物敏感性和特异性的差异,能否联合应用多种生物标志物以进一步提高脓毒症临床诊断的准确性?对已确诊的脓症患者通过监测生物标志物水平变化如何合理地选择抗菌药物的使用时间,避免抗菌药物的滥用?生物标志物对脓毒症早期诊断及疾病转归的确切临床意义如何?不同生物标志物在脓毒症的不同病理生理过程中作用不尽相同,因此在脓毒症预警、病情评估、判断预后等多个环节,单一生物标志物的临床应用价值有限,多种生物标志物的组合可能更有助于脓毒症的正确诊断与预后评估。

参考文献

- [1] 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. *Scand J Infect Dis*, 2010, 42: 299-305.
- [2] Lannergård A, Larsson A, Friman G, et al. Human serum amyloid A (SAA) and high sensitive C-reactive protein (hsCRP) in preterm newborn infants with nosocomial infections. *Acta Paediatr*, 2008, 97: 1061-1065.
- [3] Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin assay in systemic inflammation, infection, and sepsis: clinical utility and limitations. *Crit Care Med*, 2008, 36: 941-952.
- [4] Nakamura A, Wada H, Ikejiri M, et al. Efficacy of procalcitonin in the early diagnosis of bacterial infections in a critical care unit. *Shock*, 2009, 31: 586-591.
- [5] Martini A, Gottin L, Menestrina N, et al. Procalcitonin levels in surgical patients at risk of candidemia. *J Infect*, 2010, 60: 425-430.
- [6] Tang BM, Eslick GD, Craig JC, et al. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*, 2007, 7: 210-217.
- [7] Bouchon A, Facchetti F, Weigand MA, et al. TREM-1 amplifies inflammation and is a crucial mediator of septic shock. *Nature*, 2001, 410: 1103-1107.
- [8] Gibot S, Kolopp-Sarda MN, Béné MC, et al. Plasma level of a triggering receptor expressed on myeloid cells-1: its diagnostic accuracy in patients with suspected sepsis. *Ann Intern Med*, 2004, 141: 9-15.
- [9] Hunt PJ, Espiner EA, Nicholls MG, et al. Differing biological effects of equimolar atrial and brain natriuretic peptide infusions in normal man. *J Clin Endocrinol Metab*, 1996, 81: 3871-3876.
- [10] Rudiger A, Gasser S, Fischler M, et al. Comparable increase of B-type natriuretic peptide and amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide levels in patients with severe sepsis, septic shock, and acute heart failure. *Crit Care Med*, 2006, 34: 2140-2144.
- [11] Gámez-Díaz LY, Enriquez LE, Matute JD, et al. Diagnostic accuracy of HMGB-1, sTREM-1, and CD64 as markers of sepsis in patients recently admitted to the emergency department. *Acad Emerg Med*, 2011, 18: 807-815.
- [12] Davis BH, Bigelow NC. Comparison of neutrophil CD64 expression, manual myeloid immaturity counts, and automated hematology analyzer flags as indicators of infection or sepsis. *Lab Hematol*, 2005, 11: 137-147.
- [13] Huang LF, Yao YM, Dong N, et al. Association between regulatory T cell activity and sepsis and outcome of severely burned patients: a prospective, observational study. *Crit Care*, 2010, 14: R3.
- [14] Saito K, Wagatsuma T, Toyama H, et al. Sepsis is characterized by the increases in percentages of circulating CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells and plasma levels of soluble CD25. *Tohoku J Exp Med*, 2008, 216: 61-68.
- [15] 姚咏明, 黄立锋. 调节性 T 淋巴细胞与严重烧伤脓毒症. *中华烧伤杂志*, 2011, 27: 81-83.
- [16] 姚咏明. 免疫功能紊乱在脓毒症发病中的作用及意义. *中国危重病急救医学*, 2007, 19: 138-141.
- [17] McCarter SD, Mei SH, Lai PF, et al. Cell-based angiopoietin-1 gene therapy for acute lung injury. *Am J Respir Crit Care Med*, 2007, 175: 1014-1026.
- [18] Reinhart K, Meisner M. Biomarkers in the critically ill patient: procalcitonin. *Crit Care Clin*, 2011, 27: 253-263.
- [19] Jensen JU, Hein L, Lundgren B, et al. Procalcitonin-guided interventions against infections to increase early appropriate antibiotics and improve survival in the intensive care unit: a randomized trial. *Crit Care Med*, 2011, 39: 2048-2058.
- [20] Jeong SJ, Song YG, Kim CO, et al. Measurement of plasma sTREM-1 in patients with severe sepsis receiving early goal-directed therapy and evaluation of its usefulness. *Shock*, 2012, 37: 574-578.