

白细胞介素-6联合CD4⁺T淋巴细胞检测对评估新型冠状病毒肺炎严重程度及预后的价值

史晓朋 秦历杰 杨蕾 白伟民 景莉娟 梅魁魁

河南省人民医院急诊医学部, 郑州 450003

通信作者: 秦历杰, Email: qinlijie1819@163.com

【摘要】 目的 探讨白细胞介素-6(IL-6)与CD4⁺T淋巴细胞联合检测在评估新型冠状病毒肺炎(简称新冠肺炎)严重程度和预后中的价值。**方法** 采用前瞻性观察性研究方法,选择2020年1月13日至3月13日河南省人民医院收治的45例新冠肺炎患者,按疾病严重程度分为普通型(13例)、重型(20例)、危重型(12例)组;以同期15例健康志愿者作为健康对照组。收集患者临床资料,比较不同疾病严重程度组与健康对照组临床特征、一般检验结果、IL-6、CD4⁺水平的差异;绘制受试者工作特征曲线(ROC),评价各指标对新冠肺炎病情严重程度的预测价值;采用多因素Cox回归分析影响新冠肺炎患者预后的危险因素,并进行Kaplan-Meier生存曲线分析。**结果** 危重型组患者年龄明显大于重型和普通型组(岁:66.91±17.01比59.35±18.07、40.23±12.61,均 $P<0.05$),2019新型冠状病毒(2019-nCoV)转阴时间较重型和普通型组明显延长(d :19.00±10.66比18.00±7.18、9.31±3.49,均 $P<0.05$)。随着疾病严重程度增加,患者白细胞计数(WBC)、C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、总胆红素(TBil)、肌钙蛋白I(TnI)、IL-6、D-二聚体等指标均明显升高,淋巴细胞计数(LYM)、血小板计数(PLT)、CD4⁺、CD8⁺、氧合指数(PaO_2/FiO_2)则明显下降(均 $P<0.01$)。ROC曲线分析显示: PaO_2/FiO_2 、IL-6、CD4⁺对新冠肺炎患者疾病严重程度均有一定预测价值,ROC曲线下面积(AUC)分别为0.903、0.871、0.689,95%可信区间(95%CI)分别为0.806~0.949、0.769~0.974、0.542~0.853,最佳截断值分别为196.00 mmHg(1 mmHg=0.133 kPa)、6.02 ng/L、355.00个/ μ L,敏感度分别为73.3%、99.3%、73.3%,特异度分别为96.6%、62.1%、65.5%。多因素Cox回归分析显示,年龄、 PaO_2/FiO_2 、高IL-6低CD4⁺(IL-6 \geq 6.02 ng/L且CD4⁺ $<$ 355个/ μ L)是影响新冠肺炎患者预后的独立危险因素[风险比(HR)分别为1.077、0.053、3.490,均 $P<0.05$]。Kaplan-Meier生存分析显示,当同时出现高IL-6、低CD4⁺(IL-6 \geq 6.02 ng/L且CD4⁺ $<$ 355个/ μ L)时,发生不良预后的时间为(20.53±5.71)d;IL-6升高或CD4⁺下降不同时出现时,发生不良预后的时间为(53.21±3.16)d。**结论** IL-6、CD4⁺水平与新冠肺炎疾病严重程度密切相关,当出现IL-6 \geq 6.02 ng/L且CD4⁺ $<$ 355个/ μ L时提示预后不佳。

【关键词】 新型冠状病毒肺炎; 白细胞介素-6; CD4⁺T淋巴细胞; 严重程度; 预后

基金项目: 国家临床重点专科建设项目(2013-544)

DOI: 10.3760/cma.j.cn121430-20200521-00395

Value of interleukin-6 and CD4⁺T-lymphocytopenia in assessing the severity and prognosis of coronavirus disease 2019

Shi Xiaopeng, Qin Lijie, Yang Lei, Bai Weimin, Jing Lijuan, Mei Kuikui

Department of Emergency, Henan Provincial People's Hospital, Zhengzhou 450003, Henan, China

Corresponding author: Qin Lijie, Email: qinlijie1819@163.com

【Abstract】 Objective To evaluate the role of interleukin-6 (IL-6) and CD4⁺T-lymphocytopenia in assessing the severity and prognosis of coronavirus disease 2019 (COVID-19). **Methods** A prospective observational study was conducted. Forty-five patients with COVID-19 admitted to Henan Provincial People's Hospital from January 13 to March 13, 2020 were enrolled and divided into normal group (13 cases), severe group (20 cases), critically severe group (12 cases) according to the severity of the disease. A total of 15 healthy subjects receiving physical examinations during the same period were collected as the healthy control group. Clinical data were collected to compare the clinical characteristics, general test results, IL-6 and CD4⁺T-lymphocytopenia levels of patients in different disease severity groups and healthy control group. The receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to evaluate the predictive value of each indicator for the severity of COVID-19. Multivariate Cox regression analysis was used to analyze the risk factors affecting the prognosis of COVID-19 patients, and Kaplan-Meier survival curve analysis was performed. **Results** The age of the critically severe group was significantly higher than that of the severe and normal groups (years old: 66.91±17.01 vs. 59.35±18.07, 40.23±12.61, both $P<0.05$), and the negative conversion time of the 2019 novel coronavirus (2019-nCoV) was significantly longer than that of the severe and normal groups (days: 19.00±10.66 vs. 18.00±7.18, 9.31±3.49, both $P<0.05$). With the increase of the severity of disease, white blood cell count (WBC), C-reactive protein (CRP), calcitonin (PCT), total bilirubin (TBil), troponin I (TnI), IL-6, D-dimer and other indicators were significantly increased, while lymphocyte count (LYM), platelet count (PLT), CD4⁺, CD8⁺, oxygenation

index ($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) were significantly decreased (all $P < 0.01$). ROC curve showed that $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, IL-6 and CD4^+ had certain predictive value for disease severity of COVID-19, the area under the ROC curve (AUC) of them were 0.903, 0.871, 0.689, and the 95% confidence interval (95%CI) were 0.806–0.949, 0.769–0.974, 0.542–0.853; the best cut-off values were 196.00 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa), 6.02 ng/L, 355 cells/ μL , respectively; the sensitivity were 73.3%, 99.3%, 73.3%, and the specificity were 96.6%, 62.1%, 65.5%, respectively. Multivariate Cox regression analysis showed that age, $\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$, high IL-6 and low CD4^+ (IL-6 ≥ 6.02 ng/L and $\text{CD4}^+ < 355$ cells/ μL) were independent risk factors affecting the prognosis of COVID-19 [hazard ratio (HR) was 1.077, 0.053 and 3.490, respectively, all $P < 0.05$]. Kaplan-Meier survival analysis showed that when both high IL-6 and low CD4^+ (IL-6 ≥ 6.02 ng/L and $\text{CD4}^+ < 355$ cells/ μL) were present, the mean time of adverse prognosis was (20.53 \pm 5.71) days; when increased IL-6 and decreased CD4^+ were inconsistent, the mean time of adverse prognosis was (53.21 \pm 3.16) days. **Conclusions** The levels of IL-6 and CD4^+ T-lymphocytopenia are closely related to the severity of COVID-19 disease. When IL-6 ≥ 6.02 ng/L and $\text{CD4}^+ < 355$ cells/ μL occur simultaneously, the prognosis is poor.

【Key words】 Coronavirus disease 2019; Interleukin-6; CD4^+ T-lymphocytopenia; Severity; Prognosis

Fund program: National Key Clinical Specialty Construction Project of China (2013–544)

DOI: 10.3760/ema.j.cn121430-20200521-00395

新型冠状病毒肺炎(简称新冠肺炎)是一种急性呼吸道传染病,病原体为2019新型冠状病毒(2019-nCoV)^[1]。中国的抗疫经验表明,在新冠肺炎救治过程中,早期识别危重患者,防止轻型向重型、危重型转化能极大降低病死率,节约医疗成本。目前对新冠肺炎发病机制的研究表明,机体免疫系统过度激活,产生“炎症风暴”是损伤的关键因素,其中白细胞介素-6(IL-6)被认为是引发“炎症风暴”的关键因子^[2-3]。炎症因子过度释放会损伤机体免疫系统, CD4^+ T淋巴细胞能体现机体免疫水平^[4]。本研究旨在探讨IL-6与 CD4^+ 联合检测在评估新冠肺炎严重程度及预后中的价值。

1 资料与方法

1.1 研究对象:选择2020年1月13日至3月13日在本院确诊为新冠肺炎并接受治疗的45例患者。

1.1.1 纳入标准:①流行病学史(有聚集性发病或与2019-nCoV感染者有流行病学关联);②肺炎临床表现(发热、肺部影像学出现斑片影及间质改变);③病原学证据(呼吸道标本或血液标本2019-nCoV核酸检测阳性)。2020年1月27日开始诊断和临床分型符合国家卫生健康委员会(卫健委)发布的《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案(试行第四版)》^[5],并检验之前纳入病例符合此标准。同时具备以上条件者方可纳入。

1.1.2 排除标准:①恶性肿瘤终末期;②有血液系统疾病或免疫缺陷疾病者;③正在使用免疫抑制剂者。

1.1.3 伦理学:本研究符合医学伦理学标准,并经医院医学伦理委员会批准(审批号:2020-01-10),对患者采取的治疗参照国家卫健委实时发布的诊疗方案。

1.2 研究分组:按照疾病严重程度将患者分为普通型(13例)、重型(20例)、危重型(12例);并选取同期健康志愿者15例作为健康对照组。

1.3 方法:本研究采用前瞻性观察性研究方法,随访日期开始时间为确诊新冠肺炎、2019-nCoV核酸检测结果呈阳性,结束时间为发生不良结局事件。不良结局事件定义为需要机械通气、入住重症监护病房(ICU)、死亡。

1.4 观察指标及方法:收集患者的基本情况,包括性别、年龄,确诊当日检测白细胞计数(WBC)、淋巴细胞计数(LYM)、嗜酸粒细胞计数(EOS)、血小板计数(PLT)、C-反应蛋白(CRP)、降钙素原(PCT)、总胆红素(TBil)、血肌酐(SCr)、肌钙蛋白I(TnI)、D-二聚体等指标水平;采用流式细胞仪测定淋巴细胞亚群 CD4^+ 、 CD8^+ 水平;采用光化学免疫法测定肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、 α -干扰素(IFN- α)、 γ -干扰素(IFN- γ)、IL-6、IL-10等水平;记录患者入院后氧合指数($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$)和患者入组时间、2019-nCoV核酸检测连续2次阴性(时间间隔 >24 h)的时间、发生结局事件的时间。

1.5 统计学方法:使用SPSS 22.0统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析(ANOVA检验),组间两两比较采用LSD- t 检验;不符合正态分布的计量资料以中位数(四分位数) $[M(Q_L, Q_U)]$ 表示,组间比较采用Kruskal-Wallis秩和检验,组间两两比较采用Dunnnett- t 检验;计数资料以例表示,采用 χ^2 检验;绘制受试者工作特征曲线(ROC),分析指标对疾病严重程度的评估价值;采用单因素、多因素Cox回归模型评估影响患者60d预后的相关因素,并绘制Kaplan-Meier生存曲线。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

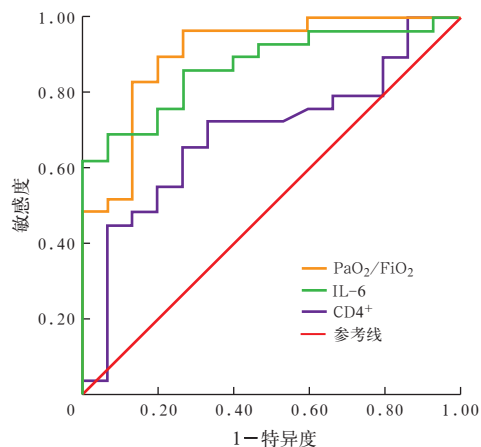
2 结果

2.1 一般资料(表1):新冠肺炎患者与健康者性别、EOS、SCr、TNF- α 、IFN- α 、IFN- γ 、IL-10水平比较

差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。危重型组年龄明显大于重型和普通型组(均 $P < 0.05$)；危重型组 2019-nCoV 核酸转阴时间明显长于重型和普通型组(均 $P < 0.05$)；随着疾病严重程度的增加, WBC、CRP、PCT、TnI、TBil、IL-6、D-二聚体等指标均明显升高, 而 LYM、PLT、CD4⁺、CD8⁺、PaO₂/FiO₂ 则明显下降, 4 组间比较差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。

2.2 PaO₂/FiO₂、IL-6、CD4⁺ 对新冠肺炎患者疾病严重程度的评估价值(图 1; 表 2): ROC 曲线分析显示, PaO₂/FiO₂、IL-6、CD4⁺ 对新冠肺炎患者疾病严重程度均有预测价值, ROC 曲线下面积(AUC)分别为 0.903、0.871、0.689(均 $P < 0.05$)。其中 PaO₂/FiO₂ 对疾病危重程度的预测价值最大, 特异度最高; IL-6 预测新冠肺炎疾病严重程度的敏感度最高。

2.3 单因素和多因素 Cox 回归分析影响新冠肺炎患者不良预后的相关因素(表 3): 根据 ROC 曲线截断值, 将 PaO₂/FiO₂ (≥ 196 mmHg 和 < 196 mmHg, 1 mmHg=0.133 kPa)、IL-6 (≥ 6.02 ng/L 和 < 6.02 ng/L)、CD4⁺ (≥ 355 个/μL 和 < 355 个/μL) 分别转换为二分类资料, 纳入 Cox 回归方程。临床治疗中发现不良预后患者存在 IL-6 水平明显升高和 CD4⁺ 水平明



注: PaO₂/FiO₂ 为氧合指数, IL-6 为白细胞介素-6, ROC 曲线为受试者工作特征曲线

图 1 PaO₂/FiO₂、IL-6、CD4⁺ 判断新型冠状病毒肺炎患者病情严重程度的 ROC 曲线

表 2 PaO₂/FiO₂、IL-6、CD4⁺ 对新型冠状病毒肺炎患者疾病严重程度的预测价值

指标	AUC	95%CI	P 值	敏感度 (%)	特异度 (%)	最佳截断值
PaO ₂ /FiO ₂	0.903	0.806 ~ 0.949	0.000	73.3	96.6	196.00
IL-6	0.871	0.769 ~ 0.974	0.000	99.3	62.1	6.02
CD4 ⁺	0.689	0.524 ~ 0.853	0.042	73.3	65.5	355.00

注: PaO₂/FiO₂ 为氧合指数, IL-6 为白细胞介素-6, AUC 为受试者工作特征曲线下面积, 95%CI 为 95% 可信区间

表 1 不同疾病严重程度新型冠状病毒肺炎患者与健康者基线资料比较

指标	普通型组 (n=13)	重型组 (n=20)	危重型组 (n=12)	健康对照组 (n=15)	$\chi^2 / F / H$ 值	P 值
性别(例) 男性	8	9	8	7	1.629	0.653
女性	5	11	4	8		
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	40.23 ± 12.61	59.35 ± 18.07 ^a	66.91 ± 17.01 ^{ab}	39.13 ± 14.80	10.149	0.000
2019-nCoV 转阴时间(d, $\bar{x} \pm s$)	9.31 ± 3.49	18.00 ± 7.18 ^a	19.00 ± 10.66 ^{ab}		28.445	0.000
WBC($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)	4.02 ± 1.63	6.42 ± 2.37 ^a	7.91 ± 3.26 ^{ab}	4.80 ± 1.05	7.934	0.000
LYM($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)	1.26 ± 0.55	1.24 ± 0.57	0.78 ± 0.38 ^{ab}	1.67 ± 0.35	7.052	0.000
PLT($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)	163.31 ± 68.90	292.65 ± 141.29 ^a	199.64 ± 70.31 ^b	230.13 ± 67.59	4.884	0.004
EOS($\times 10^9/L$, $\bar{x} \pm s$)	0.02 ± 0.01	0.08 ± 0.06	0.05 ± 0.04	0.09 ± 0.08	1.391	0.255
CRP(mg/L, $\bar{x} \pm s$)	24.61 ± 21.72	24.49 ± 21.33	97.36 ± 82.29 ^{ab}	5.62 ± 3.56	11.116	0.000
PCT(μg/L, $\bar{x} \pm s$)	0.03 ± 0.02	0.15 ± 0.13	0.96 ± 0.81 ^{ab}	0.02 ± 0.01	0.054	0.001
TBil(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	7.94 ± 4.25	9.57 ± 4.49	12.15 ± 6.21 ^a	7.89 ± 1.59	2.947	0.041
SCr(μmol/L, $\bar{x} \pm s$)	60.38 ± 11.65	51.00 ± 10.93	57.91 ± 37.04	53.00 ± 12.58	0.784	0.508
TnI(ng/L, $\bar{x} \pm s$)	4.61 ± 1.38	6.25 ± 2.75	127.90 ± 98.48 ^{ab}	3.13 ± 1.88	6.309	0.001
CD4 ⁺ (个/μL, $\bar{x} \pm s$)	405.72 ± 191.52	486.76 ± 263.76	296.69 ± 117.54 ^b	784.86 ± 202.15	13.244	0.000
CD8 ⁺ (个/μL, $\bar{x} \pm s$)	330.68 ± 158.59	282.09 ± 199.13	149.44 ± 120.52 ^{ab}	499.00 ± 153.75	9.954	0.000
TNF-α [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	0.86 (0.57, 1.32)	0.17 (0.02, 1.11)	0.89 (0.42, 1.43)	0.96 (0.36, 1.91)	2.810	0.422
IFN-α [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	1.01 (0.76, 2.72)	1.23 (0.94, 1.84)	1.67 (1.44, 2.48)	1.08 (0.86, 1.34)	12.850	0.065
IFN-γ [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	1.13 (0.61, 1.49)	0.78 (0.39, 1.70)	4.13 (1.99, 7.45)	3.98 (1.06, 10.17)	12.560	0.072
IL-6 [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	1.08 (0.48, 2.21)	4.38 (0.09, 15.73) ^a	44.49 (26.05, 186.74) ^a	1.02 (0.16, 2.27) ^a	19.240	0.001
IL-10 [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$]	1.27 (1.03, 1.70)	1.42 (1.27, 2.16)	4.74 (2.56, 11.05)	1.35 (0.80, 1.78)	15.790	0.067
D-二聚体 [mg/L, $M(Q_L, Q_U)$]	0.36 (0.28, 0.69)	0.70 (0.28, 0.99) ^a	2.36 (0.91, 7.15) ^a	0.22 (0.19, 0.26) ^{ab}	32.126	0.001
PaO ₂ /FiO ₂ (mmHg, $\bar{x} \pm s$)	440.92 ± 22.04	256.95 ± 70.54 ^a	155.27 ± 102.59 ^{ab}	471.67 ± 10.74	79.884	0.000

注: 2019-nCoV 为 2019 新型冠状病毒, WBC 为白细胞计数, LYM 为淋巴细胞计数, PLT 为血小板计数, EOS 为嗜酸粒细胞计数, CRP 为 C-反应蛋白, PCT 为降钙素原, TBil 为总胆红素, SCr 为血肌酐, TnI 为肌钙蛋白 I, TNF-α 为肿瘤坏死因子-α, IFN-α 为 α-干扰素, IFN-γ 为 γ-干扰素, IL-6 为白细胞介素-6, IL-10 为白细胞介素-10, PaO₂/FiO₂ 为氧合指数; 1 mmHg=0.133 kPa; 空白代表无此项; 与普通型组比较, ^a $P < 0.05$; 与重型组比较, ^b $P < 0.05$

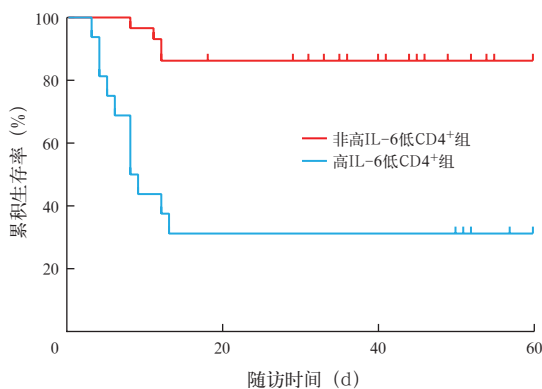
表3 新型冠状病毒肺炎患者预后相关因素的单因素和多因素 Cox 回归分析

指标	单因素 Cox 回归分析					多因素 Cox 回归分析				
	β 值	s_e	HR 值	P 值	95%CI	β 值	s_e	HR 值	P 值	95%CI
年龄	0.044	0.017	1.045	0.009	1.011 ~ 1.079	0.074	0.026	1.077	0.005	1.023 ~ 1.134
2019-nCoV 转阴时间	0.061	0.027	1.063	0.025	1.008 ~ 1.121	-0.061	0.067	0.941	0.363	0.826 ~ 1.072
WBC	0.292	0.103	1.339	0.005	1.094 ~ 1.638	0.092	0.224	1.096	0.683	0.706 ~ 1.700
LYM	-2.084	0.764	0.124	0.006	0.028 ~ 0.556	-0.950	1.186	0.387	0.423	0.038 ~ 3.955
PLT	0.001	0.002	1.000	0.812	0.996 ~ 1.004					
D-二聚体	0.050	0.025	1.052	0.047	1.001 ~ 1.105	0.014	0.065	1.014	0.827	0.893 ~ 1.153
CRP	0.013	0.003	1.013	0.000	1.006 ~ 1.019	-0.014	0.012	0.986	0.213	0.964 ~ 1.008
PCT	1.371	0.411	3.939	0.001	1.759 ~ 8.823	2.455	1.451	11.652	0.091	0.678 ~ 200.287
TBil	0.089	0.042	1.094	0.034	1.007 ~ 1.188	0.081	0.112	1.084	0.470	0.871 ~ 1.349
CD8 ⁺	-0.005	0.002	0.995	0.024	0.990 ~ 0.999	0.006	0.004	1.006	0.146	0.998 ~ 1.014
PaO ₂ /FiO ₂	-2.498	0.595	0.082	0.000	0.026 ~ 0.264	-2.939	1.117	0.053	0.008	0.006 ~ 0.472
高 IL-6 低 CD4 ⁺	2.187	0.590	8.908	0.000	2.805 ~ 28.290	1.250	0.652	3.490	0.020	0.971 ~ 12.536

注：2019-nCoV 为 2019 新型冠状病毒，WBC 为白细胞计数，LYM 为淋巴细胞计数，PLT 为血小板计数，CRP 为 C-反应蛋白，PCT 为降钙素原，TBil 为总胆红素，PaO₂/FiO₂ 为氧合指数，IL-6 为白细胞介素-6，HR 为风险比，95%CI 为 95% 可信区间

显下降,为进一步分析 CD4⁺ 联合 IL-6 水平对新冠肺炎患者不良预后的预测价值,将患者分为高 IL-6 低 CD4⁺ 组(IL-6 ≥ 6.02 ng/L 且 CD4⁺ < 355 个/μL)和非高 IL-6 低 CD4⁺ 组(包括 IL-6 ≥ 6.02 ng/L 且 CD4⁺ ≥ 355 个/μL、IL-6 < 6.02 ng/L 且 CD4⁺ ≥ 355 个/μL、IL-6 < 6.02 ng/L 且 CD4⁺ < 355 个/μL),同时纳入 Cox 回归方程,结果显示,年龄、PaO₂/FiO₂、高 IL-6 低 CD4⁺ 为影响新冠肺炎患者预后的独立危险因素(均 P < 0.05)。

2.4 Kaplan-Meier 生存曲线分析结果(图 2):截至研究随访结束,45 例新冠肺炎患者中高 IL-6 低 CD4⁺ 组共计 16 例,非高 IL-6 低 CD4⁺ 组 29 例,发生不良预后(需要机械通气、收住 ICU、死亡)共计 16 例,其中高 IL-6 低 CD4⁺ 组 12 例,非高 IL-6 低 CD4⁺ 组 4 例。高 IL-6 低 CD4⁺ 组发生不良预后时间为(20.53 ± 5.71) d,非高 IL-6 低 CD4⁺ 组发生不良预后时间为(53.21 ± 3.16) d,高 IL-6 低 CD4⁺ 组较非高 IL-6 低 CD4⁺ 组预后差。



注：IL-6 为白细胞介素-6

图2 不同 IL-6、CD4⁺ 水平两组新型冠状病毒肺炎患者不良预后的 Kaplan-Meier 生存曲线

3 讨论

本研究表明,新冠肺炎患者淋巴细胞会出现不同程度下降,且重型、危重型患者淋巴细胞下降较普通型患者更明显,与钟南山院士团队报道的一项多中心临床研究结果一致^[6]。本研究对新冠肺炎患者进行淋巴细胞亚型测定,结果表明 CD4⁺、CD8⁺ 细胞亚群均有减少,其中以 CD4⁺ 细胞减少更为明显,这与华中科技大学附属协和医院研究团队^[7]及第三军医大学陈永文团队^[8]的报道一致。新冠肺炎患者淋巴细胞亚群减少的可能原因为:① 2019-nCoV 直接攻击淋巴细胞;② 2019-nCoV 可激活体内炎症因子,形成“炎症风暴”,通过体内神经体液负反馈从而诱导淋巴细胞凋亡。CD4⁺ 细胞减少会造成机体免疫功能低下,更容易发生“二重感染”、脓毒症,继而发生多器官功能损伤,严重者可危及生命。目前的研究结果还表明,危重型新冠肺炎以老年或有基础疾病患者为主,可能与这些患者更容易发生免疫抑制有关。但对于增强机体免疫功能的药物如胸腺肽、丙种球蛋白是否能有效延缓新冠肺炎病情发展及改善预后,目前尚缺乏足够的循证医学证据。

本研究显示,新冠肺炎患者 12 项细胞因子中 IL-6、IL-10、TNF- α 均有不同程度升高,其中以 IL-6 升高最为明显,IL-6 水平与疾病严重程度和预后相关。国家卫健委印发的《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)》^[9]指出,重型、危重型新冠肺炎患者的临床预警指标包括 IL-6 水平升高。IL-6 升高的可能机制为:2019-nCoV 病毒感染人体,通过血管紧张素转化酶 2 (ACE2) 受体进入细胞,使免疫细胞过度活化,产生大量炎症因子[如粒-巨噬

细胞集落刺激因子(GM-CSF)、IL-6、TNF、IFN等],通过正反馈循环机制形成“炎症风暴”^[10],进而引起全身炎症反应综合征(SIRS)、急性呼吸窘迫综合征(ARDS)、多器官功能障碍综合征(MODS)等。既往研究表明,IL-6是机体固有免疫系统对组织损伤和感染产生的重要细胞因子,IL-6可以作为诊断脓毒症的标志物^[11],IL-6>56.12 ng/L是脓毒症患者不良结局的独立预测因子^[12]。一项针对脓毒性休克早期炎症因子水平的研究表明,脓毒性休克患者IL-6水平明显高于非脓毒症患者,IL-6是发生脓毒性休克的独立危险因素^[13]。但IL-6不能鉴别细菌感染或是病毒感染,某些非感染因素如创伤、手术等也会引起IL-6升高^[14]。有研究显示,IL-6阻断剂如托伐珠单抗可能起到阻断新冠肺炎“炎症风暴”、减少组织器官损伤、降低病死率的效果^[15],但尚需要更多的临床对照研究去证实。也有学者指出,新冠肺炎同时存在过度的SIRS和免疫抑制状态,需要使用具有双向免疫调节作用的药物如青蒿琥酯,既能抑制细胞因子过度释放^[16],又能增强细胞清除病原体的能力^[17]。

本研究表明,IL-6与CD4⁺联合检测可以评估新冠肺炎患者疾病严重程度及预后,其意义在于:对淋巴细胞亚群及细胞因子水平实施动态检测,评估疾病免疫状态及免疫功能,在出现炎症因子过度激活,发生“炎症风暴”时抑制炎症因子过度释放,在机体免疫功能低下状态下增强固有免疫,有可能实现精准治疗与靶点治疗。同时,通过检测IL-6、CD4⁺水平能够早期识别危重及可能由普通型向重型或危重型转化的患者,提早干预,提高救治成功率。这些还有赖于对新冠肺炎病理生理过程及发生发展机制的进一步研究。

目前研究表明,2019-nCoV主要损伤部位为肺组织,王福生院士团队的一项基于病理解剖结果的研究表明,新冠肺炎患者肺部出现弥漫性肺泡损伤伴纤维黏液渗出,并有肺泡上皮细胞脱落和透明膜形成^[18]。既往严重急性呼吸综合征(SARS)的治疗经验表明,冠状病毒感染后处于康复期的患者中,有一部分存在严重的肺间质纤维化^[19]。本研究中出院的40例患者无复发或再入院情况,目前在院的3例患者均需呼吸机辅助呼吸,肺部呈现弥漫性损伤,是否发生不可逆转的肺间质纤维化尚需更长时间的临床随访研究。

综上所述,本研究显示,检测血液中IL-6、CD4⁺

水平,可以评估新冠肺炎患者体内的炎症反应和免疫功能状态,从而对疾病严重程度和预后作出预判。目前研究认为新冠肺炎的发病机制可能是2019-nCoV与细胞表面ACE2受体结合,触发炎症介质释放,形成“炎症风暴”,导致肺部和其他相关器官发生免疫损伤。因此,抑制炎症反应、调节机体免疫失衡状态,可能是治疗重型新冠肺炎患者的重要方面。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- [1] Coronaviridae Study Group of the International Committee on Taxonomy of Viruses. The species severe acute respiratory syndrome-related coronavirus: classifying 2019-nCoV and naming it SARS-CoV-2 [J]. *Nat Microbiol*, 2020, 5 (4): 536-544. DOI: 10.1038/s41564-020-0695-z.
- [2] Huang CL, Wang YM, Li XW, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China [J]. *Lancet*, 2020, 395 (10223): 497-506. DOI: 10.1016/S0140-6736(20)30183-5.
- [3] 毛恩强. 浅谈新型冠状病毒肺炎“细胞因子风暴”的防治 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2020, 27 (2): 134-136. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2020.02.002.
Mao EQ. Prevention and treatment of "cytokine storm" in corona virus disease 2019 [J]. *Chin J TCM WM Crit Care*, 2020, 27 (2): 134-136. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2020.02.002.
- [4] Beswick EJ, Johnson JR, Saada JI, et al. TLR4 activation enhances the PD-L1-mediated tolerogenic capacity of colonic CD90⁺ stromal cells [J]. *J Immunol*, 2014, 193 (5): 2218-2229. DOI: 10.4049/jimmunol.1203441.
- [5] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第四版)[EB/OL]. (2020-01-27) [2020-04-20]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202001/4294563ed35b43209b31739bd0785e67.shtml>.
National Health Commission of the People's Republic of China. Diagnosis and treatment of pneumonia caused by 2019 novel coronavirus (trial version 4) [EB/OL]. (2020-01-27) [2020-04-20]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202001/4294563ed35b43209b31739bd0785e67.shtml>.
- [6] Guan WJ, Ni ZY, Hu Y, et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China [J]. *N Engl J Med*, 2020, 382 (18): 1708-1720. DOI: 10.1056/NEJMoa2002032.
- [7] Liu J, Li S, Liu J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients [J]. *EBioMedicine*, 2020, 55: 102763. DOI: 10.1016/j.ebiom.2020.102763.
- [8] Diao B, Wang CH, Tan YJ, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19) [J]. *Front Immunol*, 2020, 11: 827. DOI: 10.3389/fimmu.2020.00827.
- [9] 国家卫生健康委员会. 新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第七版)[EB/OL]. (2020-03-04) [2020-04-20]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
National Health Commission of the People's Republic of China. Diagnosis and treatment protocol for coronavirus disease 2019 (trial version 7) [EB/OL]. (2020-03-04) [2020-04-20]. <http://www.nhc.gov.cn/xcs/zhengcwj/202003/46c9294a7dfe4cef80dc7f5912eb1989.shtml>.
- [10] Zhou P, Yang XL, Wang XG, et al. A pneumonia outbreak associated with a new coronavirus of probable bat origin [J]. *Nature*, 2020, 579 (7798): 270-273. DOI: 10.1038/s41586-020-2012-7.
- [11] Uusitalo-Seppälä R, Koskinen P, Leino A, et al. Early detection of severe sepsis in the emergency room: diagnostic value of plasma C-reactive protein, procalcitonin, and interleukin-6 [J]. *Scand J Infect Dis*, 2011, 43 (11-12): 883-890. DOI: 10.3109/00365548.2011.600325.
- [12] 刘蕾蕾, 华玮, 居培红, 等. 脓毒症患者血清中白细胞介素-6

- 和降钙素原表达及其临床意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2019, 11 (6): 527-530.
- Liu LL, Hua W, Ju PH, et al. Expression of interleukin-6 and procalcitonin in serum of patients with sepsis and its clinical significance[J]. J Mol Diag Ther, 2019, 11 (6): 527-530.
- [13] 杨建钢, 杨玉彬, 刘清华. 脓毒性休克患者早期主要炎症因子水平及其临床意义[J]. 中华危重病急救医学, 2019, 31 (6): 680-683. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.06.004.
- Yang JG, Yang YB, Liu QH. Study on the levels of main inflammatory factors in septic shock and their clinical significance[J]. Chin Crit Care Med, 2019, 31 (6): 680-683. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2019.06.004.
- [14] 中国医药教育协会感染疾病专业委员会. 感染相关生物标志物临床意义解读专家共识[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2017, 40 (4): 243-257. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2017.04.002.
- Infectious Diseases Committee of China Medical Education Association. Expert consensus on clinical significance of infection related biomarkers[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2017, 40 (4): 243-257. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2017.04.002.
- [15] 张建红, 朱立勤, 刘子艳, 等. 托珠单抗在新型冠状病毒治疗中的临床药学指引[J]. 中国医院药学杂志, 2020, 40 (10): 1077-1080. DOI: 10.13286/j.1001-5213.2020.10.02.
- Zhang JH, Zhu LQ, Liu ZY, et al. Pharmacological recommendations on tocilizumab for the treatment of COVID-19[J]. Chin J Hosp Pharm, 2020, 40 (10): 1077-1080. DOI: 10.13286/j.1001-5213.2020.10.02.
- [16] Cao TH, Jin SG, Fei DS, et al. Artesunate protects against sepsis-induced lung injury via heme oxygenase-1 modulation[J]. Inflammation, 2016, 39 (2): 651-662. DOI: 10.1007/s10753-015-0290-2.
- [17] 梁爱华, 薛宝云, 王金华, 等. 青蒿琥酯对内毒素诱导的炎症因子合成抑制作用的研究[J]. 中国中西医结合急救杂志, 2001, 8 (5): 262-265. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2001.05.002.
- Liang AH, Xue BY, Wang JH, et al. Study on inhibitory effect of artesunate (青蒿琥酯) on endotoxin-induced production of inflammatory mediators[J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2001, 8 (5): 262-265. DOI: 10.3321/j.issn:1008-9691.2001.05.002.
- [18] Xu Z, Shi L, Wang YJ, et al. Pathological findings of COVID-19 associated with acute respiratory distress syndrome[J]. Lancet Respir Med, 2020, 8 (4): 420-422. DOI: 10.1016/S2213-2600(20)30076-X.
- [19] 王德文, 李宁, 赵景民, 等. 严重急性呼吸综合征不同时间死亡患者的病理变化及其特征[J]. 解放军医学杂志, 2003, 28 (8): 692-696. DOI: 10.3321/j.issn:0577-7402.2003.08.012.
- Wang DW, Li N, Zhao JM, et al. Pathological changes and characteristics in patients died at different times of critical SARS[J]. Med J Chin PLA, 2003, 28 (8): 692-696. DOI: 10.3321/j.issn:0577-7402.2003.08.012.

(收稿日期: 2020-05-21)

• 科研新闻速递 •

新型冠状病毒疫苗 mRNA-1273 在非人灵长类动物中的疗效研究

2019 新型冠状病毒(2019-nCoV)是新型冠状病毒肺炎(新冠肺炎)的致病因子,是引起全球大流行的原因。开发安全、有效且可快速部署的疫苗是全球卫生系统的当务之急。2019-nCoV 疫苗对非人灵长类动物上、下呼吸道病毒复制的影响具有重要意义。为此,有学者进行了相关研究。研究人员为非人类灵长类动物分别接种 10 μg 或 100 μg mRNA-1273(一种编码 2019-nCoV 融合前稳定的糖蛋白的疫苗),或者不接种疫苗。在使用 2019-nCoV 攻击上、下呼吸道前,研究人员先评估了抗体和 T 细胞反应。研究人员通过聚合酶链反应(PCR)评估支气管肺泡灌洗液(BALF)和鼻拭子标本中的活性病毒复制及病毒基因组,并对肺组织标本进行组织病理学分析和病毒定量。结果显示:mRNA-1273 10 μg 剂量组及 mRNA-1273 100 μg 剂量组活病毒 50% 抑制稀释度(ID₅₀)几何平均滴度分别为 501 和 3481。疫苗诱导的辅助性 T 细胞 1(Th1)偏向 CD4 T 细胞反应,而 Th2 或 CD8 T 细胞反应低或不可检测。在两个接种疫苗组的各 8 只动物中,均有 7 只在攻击后第 2 天 BALF 中未检测到病毒复制。在攻击后的第 2 天, mRNA-1273 100 μg 剂量组 8 只动物鼻腔中均未检测到病毒复制,但在两个接种疫苗组动物肺部发现了有限的炎症或可检测的病毒基因组或抗原。研究人员据此得出结论:用 mRNA-1273 疫苗接种非人灵长类动物可诱导强大的 2019-nCoV 中和活性,在上、下呼吸道中提供快速保护,并且肺部无明显病理变化。

罗红敏, 编译自《N Engl J Med》, 2020, 383: 1544-1555

两种基于 RNA 的新型冠状病毒肺炎候选疫苗的安全性和免疫原性分析

2019 新型冠状病毒(2019-nCoV)感染以及由此导致的新型冠状病毒肺炎(新冠肺炎)已蔓延到全球数百万人。尽管目前正在开发多种候选疫苗,但至今尚无可用疫苗。先前已在德国和美国的试验中报告了有关年轻人候选疫苗 BNT162b1 的中期安全性和免疫原性数据。研究人员在美国进行了一项安慰剂对照、观察者盲、剂量递增的 1 期临床试验,招募了 18~55 岁的健康成人和 65~85 岁的健康老年人,并将其随机分组,分别接种安慰剂或者两种脂质纳米颗粒配制的核苷修饰的 RNA 候选疫苗中的一种,即 BNT162b1(其编码分泌的三聚 2019-nCoV 受体结合域)或 BNT162b2(编码膜锚定的 2019-nCoV 全长刺突)。主要结局为安全性(如局部和全身反应以及不良事件);次要结局为免疫原性。根据候选疫苗、参与者年龄和疫苗剂量水平(10、20、30 和 100 μg)将患者进行分组。在一组(100 μg BNT162b1)中,参与者仅接受了 1 次疫苗接种;除一组以外的所有组,参与者均接受了 2 次疫苗接种,接种间隔 21 d。结果显示:在各有 15 名参与者的 13 个组中,每组有 12 名参与者接种了疫苗,有 3 名接种了安慰剂。与 BNT162b1 相比,BNT162b2 全身反应的发生率和严重性均较低,尤其是在老年人中。在年轻人和老年人中,这两种候选疫苗均引起了相似的剂量依赖性的 2019-nCoV 中和几何平均滴度,与一组 2019-nCoV 恢复期血清样本的几何平均滴度相似或更高。研究人员据此得出结论:BNT162b2 临床 1 期试验安全性和免疫原性均满意,可进一步扩展至 2~3 期临床试验。

罗红敏, 编译自《N Engl J Med》, 2020-10-14(电子版)