

## 脓毒症早期诊断生物标志物的再评价

单亮 修建荣 李秀 山峰

尽管有强效广谱抗菌药物,以及血液净化、呼吸机支持、膜肺氧合等多种器官功能支持手段的应用,但严重脓毒症及多器官功能障碍综合征(MODS)病死率仍居高不下,已成为重症加强治疗病房(ICU)第一位致死原因<sup>[1]</sup>。全身炎症反应综合征(SIRS)及代偿性抗炎反应综合征(CARS)间的免疫内稳态失衡是脓毒症及MODS的核心机制。防治的策略应当是通过多水平阻断过度释放的炎性介质,抑制激活的炎性细胞,尽可能恢复炎性介质与内源性抑制物的平衡<sup>[2]</sup>。在SIRS概念提出之前,抗菌药物是治疗脓毒症的主要手段,但抗感染治疗只能治疗感染,对已经启动的炎症反应则束手无策。依据此理论,相当长时间内危重病学界对各种抗炎因子的临床应用进行了有益的探索,但多数未获得显著的临床效果,如重组人活化蛋白C、Toll样受体阻断剂和人重组乳铁蛋白等<sup>[3]</sup>。脓毒症是由固有免疫和适应性免疫共同构成的复杂炎症反应,包括补体、凝血系统激活以及血管内皮系统的参与,而且机体的免疫反应强弱还取决于年龄、基础疾病、营养状态以及基因变异等,此外每位患者的致病微生物亦有较大差别。因此仅针对某一炎症反应环节的单一药物难以改善脓毒症预后。

鉴于辅助治疗的不确定性,临床医生仍将目光投向各种传统治疗方案以及集束化治疗策略,包括早期抗菌药物的合理使用以及各种支持治疗手段,临床证据表明基于“拯救脓毒症运动”(SSC)指南的治疗可以改善患者预后<sup>[1]</sup>,在集束化治疗策略中,脓毒症的早期识别及干预是改善预后的重要因素。1/3具有典型临床表现的脓毒症患者不能获得临床微生物学证据,因此,探索具有较高敏感性及特异性的生物标志物,可以为脓毒症的早期识别及干预管理提供可能。理想的生物标志物应能用于危险分层、早期诊断、治疗反应监测及预后评估<sup>[4-5]</sup>。现就近年来出现的生物标志物对脓毒症的诊断价值进行综述如下。

### 1 诊断脓毒症的生物标志物

**1.1 C-反应蛋白(CRP):**CRP作为临床应用最广泛的生物标志物,最早由Tillet和Francis于1930年首次在大叶性肺炎患者中发现。CRP是一种急性相蛋白,在感染、手术、烧伤、创伤、心肌梗死及风湿免疫疾病情况下均升高,随病情恢

复其水平逐渐下降。CRP诊断细菌感染的敏感度尚可(为68%~92%),但特异度较低(为40%~67%),不能区分感染和非感染因素导致的炎症反应,限制了其临床诊断价值<sup>[6]</sup>。

**1.2 肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )和白细胞介素(IL-1 $\beta$ 、IL-6):**TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6是损伤和感染时早期出现的细胞因子,能刺激机体发热,激活内皮细胞、募集多形核白细胞(PMN)等,既是复杂炎症反应的原因,也是炎症反应的结果,但很难将某一特定因子对应某一临床状态<sup>[7]</sup>。脓毒症时TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-6均升高,创伤、手术、卒中和自身免疫性疾病时亦增高,故均不能用于脓毒症的早期鉴别诊断<sup>[6]</sup>。其他原因包括:有些因子半衰期极短,如TNF- $\alpha$ 仅17min;某些因子血清峰值浓度出现极早,很难及时检测到,如暴露脂多糖(LPS)后数分钟即有TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 的释放<sup>[8]</sup>。

**1.3 高迁移率族蛋白B1(HMGB1)和巨噬细胞迁移抑制因子(MIF):**HMGB1是一种核蛋白,由激活的单核细胞和坏死组织释放,健康人体测不到<sup>[9]</sup>。HMGB1为一种促炎因子,炎症反应后8~12h达到可检测水平,18~32h为平台期。严重脓毒症及脓毒性休克患者血清HMGB1水平升高,且与器官衰竭程度相关。一项前瞻性研究表明,严重感染后3dHMGB1水平超过4 $\mu$ g/L,则病死率增加5.5倍〔95%可信区间(95%CI)=1.3~23.6〕<sup>[10]</sup>。MIF在健康人循环中低水平存在(2~10 $\mu$ g/L),在严重感染和脓毒性休克时升高,高水平MIF可作为脓毒症不良预后的早期标志物<sup>[11]</sup>。因HMGB1和MIF均为延迟相反反应蛋白,故不能用于早期诊断。

**1.4 降钙素原(PCT):**PCT是目前常用的诊断脓毒症的生物标志物<sup>[12-13]</sup>。PCT是内分泌激素降钙素前体,生理情况下由甲状腺C细胞分泌,血清浓度低(<0.1 $\mu$ g/L)。感染时,几乎所有组织包括肺、肝、肾、胰腺、脾、结肠等均可释放PCT<sup>[14]</sup>。作为全身炎症反应的一部分,PCT对全身细菌感染反应有相对较高的特异性,但局部感染、病毒感染和细胞内细菌感染如肺炎支原体感染时升高幅度很小。革兰阴性(G<sup>-</sup>)杆菌菌血症时PCT升高较革兰阳性(G<sup>+</sup>)菌菌血症更明显,且不受甾类药物如布洛芬的影响<sup>[15]</sup>。1993年Assicot等<sup>[16]</sup>首次提出PCT可作为细菌感染标志物。2008年,美国危重病医学会/感染疾病协会正式提出将PCT作为鉴别细菌感染和其他炎症反应状态的诊断标志物<sup>[17]</sup>。Meta分析表明,PCT截断值为1.1 $\mu$ g/L(0.5~2.0 $\mu$ g/L)时,鉴别脓毒症和非感染性全身炎症反应的特异度为81%(95%CI=67%~90%),明显高于CRP(67%,95%CI=56%~77%)<sup>[18]</sup>。晚近一项系统综述揭示,PCT早期识别脓毒症的敏感度为77%(95%CI=72%~81%),特异度为79%(95%CI=74%~84%)<sup>[19]</sup>。PCT对于皮肤软组织感染无诊断价值,但可用于住院糖尿病足患

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.026

基金项目:山东省医药卫生科技发展计划项目(2011HZ026);山东省青岛市博士后应用研究项目资助(201331)

作者单位:266003 山东青岛,青岛大学附属医院重症医学科(单亮、山峰),内科门诊(李秀);265100 山东海阳,海阳市人民医院重症医学科(修建荣)

通讯作者:山峰, Email: mountain1963@163.com

者的诊断和治疗监测<sup>[20]</sup>。目前证据不支持 PCT 能用于感染性心内膜炎、结核病的鉴别诊断<sup>[21]</sup>。有研究表明 PCT 联合 CRP 能大幅提高诊断脓毒症的准确性。应注意的是, PCT 在外科手术、心源性休克、急性移植植物抗宿主病、骨髓移植及肾病终末期时也有不同程度升高<sup>[22]</sup>,应用时要加以注意。

**1.5 脂多糖结合蛋白(LBP):** LBP 是一种能结合 LPS 的多肽,主要在肝脏合成。LPS-LBP 复合物启动信号转导时具备双重功效,低水平时增强信号转导,高水平时抑制信号转导。脓毒症时 LBP 水平成倍增加,可用于脓毒症诊断、病情判断及预后评估。但应用抗菌药物能影响 LPS 和 LBP 水平,使其与脓毒症病程不再具有相关性,限制了其临床应用<sup>[23]</sup>。

**1.6 乳酸:**严重脓毒症时血清乳酸主要反映组织低灌注和乏氧代谢。在细胞水平,能量产生依赖葡萄糖及氧代谢,葡萄糖由糖酵解转换为丙酮酸并产生 2 个分子的 ATP,丙酮酸进入三羧酸循环产生更多的 ATP。但低氧环境下,丙酮酸转化为乳酸,因此组织低氧时,糖酵解增加,乳酸及乳酸/丙酮酸比例增加。乳酸增加也与肝脏乳酸清除能力下降及线粒体功能障碍有关。多数研究证明乳酸升高与脓毒症病死率升高密切相关。例如入院时血乳酸超过 2 mmol/L 的患者较低于 2 mmol/L 的患者病死率升高 1.94~10.89 倍<sup>[24]</sup>。针对乳酸的研究主要关注危险分层及预测预后,鲜见关于早期诊断应用价值的研究,与其敏感度高但特异度低有关。

**1.7 细胞表面标志物及可溶性受体**

**1.7.1 CD64:** CD64 是细胞膜上的糖蛋白,健康人体白细胞表面无 CD64 表达,细菌感染免疫激活后数小时 PMN 表面 CD64 即表达增加,因此可用于感染的早期鉴别诊断及脓毒症的管理。细菌感染时 CD64 升高,其敏感度为 87%。Gibot 等<sup>[25]</sup>研究发现,PMN-CD64 单独预测价值比较突出;PCT、可溶性髓样细胞触发受体 1 (sTREM-1) 和 PMN-CD64 联用预测价值更高,受试者工作特征曲线 (ROC) 下面积 (AUC) 为 0.95。另一项研究未发现 PMN-CD64 有更高的敏感度<sup>[26]</sup>。

**1.7.2 sTREM-1:** sTREM-1 是一种糖肽类受体,在中性粒细胞、成熟单核细胞和巨噬细胞表面表达,血液中溶解形式为 sTREM-1。细菌和真菌感染时 sTREM-1 表达增加,其诊断细菌感染的敏感度和特异度可企及 CRP 和 PCT,Meta 分析表明其敏感度为 82% (95%CI=68%~90%),特异度为 86% (95%CI=77%~91%)<sup>[27]</sup>。另一项单中心前瞻性研究表明,严重脓症患者入院时 sTREM-1 水平与存活率独立相关;sTREM-1 快速下降预示预后良好<sup>[28]</sup>。故 sTREM-1 可用于脓毒症的诊断及判断预后,临床应用价值尚需进一步评价。

**1.7.3 可溶性尿激酶型纤溶酶原激活剂受体 (suPAR):** 尿激酶型纤溶酶原激活剂受体 (uPAR) 是白细胞表面的一种受体,目前认为其与多种免疫功能相关,包括免疫细胞黏附、迁移、分化与增殖。炎症反应时 uPAR 从细胞表面裂解增加,成为可溶形式,称之 suPAR。suPAR 高低与脓毒症严重程度呈正相关,也是良好的预后判断标志物。在一项囊括 539 例患者的前瞻性队列研究中,死亡组血清 suPAR 浓度明显高于存活组,预测死亡的 AUC 为 0.79<sup>[29]</sup>。另一项针对非选择

性急诊内科患者的前瞻性研究显示,患者的基线 suPAR 水平与疾病危重程度、30 d 和 90 d 病死率及住院时间明显相关<sup>[30]</sup>。一项系统综述表明,在预测疾病预后方面 suPAR 优于 CRP、PCT 及 sTREM-1<sup>[31]</sup>。但是, suPAR 用于脓毒症的诊断价值有限,有学者报道其诊断的 AUC 仅为 0.62<sup>[31]</sup>。

**1.8 髓质素原 (proADM):** proADM 是由 52 个氨基酸构成的多肽,由肾上腺髓质合成、分泌。在应激状态下,髓质素 (ADM) 分泌增加,发挥血管舒张及抗炎、抗微生物作用。脓毒症时 ADM 基因表达及血清浓度增加,但其清除较快,测定困难,因此多测定其前体 proADM。与 SIRS 时相比,脓毒症时 proADM 升高明显。有学者观察了 340 例血液恶性肿瘤发热患者的 PCT 和 proADM,结果均与血液培养阳性率相关,其中 proADM 能更好地鉴别脓毒症和局部细菌感染<sup>[32]</sup>。

**1.9 微小 RNA (miRNA):** miRNA 是一类长约 21~23 个核苷酸的单链小分子 RNA,属于非编码功能 RNA,可调节其他基因表达,在机体生长发育、细胞增殖分化、凋亡、肿瘤发生等方面有重要作用,其自身表达亦具有组织特异性<sup>[33]</sup>。近年来研究显示,脓毒症时 miRNA 表达可增高也可下降,部分呈高特异性和敏感性,可作为早期脓毒症诊断的生物标志物。研究发现,miR-15a、miR-16 可用于鉴别脓毒症和非感染导致的 SIRS<sup>[34]</sup>;可作为脓毒症的标志物还有 miR-223、miR-499-5p、miR-122、miR-193b<sup>[35]</sup>。miR-146a 以单核细胞内蛋白激酶肿瘤坏死因子受体相关蛋白 6 (TRAF-6) 和白细胞介素-1 受体相关激酶 1 (IRAK-1) 为靶点,miR-146a 高表达可使以上两种激酶失活,当机体受到外界刺激时,炎症因子的产生将受到明显抑制,从而削弱机体反应能力<sup>[36]</sup>。最近研究表明,miR-146a 通过诱导小鼠肺部巨噬细胞表型改变,对盐酸吸入致急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 有肺保护作用,但其可能恶化脓毒症所致 ARDS<sup>[37]</sup>。邓婕等<sup>[38]</sup>研究发现,miR-122 诊断脓毒症的特异度高 (95.7%),而敏感度低 (53.8%),提示其可能成为特异性的诊断标志物。

## 2 多种生物标志物的联合应用及脓毒症评分系统

鉴于脓毒症发病机制的复杂性以及单一标志物的不确定性,早先就有医生开展多个标志物联用,并结合临床指标开发出脓毒症评分系统<sup>[39-40]</sup>。如感染可能性评分 (IPS) 用于评估危重患者严重感染的可能性,以体温、心率、呼吸频率、白细胞计数、CRP 及脓毒症相关器官衰竭评分为参数,总分 0~26 分,研究表明 IPS 预测感染的 AUC 为 0.82,IPS<14 分的感染风险仅为 10%<sup>[41]</sup>。尽管多种生物标志物联用时采用 AUC 值更为理想,但究竟哪些标志物联用能提供更确定的诊断信息及效费比分析,仍需进一步研究证实。

## 3 结语及展望

随着临床理念及诊断技术的不断发展,生物标志物在脓毒症诊断、指导抗菌药物治疗及判断预后方面起到越来越重要的作用。医生在临床实践中每天都面临实验室结果的研判与使用,应该熟悉各种生物标志物的临床应用价值,结合临床表现以提高脓毒症早期诊断率,并开展集束化治疗,才能有望降低脓毒症病死率,提高临床救治水平<sup>[42-43]</sup>。

## 参考文献

- [1] Levy MM, Dellinger RP, Townsend SR, et al. The Surviving Sepsis Campaign : results of an international guideline-based performance improvement program targeting severe sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36 (2) : 222-231.
- [2] 盛志勇. 努力提高脓毒症的认识水平[J]. *中华危重病急救医学*, 2003, 15 (3) : 131.
- [3] Vincent JL. The rise and fall of drotrecogin alfa (activated) [J]. *Lancet Infect Dis*, 2012, 12 (9) : 649-651.
- [4] 张柳, 安友仲. 脓毒症的阶段性生物标志物[J]. *中华危重病急救医学*, 2011, 23 (8) : 509-512.
- [5] 姚咏明, 栾樱译. 客观评价脓毒症生物标志物的临床意义[J]. *中华危重病急救医学*, 2012, 24 (9) : 517-519.
- [6] Cho SY, Choi JH. Biomarkers of sepsis [J]. *Infect Chemother*, 2014, 46 (1) : 1-12.
- [7] 康福新, 王瑞兰. 生物标志物在脓毒症诊断和危险分层中的临床价值探讨[J]. *临床外科杂志*, 2011, 19 (3) : 164-166.
- [8] 康福新, 王瑞兰. 脓毒症早期诊断的生物标志物[J]. *中华危重病急救医学*, 2007, 19 (10) : 633-635.
- [9] 杨丽萍, 姚咏明, 李杰萍, 等. 高迁移率族蛋白 B1 真核表达载体的构建及其对肿瘤坏死因子- $\alpha$  报告基因活性的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15 (3) : 171-174.
- [10] Gibot S, Massin F, Cravoisy A, et al. High-mobility group box 1 protein plasma concentrations during septic shock [J]. *Intensive Care Med*, 2007, 33 (8) : 1347-1353.
- [11] Bozza FA, Gomes RN, Japiassú AM, et al. Macrophage migration inhibitory factor levels correlate with fatal outcome in sepsis [J]. *Shock*, 2004, 22 (4) : 309-313.
- [12] Riedel S. Procalcitonin and the role of biomarkers in the diagnosis and management of sepsis [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2012, 73 (3) : 221-227.
- [13] 黄超. 降钙素原与脓毒症的研究进展[J]. *医学综述*, 2013, 19 (14) : 2504-2506.
- [14] 奚晶晶, 王红, 杨钧. 降钙素原在脓毒症患者中的动态变化及中药干预的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2007, 14 (6) : 327-329.
- [15] Charles PE, Ladoire S, Aho S, et al. Serum procalcitonin elevation in critically ill patients at the onset of bacteremia caused by either Gram negative or Gram positive bacteria [J]. *BMC Infect Dis*, 2008, 8 : 38.
- [16] Assicot M, Gendrel D, Carsin H, et al. High serum procalcitonin concentrations in patients with sepsis and infection [J]. *Lancet*, 1993, 341 (8844) : 515-518.
- [17] O'Grady NP, Barie PS, Bartlett JG, et al. Guidelines for evaluation of new fever in critically ill adult patients : 2008 update from the American College of Critical Care Medicine and the Infectious Diseases Society of America [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36 (4) : 1330-1349.
- [18] Simon L, Gauvin F, Amre DK, et al. Serum procalcitonin and C-reactive protein levels as markers of bacterial infection : a systematic review and meta-analysis [J]. *Clin Infect Dis*, 2004, 39 (2) : 206-217.
- [19] Wacker C, Prkno A, Brunkhorst FM, et al. Procalcitonin as a diagnostic marker for sepsis : a systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2013, 13 (5) : 426-435.
- [20] Yu CW, Juan LI, Hsu SC, et al. Role of procalcitonin in the diagnosis of infective endocarditis : a meta-analysis [J]. *Am J Emerg Med*, 2013, 31 (6) : 935-941.
- [21] Saeed K, Ahmad N, Dryden M. The value of procalcitonin measurement in localized skin and skin structure infection, diabetic foot infections, septic arthritis and osteomyelitis [J]. *Expert Rev Mol Diagn*, 2014, 14 (1) : 47-54.
- [22] 杨琦, 孙伟莉. 降钙素原的临床应用进展[J]. *蚌埠医学院学报*, 2013, 38 (5) : 640-643.
- [23] Sakr Y, Burgett U, Nacul FE, et al. Lipopolysaccharide binding protein in a surgical intensive care unit : a marker of sepsis? [J]. *Crit Care Med*, 2008, 36 (7) : 2014-2022.
- [24] Khosravani H, Shahpori R, Stelfox HT, et al. Occurrence and adverse effect on outcome of hyperlactatemia in the critically ill [J]. *Crit Care*, 2009, 13 (3) : R90.
- [25] Gibot S, Béné MC, Noel R, et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186 (1) : 65-71.
- [26] Gros A, Roussel M, Sauvadet E, et al. The sensitivity of neutrophil CD64 expression as a biomarker of bacterial infection is low in critically ill patients [J]. *Intensive Care Med*, 2012, 38 (3) : 445-452.
- [27] Jiyong J, Tiancha H, Wei C, et al. Diagnostic value of the soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in bacterial infection : a meta-analysis [J]. *Intensive Care Med*, 2009, 35 (4) : 587-595.
- [28] 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 [J]. *Shock*, 2012, 37 (6) : 574-578.
- [29] Uusitalo-Seppälä R, Huttunen R, Tarkka M, et al. Soluble urokinase-type plasminogen activator receptor in patients with suspected infection in the emergency room : a prospective cohort study [J]. *J Intern Med*, 2012, 272 (3) : 247-256.
- [30] Haupt TH, Petersen J, Ellekilde G, et al. Plasma suPAR levels are associated with mortality, admission time, and Charlson Comorbidity Index in the acutely admitted medical patient : a prospective observational study [J]. *Crit Care*, 2012, 16 (4) : R130.
- [31] Backes Y, van der Sluijs KF, Mackie DP, et al. Usefulness of suPAR as a biological marker in patients with systemic inflammation or infection : a systematic review [J]. *Intensive Care Med*, 2012, 38 (9) : 1418-1428.
- [32] Al Shuaibi M, Bahu RR, Chaftari AM, et al. Pro-adrenomedullin as a novel biomarker for predicting infections and response to antimicrobials in febrile patients with hematologic malignancies [J]. *Clin Infect Dis*, 2013, 56 (7) : 943-950.
- [33] Lagos-Quintana M, Rauhut R, Lendeckel W, et al. Identification of novel genes coding for small expressed RNAs [J]. *Science*, 2001, 294 (5543) : 853-858.
- [34] Wang H, Zhang P, Chen W, et al. Evidence for serum miR-15a and miR-16 levels as biomarkers that distinguish sepsis from systemic inflammatory response syndrome in human subjects [J]. *Clin Chem Lab Med*, 2012, 50 (8) : 1423-1428.
- [35] Wang HJ, Zhang PJ, Chen WJ, et al. Four serum microRNAs identified as diagnostic biomarkers of sepsis [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 73 (4) : 850-854.
- [36] 李智鑫. miRNA-146a 与脓毒症[J]. *中国急救医学*, 2013, 33 (3) : 275-277.
- [37] Vergadi E, Vaporidi K, Theodorakis EE, et al. Akt2 deficiency protects from acute lung injury via alternative macrophage activation and miR-146a induction in mice [J]. *J Immunol*, 2014, 192 (1) : 394-406.
- [38] 邓婕, 王慧娟, 苏龙翔, 等. 血清 MicroRNA-122 作为脓毒症诊断特异性标志物的研究[J]. *武警医学*, 2013, 24 (5) : 383-386.
- [39] Shapiro NI, Trzeciak S, Hollander JE, et al. A prospective, multicenter derivation of a biomarker panel to assess risk of organ dysfunction, shock, and death in emergency department patients with suspected sepsis [J]. *Crit Care Med*, 2009, 37 (1) : 96-104.
- [40] Gibot S, Béné MC, Noel R, et al. Combination biomarkers to diagnose sepsis in the critically ill patient [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2012, 186 (1) : 65-71.
- [41] Peres Bota D, Mélot C, Lopes Ferreira F, et al. Infection Probability Score (IPS) : A method to help assess the probability of infection in critically ill patients [J]. *Crit Care Med*, 2003, 31 (11) : 2579-2584.
- [42] Walley KR. Biomarkers in sepsis [J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2013, 15 (5) : 413-420.
- [43] 解立新. 新的生物标记物在脓毒症诊断中的价值[J]. *武警医学*, 2013, 24 (5) : 369-372.

(收稿日期: 2014-11-28)

(本文编辑: 保健媛)