

· 临床研究 ·

脓毒症患者早期淋巴细胞亚群和中性粒细胞与淋巴细胞比值的变化及其对预后的预测

卫夏迪^{1,2}, 韩继斌¹, 朱孟雷², 刘虹^{1*}

(¹山西医科大学第一医院重症医学科, 太原 030001; ²山西医科大学第一临床医学院, 太原 030001)

【摘要】目的 探讨脓毒症患者早期淋巴细胞亚群[T淋巴细胞亚群(CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞)、自然杀伤细胞(NK细胞)]计数和中性粒细胞与淋巴细胞比值(NLR)的变化及其对预后的预测价值。**方法** 选取山西医科大学第一医院重症医学科2019年12月至2020年12月收治的62例脓毒症患者,根据随访28d生存情况分为存活组和死亡组,监测并记录2组患者第1天和第3天的淋巴细胞亚群计数、NLR、急性生理和慢性健康状况评分Ⅱ(APACHE Ⅱ)以及序贯器官衰竭评估(SOFA),比较各指标与预后的关系,并评估预测价值。采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。根据数据类型,组间比较采用 t 检验、秩和检验或 χ^2 检验。**结果** 第1天和第3天死亡组患者APACHE Ⅱ和SOFA均高于存活组(均 $P<0.05$);第3天死亡组患者淋巴细胞计数、T淋巴细胞计数、CD4⁺T细胞计数、CD8⁺T细胞计数及NK细胞计数明显低于存活组患者(均 $P<0.05$),且与SOFA评分呈负相关($r=-0.19$ 、 -0.16 、 -0.17 、 -0.18 、 -0.26 , $P<0.05$);NLR明显高于存活组患者($P<0.05$),且与APACHE Ⅱ评分呈正相关($r=0.45$, $P<0.05$);APACHE Ⅱ评分、SOFA、NLR、淋巴细胞计数、T淋巴细胞计数、CD4⁺T细胞计数、CD8⁺T细胞计数、NK细胞计数对脓毒症患者28d预后的受试者工作特征曲线下面积分别为0.84、0.73、0.76、0.84、0.83、0.81、0.82、0.78。**结论** 脓毒症患者早期会发生免疫抑制,T淋巴细胞亚群计数、NK细胞计数及NLR的变化对脓毒症患者预后均具有良好的临床预测价值。

【关键词】 脓毒症;T淋巴细胞亚群;自然杀伤细胞;中性粒细胞与淋巴细胞比值

【中图分类号】 R515.3 **【文献标志码】** A **【DOI】** 10.11915/j.issn.1671-5403.2021.10.152

Changes of lymphocyte subsets and ratio of neutrophils to lymphocytes at early phase of sepsis and its prognostic values

WEI Xia-Di^{1,2}, HAN Ji-Bin¹, ZHU Meng-Lei², LIU Hong^{1*}

(¹Department of Critical Care Medicine, First Hospital of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China; ²First Clinical Medical College of Shanxi Medical University, Taiyuan 030001, China)

【Abstract】 Objective To investigate the changes of lymphocyte subset counts [CD4⁺T cells, CD8⁺T cells and natural killer (NK) cells] and the ratio of neutrophils to lymphocytes (NLR) in patients at the early phase of sepsis and its predictive values for the prognosis. **Methods** A total of 62 sepsis patients admitted to the First Hospital of Shanxi Medical University from December 2019 to December 2020 were included in this study. These patients were divided into survival group and death group according to their conditions of 28-day follow-up. T lymphocyte subsets, NK cell count, NLR, Acute Physiology and Chronic Health Evaluation (APACHE II) score, Sequential Organ Failure Assessment (SOFA) score at day 1 and 3 after admission were measured and recorded, and the relationship of these indexes with patient prognosis and their predictive values were analyzed. SPSS statistics 26.0 was used to perform the statistical analysis. Student's t test, Rank sum test or χ^2 -square test was employed for intergroup comparison depending on different data types. **Results** Compared with the survival group, the death group had significantly higher APACHE II and SOFA scores on both day 1 and day 3 ($P<0.05$), obviously lower counts of lymphocytes, T lymphocytes, CD4⁺T cells, CD8⁺T cells and NK cells on day 3 (all $P<0.05$), whose counts were negatively correlated with SOFA score ($r=-0.19$, -0.16 , -0.17 , -0.18 , -0.26 ; $P<0.05$), and notably higher NLR ($P<0.05$), which was positively correlated with APACHE II score ($r=0.45$, $P<0.05$). The area under receiver operating characteristic curve (AUC) for APACHE II score, SOFA score, NLR, lymphocyte count, T lymphocyte count, CD4⁺T cell count, CD8⁺T cell count, and NK cell count on day 3 for predicting patient's 28-day prognosis were 0.84, 0.73, 0.76, 0.84, 0.83, 0.81, 0.82 and 0.78, respectively. **Conclusion** Immunosuppression occurs in the early phase of sepsis. T lymphocyte subset

收稿日期: 2021-02-02; 接受日期: 2021-04-01

基金项目: 山西省自然科学基金(201901D111360); 山西省卫生计生委科研课题基金(2018034)

通信作者: 刘虹; E-mail: lh9098@aliyun.com

counts, NK cell count and NLR show good predictive values for prognosis in septic patients.

【Key words】 sepsis; T lymphocyte subsets; natural killer cells; neutrophil to lymphocyte ratio

This work was supported by National Natural Science Foundation of Shanxi Province (201901D111360) and the Scientific Research Fund of Shanxi Health and Family Planning Commission (2018034).

Corresponding author: LIU Hong, E-mail: lh9098@aliyun.com

脓毒症是宿主对感染的反应失调引起危及生命的器官功能障碍综合征,是重症监护病房(intensive care unit, ICU)危重症患者的首要死因。一项我国的ICU多中心研究显示,ICU脓毒症发病率为20.6%,90 d病死率为35.5%^[1]。近年来,脓毒症的发病率及死亡率未见明显降低^[2],存活患者远期预后差,明显增加了家庭及社会的经济负担^[3]。脓毒症的病理机制尚未完全阐明,免疫反应失衡是脓毒症的主要病理机制之一。现研究发现,脓毒症早期全身炎症反应综合征和代偿性抗炎反应有可能同时存在并贯穿始终^[4]。免疫抑制可能是造成脓毒症患者死亡的原因之一^[5],淋巴细胞凋亡与机体发生免疫抑制密切相关^[6]。

T淋巴细胞的免疫应答在脓毒症患者的免疫调节中发挥重要作用。T淋巴细胞耗竭是免疫功能障碍的重要原因之一^[7],主要表现为在细胞免疫和体液免疫中均发挥作用的CD4⁺T细胞和具有细胞毒性的CD8⁺T细胞减少^[8];自然杀伤细胞(natural killer cell, NK细胞)在固有免疫和适应性免疫中发挥重要作用^[9];中性粒细胞与淋巴细胞比值(neutrophil to lymphocyte ratio, NLR)被认为是有效的全身炎症反应标志物^[10]。

对脓毒症患者的早期免疫功能监测及识别可帮助对病情及预后的判断,目前对脓毒症免疫功能的检测与治疗方面取得相应进展,但如何评估患者当前所处的免疫状态仍为难点。本研究旨在通过前瞻性研究,动态观察脓症患者早期淋巴细胞亚群计数和NLR的变化,结合患者病情及28 d生存情况,以期更好地预测脓症患者预后。

1 对象与方法

1.1 研究对象

选取山西医科大学第一医院重症医学科2019年12月至2020年12月收治的62例脓症患者。纳入标准:(1)符合脓毒症3.0诊断标准^[11],即感染及序贯器官衰竭评分(sequential organ failure, SOFA)≥2分;(2)年龄≥18岁。排除标准:(1)伴有临床不稳定的严重心血管疾病;(2)慢性肝、肾功能不全患者;(3)患有自身免疫性疾病;(4)长期使用激素类药物及免疫抑制剂治疗;(5)入组前1个

月参加其他药物研究;(6)酗酒或药物滥用。根据28 d生存情况将患者分为存活组和死亡组。本研究取得山西医科大学第一医院伦理委员会批准,伦理审批号(2019-K058),所有患者或其直系亲属均签署了知情同意书。

1.2 观察指标和实验方法

患者入ICU后,记录其年龄、性别及感染部位,评估第1天和第3天的SOFA和急性生理和慢性健康评分II(acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II)。

淋巴细胞亚群计数检测方法:患者入组后,分别于第1天和第3天在空腹状态下抽外周血3 ml,1 h之内送检,淋巴细胞亚群计数检测采用流式细胞术进行分析(BD FACSCanto II流式细胞仪,美国)。

1.3 统计学处理

采用SPSS 26.0统计软件进行数据分析。符合正态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用t检验;偏态分布的计量资料以中位数和四分位数间距[M(Q₁, Q₃)]表示,组间比较采用秩和检验;计数资料采用例数(百分率)表示,组间比较采用χ²检验;相关性分析采用Pearson相关性检验;绘制受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线,比较ROC曲线下面积(area under the curve, AUC)。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组患者一般资料比较

共纳入脓症患者62例,存活组44例,死亡组18例。2组患者年龄、性别和术后患者占比较,差异无统计学差异(P>0.05);死亡组患者肺部感染占比多于存活组,腹腔感染患者占比低于存活组(P<0.05;表1)。

2.2 2组患者淋巴细胞亚群计数、NLR、APACHE II及SOFA的比较

第1天,2组患者的外周血淋巴细胞亚群计数和NLR比较,差异均无统计学意义(均P>0.05)。第3天,与生存组患者相比,死亡组患者的外周血淋巴细胞计数、T淋巴细胞计数、CD4⁺T细胞计数、CD8⁺T细胞计数、NK细胞计数显著偏低,NLR显著

偏高,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。第1天和第3天,生存组患者的 APACHE II 和 SOFA 评分均显著低于死亡组,差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$;表2)。

表1 2组患者一般资料的比较

Table 1 Comparison of baseline data between survival group and death group

Item	Survival group (n=44)	Death group (n=18)	t/χ^2	P value
Age (years, $\bar{x} \pm s$)	62.50 ± 16.81	63.21 ± 16.94	-0.13	0.89
Male [n(%)]	26 (59.1)	13 (72.2)	0.94	0.33
Receiving operation [n(%)]	25 (56.8)	9 (50.0)	0.24	0.62
Primary infection [n(%)]				
Pulmonary infection	11 (25.0)	10 (55.6)	0.53	0.02
Abdominal infection	25 (56.8)	4 (22.2)	6.14	0.01
Others	8 (18.2)	4 (22.2)	0.00	0.99

2.3 第3天脓毒症患者淋巴细胞亚群计数、NLR与APACHE II、SOFA的相关性

第3天,脓症患者外周血淋巴细胞计数、T淋巴细胞计数、CD4⁺T细胞计数、CD8⁺T细胞计数、NK细胞计数与APACHE II评分之间均无相关性($P > 0.05$),但均与SOFA呈负相关($r = -0.44$ 、 -0.47 、 -0.41 、 -0.48 、 -0.46 ,均 $P < 0.05$);NLR水平与APACHE II评分呈正相关($r = 0.45$, $P < 0.05$),但与SOFA无相关性($P > 0.05$;表3)。

2.4 ROC曲线分析

ROC曲线分析结果显示,APACHE II的AUC为0.84,最佳截断点为17.5分,灵敏度为70%,特异度为96%;SOFA评分的AUC为0.73,最佳截断点为6.5分,灵敏度为90%,特异度为54%;NLR的AUC为0.76,最佳截断点为15.9,灵敏度为70%,特异度为86%;淋巴细胞计数的AUC为

0.84,最佳截断点为571.5个/ μl ,灵敏度为83%,特异度为90%;T淋巴细胞计数AUC为0.83,最佳截断点为418.0个/ μl ,灵敏度为83%,特异度为90%;CD4⁺T细胞计数AUC为0.81,最佳截断点为307.0个/ μl ,灵敏度为83%,特异度为80%;CD8⁺T细胞计数AUC为0.82,最佳截断点为203.5个/ μl ,灵敏度为100%,特异度为60%;NK细胞计数AUC为0.78,最佳截断点为62.0个/ μl ,灵敏度为100%,特异度为60%(图1)。

3 讨论

脓毒症是一种严重危及生命并伴有器官功能障碍的感染,病原体触发宿主免疫系统,促炎反应和抗炎反应二者之间复杂的相互作用决定了患者的预后^[12]。淋巴细胞功能障碍和衰竭在脓症患者对感染的免疫反应失调过程中发挥着至关重要的作用^[13]。本研究通过检测脓症患者早期淋巴细胞亚群及NLR的变化,旨在评估其对患者预后的预测价值。

本研究共纳入62例脓症患者,根据28d预后分为死亡组和存活组,研究显示,尽管在脓症第1天,淋巴细胞亚群计数在2组间无统计学差异,但死亡组患者淋巴细胞计数、T淋巴细胞计数、CD4⁺T细胞计数、CD8⁺T细胞计数及NK细胞计数均进行性下降,且在第3天显著低于存活组;NLR进行性升高,且在第3天显著高于存活组。T淋巴细胞亚群在维持机体的正常免疫状态中发挥着极为重要的作用,当其数量及功能发生异常时,会引起严重的免疫紊乱,进而引发一系列病理生理改变^[14]。有证据表明,脓毒症诱导的凋亡会影响T细胞亚群的分化和活性,影响先天和适应性免疫反应,其强度和持续时间与死亡和医院感染的风险增加有关^[15]。

表2 2组淋巴细胞亚群计数、NLR、APACHE II和SOFA评分比较

Table 2 Comparison of lymphocyte subsets, NLR, APACHE II and SOFA between two groups

Variable	Survival group (n=44)		Death group (n=18)	
	Day 1	Day 3	Day 1	Day 3
Lymphocyte (cells/ μl , $\bar{x} \pm s$)	974.04 ± 491.78	888.85 ± 348.48	915.00 ± 544.85	461.00 ± 298.88 [#]
T cell (cells/ μl , $\bar{x} \pm s$)	696.13 ± 420.51	660.95 ± 243.50	614.86 ± 396.24	322.50 ± 231.95 [#]
CD4 ⁺	414.22 ± 266.42	402.1 ± 129.03	376.86 ± 250.00	217.00 ± 177.83 [#]
CD8 ⁺	273.57 ± 183.12	253.70 ± 155.65	265.57 ± 285.27	108.17 ± 77.25 [#]
NK cell (cells/ μl , $\bar{x} \pm s$)	89.17 ± 53.77	70.35 ± 43.75	84.57 ± 75.34	29.00 ± 17.91 [#]
NLR [% , M(Q ₁ , Q ₃)]	9.44 (7.12, 16.06)	10.09 (5.55, 14.93)	13.43 (6.69, 24.00)	17.52 (9.64, 24.00) [#]
APACHE II (points, $\bar{x} \pm s$)	11.39 ± 6.31	11.21 ± 4.36	19.08 ± 6.89 [*]	17.82 ± 5.15 [#]
SOFA (points, $\bar{x} \pm s$)	7.06 ± 3.51	6.54 ± 3.68	9.50 ± 3.53 [*]	9.45 ± 2.62 [#]

NLR: neutrophil to lymphocyte ratio; APACHE II: acute physiology and chronic health evaluation II; SOFA: sequential organ failure; NK: natural killer.

Compared with survival group in day 1, ^{*} $P < 0.05$; compared with survival group in day 3, [#] $P < 0.05$.

表 3 第 3 天脓毒症患者淋巴细胞亚群计数、NLR 与 APACHE II、SOFA 的相关性

Table 3 Correlation of lymphocyte subsets and NLR with APACHE II and SOFA between two groups on day 3

Variable	APACHE II		SOFA	
	r	P value	r	P value
Lymphocyte	-0.19	0.35	-0.44	0.02
T cell	-0.16	0.44	-0.47	0.01
CD4 ⁺	-0.17	0.39	-0.41	0.04
CD8 ⁺	-0.18	0.37	-0.48	0.01
NK cell	-0.26	0.19	-0.46	0.02
NLR	0.45	0.04	0.29	0.07

NLR: neutrophil to lymphocyte ratio; APACHE II: acute physiology and chronic health evaluation II; SOFA: sequential organ failure; NK: natural killer.

此外,我们对 APACHE II、SOFA 与淋巴细胞计数、T 淋巴细胞计数、CD4⁺T 细胞计数、CD8⁺T 细胞计数、NK 细胞计数和 NLR 进行了相关性分析,发现 NLR 与 APACHE II 评分呈正相关,淋巴细胞计数、T 淋巴细胞计数、CD4⁺T 细胞计数、CD8⁺T 细胞计数、NK 细胞计数与 SOFA 均呈负相关。ROC 曲线分析显示 APACHE II 评分、SOFA、NLR、淋巴细胞

计数、T 淋巴细胞计数、CD4⁺T 细胞计数、CD8⁺T 细胞计数、NK 细胞计数对脓毒症患者的预后预测均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。因此,本研究的结果表明,脓毒症早期淋巴细胞亚群计数、NLR 与脓毒症患者的病情严重程度之间存在明显相关性。NLR 在临床工作中容易获得,且灵敏度和特异度较好,在脓毒症预后预测中有一定价值。

本研究存在一定的局限性。(1)研究主要关注脓症患者早期的淋巴细胞亚群变化,与脓症患者患者的住院时间相比,时间跨度较短;(2)本研究未检测其他免疫学指标,如抗原呈递细胞和人白细胞抗原-DR,对机体免疫状态的判断可能未必准确;(3)本研究只根据脓症患者结局分为存活组及死亡组,未设置非脓毒症重症患者组或健康志愿者组进行比较;(4)本研究为单中心研究,纳入样本量较少,今后仍需多中心研究进一步评估淋巴细胞亚群变化对脓症患者预后的预测价值。

综上,本研究显示,脓毒症早期淋巴细胞计数、T 淋巴细胞计数、CD4⁺T 细胞计数、CD8⁺T 细胞计数、NK 细胞计数进行性下降及 NLR、APACHE II 评分、SOFA 进行性升高的患者预后不佳。

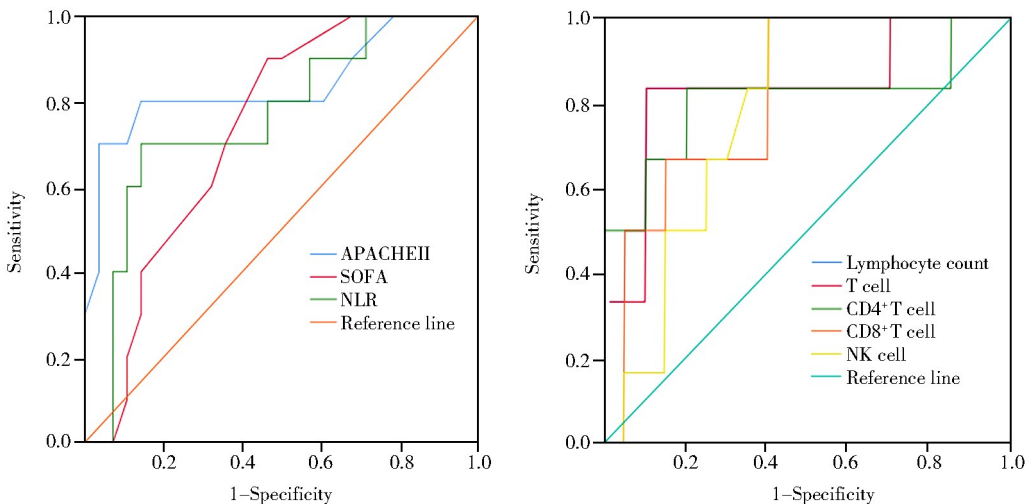


图 1 APACHE II、SOFA、NLR 和淋巴细胞亚群计数对脓症患者预后预测的 ROC 曲线

Figure 1 Predictive value of lymphocyte subsets, NLR and APACHE II and SOFA on death at 28 days in patients with sepsis
 APACHE II: acute physiology and chronic health evaluation II; SOFA: sequential organ failure;
 NLR: neutrophil to lymphocyte ratio; NK: natural killer; ROC: receiver operating characteristic.

【参考文献】

[1] Xie J, Wang H, Kang Y, et al. The epidemiology of sepsis in Chinese ICUs: a national cross-sectional survey [J]. Crit Care Med, 2020, 48(3): e209-e218. DOI: 10.1097/CCM.0000000000004155.

[2] Grande E, Grippo F, Frova L, et al. The increase of sepsis-related mortality in Italy: a nationwide study, 2003-2015 [J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2019, 38(9): 1701-708. DOI: 10.1007/s10096-019-03601-3.

[3] Yende S, Austin S, Rhodes A, et al. Long-term quality of life

- among survivors of severe sepsis; analyses of two international trials[J]. Crit Care Med, 2016, 44(8): 1461-1467. DOI: 10.1097/CCM.0000000000001658.
- [4] Shankar-Hari M, Harrison DA, Rubinfeld GD, *et al.* Epidemiology of sepsis and septic shock in critical care units; comparison between sepsis 2 and sepsis 3 populations using a national critical care database[J]. Br J Anaesth, 2017, 119(4): 626-636. DOI: 10.1093/bja/aex234.
- [5] Delano MJ, Ward PA. Sepsis-induced immune dysfunction: can immune therapies reduce mortality? [J]. J Clin Invest, 2016, 126(1): 23-31. DOI: 10.1172/JCI82224.
- [6] 裴飞, 管向东. 脓毒症免疫抑制的早期识别[J]. 中国实用内科杂志, 2018, 38(11): 984-988. DOI: 10.19538/j.nk2018110122. Pei F, Guan XD. Early identification of immunosuppression in sepsis[J]. Chin J Pract Intern Med, 2018, 38(11): 984-988. DOI: 10.19538/j.nk2018110122.
- [7] Pauken KE, Wherry EJ. SnapShot: T cell exhaustion[J]. Cell, 2015, 163(4): 1038-1038.e1. DOI: 10.1016/j.cell.2015.10.054.
- [8] 胡彩珍, 叶立刚, 徐善祥. T细胞亚群监测在基于Sepsis-3的创伤性脓症患者中的应用[J]. 中华急诊医学杂志, 2019, 28(2): 181-184. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.010. Hu CZ, Ye LG, Xu SX. The value of T cell subset monitoring for traumatic sepsis patients defined by sepsis-3[J]. Chin J Emerg Med, 2019, 28(2): 181-184. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2019.02.010.
- [9] 曲冰杰, 郭剑颖, 王宏伟. 脓症患者免疫紊乱中树突细胞与T细胞分化及表型研究[J]. 中国免疫学杂志, 2019, 35(12): 1487-1490. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2019.12.016. Qu BJ, Guo JY, Wang HW. Study on differentiation and phenotype of T cells and dendritic cells in patients[J]. Chin J Immunol, 2019, 35(12): 1487-1490. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2019.12.016.
- [10] Rehman FU, Khan A, Aziz A, *et al.* Neutrophils to lymphocyte ratio: earliest and efficacious markers of sepsis [J]. Cureus, 2020, 12(10): e10851. DOI: 10.7759/cureus.10851.
- [11] 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.
- [12] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression; from cellular dysfunctions to immunotherapy [J]. Nat Rev Immunol, 2013, 13(12): 862-874. DOI: 10.1038/nri3552.
- [13] Tom V, Van D, Scicluna BP, *et al.* The immunopathology of sepsis and potential therapeutic targets [J]. Nat Rev Immunol, 2017, 17: 407-420. DOI: 10.1038/nri.2017.36.
- [14] Li J, Li M, Su LX, *et al.* Alterations of T helper lymphocyte subpopulations in sepsis, severe sepsis, and septic shock: a prospective observational study [J]. Inflammation, 2015, 38(3): 995-1002. DOI: 10.1007/s10753-014-0063-3.
- [15] Wilson JK, Zhao Y, Singer M, *et al.* Lymphocyte subset expression and serum concentrations of PD-1/PD-L1 in sepsis — pilot study [J]. Crit Care, 2018, 22(1): 95. DOI: 10.1186/s13054-018-2020-2.

(编辑: 徐巍)

· 消 息 ·

《中华老年多器官疾病杂志》论文优先发表快速通道

为加快重大医学研究成果的交流推广,促进医学事业的发展,本刊对符合下列条件的论文开设快速通道,优先发表:(1)国家、军队、省部级基金资助项目;(2)其他具有国内领先水平的创新性科研成果论文;(3)相关领域各类最新指南解读。凡要求以“快速通道”发表的论文,作者应提供关于论文科学性和创新性的说明。本刊对符合标准的稿件,即快速审核及刊用。

地址: 100853 北京市复兴路28号,《中华老年多器官疾病杂志》编辑部

电话: 010-66936756

网址: www.mode301.cn

E-mail: zhlnldqg@mode301.cn