

新型冠状病毒肺炎实验室研究 · 论著 DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.06.001

IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 在新型冠状病毒肺炎患者中的水平变化及临床意义*

庞科¹, 黄澄澄^{1△}, 高红丽², 邹凡文¹, 李杰³, 龙晓莉¹

重庆医科大学附属永川医院:1. 老年病科;2. 超声科;3. 肾病风湿科, 重庆 402160

摘要:目的 探讨干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素 (IL)-6、血清淀粉样蛋白 A (SAA) 在新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 患者中的水平变化及临床意义。方法 选取 2020 年 1 月 22 日至 3 月 20 日该院隔离病房收治的 81 例 COVID-19 患者为研究对象, 其中普通型 50 例 (普通组), 重型 31 例 (重型组)。选取同期在该院就诊的流行性感 (简称流感) 患者 32 例为普通流感组。比较 3 组患者入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平。分析普通组与重型组患者上述指标水平的动态变化。采用受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 分析 SAA 在诊断 COVID-19 中的价值。结果 重型组入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平明显高于普通组及普通流感组入院时, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。普通组入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 水平与普通流感组入院时对比, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。普通组入院时 SAA 水平与普通流感组入院时对比, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。普通组入院后第 3、7、10 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平高于入院时, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 入院后第 3、7 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平高于入院后第 10 天, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。重型组入院后第 3、7 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平高于入院时和入院后第 10 天, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 入院后第 10 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平低于入院时, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。ROC 曲线分析结果显示, SAA 诊断 COVID-19 的曲线下面积为 0.925, 其灵敏度和特异度分别为 88.2% 和 84.4%, 最佳临界值为 17.0 mg/L。结论 监测 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 水平变化可为 COVID-19 病情评估提供依据, SAA 水平可用于 COVID-19 的辅助诊断。

关键词: 新型冠状病毒肺炎; 干扰素 γ ; 肿瘤坏死因子 α ; 血清淀粉样蛋白 A; 白细胞介素 6

中图分类号: R563

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)06-0721-04

The level changes and clinical significance of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and SAA in patients with Corona Virus Disease 2019*

PANG Ke¹, HUANG Chengcheng^{1△}, GAO Hongli², ZOU Fanwen¹, LI Jie³, LONG Xiaoli¹

1. Department of Geriatrics; 2. Department of Ultrasonography; 3. Department of Nephrology and Rheumatology, Yongchuan Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 402160, China

Abstract: Objective To analyze the level changes and clinical significance of interferon γ (IFN- γ), tumor necrosis factor α (TNF- α), interleukin (IL)-6 and serum amyloid A (SAA) in patients with Corona Virus Disease 2019 (COVID-19). **Methods** A total of 81 patients with COVID-19 were selected as research subjects in the hospital from 22 January to 20 March, 2020. Among them, 50 cases were common type (COVID-19 common group) and 31 cases were severe type (COVID-19 severe group). And 32 cases with influenza were selected as common influenza group. The peripheral blood levels of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and SAA in three groups on admission were compared. The dynamic changes of these four indicators in COVID-19 common group and COVID-19 severe group were analyzed. Receiver operating characteristic curve (ROC curve) was used to analyze the value of SAA in the diagnosis of COVID-19. **Results** The levels of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and SAA in COVID-19 severe group were higher than those in common influenza group and COVID-19 common group on admission ($P < 0.05$). And the differences of the levels of IFN- γ , TNF- α and IL-6 in COVID-19 common group and common influenza group on admission had no statistical significance ($P > 0.05$). Meanwhile, the level of

* 基金项目: 重庆市永川区科技局新型冠状病毒肺炎应急项目 (yestc.2020nb0215)。

作者简介: 庞科, 男, 主治医师, 主要从事老年病学方面的研究。△ 通信作者, E-mail: 854899724@qq.com。

本文引用格式: 庞科, 黄澄澄, 高红丽, 等. IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 在新型冠状病毒肺炎患者中的水平变化及临床意义[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(6): 721-724.

SAA between COVID-19 common group and common influenza group on admission had statistical significance ($P<0.05$). The levels of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and SAA in COVID-19 common group on the 3rd, 7th and 10th day after admission were significantly higher than those on admission ($P<0.05$). The levels of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and SAA in COVID-19 common group on the 3rd, 7th day after admission were significantly higher than those on the 10th day after admission ($P<0.05$). The levels of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and SAA on the 3rd and 7th days after admission in COVID-19 severe group were higher than those on admission and the 10th day after admission ($P<0.05$). And the levels of IFN- γ , TNF- α , IL-6 and SAA in COVID-19 severe group on the 10th day after admission were significantly lower than those on admission ($P<0.05$). ROC curve analysis showed that area under curve of SAA in diagnosis of COVID-19 was 0.925, the sensitivity was 88.2%, and the specificity was 84.4%, the cut off value was 17.0 mg/L. **Conclusion** Monitoring the changes of IFN- γ , TNF- α and IL-6 levels may provide a basis for the progression of COVID-19. Level of SAA can be used for the auxiliary diagnosis of COVID-19.

Key words: Corona Virus Disease 2019; interferon γ ; tumor necrosis factor α ; serum amyloid A; interleukin-6

新型冠状病毒(SARS-CoV-2)传染性强,人群普遍易感,发病率高。对于新型冠状病毒肺炎(COVID-19),临床目前尚无特效治疗药物,虽然重型或危重型患者所占比例不高,但患者发展至重型或危重型后病死率高,治疗难度大,早期识别患者,及时预防患者由普通型转成重型或危重型具有重要意义。有研究表明,细胞因子风暴可能是导致 COVID-19 患者肺部严重受损的原因^[1]。本研究检测了 COVID-19 患者外周血中炎症因子,包括干扰素 γ (IFN- γ)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)、白细胞介素(IL)-6、血清淀粉样蛋白 A(SAA)水平,了解 COVID-19 患者体内炎症情况,并判断其是否与患者病情严重程度相关。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月 22 日至 3 月 20 日本院隔离病房收治的 81 例 COVID-19 患者为研究对象,其中普通型 50 例(普通组),重型 31 例(重型组)。患者均符合《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》中的 COVID-19 诊断标准^[2]。排除标准:(1)有慢性支气管炎病史或近期有上呼吸道感染者;(2)有

严重呼吸系统疾病(慢性阻塞性肺疾病、肺肿瘤、肺结核、尘肺、肺脓肿、支气管扩张、支气管哮喘、嗜酸性粒细胞性支气管炎或上气道咳嗽综合征等);(3)重症肺炎需要机械通气者;(4)合并心、脑、肺等器官严重原发性疾病,以及精神疾病患者;(5)妊娠、哺乳期女性。选取同期在本院就诊的流行性感冒(简称流感)患者 32 例为普通流感组,诊断依据为《流行性感冒诊疗方案(2018 年版修订版)》^[3]:(1)发生在流感流行时期;(2)以发热、头痛、肌肉疼痛和全身不适为主要临床表现,体温最高可达 40℃,常伴有畏寒、咽喉痛、干咳、乏力、食欲减退等。排除标准:(1)合并肺部感染;(2)已使用过抗流感药物;(3)伴有心、脑、肺及多器官功能衰竭;(4)妊娠或哺乳期女性;(5)发病前 14 d 内曾到过武汉市及其周边地区,或来自有 COVID-19 病例报告社区的发热或有呼吸道症状的患者;(6)与 SARS-CoV-2 感染者有接触史。普通流感组、普通组、重型组研究对象性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

表 1 各组患者一般资料对比

组别	<i>n</i>	性别(男/女, <i>n</i> / <i>n</i>)	年龄($\bar{x}\pm s$, 岁)	高血压(<i>n</i>)	冠心病(<i>n</i>)	2 型糖尿病(<i>n</i>)
普通流感组	32	18/14	57.05 $\pm$ 17.46	3	2	4
普通组	50	28/22	54.37 $\pm$ 10.37	4	4	4
重型组	31	17/14	62.27 $\pm$ 18.53	2	2	3
<i>P</i>		0.75	0.51	0.53	0.37	0.48

1.2 方法 抽取每例患者入院当天、入院后第 3 天、入院后第 7 天、入院后第 10 天的清晨空腹静脉血 5~10 mL,经离心机离心后取上层血清备用。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测 SAA 水平,同时采用电化学发光法检测 IL-6、IFN- γ 、TNF- α 水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 软件进行统计学分析。计数资料采用例数或百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验,必要时使用连续性校正公式或 Fisher 确切概率法;正态分布的计量资料采用 $\bar{x}\pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 SNK-*q* 检

验;相关性采用 Spearman 相关分析;采用受试者工作特征曲线(ROC 曲线)分析血清 SAA 诊断 COVID-19 的特异度和灵敏度。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平比较 重型组入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平明显高于普通组及普通流感组入院时,差异有统计学意义($P<0.05$)。普通组入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 水平与普通流感组入院时对比,差异无统计学意义($P>0.05$)。普通组入院时 SAA 水平与普通流感组

入院时对比,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。
2.2 普通组和重型组不同入院时间 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平比较 普通组入院后第 3、7、10 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平高于入院时,差异有统计学意义($P<0.05$);入院后第 3、7 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平高于入院后第 10 天,差异有统计学意义($P<0.05$)。重型组入院后第 3、7 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平高于入院时和入院后第 10 天,差异有统计学意义($P<0.05$);入院后第 10 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平低于入院时,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

表 2 各组入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IFN- γ (ng/L)	TNF- α (ng/L)	IL-6(pg/mL)	SAA(mg/L)
普通流感组	32	16.84 $\pm$ 7.66	19.90 $\pm$ 5.27	16.69 $\pm$ 8.44	13.01 $\pm$ 5.91
普通组	50	18.32 $\pm$ 10.94	16.96 $\pm$ 11.63	17.48 $\pm$ 14.50	30.42 $\pm$ 13.68 ^a
重型组	31	27.45 $\pm$ 13.73 ^{ab}	29.84 $\pm$ 13.82 ^{ab}	33.15 $\pm$ 18.23 ^{ab}	49.37 $\pm$ 29.75 ^{ab}

注:与普通流感组比较,^a $P<0.05$;与普通组比较,^b $P<0.05$ 。

表 3 普通组和重型组不同入院时间 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 及 SAA 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	时间	IFN- γ (ng/L)	TNF- α (ng/L)	IL-6(pg/mL)	SAA(mg/L)
普通组	50	入院时	18.32 $\pm$ 10.94	16.96 $\pm$ 11.63	17.48 $\pm$ 14.50	30.42 $\pm$ 13.68
		入院后第 3 天	30.49 $\pm$ 14.32 ^{*#}	26.20 $\pm$ 14.34 ^{*#}	25.91 $\pm$ 15.54 ^{*#}	37.37 $\pm$ 15.57 ^{*#}
		入院后第 7 天	28.50 $\pm$ 14.34 ^{*#}	33.07 $\pm$ 15.72 ^{*#}	29.10 $\pm$ 17.87 ^{*#}	41.62 $\pm$ 16.61 ^{*#}
		入院后第 10 天	26.48 $\pm$ 13.03 [*]	23.50 $\pm$ 13.03 [*]	22.75 $\pm$ 13.77 [*]	35.66 $\pm$ 14.22 [*]
重型组	31	入院时	27.45 $\pm$ 13.73	29.84 $\pm$ 13.82	33.15 $\pm$ 18.23	49.37 $\pm$ 29.75
		入院后第 3 天	38.80 $\pm$ 14.13 ^{*#}	39.87 $\pm$ 18.38 ^{*#}	38.58 $\pm$ 19.65 ^{*#}	60.87 $\pm$ 28.85 ^{*#}
		入院后第 7 天	42.25 $\pm$ 17.22 ^{*#}	43.83 $\pm$ 19.28 ^{*#}	39.77 $\pm$ 18.22 ^{*#}	65.67 $\pm$ 29.89 ^{*#}
		入院后第 10 天	24.06 $\pm$ 11.49 [*]	28.35 $\pm$ 13.79 [*]	29.48 $\pm$ 13.79 [*]	36.48 $\pm$ 23.11 [*]

注:与同组入院时比较,^{*} $P<0.05$;与入院后第 10 天比较,[#] $P<0.05$ 。

2.3 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、SAA 与 COVID-19 病情严重程度的相关性分析 相关性分析发现,COVID-19 病情严重程度与患者入院时 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、SAA 水平呈正相关($r=0.28、0.47、0.41、0.37,P<0.05$)。

2.4 SAA 诊断 COVID-19 的 ROC 曲线分析 ROC 曲线分析结果显示,SAA 诊断 COVID-19 的曲线下面积为 0.925,其灵敏度和特异度分别为 88.2%和 84.4%,最佳临界值为 17.0 mg/L。

3 讨 论

细胞因子风暴被认为是免疫系统对新出现的、高致病的病原体产生的过激反应,机体免疫反应失调,使促炎因子及趋化因子异常升高,最终导致机体受损^[4]。

SARS-CoV-2 与严重急性呼吸综合征冠状病毒(SARS-CoV)及中东呼吸综合征冠状病毒(MERS-CoV)均为 β 属冠状病毒。既往研究报道,SARS-CoV

及 MERS-CoV 表面的刺突蛋白与血管紧张素转化酶 2(ACE2)结合,进入人体细胞内后开始进行病毒复制,感染细胞分泌少量 IFN,趋化巨噬细胞至病变部位,活化后的巨噬细胞释放大量 TNF- α 、IL-12 等进一步刺激免疫相关细胞释放更多的炎症因子,如 IFN- γ 、IL-6 等,SARS-CoV-2 的感染途径可能与 SARS-CoV 及 MERS-CoV 相似^[5]。

TNF- α 是一种单核因子,主要由活化的巨噬细胞、T 细胞、NK 细胞、肺上皮细胞和其他单核细胞产生,它是炎症反应中最早出现的因子,也是细胞因子风暴的核心因子。而 IFN- γ 是一种促炎因子,主要由活化 T 细胞、NK 细胞产生,其主要功能是激活巨噬细胞、抗病毒、诱导 Th1 细胞分化、抑制 Th2 细胞分化^[5]。IL-6 作为另一种重要的炎症因子,可诱导 SAA 产生^[6],同时刺激内皮细胞和白细胞释放一氧化氮或氧自由基等,导致肺组织损伤。国内有学者利用 IL-6R 托珠单克隆抗体治疗 COVID-19 取得了一定疗

效^[7]。本研究结果显示,重型组 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-6 水平明显高于普通流感组及普通组。HUANG 等^[1]发现 COVID-19 患者病情严重程度与细胞因子风暴有关。进一步对上述指标进行动态监测发现,重型组与普通组在入院后第 3、7 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、SAA 水平明显升高,此后随着病情好转,入院后第 10 天 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6、SAA 水平逐渐下降。COVID-19 患者病情严重程度与 IFN- γ 、TNF- α 和 IL-6、SAA 水平呈正相关,表明 COVID-19 患者病情加重可能与炎症因子过度释放有关。大量的促炎因子可导致炎症细胞的聚集,凋亡基因表达增加,免疫细胞(如 T 细胞、巨噬细胞及中性粒细胞)大量浸润,免疫调控失衡,并发组织损伤,并出现严重的病理变化,如弥漫性肺泡损伤、透明膜形成、纤维蛋白渗出和纤维化;此外,炎症因子及趋化因子会溢出进入循环系统,导致系统性的细胞因子风暴,导致多器官功能障碍^[8]。

SAA 基因包括 SAA1、SAA2、SAA3、SAA4,其中 SAA1 和 SAA2 基因启动子区域含有核因子(NF)- κ B 和 IL-6 转录因子识别序列,能够被 IL-1 β 、IL-6 和 TNF- α 诱导激活编码急性期 SAA,这种蛋白与早期的炎症与感染相关,也是临床上主要检测的 SAA^[9]。SAA 是一种保守的急性时相蛋白,由肝脏分泌,属于载脂蛋白家族成员,具有促炎活性、诱导趋化因子、诱导新生血管形成、增强细菌吞噬等作用^[10-11]。SAA 主要在肝脏及肺组织中生成,目前研究最多的就是其在肺部感染中的诊断及预后评估价值。有学者发现,SAA 在病毒和细菌感染中水平平均升高,且不受糖皮质激素影响,可能是反映感染更敏感的标志物^[12]。TODOROV 等^[13]也认为,较高水平的 SAA 对病毒感染的早期诊断、病情严重程度、治疗效果、早期恢复和预后等具有指示意义。本研究发现,COVID-19 患者 SAA 水平明显高于流感患者,且重型 COVID-19 患者高于普通型患者,提示 SAA 能用于判断 COVID-19 病情是否加重。经 ROC 曲线分析,发现 SAA 可作为诊断 COVID-19 的指标。

综上所述,在排除细菌感染的情况下,用 SAA 鉴别流感和 COVID-19 有一定参考价值。COVID-19 重型患者肺部损伤重,体内炎症因子表达增加,COVID-19 患者病情加重可能与细胞因子风暴形成有关,故监测 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 水平变化可为 COVID-19 病情进展提供依据。在治疗方案中,除了抗病毒、呼吸支持、营养支持等疗法外,对抗细胞因子风暴,降低 IFN- γ 、TNF- α 、IL-6 等细胞因子表达是治疗该病的方法之一。

参考文献

[1] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of pa-

tients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020, 395(10223): 497-506.

- [2] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知: 国卫办医函[2020]145 号[EB/OL]. (2020-02-19)[2020-03-05]. <http://www.nhc.gov.cn/zyygj/s7653p/202002/8334a8326dd94d329df351d7da8aefc2.shtml>.
- [3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 关于印发流行性感冒诊疗方案(2018 年版修订版)的通知: 国卫办医函[2018]1019 号[EB/OL]. (2018-11-27)[2020-03-05]. http://www.gov.cn/fuwu/2018-11/27/content_5343680.htm.
- [4] 张竞文, 胡欣, 金鹏飞. 新型冠状病毒引起的细胞因子风暴及其药物治疗[J]. 中国药理学杂志, 2020, 55(5): 333-336.
- [5] NIR-PAZ R, ABUTBUL A, MOSES A E, et al. Ongoing epidemic of Mycoplasma pneumoniae infection in Jerusalem, Israel, 2010 to 2012[J]. Euro Surveill, 2012, 17(8): 20095.
- [6] ABOUELASRAR S S, LAVIE M, DE BUCK M, et al. Cytokines and serum amyloid A in the pathogenesis of hepatitis C virus infection[J]. Cytokine Growth Factor Rev, 2019, 50: 29-42.
- [7] ZHOU Y, FU B, ZHENG X, et al. Aberrant pathogenic GM-CSF + T cells and inflammatory CD14 + CD16 + monocytes in severe pulmonary syndrome patients of a new coronavirus[J/OL]. BioRxiv, (2020-02-20)[2020-03-05]. <https://doi.org/10.1101/2020.02.12.945576>.
- [8] LIU Q, ZHOU Y H, YANG Z Q. The cytokine storm of severe influenza and development of immunomodulatory therapy[J]. Cell Mol Immunol, 2016, 13(1): 3-10.
- [9] 曹琳, 宋晓文, 任金来, 等. 血清淀粉样蛋白 A 的研究进展[J]. 安徽医药, 2019, 23(2): 221-224.
- [10] CONNOLLY M, ROONEY P R, MCGARRY T, et al. Acute serum amyloid A is an endogenous TLR2 ligand that mediates inflammatory and angiogenic mechanisms[J]. Ann Rheum Dis, 2016, 75(7): 1392-1398.
- [11] TSUN J G, SHIU S W, WONG Y, et al. Impact of serum amyloid A on cellular cholesterol efflux to serum in type 2 diabetes mellitus[J]. Atherosclerosis, 2013, 231(2): 405-410.
- [12] BOZINOVSKI S, HUTCHINSON A, THOMPSON M, et al. Serum amyloid A is a biomarker of acute exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2008, 177(3): 269-278.
- [13] TODOROV I, GOSPODINOVA M, BOCHEVA Y, et al. Serum amyloid A protein in the course of infectious mononucleosis[J]. Ther Adv Infect Dis, 2019, 6: 231-240.

(收稿日期: 2020-03-23 修回日期: 2020-05-02)