

超敏 C 反应蛋白细胞免疫指标以及降钙素对小儿肺炎的诊断价值研究

黎世坤¹, 吴庆莉¹, 刘国英¹, 蔡南盛² (1. 广东省深圳市福永人民医院 518103; 2. 广东省东莞市谢岗医院 523590)

【摘要】 目的 探讨超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、降钙素(PCT)以及细胞免疫功能与小儿肺炎的关系,为该疾病的临床治疗和诊断提高参考。**方法** 选取该院 2010 年 4 月至 2013 年 5 月收治的 100 例肺炎患儿为研究对象,根据病因分为细菌组、病毒组和支原体组,同时选取 30 例健康儿童作为健康对照组。采用免疫散射比浊法检测所有儿童外周静脉血中的 PCT 和 hs-CRP 水平,使用流式细胞仪检测免疫功能细胞相关的 T 淋巴细胞亚群,并对各组间的检测指标进行比较。**结果** 支原体肺炎、细菌性肺炎患儿外周血中的 hs-CRP 水平显著高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),但病毒性肺炎患儿 hs-CRP 水平则与健康对照者差异无统计学意义($P > 0.05$)。细菌性肺炎患儿 PCT 水平和 PCT 阳性率均显著高于其他各组,差异均有统计学意义($P < 0.01$),但其他 3 个间差异则无统计学意义($P > 0.05$)。3 组肺炎患儿的 $CD3^+$ 和 $CD4^+$ 水平以及 $CD4^+/CD8^+$ 比值均显著低于健康对照组,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。3 个肺炎组的 $CD8^+$ T 淋巴细胞水平和 $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞水平则均显著升高,与健康对照组比较差异均有统计学意义($P < 0.01$)。**结论** hs-CRP 和 PCT 能够作为小儿肺炎的临床诊断依据,对其提高其确诊率具有重要的临床意义。表明肺炎患者伴有免疫功能紊乱,值得临床重视和进一步的研究。

【关键词】 小儿肺炎; 超敏 C 反应蛋白; 外周血降钙素; 免疫功能; 免疫失调

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2014.12.052 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2014)12-1707-03

近年来,肺炎一直是儿科临床最为常见的疾病,且发病率呈逐年上升趋势。病理学研究证实,小儿肺炎多以细菌性肺炎为主,约占总数的 80%^[1]。轻度肺炎常可致患儿出现咳嗽发烧等呼吸道症状,重度则可导致患儿出现严重的肺部感染甚至死亡。关于肺炎的发病机制目前尚无定论,临床上以呼吸道上皮吸附学说及病原体侵入学说较为盛行,但也有学者支持细胞免疫功能紊乱学说,并且已找到有力证据^[2]。随着对肺炎发病机制研究的不断深入,相关参与肺炎发病的生化指标已被逐渐应用于肺炎的临床治疗和诊断之中。本研究将该院收治的 100 例肺炎患儿作为研究对象,对其外周血中的超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)、降钙素(PCT)以及 $CD4^+$ 等免疫相关指标在肺炎诊断中的临床指导意义进行探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择该院 2010 年 4 月至 2013 年 5 月收治的 100 例肺炎患儿为研究对象。其中细菌性肺炎 41 例(细菌组),男性 20 例,女性 21 例,年龄 2~10 岁,中位数 6.5 岁;支原体肺炎 30 例(支原体组),男性 14 例,女性 16 例,年龄 2~11 岁,中位数 7 岁;病毒性肺炎 29 例(病毒组),男性 14 例,女性 15 例,年龄 3~10 岁,中位数 6.5 岁。此外,为满足研究的科学性,另选取同时期体检完全健康的 30 例健康儿童作为健康对照组。对 4 组儿童的基线资料进行对比分析,结构显示 4 组儿童在年龄、性别方面的比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:(1) 所有患儿入院后,均行 X 射线检查、体格检查及实验学检查,临床特征满足肺炎的确诊标准^[3]。(2) 细菌性肺炎患儿均经痰培养和拭子实验进行确诊,支原体肺炎患儿以支原体 IgM 阳性为确诊依据,病毒性肺炎则以患儿血清特异性 IgM 抗体阳性为确诊依据。所有患儿的确诊均严格按照临床确诊程序和相关确诊标准进行。(3)

所有儿童均无血液性疾病、自身免疫性疾病或免疫力低下等基础疾病。(4) 患儿在来该院就诊前未接受过可影响本组检验结果的药物治疗。(5) 所有患儿家属均同意其入组,并经该院医学伦理委员会批准开展研究。排除标准:凡不符合上述标准任何一条者予以排除,不纳入研究范围。

1.3 研究方法

1.3.1 血液样本采集与制备 3 组肺炎患儿和健康患儿均于入院初期进行静脉采血。血液采集量根据需要约为 2~4 mL,并使用 EDTA-K₂ 进行抗凝处理以供流式细胞仪检测使用(检测 $CD4^+$ 、 $CD25^+$ 和 Treg 在 $CD4^+$ T 细胞中的比例),所分离的血清进行 hs-CRP、PCT 检测。

1.3.2 检测指标 本研究中所分析的生化指标主要为所有受试儿童外周血 hs-CRP 和 PCT 水平,以及 T 淋巴细胞亚群,如 $CD4^+$ 细胞、 $CD8^+$ 细胞、 $CD3^+$ 细胞、 $CD25^+$ 细胞、 $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞的数目等。

1.3.3 样本检测 (1) $CD4^+$ 、 $CD25^+$ 等 T 淋巴细胞亚群等免疫相关指标的检测:取洁净无菌试管 10 支,加入 10 μ L 经荧光标记的单克隆抗体 ($CD45$ -FITC/ $CD4$ -RDI/ $CD8$ -ECD/ $CD3$ -PC5),随后加入 100 μ L 经 EDTA-K₂ 抗凝处理的静脉血,手动振摇均匀,20 $^{\circ}$ C 下避光静置 15 min,然后使用 Optilyse C 溶血素 500 μ L 对静脉血中的红细胞进行裂解处理,完毕后 20 $^{\circ}$ C 避光条件下使混合液充分反应约 15 min,随后加入 PBS 缓冲液 500 μ L,手动摇匀,20 $^{\circ}$ C 避光反应 10 min 后,采用流式细胞仪对 T 淋巴细胞亚群细胞进行定量检测。另取 5 支洁净试管,均匀加入 $CD4$ -FITC 和 $CD25$ -PE 单抗各 20 μ L,随后各试管中加入抗凝处理的静脉血 100 μ L,振摇均匀后 20 $^{\circ}$ C 避光条件下静置反应 15 min,随后经流式细胞仪对 $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞的分布情况进行检测,以 $CD25^+$ 强阳性的 $CD4^+$ T 细胞为判断 $CD4^+CD25^+$ Treg 细胞的依据。(2) PCT 和 hs-CRP 水平的检

测;使用 BNII 全自动蛋白分析仪对 hs-CRP 进行分析检测,并采用免疫散射比浊法对其水平进行计算。PCT 检测则使用 mini-VIDAS 分析仪完成,并采用酶联荧光分析法对其进行阳性判定,含量达 0.5 μg/L 时即断定为阳性。

1.4 统计学处理 本研究中涉及的数据采用统计学软件 SPSS 16.0 进行完成。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示;2 组间计量资料对比使用 t 检验,计数资料应用 χ^2 检验;多组间对比则进行 F 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 外周血中 hs-CRP 和 T 淋巴细胞亚群的比较 4 组受试儿童外周血 hs-CRP 水平间差异有统计学意义($P < 0.01$),细菌组、支原体组患儿 hs-CRP 明显高于健康对照组和病毒组,差异有统计学意义($P < 0.01$)。病毒组患儿 hs-CRP 水平与健康对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$),支原体组患儿 hs-CRP 水平与细菌组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。提

示细菌性肺炎和支原体性肺炎患儿外周血有高水平 hs-CRP 的存在,可作为诊断细菌性肺炎和支原体肺炎的重要依据。

T 粒细胞亚群的检测结果显示 3 组肺炎患儿的 CD3⁺ 和 CD4⁺ T 淋巴细胞差异无统计学意义($P < 0.01$),但都显著低于健康对照组($P < 0.01$)。CD8⁺ T 淋巴细胞检测结果提示,细菌组和支原体组均高于健康对照组,差异有统计学意义($P < 0.01$),但在细菌组和支原体组间、病毒组与健康对照组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。CD4⁺/CD8⁺ 的比值表明,3 个肺炎组均明显低于健康对照组($P < 0.01$),但各肺炎组之间差异则无统计学意义($P > 0.05$)。所有肺炎组患儿的 CD4⁺ CD25⁺ Treg 水平均显著高于健康对照组($P < 0.01$),但肺炎组之间差异则无统计学意义($P > 0.05$)。由于 T 淋巴细胞亚群细胞水平间存在差异,可为临床上区分不同类型的肺炎提供更为准确的判断。见表 1。

表 1 4 组受试儿童外周血 hs-CRP 以及免疫功能相关水平的检测结果比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	Hs-CRP	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD3 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ⁺
健康对照组	30	1.64±0.61	36.23±5.62	26.33±3.28	69.52±5.77	1.59±0.43	7.59±2.51
细菌组	41	11.12±5.91	28.71±5.76	30.91±5.15	63.21±5.23	0.98±0.34	12.16±3.23
支原体组	30	6.13±2.82	29.36±5.24	30.56±4.21	62.84±4.73	1.12±0.41	11.67±2.18
病毒组	29	1.83±0.74	30.08±4.59	27.26±3.91	64.14±5.15	1.16±0.36	10.78±1.94
<i>F</i> 值		21.361	8.137	6.208	11.363	5.346	13.819
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	<0.01

2.2 PCT 水平和 PCT 阳性率比较 对 4 组儿童进行外周血 PCT 的研究分析结果显示,细菌组患儿的 PCT 水平最高,且与其他两个肺炎组和健康对照组比较,差异均有统计学意义($P < 0.01$)。支原体组和病毒组与健康对照组比较,3 组间差异则无统计学意义($P > 0.05$)。本组结果表明,PCT 水平可以作为判断细菌性肺炎的准确指标,且能够快速将细菌性肺炎与其他类型肺炎进行区别。细菌组患儿的 PCT 细胞阳性率高于其他两个肺炎组和健康对照组,且差异有统计学意义($P < 0.01$)。但支原体肺炎组和病毒性肺炎组与健康对照组比较,差异则无统计学意义($P > 0.05$)。因此,外周血 PCT 水平和 PCT 阳性率水平均能够作为判断细菌性肺炎的重要依据。见表 2。

表 2 4 组受试儿童外周血中 PCT 的检测
结果比较[$n(\%)$, $\bar{x} \pm s$]

组别	<i>n</i>	PCT(μg/L)	阳性数
健康对照组	30	0.19±0.08*	0(0.00)*
细菌组	41	5.86±1.73	35(85.37)
病毒组	29	0.32±0.11*#	1(3.45)*#
支原体组	30	0.37±0.14*#	2(6.67)*#
统计量		<i>F</i> =10.613	χ^2 =34.598
<i>P</i> 值		<0.01	<0.01

注:与细菌性肺炎组比较,* $P < 0.01$;与健康对照组比较,# $P > 0.05$ 。

3 讨 论

肺炎是一类由病原菌侵袭或病毒感染等因素所造成的呼

吸道疾病,发病时常可伴有肺部、支气管甚至全身的炎性反应。儿童作为体质较弱的群体,一直被认为是肺炎的高发人群。相对于成年人而言,儿童无法对自己的病情做出清晰的表达或描述,无法为临床诊断提供过多的信息参考。由于儿童自身的特殊性,适用于成年人的检查方法但不适用于儿童。因此,寻求更为高效、快捷、精确的肺炎诊断指标和确诊方法是儿科医师所面临的一个重要问题。

人体在处于炎性反应或感染期间,机体内的免疫指标(如淋巴细胞、白细胞等)常会出现异常的升高或降低,能够为临床上许多感染或炎性疾病的诊治提供参考^[4]。但由于很多生化指标缺乏特异性,具体疾病的诊治仍需要特异性更强的判断方法。在儿科呼吸系统疾病的诊治中,淋巴细胞、白细胞、中性粒细胞等已逐渐被作为儿童上呼吸道感染或肺炎的临床诊断指标,但由于上述指标特异性不高,为儿童呼吸系统疾病的诊治带来不准确性^[5]。研究证实,hs-CRP 水平在细菌感染的情況下会显著升高,但在机体受到其他病原菌侵袭时的升高并不明显,即提示 hs-CRP 水平对诊断细菌感染性疾病可能具有较高的临床价值^[6]。相关临床验证,hs-CRP 已成为临床诊断和鉴别细菌性疾病的重要指标之一^[7]。本研究对 100 例患儿进行的研究结果显示,细菌性肺炎、支原体肺炎组患儿外周血 hs-CRP 水平显著高于病毒性肺炎组以及健康对照组儿童,表明 hs-CRP 的准确性和对儿童肺炎的诊断价值。细菌性肺炎患儿外周血 PCT 水平和 PCT 阳性细胞比例均为 4 个组最高,与其他组别差异均有统计学意义($P < 0.01$),提示 PCT 是一种对于细菌性肺炎特异性较强的指标,可与 hs-CRP 共同指导儿童

细菌性肺炎的临床诊治。

国外关于肺炎的病理研究证实,免疫失调可能导致肺炎以及病情不断加重,且 T 淋巴细胞群是参与其免疫失调的主要细胞群^[8]。T 淋巴细胞从功能方面,是人体免疫反映的效应细胞,也起着调节人体免疫功能的作用^[9]。在 T 淋巴细胞群中,CD4⁺和 CD8⁺是最为重要的功能性淋巴细胞,可参与机体的大部分免疫过程,CD4⁺与 CD8⁺的比值则可有效反应机体的免疫功能状况,比值下降表示人体的细胞免疫功能受到抑制。在正常状态下,人体内的各类 T 细胞和核心 T 细胞的比值均处于一个相对恒定的动态范围,当机体受到病毒或细菌的感染时,CD4⁺、CD8⁺及其比值则会出现较大改变,提示机体免疫功能处于紊乱状态^[10]。因此,以 T 淋巴细胞亚群细胞或其内部比值的改变来评价机体受到细菌或病毒感染的状况是一个较为可行的指标。本研究对 100 例肺炎患儿进行的 T 淋巴细胞亚群分析结果显示,肺炎患儿的 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞水平、CD4⁺/CD8⁺比值均明显低于健康对照组儿童,且 3 个肺炎组患儿外周血 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞水平则基本一致。与健康对照组比较,3 个肺炎组的 CD8⁺ T 淋巴细胞水平和 CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞水平则均升高,与健康对照组比较差异有统计学意义($P<0.01$)。有关研究表明,CD4⁺CD25⁺ Treg 细胞是近些年来发现的一类新型 T 淋巴细胞亚群,能够有效抑制细菌、病毒等激发人体免疫反应,以及抑制参与免疫反应的淋巴细胞的增殖和活化,对判断肺炎患者机体的免疫失调具有较为重要的临床意义^[11]。本研究中免疫相关指标的分析结果显示,肺炎患儿在发病过程中存在免疫失调和免疫力下降的症状,给予一定剂量的提高或调节免疫功能的药物治疗是有必要的。

参考文献

[1] 陈志敏. 难治性肺炎支原体肺炎的诊断与药物治疗进展

(上接第 1706 页)

综上所述,在早期非小细胞肺癌临床治疗中采取胸腔镜肺叶切除治疗,有利于缓解患者疼痛程度,促进病情恢复,合理缩短住院时间,提高患者生命质量,具有临床意义。

参考文献

[1] 柯宏刚,曹飞,董汉宣. 胸腔镜肺叶切除治疗早期非小细胞肺癌[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2010,17(6):109-110.
[2] 柯宏刚,丁海兵,董汉宣,等. 电视胸腔镜肺叶切除治疗早期非小细胞肺癌初期体会[J]. 中国肿瘤临床,2010,37(18):127-128.
[3] 吴颖猛,黄伟钊,姜海明. 胸腔镜下亚肺叶切除及纵隔淋巴结采样治疗早期非小细胞肺癌[J]. 广东医学,2013,34(8):103-104.
[4] 周文勇,陈晓峰,张雷,等. 微小 N2 非小细胞肺癌胸腔镜肺叶切除与同期开胸手术对照研究[J]. 中华外科杂志,2011,49(9):193-195.

[J]. 实用儿科临床杂志,2012,27(4):391-393.
[2] 罗宇元,罗文燕,刘国乐,等. 儿科肺炎支原体肺炎 202 例临床分析[J]. 临床肺科杂志,2011,20(13):443-445.
[3] 刘艳辉. 小儿肺炎支原体肺炎的诊断及治疗进展[J]. 山西医药杂志,2009,39(8):732-734.
[4] 崔宝杰. 儿科肺炎血清心肌酶谱和 CRP 检测结果的临床分析[J]. 中国现代药物应用,2010,4(4):515-517.
[5] 陈水文,黄卫东,任其秀,等. 重症肺炎患儿中性粒细胞和淋巴细胞 CD11b 表达的意义[J]. 中国小儿急救医学,2000,19(2):632-634.
[6] 黎清交,曾素萍,黎昌茂. 白细胞、C 反应蛋白和免疫球蛋白检测在小儿肺炎中的运用[J]. 山东医药,2010,50(9):381-382.
[7] 张欣,高强,韩素玲. 超敏 C-反应蛋白检测在小儿细菌性肺炎与支原体肺炎中的临床比较[J]. 中华医院感染学杂志,2011,21(22):438-439.
[8] 万瑜,程宝金,薛梅. 小儿支原体肺炎 T 细胞亚群和免疫球蛋白水平的变化与分析[J]. 实用临床医药杂志,2010,14(11):28-29.
[9] 李宾,吴福龄,冯学斌,等. 呼吸道合胞病毒毛细支气管炎患儿外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞与 Th17 细胞功能变化及意义[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2012,28(4):103-105.
[10] 程小丽,陈葳,杨玉琼,等. 支气管肺炎患儿机体免疫功能变化的分析[J]. 免疫学杂志,2012,19(6):311-312.
[11] 宋磊,徐明,侯静红,等. 肺炎支原体感染患儿外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的变化及其临床意义[J]. 标记免疫分析与临床,2011,18(6):214-216.

(收稿日期:2013-11-14 修回日期:2014-01-20)

[5] 姜冠潮,王俊,李运,等. 全胸腔镜肺叶切除与开胸肺叶切除治疗 I 期非小细胞肺癌效果比较[J]. 中华胸心血管外科杂志,2010,24(3):231-232.
[6] 赵永,孙振宇,顾敏威. 单向式全胸腔镜肺叶切除术与传统开胸肺叶切除术治疗早期非小细胞肺癌的对照研究[J]. 河北医药,2012,34(10):216-217.
[7] 蒋伟,奚俊杰,汪灏,等. 全胸腔镜肺叶切除术治疗临床早期非小细胞肺癌的疗效评价[J]. 中国胸心血管外科临床杂志,2012,19(2):75-76.
[8] 李治. 不同术式治疗早期非小细胞肺癌的临床疗效[J]. 广州医学院学报,2012,40(1):193-194.
[9] 李厚怀,沈振亚,许栋生,等. 两种术式治疗早期非小细胞肺癌的对比研究[J]. 苏州大学学报:医学版,2010,25(1):192-194.
[10] 沈海波. 胸腔镜下肺叶切除术治疗早期非小细胞肺癌的临床疗效评价[J]. 中国医师杂志,2013,8(3):81-82.

(收稿日期:2013-11-15 修回日期:2014-01-25)