

# 外周血 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞对老年脓毒症患者预后的评估价值

王春梅 唐伦先 徐慧晖 张晓明 白建文

200120 上海, 同济大学附属东方医院急诊内科(王春梅、唐伦先、白建文); 200031 上海, 中国科学院上海巴斯德研究所(徐慧晖、张晓明)

通讯作者: 白建文, Email: baijianwen1019@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.08.001

**【摘要】** 目的 探讨外周血 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞(Bregs)水平对老年脓毒症患者预后的评估价值。方法 采用前瞻性研究方法,选择 2016 年 4 月至 2017 年 2 月入住同济大学附属东方医院急诊内科和急诊重症加强治疗病房(ICU)符合 Sepsis-3 诊断标准、年龄>65 岁的老年脓毒症患者。常规检测降钙素原(PCT)、C-反应蛋白(CRP)和动脉血乳酸(Lac)水平,并根据 24 h 内指标最差值计算急性生理学及慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)评分和序贯器官衰竭评分(SOFA);于入院 1、3、7 d 采用流式细胞仪检测外周血 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 表达水平。根据 28 d 预后将患者分为存活组和死亡组,比较两组各指标的差异;对差异有统计学意义的变量进行二元 logistic 回归分析;用 Spearman 法分析 Bregs 与各指标的相关性;用受试者工作特征曲线(ROC)分析 Bregs 对老年脓毒症患者预后的评估价值。结果 入选 58 例患者,其中男性 38 例,女性 20 例;年龄(79.91±7.97)岁;脓毒症 32 例,脓毒性休克 26 例;死亡 35 例,病死率为 60.3%。死亡组 APACHE II 评分、SOFA 评分显著高于存活组[APACHE II (分): 18.14±4.52 比 14.91±3.56, SOFA (分): 8.80±4.56 比 6.35±3.00, 均 P<0.05], 1、3、7 d 外周血 Bregs 表达水平均显著低于存活组[个/μL: 0.70 (0.20, 1.40) 比 1.50 (0.70, 2.20), 0.54 (0.20, 1.00) 比 1.42 (1.10, 2.12), 0.25 (0.10, 0.50) 比 0.80 (0.50, 1.00), 均 P<0.05]。老年脓毒症患者入院 1 d 外周血 Bregs 与 APACHE II 评分呈显著负相关(r=-0.351, P=0.007),与 PCT、CRP、Lac 和 SOFA 评分无相关性。二元 logistic 回归分析显示,Bregs [优势比(OR)=1.865, P=0.028]和 APACHE II 评分(OR=0.853, P=0.026)是影响老年脓毒症患者预后的独立危险因素。ROC 曲线分析显示,入院 1、3、7 d Bregs 和 APACHE II 评分对老年脓毒症患者预后的预测价值均较高,ROC 曲线下面积(AUC)和 95% 可信区间(95%CI)为 0.842 (0.647~0.954)、0.770 (0.564~0.911)、0.888 (0.703~0.977) 和 0.855 (0.661~0.961),均 P<0.01;入院 7 d Bregs 的 AUC 最大,截断值为 0.50 个/μL 时敏感度为 72.73%,特异度为 86.67%。结论 外周血 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 表达水平在一定程度上可以用于判断老年脓毒症患者的预后。

**【关键词】** 脓毒症; 调节性 B 细胞; 预后; 老年

**基金项目:** 国家自然科学基金(31470879, 81670067, 81500059); 上海市科研项目(15411962300); 上海市浦东新区卫生计生委优秀学科带头人培养项目(PWRd2014-08)

**Evaluation value of the levels of peripheral blood CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> regulatory B cells on the prognosis of elderly patients with sepsis** Wang Chunmei, Tang Lunxian, Xu Huihui, Zhang Xiaoming, Bai Jianwen

Department of Emergency, Shanghai East Hospital of Tongji University, Shanghai 200120, China (Wang CM, Tang LX, Bai JW); Institute Pasteur of Shanghai, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200031, China (Xu HH, Zhang XM)

Corresponding author: Bai Jianwen, Email: baijianwen1019@163.com

**【Abstract】** **Objective** To explore the predicting value of peripheral blood CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> regulatory B cells (Bregs) on the prognosis of elderly patients with sepsis. **Methods** A prospective study was conducted. Septic patients aged > 65 years old, compliance with diagnostic criteria for Sepsis-3, admitted to emergency and emergency intensive care unit (ICU) of Shanghai East Hospital of Tongji University from April 2016 to February 2017 were enrolled. Procalcitonin (PCT), C-reaction protein (CRP) and lactate (Lac) were routinely measured. According to the worst clinical index value within 24 hours, acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score and sequential organ failure assessment (SOFA) score were recorded. The concentrations of peripheral blood CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs were measured by flow cytometry at 1, 3 and 7 days after diagnosed in elderly patients. All patients with sepsis were followed up for 28 days and then divided into death group and survival group according to 28-day outcome. The difference of clinic data and Bregs were compared between the two groups. The significant different factors of elderly sepsis patients were analyzed by binary logistic regression analysis. The correlation between Bregs level and other indicators was analyzed by Spearman correlation. The receiver operating characteristic curve (ROC) was used to evaluate the prognosis value of Bregs in elderly patients with sepsis. **Results** Fifty-eight patients were enrolled in the study, with 38 male and 20 female; age of (79.91±7.97) years; 32 in sepsis group, 26 in septic shock group; 35 deaths, 28-day mortality rate was 60.3%. APACHE II score and SOFA score in death group exhibited much higher than that

in survival group (APACHE II :  $18.14 \pm 4.52$  vs.  $14.91 \pm 3.56$ , SOFA:  $8.80 \pm 4.56$  vs.  $6.35 \pm 3.00$ , both  $P < 0.05$ ), the Bregs was significantly decreased at 1, 3 and 7 days in death group [cells/ $\mu\text{L}$ : 0.70 (0.20, 1.40) vs. 1.50 (0.70, 2.20), 0.54 (0.20, 1.00) vs. 1.42 (1.10, 2.12), 0.25 (0.10, 0.50) vs. 0.80 (0.50, 1.00), all  $P < 0.05$ ]. Correlation analysis showed that the concentrations of peripheral blood Bregs at 1 day in elderly patients with sepsis was negatively correlated with APACHE II score ( $r = -0.351$ ,  $P = 0.007$ ), and it was not correlated with PCT, CRP, Lac or SOFA score. It was shown by binary logistic regression that Bregs [odds ratio (OR) = 1.865,  $P = 0.028$ ] and APACHE II score (OR = 0.853,  $P = 0.026$ ) were independent risk factors for elderly sepsis outcome. It was shown by ROC curve analysis that the prognostic value of the levels of Bregs at 1, 3, 7 days and APACHE II score were higher in the elderly patients with sepsis, and the area under ROC curve (AUC) and 95% confidence interval (95%CI) were 0.842 (0.647–0.954), 0.770 (0.564–0.911), 0.888 (0.703–0.977), 0.855 (0.661–0.961), respectively, all  $P < 0.01$ . The 7-day Bregs was most powerful to predict outcome, when the cut-off value was 0.50 cells/ $\mu\text{L}$ , the sensitivity was 72.73% and specificity was 86.67%.

**Conclusions** The level of peripheral blood CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs could predict the clinical outcome of elderly patients with sepsis.

**【Key words】** Sepsis; Regular B cell; Prognosis; Elderly

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (31470879, 81670067, 81500059); Science and Technology Planning Project of Shanghai (15411962300); Academic Leadership of Health Bureau of Pudong New District in Shanghai (PWRd2014–08)

目前脓毒症仍然是危重患者死亡的主要原因。随人口老龄化,老年脓毒症发病率逐年上升,致残、致死及再入院率均较高,对个人、家庭和社会造成了巨大经济负担。已有大量临床研究证实了乳酸(Lac)、降钙素原(PCT)、C-反应蛋白(CRP)等在脓症患者早期诊断及预后评估中的价值<sup>[1-4]</sup>,急性生理学与慢性健康状况评分系统II(APACHE II)评分普遍用于评估重症患者的病情和预后,但对老年脓症患者仍缺乏特异性的预后评价指标。CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性B细胞(Bregs)是近来发现的可以调节免疫应答的B细胞亚群,有研究表明Bregs在新生儿脓毒症、炎症性免疫相关疾病、类风湿关节炎、红斑狼疮、1型糖尿病及肿瘤中均存在异常表达<sup>[5-11]</sup>。本研究旨在观察老年脓症患者外周血CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs的表达变化,并探讨其对老年脓毒症预后的评估价值。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象:**采取前瞻性研究方法,选择2016年4月至2017年2月入住同济大学附属东方医院急诊内科和急诊重症加强治疗病房(ICU)的老年脓症患者。

**1.1.1 入选标准:**符合Sepsis-3诊断标准<sup>[12]</sup>;年龄>65岁;非手术非外伤;住院时间>24h。

**1.1.2 排除标准:**有恶性肿瘤、自身免疫性疾病、慢性肾功能不全、严重贫血或长期口服糖皮质激素的患者。

**1.1.3 剔除标准:**未完成指标评估及中途退出研究的患者。

**1.2 伦理学:**本研究符合医学伦理学标准,经医院

伦理委员会批准(审批号:2015-028),并获得患者或家属的知情同意。

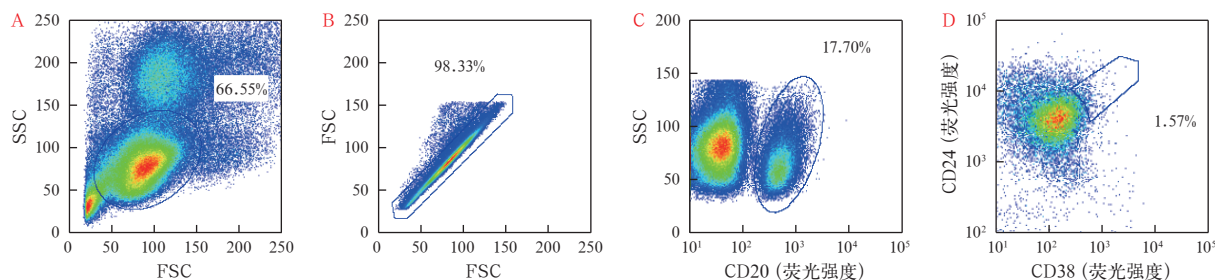
**1.3 治疗及分组:**所有患者均依据《中国严重脓毒症/脓毒性休克治疗指南(2014)》<sup>[13]</sup>治疗。以入组28d为研究终点,根据痊愈出院/转普通病房或死亡将患者分为存活组和死亡组。

## 1.4 检测指标及方法

**1.4.1 临床数据收集:**记录患者的性别、年龄、慢性基础疾病、生命体征,感染部位,血、痰、尿病原微生物培养,血常规、血肌酐(SCr)、总胆红素(TBil)、电解质、血气分析、动脉血Lac、PCT、CRP等;根据临床指标和实验室指标最差值计算APACHE II评分、序贯器官衰竭评分(SOFA)。

**1.4.2 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs检测:**于入院1、3、7d抽取空腹肘静脉血6mL,提取外周血单核细胞(PBMC)。收集PBMC细胞至小离心管(EP管),每管分别加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记抗人CD20、藻红蛋白(PE)标记抗人CD24、藻青蛋白(APC)标记抗人CD38,室温避光孵育15min;离心弃上清;加入染色缓冲液离心,加2%多聚甲醛室温避光固定;离心弃上清,加入染色缓冲液重悬细胞,FACS Fortessa流式细胞仪检测。采用FlowJo 9.0版流式细胞分析软件分析B细胞占淋巴细胞的百分比和Bregs占B细胞的百分比(图1)。根据血常规中的淋巴细胞数,按公式计算Bregs数值。Bregs表达水平=淋巴细胞数×CD20<sup>+</sup>B细胞占淋巴细胞百分比×Bregs占CD20<sup>+</sup>B细胞百分比。

**1.5 统计学分析:**使用SPSS 20.0、GraphPad Prism 7、MediCalc 11.4.2.0软件进行数据分析,正态分布的计



注：A 为圈定淋巴细胞群；B 为去除黏连细胞；C 为 CD20<sup>+</sup> B 细胞占淋巴细胞百分比；D 为老年脓毒症患者 Bregs 占 CD20<sup>+</sup> B 细胞百分比；SSC 为侧向散射光，FSC 为前向散射光

图 1 老年脓毒症患者外周血 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞 (Bregs) 设门策略及代表图

量资料以均数 ± 标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示, 如组间方差齐采用 *t* 检验, 如方差不齐则采用 Mann-Whiney *U* 检验; 非正态分布的计量资料以中位数 (四分位数) [ $M(Q_L, Q_U)$ ] 表示, 采用 Mann-Whiney *U* 检验; 计数资料采用  $\chi^2$  检验。外周血 Bregs 表达水平与各指标间的相关性采用 Spearman 相关分析; 采用 logistic 回归分析老年脓毒症患者预后的危险因素; 用受试者工作特征曲线 (ROC) 分析外周血 Bregs、APACHE II 评分对老年脓毒症预后的评估价值。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 入选患者一般情况 (表 1):** 共入选 58 例患者 (脓毒症 32 例, 脓毒性休克 26 例), 男性 38 例, 女性 20 例; 年龄 65 ~ 94 岁, 平均 (79.91 ± 7.97) 岁; 主要病因有肺炎、肝胆胰腺感染、肠道感染、泌尿系统感染、皮肤软组织感染等。58 例患者血培养均为阴性; 痰液、尿液病原微生物培养阳性 19 例。13 例患者 (22.4%) 培养出革兰阴性 (*G*<sup>-</sup>) 菌, 其中 3 例 (5.2%) 培养到 2 种菌株; 4 例 (6.9%) 培养出革兰阳性 (*G*<sup>+</sup>) 菌; 2 例 (3.4%) 培养出真菌。

**2.2 存活组与死亡组一般指标比较 (表 2):** 58 例脓毒症患者 28 d 死亡 35 例, 病死率为 60.3%。死亡组 APACHE II 评分、SOFA 评分均明显高于存活组, 入院 1、3、7 d 外周血 Bregs 水平均显著低于存活组 (均  $P < 0.05$ ), 而两组间性别、年龄、TBil、SCr、PCT、CRP、Lac 比较差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ )。两组入院 3 d Bregs 水平均低于入院 1 d 时, 但差异无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ); 入院 7 d Bregs 水平均显著低于入

院 1 d 和 3 d 时 (均  $P < 0.05$ )。

**2.3 老年脓毒症患者外周血 Bregs 与各指标的相关性 (图 2):** 入院 1 d, 外周血 Bregs 表达水平与 APACHE II 评分呈负相关 ( $r = -0.351, P = 0.007$ ), 与血浆 PCT、CRP、Lac 及 SOFA 评分无明显相关性。

表 1 58 例老年脓毒症患者一般情况

项目	数据	项目	数据
性别 (例, 男 / 女)	38/20	阳性标本 (例)	
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	79.91 ± 7.97	血液	0
合并症 [例 (%)]		痰液	17
慢性肺部疾病	22 (37.9)	尿液	2
脑血管疾病	10 (17.2)	<i>G</i> <sup>+</sup> 菌 (例)	
心血管疾病	12 (20.7)	MRSA	4
糖尿病	13 (22.4)	<i>G</i> <sup>-</sup> 菌 (例)	
慢性肾脏疾病	4 (6.9)	假单胞菌属	5
感染部位 [例 (%)]		鲍曼不动杆菌	3
肺	39 (67.2)	肠杆菌	2
肝胆胰	10 (17.2)	肺炎克雷伯菌	4
皮肤软组织	2 (3.5)	嗜麦芽窄食单胞菌	2
肠道	4 (6.9)	真菌 (例)	2
泌尿道	3 (5.2)		

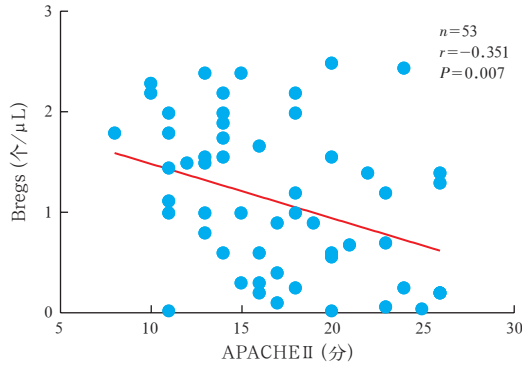
注: *G*<sup>+</sup> 菌为革兰阳性菌, MRSA 为耐甲氧西林金黄色葡萄球菌, *G*<sup>-</sup> 菌为革兰阴性菌

表 2 脓毒症患者各观测指标在存活组和死亡组间的比较

指标	存活组 ( $n = 23$ )	死亡组 ( $n = 35$ )	$\chi^2/t/Z$ 值	<i>P</i> 值
性别 (例, 男 / 女)	14/9	24/11	0.364	0.546
年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	80.13 ± 8.99	79.77 ± 7.36	-0.166	0.869
TBil [ $\mu\text{mol/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	20.0 (8.9, 24.4)	19.0 (8.6, 37.0)	-0.350	0.727
SCr [ $\mu\text{mol/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	91 (52, 120)	81 (56, 153)	-0.341	0.726
PCT [ $\mu\text{g/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	1.60 (0.36, 34.95)	7.13 (0.94, 17.37)	-1.041	0.298
CRP [ $\text{mg/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	80.00 (39.70, 200.00)	108.63 (42.77, 174.98)	-0.485	0.628
Lac [ $\text{mmol/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	2.0 (1.2, 2.6)	1.8 (1.4, 2.4)	0.286	0.775
Bregs [个 / $\mu\text{L}, M(Q_L, Q_U)$ ]				
入院 1 d	1.50 (0.70, 2.20)	0.70 (0.20, 1.40)	2.245	0.025
入院 3 d	1.42 (1.10, 2.12)	0.54 (0.20, 1.00)	-3.961	0.000
入院 7 d	0.80 (0.50, 1.00) <sup>ac</sup>	0.25 (0.10, 0.50) <sup>bd</sup>	-3.339	0.001
APACHE II (分, $\bar{x} \pm s$ )	14.91 ± 3.56	18.14 ± 4.52	0.289	0.010
SOFA (分, $\bar{x} \pm s$ )	6.35 ± 3.00	8.80 ± 4.56	2.457	0.017

注: TBil 为总胆红素, SCr 为血肌酐, PCT 为降钙素原, CRP 为 C-反应蛋白, Lac 为乳酸, Bregs 为外周血 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞, APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II, SOFA 为序贯器官衰竭评分; 与本组入院 1 d 比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ; 与本组入院 3 d 比较, <sup>c</sup> $P < 0.01$ , <sup>d</sup> $P < 0.05$





注：Bregs 为 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞，APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II

图 2 老年脓毒症患者入院 1 d 外周血 Bregs 与 APACHE II 评分的相关性

**2.4 老年脓毒症患者预后危险因素(表 3):** 将脓毒症存活组与死亡组之间差异有统计学意义的参数 Bregs、APACHE II 评分和 SOFA 评分进行二元 logistic 回归分析(进入法),以确定脓毒症死亡的独立危险因素,引入水平为 0.05,剔除水平为 0.10,最终进入方程的有外周血 Bregs 和 APACHE II 评分,结果显示,Bregs 水平和 APACHE II 评分是影响老年脓毒症患者预后的独立危险因素(均  $P < 0.05$ )。

表 3 老年脓毒症患者预后危险因素的二元 logistic 回归分析结果

危险因素	$\beta$ 值	$s_e$	$\chi^2$ 值	OR 值	P 值
Bregs	0.623	0.320	3.805	1.865	0.028
APACHE II	-0.159	0.071	4.989	0.853	0.026
常量	1.446	1.241	1.357	4.246	0.244

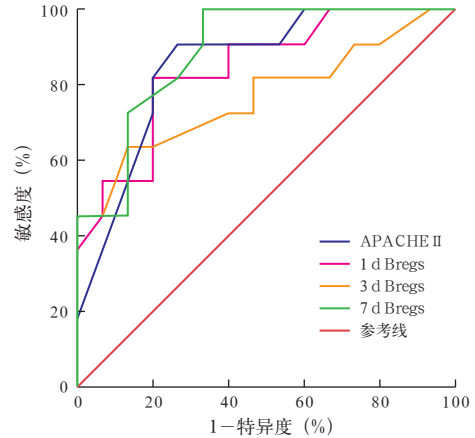
注：Bregs 为 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞，APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II，OR 值为优势比

**2.5 Bregs、APACHE II 评分对老年脓毒症患者死亡的预测价值(表 4; 图 3):** 各时间点 Bregs 水平和 APACHE II 评分对老年脓毒症患者预后的评估价值均较高(AUC 0.7~0.9),其中入院 7 d Bregs 水平对死亡预测的价值最高。

表 4 不同时间点外周血 Bregs 和 APACHE II 评分对老年脓毒症患者预后的评估价值

指标	AUC	P 值	95%CI	截断值	敏感度 (%)	特异度 (%)
1 d Bregs	0.842	0.000	0.647 ~ 0.954	1.41	78.26	88.57
3 d Bregs	0.770	0.002	0.564 ~ 0.911	1.01	76.47	86.36
7 d Bregs	0.888	0.000	0.703 ~ 0.977	0.50	72.73	86.67
APACHE II	0.855	0.000	0.661 ~ 0.961	16.00	90.10	64.71

注：Bregs 为 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞，APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II，AUC 为受试者工作特征曲线下面积，95%CI 为 95% 可信区间



注：Bregs 为 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> 调节性 B 细胞，APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II，ROC 曲线为受试者工作特征曲线

图 3 不同时间点外周血 Bregs 和 APACHE II 评分预测老年脓毒症患者预后的 ROC 曲线

### 3 讨论

脓毒症是机体对感染的异常反应导致的危及生命的器官功能障碍<sup>[12]</sup>,如治疗不及时,各系统/器官发生破坏性改变,甚至脓毒性休克<sup>[14]</sup>,病死率高达 40%<sup>[15]</sup>。大量临床研究表明,脓毒症和脓毒性休克依然是严重威胁人类健康的严重感染性疾病,住院费用居高不下<sup>[16]</sup>。尽管近几年脓毒症病死率有所下降,但老年脓毒症患者临床表现不典型,早期诊断困难,往往合并休克才住院治疗,病死率较非老年脓毒症患者明显增高,因此探讨老年脓毒症患者预后判断的生物标志物具有重要的临床意义和价值。

已有研究表明,高龄和既往存在慢性基础疾病是发生脓毒症的高危因素,而呼吸道感染,特别是肺炎为最常见的感染原因,与高病死率相关<sup>[17]</sup>。年龄增加伴随着固有和适应性免疫进行性退化或称为免疫衰老,老年人是罹患脓毒症的高危群体<sup>[18]</sup>,调节脓毒症早期免疫系统失衡有助于改善患者预后<sup>[19-20]</sup>。本研究的纳入对象为老年人,免疫功能退化,且多合并冠心病、糖尿病、脑血管疾病、肾脏病等慢性基础疾病,病死率高达 60.3%;58 例脓毒症患者中肺部感染占 67.2%。

CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 与免疫耐受的关系密切,是分泌白细胞介素-10(IL-10)的 Bregs 的主要表型,Bregs 通过产生 IL-10、转化生长因子- $\beta$ (TGF- $\beta$ )等机制参与了机体免疫应答下调及免疫耐受<sup>[21-22]</sup>。Bregs 在不同疾病中表达不尽一致,Mavropoulos 等<sup>[23]</sup>通过对 45 例硬皮病患者的研究表

明, Bregs 细胞在系统性硬化症 (SSc) 患者中数量减少, 表型和功能受损, 在用 B 细胞受体 (BCR) 和 Toll 样受体 9 (TLR9) 刺激时 B 细胞表现出 p38 丝裂素活化蛋白激酶 (p38MAPK) 和信号转导与转录活化因子 3 (STAT3) 激活受损。Cui 等<sup>[24]</sup> 在自身免疫类风湿关节炎患者中发现 Bregs 降低。Daien 等<sup>[25]</sup> 研究显示, 类风湿关节炎患者与健康者 CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 细胞水平近似。Pan 等<sup>[11]</sup> 通过对 30 例新生儿脓毒症研究发现, 外周血 CD19<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 水平明显升高, 并且 CD19<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 水平与 CRP 水平呈正相关, 提示 CD19<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 可能通过抑制机体免疫系统, 参与脓毒症病理生理过程。本研究进一步发现, 脓症患者死亡组入院 1、3、7 d CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 表达水平均明显低于存活组, 且两组 7 d Bregs 表达水平均较 1 d、3 d 时明显下降。

APACHE II 评分是评估危重患者病情严重程度的经典标准, 可根据病情严重程度对患者进行分类。研究表明, APACHE II 评分与 ICU 住院时间呈负相关, 与病死率呈正相关<sup>[26-28]</sup>。SOFA 评分也是评估危重患者器官功能障碍 / 衰竭的简单有效方法, 高 SOFA 评分与高病死率相关<sup>[29]</sup>。本研究显示, 老年脓症患者死亡组 APACHE II 评分和 SOFA 评分均明显高于存活组; 且进一步发现, 死亡组 Bregs 表达水平明显低于存活组, 其表达水平与 APACHE II 评分呈负相关; ROC 曲线分析显示, 入院 1、3、7 d Bregs 和 APACHE II 评分对老年脓毒症患者的预后评估效能相当, 因此, Bregs 表达水平可作为反映老年脓症患者预后的关键指标。

综上, 本研究以老年脓症患者为研究对象, 发现外周血 CD20<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> Bregs 表达的动态变化对脓毒症预后有良好的预测价值, 但由于本研究为单中心研究, 入组患者病例数偏少, 未对患者合并症及年龄进行分层分析, 且老年患者的基础状态存在差异, 今后仍需进一步扩大样本量, 着眼于 Bregs 对老年脓毒症患者的确切作用及调控机制研究。

## 参考文献

- [1] Kibe S, Adams K, Barlow G. Diagnostic and prognostic biomarkers of sepsis in critical care [J]. *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66 Suppl 2: ii33-40. DOI: 10.1093/jac/dkq523.
- [2] Schuetz P, Maurer P, Punjabi V, et al. Procalcitonin decrease over 72 hours in US critical care units predicts fatal outcome in sepsis patients [J]. *Crit Care*, 2013, 17 (3): R115. DOI: 10.1186/cc12787.
- [3] Garnacho-Montero J, Huici-Moreno MJ, Gutiérrez-Pizarra A, et al. Prognostic and diagnostic value of eosinopenia, C-reactive protein, procalcitonin, and circulating cell-free DNA in critically ill patients admitted with suspicion of sepsis [J]. *Crit Care*, 2014, 18 (3): R116. DOI: 10.1186/cc13908.
- [4] 李翠如, 杨举红, 张瑞萍, 等. PCT 在不同病理进程脓毒症诊断中的临床应用价值 [J]. *实用检验医师杂志*, 2016, 8 (2): 94-96, 99. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.009.
- Li CR, Yang JH, Zhang RP, et al. Clinical application value of PCT in patients with sepsis in different pathological processes [J]. *Chin J Clin Pathol*, 2016, 8 (2): 94-96, 99. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.009.
- [5] Blair PA, Noreña LY, Flores-Borja F, et al. CD19<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> B cells exhibit regulatory capacity in healthy individuals but are functionally impaired in systemic Lupus Erythematosus patients [J]. *Immunity*, 2010, 32 (1): 129-140. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.11.009.
- [6] Hayashi M, Yanaba K, Umezawa Y, et al. IL-10-producing regulatory B cells are decreased in patients with psoriasis [J]. *J Dermatol Sci*, 2016, 81 (2): 93-100. DOI: 10.1016/j.jdermsci.2015.11.003.
- [7] Miyagaki T, Fujimoto M, Sato S. Regulatory B cells in human inflammatory and autoimmune diseases: from mouse models to clinical research [J]. *Int Immunol*, 2015, 27 (10): 495-504. DOI: 10.1093/intimm/dxv026.
- [8] Oka A, Ishihara S, Mishima Y, et al. Role of regulatory B cells in chronic intestinal inflammation: association with pathogenesis of Crohn's disease [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2014, 20 (2): 315-328. DOI: 10.1097/01.MIB.0000437983.14544.d5.
- [9] Kleffel S, Vergani A, Tezza S, et al. Interleukin-10<sup>+</sup> regulatory B cells arise within antigen-experienced CD40<sup>+</sup> B cells to maintain tolerance to islet autoantigens [J]. *Diabetes*, 2015, 64 (1): 158-171. DOI: 10.2337/db13-1639.
- [10] Liu J, Wang H, Yu Q, et al. Aberrant frequency of IL-10-producing B cells and its association with Treg and MDSC cells in non small cell lung carcinoma patients [J]. *Hum Immunol*, 2016, 77 (1): 84-89. DOI: 10.1016/j.humimm.2015.10.015.
- [11] Pan X, Ji Z, Xue J. Percentage of peripheral CD19<sup>+</sup> CD24<sup>hi</sup> CD38<sup>hi</sup> regulatory B cells in neonatal sepsis patients and its functional implication [J]. *Med Sci Monit*, 2016, 22: 2374-2378. DOI: 10.12659/MSM.895421.
- [12] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3) [J]. *JAMA*, 2016, 315 (8): 801-810. DOI: 10.1001/jama.2016.0287.
- [13] 中华医学会重症医学分会. 中国严重脓毒症 / 脓毒性休克治疗指南 (2014) [J]. *中华内科杂志*, 2015, 54 (6): 557-581. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2015.06.021.
- Chinese Society of Critical Care Medicine. Chinese guidelines for management of severe sepsis and septic shock 2014 [J]. *Chin J Intern Med*, 2015, 54 (6): 557-581. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0578-1426.2015.06.021.
- [14] Knox DB, Lanspa MJ, Kuttler KG, et al. 脓毒症相关多器官功能障碍综合征的表征 [J]. 论文, 罗红敏, 译. *中华危重病急救医学*, 2015, 27 (6): 524.
- Knox DB, Lanspa MJ, Kuttler KG, et al. Phenotypic clusters within sepsis-associated multiple organ dysfunction syndrome [J]. *Yu W, Luo HM, trans. Chin Crit Care Med*, 2015, 27 (6): 524.
- [15] Rhodes A, Evans LE, Alhazzani W, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of sepsis and septic shock: 2016 [J]. *Crit Care Med*, 2017, 45 (3): 486-552. DOI: 10.1097/CCM.0000000000002255.
- [16] Stoller J, Halpin L, Weis M, et al. Epidemiology of severe sepsis: 2008-2012 [J]. *J Crit Care*, 2016, 31 (1): 58-62. DOI: 10.1016/j.jccr.2015.09.034.
- [17] Mayr FB, Yende S, Angus DC. Epidemiology of severe sepsis [J]. *Virulence*, 2014, 5 (1): 4-11. DOI: 10.4161/viru.27372.
- [18] Kumar R, Burns EA. Age-related decline in immunity: implications for vaccine responsiveness [J]. *Expert Rev Vaccines*, 2008, 7 (4): 467-479. DOI: 10.1586/14760584.7.4.467.
- [19] 董天峰, 张桂萍, 董凯, 等. 血必净注射液治疗脓毒症作用机制的研究进展 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2016, 23 (5): 554-557. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.05.031.
- Dong TH, Zhang GP, Dong K, et al. Research progress of mechanism of xuebijing injection for treatment of sepsis [J]. *Chin J TCM WM Chin Care*, 2016, 23 (5): 554-557. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.05.031.
- [20] 杨立山, 韩凤玉, 吴嘉荔, 等. 血必净治疗脓毒症患者的机制及转归 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2016, 23 (4): 368-372. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.04.008.

- Yang LS, Han FY, Wu JL, et al. Study on mechanism and outcome of Xuebijing for treatment of patients with sepsis [J]. Chin J TCM WM Chin Care, 2016, 23 (4): 368-372. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2016.04.008.
- [21] Cherukuri A, Rothstein DM, Clark B, et al. Immunologic human renal allograft injury associates with an altered IL-10/TNF- $\alpha$  expression ratio in regulatory B cells [J]. J Am Soc Nephrol, 2014, 25 (7): 1575-1585. DOI: 10.1681/ASN.2013080837.
- [22] Nouël A, Pochard P, Simon Q, et al. B-Cells induce regulatory T cells through TGF- $\beta$ /IDO production in a CTLA-4 dependent manner [J]. J Autoimmun, 2015, 59: 53-60. DOI: 10.1016/j.jaut.2015.02.004.
- [23] Mavropoulos A, Simopoulou T, Varna A, et al. Breg cells are numerically decreased and functionally impaired in patients with systemic sclerosis [J]. Arthritis Rheumatol, 2016, 68 (2): 494-504. DOI: 10.1002/art.39437.
- [24] Cui D, Zhang L, Chen J, et al. Changes in regulatory B cells and their relationship with rheumatoid arthritis disease activity [J]. Clin Exp Med, 2015, 15 (3): 285-292. DOI: 10.1007/s10238-014-0310-9.
- [25] Daien CI, Gailhac S, Mura T, et al. Regulatory B10 cells are decreased in patients with rheumatoid arthritis and are inversely correlated with disease activity [J]. Arthritis Rheumatol, 2014, 66 (8): 2037-2046. DOI: 10.1002/art.38666.
- [26] Naved SA, Siddiqui S, Khan FH. APACHE- II score correlation with mortality and length of stay in an intensive care unit [J]. J Coll Physicians Surg Pak, 2011, 21 (1): 4-8. DOI: 01.2011/JCPSP.0408.
- [27] Chhangani NP, Amandeep M, Choudhary S, et al. Role of acute physiology and chronic health evaluation II scoring system in determining the severity and prognosis of critically ill patients in pediatric intensive care unit [J]. Indian J Crit Care Med, 2015, 19 (8): 462-465. DOI: 10.4103/0972-5229.162463.
- [28] 李岩, 李春盛. 简化急性生理学评分 III 与其他评分方法对急诊严重脓毒症患者 28 d 死亡的预测能力比较 [J]. 中华危重病急救医学, 2015, 27 (6): 454-459. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.008.
- Li Y, Li CS. Comparison of simplified acute physiology score III and other scoring systems in prediction of 28-day prognosis in patients with severe sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2015, 27 (6): 454-459. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.008.
- [29] 王盛标, 李涛, 李云峰, 等. 4 种评分系统对脓毒症患者预后的评估价值: 附 311 例回顾性分析 [J]. 中华危重病急救医学, 2017, 29 (2): 133-138. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.02.008.
- Wang SB, Li T, Li YF, et al. Predictive value of four different scoring systems for septic patient's outcome: a retrospective analysis with 311 patients [J]. Chin Crit Care Med, 2017, 29 (2): 133-138. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.02.008.
- (收稿日期: 2017-04-27)

## • 科研新闻速递 •

### HIV 相关黄霉菌感染的治疗: 两性霉素 B 优于伊曲康唑

黄霉菌感染是东南亚地区人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染患者死亡的主要原因之一。指南建议首选两性霉素 B 治疗, 但该药副作用较大, 价格昂贵, 而且药物供应并不充足。伊曲康唑可以通过口服吸收, 副作用较少, 被广泛用来替代两性霉素 B, 但有关两者疗效差异的临床试验较少, 为此, 有学者进行了一项非劣效性试验。研究人员将 440 例黄霉菌感染的 HIV 患者随机分为两性霉素 B 治疗组 ( $n=219$ ,  $0.7 \sim 1.0 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ ) 和伊曲康唑治疗组 ( $n=221$ , 前 3 d 600 mg/d, 以后 400 mg/d), 连续治疗 11 d, 之后所有患者均接受维持剂量的伊曲康唑治疗。主要评价指标为 2 周全因病死亡率; 其他评价指标包括 24 周全因病死亡率, 患者黄霉菌感染达到临床消除所需的时间, 早期真菌活性, 复发, 免疫重建炎症综合征 (IRIS) 的发生情况及副作用等。结果显示, 两性霉素 B 治疗组和伊曲康唑治疗组患者 2 周全因病死亡率分别为 6.5% 和 7.4% [绝对风险差为 0.9%, 95% 可信区间 (95%CI) = -3.9% ~ 5.6%], 24 周全因病死亡率分别为 11.3% 和 21.0% (绝对风险差为 9.7%, 95%CI = 2.8% ~ 16.6%)。与伊曲康唑治疗组比较, 两性霉素 B 治疗组达到感染临床消除所需的时间明显缩短, 复发率和 IRIS 发生率更低, 但注射部位局部不良反应、肾功能衰竭、低钾血症、低镁血症和贫血的发生率较高。研究人员据此得出结论: 两性霉素 B 治疗黄霉菌感染的疗效优于伊曲康唑。

罗红敏, 编译自《N Engl J Med》, 2017, 376(24): 2329-2340

### 用抗菌药物治疗皮肤小脓肿: 一项安慰剂对照临床试验

普通的皮肤脓肿较常见, 但人们对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌 (MRSA) 引起的社区获得性皮肤脓肿的处理方法尚未统一。为此, 美国学者进行了一项多中心前瞻性双盲试验。研究人员根据脓肿能否进行外科引流、大小、数量、是否存在非化脓性蜂窝织炎等情况对患者进行分层分析。入选标准为脓肿直径  $\leq 5 \text{ cm}$ 。在脓肿切开引流后将患者随机分为 3 组, 分别给予克林霉素、甲氧苄啶/磺胺甲恶唑 (TMP-SMX) 或安慰剂治疗, 共 10 d。主要评价指标为治疗结束后 7 ~ 10 d 的临床治愈率。结果显示: 该研究共纳入 786 例患者, 其中成人患者占 64.2%, 男性占 57.0%。从 527 例患者 (67.0%) 中分离培养出金黄色葡萄球菌, 从 388 例患者 (49.4%) 中分离出 MRSA。治疗结束后, 克林霉素组治愈率为 83.1% (221/266), TMP-SMX 组为 81.7% (215/263), 安慰剂对照组为 68.9% (177/257), 两个干预组治愈率均显著高于安慰剂对照组 (均  $P < 0.001$ ); 但该疗效差异仅限于金黄色葡萄球菌感染的患者。对于首次治愈的患者随访 1 个月后发现, 克林霉素组新发感染者明显少于 TMP-SMX 组和安慰剂对照组 [6.8% (15/221) 比 13.5% (29/215)、12.4% (22/177), 均  $P < 0.05$ ]; 但克林霉素组副作用较 TMP-SMX 组和安慰剂对照组多 [21.9% (58/265) 比 11.1% (29/261)、12.5% (32/255)], 所有副作用均为出现后遗症; TMP-SMX 组中有 1 例患者出现过敏反应。研究人员据此得出结论: 与单纯切开引流相比, 克林霉素或 TMP-SMX 联合切开引流能改善单纯性皮肤脓肿患者的短期预后。

罗红敏, 编译自《N Engl J Med》, 2017, 376(26): 2545-2555