doi:10.11659/jjssx.08E023079

·临床研究·

感染性心内膜炎细胞因子和降钙素原的表达

王若昕,付 亮,赵金龙,陈宗辉,倪寅凯,励 峰 (上海市第六人民医院心血管外科,上海 200233)

[摘 要] **目的** 探讨感染性心内膜炎(IE)患者中12项细胞因子(IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17、IFN-α、IFN-γ、TNF-α)及降钙素原的表达。**方法** 纳入我院2021年12月至2022年12月IE患者10例为IE组,随机选择同期入院手术的非感染性、非风湿性瓣膜病的心内膜炎患者10例为对照组,患者均于入院时采血。采用流式细胞术检测12种细胞因子的表达及血常规指标,采用ELISA法检测降钙素原水平,采用*Pearson*法分析IE患者细胞因子表达水平间的相关性,*Spearman*法分析IE患者IL-8水平、白细胞计数与降钙素原的相关性。**结果** 与对照组比较,IE组患者中细胞因子IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-α、IFN-γ、IL-12p70显著升高($P<0.05$),白细胞计数、中性粒细胞百分比、降钙素原水平显著升高($P<0.05$)。2组患者单核细胞百分比比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。IE组患者中的IFN-α与IL-2、TNF-α、IL-1β、IL-12p70呈正相关;IL-2与TNF-α、IL-1β呈正相关;IL-12p70与IFN-γ呈正相关;降钙素原与IL-8、白细胞计数呈显著正相关,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论** IE患者中IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、TNF-α、IFN-α、IFN-γ、IL-12p70、降钙素原等水平明显高于正常人群,这些指标的检测对于IE的早期诊断及病情严重程度的评估具有指导意义。

[关键词] 感染性心内膜炎;细胞因子;降钙素原;心脏瓣膜病;血常规检查
[中图分类号] R654.2 [文献标志码] A [收稿日期] 2023-08-20

Expressions of cytokines and procalcitonin in infective endocarditis

WANG Ruo-xin, FU Liang, ZHAO Jin-long, CHEN Zong-hui, NI Yin-kai, LI Feng (Department of Cardiovascular Surgery, Shanghai Sixth People's Hospital, Shanghai 200233, China)

Abstract: Objective To investigate the expressions of 12 cytokines (IL-1β, IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, IFN-α, IFN-γ, TNF-α) and procalcitonin in patients with infective endocarditis (IE). **Methods** Ten IE patients admitted to our hospital from December 2021 to December 2022 were included into the IE group, 10 patients with non-infectious and non-rheumatic valvular diseases who were admitted to our hospital at the same period were randomly selected as the control group, and blood sampling of all patients were conducted at admission. The expressions of 12 cytokines and blood routine indexes were detected by flow cytometry, and the level of procalcitonin was detected by ELISA. The correlations among the expression levels of cytokines in IE patients were analyzed by *Pearson* method and the correlations of IL-8 level and white blood cell count with procalcitonin in IE patients were analyzed by *Spearman* method. **Results** Compared with the control group, the levels of cytokines of IL-1β, IL-2, IL-6, IL-10, TNF-α, IFN-α, IFN-γ and IL-12p70 in the IE group were significantly increased ($P<0.05$), the white blood cell count, neutrophil percentage and procalcitonin were significantly increased ($P<0.05$). There was no significant difference in the percentage of monocytes between the two groups ($P>0.05$). IFN-α of IE patients was positively correlated with IL-2, TNF-α, IL-1β and IL-12p70, IL-2 was positively correlated with TNF-α and IL-1β, IL-12p70 was positively correlated with IFN-γ, and procalcitonin was significantly positively correlated with IL-8 and white blood cell count, with statistically significant differences ($P<0.05$). **Conclusion** The levels of IL-1β, IL-2, IL-6, IL-10, TNF-α, IFN-α, IFN-γ, IL-12p70 and procalcitonin in IE patients are significantly higher than those in the normal population, and the detections of these indicators are of guiding significance for the early diagnosis of IE and the evaluation of the severity of the disease.

Keywords: infective endocarditis; cytokines; procalcitonin; valvular heart disease; blood routine examination

感染性心内膜炎(infective endocarditis,IE)是以炎症为特征的一系列心脏感染性疾病,通常是由细菌、真菌、病毒、立克次体、衣原体、螺旋体等微生物侵入自体瓣膜、人工心脏瓣膜、心内膜或心脏植入装置引起的。近年来,由于心脏介入检查和治疗、长期血管置管的应用、激素和免疫抑制剂使用及静脉吸毒人数的增加,IE的发病率有所增加,且呈高龄化、多合并症等特征[1-3]。

心内膜细胞的完整性对于抵抗微生物感染具有重要意义,Mercier等[4]认为维持心内膜的完整性对于抵抗金黄色葡萄球菌IE具有重要作用。降钙素原是

[基金项目] 上海市第六人民医院医疗集团科研基金
[通信作者] 励 峰,E-mail:lifeng56613@163.com

激素降钙素的前体肽,由116种氨基酸组成,经甲状腺的滤泡旁细胞(C细胞)及肺、肠神经内分泌细胞分泌[5]。当炎症发生时,尤其是细菌感染性病变发生时,降钙素原水平升高[6]。降钙素原在脓毒血症、呼吸道感染的诊断中为临床强证据级别,在血流感染、术后感染等的诊断中为临床次强证据级别,而在IE、尿路感染的诊断中仅为临床中等证据级别[7-8]。这些数据表明,与脓毒症、血流感染等感染性疾病相比,降钙素原在IE的诊断及鉴别诊断中价值有限。

IE的发病机制尚未完全清楚,目前研究主要集中于细胞因子等炎性递质的释放及相互作用[9]。细胞因子是一类广泛而松散的小蛋白,在细胞信号传导中起重要作用。细胞因子不能穿过细胞的脂质双分子层进入细胞,常通过与靶细胞表面的特定细胞因子受体结合发挥作用,并且细胞因子作为免疫调节剂已被证明参与多种自分泌、旁分泌和内分泌信号通路[10]。近年来,细胞因子检测在临床中的应用越来越受到重视,可用于疾病的早期诊断、机体免疫状态的整体评估和疗效监测[11-13]。但目前临床上对于IE患者血浆中相关细胞因子变化及规律的认识还不足。因此,本研究主要探讨IE患者外周血血浆中12种细胞因子(IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12p70、IL-17、IFN-α、IFN-γ、TNF-α)和降钙素原的表达水平及其与临床特征的相关性,以期为临床IE的准确诊断及病情评估提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料

纳入2021年12月至2022年12月在我院治疗的经改良Duke标准诊断为IE的患者10例为IE组;随机选择同期入院手术治疗的非感染性、非风湿性瓣膜病心内膜炎患者10例为对照组,排除严重的多瓣膜病变,合并其他部位感染、肿瘤、自身免疫疾病等患者。IE组患者年龄48~67岁,男8例、女2例;对照组患者年龄52~71岁,男6例、女4例。2组患者年龄、性别比较差异均无统计学意义(P>0.05)。本研究经我院医学伦理委员会审核批准(2021-162-437x),患者及家属对本研究知情同意。

1.2 方法

患者入院时采血,使用EDTA抗凝管采集外周静脉血4 mL,室温以1 000 g离心10 min,取上层血浆用于12项细胞因子检测。基于流式细胞术,使用12种细胞因子检测试剂盒(杭州赛基生物科技有限公司)检测IL-1β、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-17、IL-12p70、IFN-γ、IFN-α和TNF-α,通过荧光强度分析各细胞因子含量。

同期采集患者空腹静脉血6 mL,其中3 mL采用流式细胞仪进行血常规及白细胞计数、中性粒细胞百分比、淋巴细胞百分比、单核细胞百分比检测。取其余3 mL,采用ELISA法检测降钙素原浓度,试剂盒购自上海恒斐生物科技有限公司。

1.3 统计学分析

采用SPSS 22.0统计学软件进行数据分析,计量资料先行*Shapiro-Wilk*正态性检验,符合正态分布的数据以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,2组间比较采用独立样本t检验;不符合正态分布的数据以中位数(四分位间距)表示,组间比较采用U检验。计数资料组间比较采用χ^2检验。采用*Spearman*系数、*Pearson*系数进行相关性分析。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者血常规、降钙素原的变化及相关性

与对照组相比,IE组患者白细胞计数、中性粒细胞百分比、降钙素原水平显著升高(P<0.05),而淋巴细胞百分比降低(P<0.05);2组患者中单核细胞百分比比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表1。降钙素原水平与白细胞计数呈显著正相关(r=0.911,P<0.001),见图1。

表1 患者血常规与降钙素原水平比较(n=10)

组别	白细胞计数(10^9/L)	中性粒细胞百分比(%)	淋巴细胞百分比(%)	单核细胞百分比(%)	降钙素原(ng/mL)
IE组	10.59±6.01	80.35±9.32	11.90±7.13	6.11±2.67	0.30(0.09,1.18)
对照组	4.96±1.61	60.86±9.35	27.04±8.18	8.25±1.86	0.05(0.03,0.09)
t/U	2.863	4.669	−4.412	−2.080	19.000
P	0.016	<0.001	<0.001	0.052	0.021

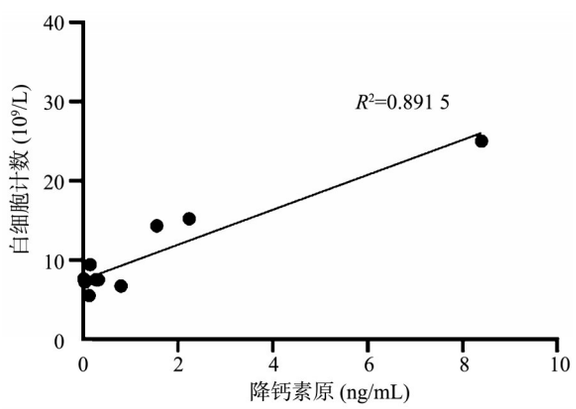


图1 白细胞计数与降钙素原的相关性

2.2 患者中12项细胞因子水平的比较

与对照组相比,IE组患者IL-1β、IL-2、IL-6、IL-10、

TNF-α、IFN-α、IFN-γ、IL-12p70表达水平显著升高(P<0.05),但2组患者IL-4、IL-5、IL-17A、IL-8的表达水平比较,差异无统计学意义(P>0.05),见表2。

2.3 IE患者细胞因子之间的相关性

IE患者的IFN-α与IL-2、TNF-α、IL-1β、IL-12p70呈正相关,IL-2与TNF-α、IL-1β呈正相关,IL-12p70与IFN-γ呈正相关,差异均有统计学意义(r>0,P<0.05),见表3。IE患者中降钙素原与IL-8呈显著正相关(r=0.761,P=0.011),见图2。

表2 患者12项细胞因子水平比较($\bar{x}\pm s$,n=10,pg/mL)

细胞因子	组别	细胞因子水平	t	P	细胞因子	组别	细胞因子水平	t	P
IL-1β	IE组	7.11±5.03	2.728	0.020	IL-10	IE组	10.52±4.63	3.969	0.001
	对照组	2.55±1.63				对照组	4.33±1.69		
IL-2	IE组	2.47±0.98	3.505	0.004	IL-12p70	IE组	7.95±3.66	2.336	0.031
	对照组	1.28±0.44				对照组	4.14±3.64		
IL-4	IE组	3.98±1.93	1.895	0.074	IL-17A	IE组	21.32±17.60	1.996	0.073
	对照组	2.51±1.51				对照组	9.84±4.59		
IL-5	IE组	1.17±0.77	−0.163	0.873	IFN-α	IE组	5.50±1.99	3.524	0.002
	对照组	1.22±0.59				对照组	2.85±1.31		
IL-6	IE组	46.44±29.89	4.262	0.002	IFN-γ	IE组	4.39±1.71	3.339	0.004
	对照组	6.09±1.75				对照组	2.12±1.31		
IL-8	IE组	24.84±15.47	2.200	0.051	TNF-α	IE组	6.50±4.60	2.625	0.017
	对照组	13.61±4.62				对照组	2.49±1.49		

表3 IE患者阳性细胞因子之间的相关性

细胞因子		TNF-α	IFN-γ	IL-1β	IL-12p70	IFN-α
IL-2	r	0.641	0.214	0.665	0.501	0.657
	P	0.046	0.552	0.036	0.141	0.039
TNF-α	r		0.171	0.617	0.264	0.714
	P		0.637	0.058	0.461	0.020
IFN-γ	r			−0.225	0.747	0.319
	P			0.532	0.013	0.370
IL-1β	r				0.179	0.702
	P				0.622	0.024
IL-12p70	r					0.640
	P					0.046

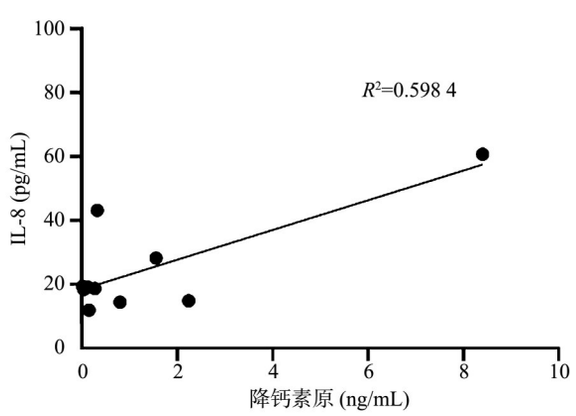


图2 IL-8与降钙素原的相关性

3 讨论

随着现代医学的发展及抗菌药物的迭代,IE的治疗取得了巨大进展,但是其致死率仍较高[14]。据报道,IE的发病率为3/100 000~10/100 000[15]。血培养是IE最重要的诊断方法,通常在18~24 h内得到结果。但血培养阴性率较高,可达20%~60%[16],且血培养阴性IE患者的病死率高达14.3%[15]。因此,对于IE患者,早期、快速、准确地诊断至关重要。

降钙素原是近年来新发现的细菌感染相关指标,血浆降钙素原浓度与机体的感染程度呈正相关,健康人群的降钙素原浓度极低(<0.1 ng/mL)[17]。相关文献报道,降钙素原诊断细菌感染的敏感性为61%,特异性为67%[18],本研究中IE组患者中降钙素原浓度与对照组相比升高,其降钙素原为0.30(0.09,0.18)ng/mL,然而降钙素原的正常参考范围为0~0.5 ng/mL,由此可见IE组降钙素原虽与对照组存在差异,但其中位数在正常参考范围内。以上表明降钙素原检测在IE患者中有一定辅助诊断价值。

细胞因子具有检测快速、特异性高等特点,因而在疾病诊断和监测方面具有优势[20]。细胞因子包括趋化因子、干扰素、白细胞介素、淋巴细胞因子和肿瘤坏死因子等,由巨噬细胞、B淋巴细胞、T淋巴细胞和肥大细胞等免疫细胞、内皮细胞、成纤维细胞和各种基质细胞等产生,一种细胞因子可以由以上一种或多种细胞产生[21]。在发生细菌感染时,IL-6水平即升高,2 h内到达平台期,且升高时间早于降钙素原及C反应蛋白,有利于疾病的早期诊断,可用于机体免疫状态的整体评估[22]。本研究中IE组患者IL-1β、IL-2、IL-6、IL-12p70、TNF-α、IFN-α、IFN-γ呈显著上升趋势,该类细胞因子为抗感染相关细胞因子(增强细胞免疫反应的Ⅰ型细胞因子),主要为机体对感染、损伤、缺血等作出反应而释放,可以导致发热、炎症、组织破坏。本研究在抗炎细胞因子(增强抗体反应的Ⅱ型细胞因子)

中仅发现IL-10显著升高；相关性分析显示，IFN-α与IL-2、TNF-α、IL-1β、IL-12p70呈正相关，IL-2与TNF-α、IL-1β呈正相关，IL-12p70与IFN-γ呈正相关，其原因可能是上述细胞因子本身会刺激相关免疫细胞，从而促进其他细胞因子的释放，上述细胞因子在亚急性IE等慢性炎症过程的免疫反应中发挥重要作用[23-25]。同时，细胞因子还具有多功能性、功能重叠性、相互拮抗性和协同性等多种特性，从而形成十分复杂的细胞因子调节网络[26]。因此，我们认为，在IE患者中，炎症反应呈现功能亢进且失调的态势，且促炎作用明显强于抗炎作用。

综上所述，单纯降钙素原水平并不能全面、准确地反映IE患者的感染情况，建议增加细胞因子检测，可与降钙素原相互补充，综合判断。

[参考文献]

[1] Ortega-Loubon C, Muñoz-Moreno MF, García IA, et al. Nosocomial *vs.* community-acquired infective endocarditis in Spain: location, trends, clinical presentation, etiology, and survival in the 21st century[J]. J Clin Med, 2019, 8: 1755. doi: 10. 3390/jcm8101755.

[2] Pant S, Patel NJ, Deshmukh A, et al. Trends in infective endocarditis incidence, microbiology, and valve replacement in the United States from 2000 to 2011[J]. J Am Coll Cardiol, 2015, 65: 2070-2076. doi: 10. 1016/j. jacc. 2015. 03. 518.

[3] Thornhill MH, Jones S, Prendergast B, et al. Quantifying infective endocarditis risk in patients with predisposing cardiac conditions[J]. Eur Heart J, 2018, 39: 586-595. doi: 10. 1093/eurheartj/ehx655.

[4] Mercier RC, Dietz RM, Mazzola JL, et al. Beneficial influence of platelets on antibiotic efficacy in an in vitro model of Staphylococcus aureus-induced endocarditis[J]. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48(7): 2551-2557. doi: 10. 1128/AAC. 48. 7. 2551-2557. 2004.

[5] Deftos LJ, Roos BA, Parthemore JG. Calcium and skeletal metabolism[J]. West J Med, 1975, 123(6): 447-458.

[6] 向怒涛，申 永. 降钙素原在抗感染治疗中的动态变化研究[J]. 局解手术学杂志，2015，24(4)：443-444. doi：10. 11659/jjssx. 1672-5042. 05E015032.

[7] Knudsen JB, Fuursted K, Petersen E, et al. Procalcitonin in 759 patients clinically suspected of infective endocarditis[J]. Am J Med, 2010, 123(12): 1121-1127. doi: 10. 1016/j. amjmed. 2010. 07. 018.

[8] Mueller C, Huber P, Laifer G, et al. Procalcitonin and the early diagnosis of infective endocarditis[J]. Circulation, 2004, 109(14): 1707-1710. doi: 10. 1161/01. cir. 0000126281. 52345. 52.

[9] Buyykasyk NS, Ileri M, Apler A, et al. Increased blood coagulation and platelet activation in patients with infective endocarditis and embolic events[J]. Clin Cardiol, 2004, 27(3): 154-158. doi: 10. 1002/clc. 4960270312.

[10] 王家瑞，何 金，王 伟，等. 改良VSD方案对烧伤早期创面修复基质金属蛋白及相关细胞因子表达的影响[J]. 局解手术学杂志，2020，29(9)：721-726. doi：10. 11659/jjssx. 06E020008.

[11] Declercq J, Van Damme KFA, De Leeuw E, et al. Effect of anti-interleukin drugs in patients with COVID-19 and signs of cytokine release syndrome(COV-AID): a factorial, randomised, controlled trial[J]. Lancet Respir Med, 2021, 9(12): 1427-1438. doi: 10. 1016/S2213-2600(21)00377-5.

[12] Gao S, Jiang J, Jin C, et al. Interleukin-8 as a candidate for thymoma identification and recurrence surveillance[J]. Nat Commun, 2020, 11(1): 4881. doi: 10. 1038/s41467-020-18697-x.

[13] Schalper KA, Carleton M, Zhou M, et al. Elevated serum interleukin-8 is associated with enhanced intratumor neutrophils and reduced clinical benefit of immune-checkpoint inhibitors[J]. Nat Med, 2020, 26(5): 688-692. doi: 10. 1038/s41591-020-0856-x.

[14] Satoshi N, Kotaro M, Sotaro H, et al. Recent picture of infective endocarditis in Japan--lessons from cardiac disease registration (CADRE-IE)[J]. Circ J, 2013, 77: 1558-1564. doi: 10. 1253/circj. cj-12-1101.

[15] Thuny F, Grisoli D, Collart F, et al. Management of infective endocarditis: challenges and perspectives[J]. Lancet, 2012, 379(9819): 965-975. doi: 10. 1016/S0140-6736(11)60755-1.

[16] Tattevin P, Watt G, Revest M, et al. Update on blood culture-negative endocarditis[J]. Med Mal Infect, 2015, 45(1/2): 1-8. doi: 10. 1016/j. medmal. 2014. 11. 003.

[17] Karzai W, Oberhoffer M, Meier-Hellmann A, et al. Procalcitonin--a new indicator of the systemic response to severe infections[J]. Infection, 1997, 25(6): 329-334. doi: 10. 1007/BF01740811.

[18] Tanriverdi H, Örnek T, Erboy F, et al. Comparison of diagnostic values of procalcitonin, C-reactive protein and blood neutrophil/lymphocyte ratio levels in predicting bacterial infection in hospitalized patients with acute exacerbations of COPD[J]. Wien Klin Wochenschr, 2015, 127(19/20): 756-763. doi: 10. 1007/s00508-014-0690-6.

[19] Jereb M, Kotar T, Jurca T, et al. Usefulness of procalcitonin for diagnosis of infective endocarditis[J]. Intern Emerg Med, 2009, 4(3): 221-226. doi: 10. 1007/s11739-009-0245-4.

[20] Konrad R, Michael M, Frank MB. Markers for sepsis diagnosis: what is useful?[J]. Crit Care Clin, 2006, 22(3): 503-519. doi: 10. 1016/j. ccc. 2006. 03. 003.

[21] 张亮达，戴建强，陈 坤，等. 胸腺肽α1对经口寰枢椎复位内固定术后医院获得性肺炎患者CRP、PCT及免疫细胞亚群的影响[J]. 局解手术学杂志，2020，29(11)：875-878. doi：10. 11659/jjssx. 04E020080.

[22] 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.

[23] Chokkalingam V, Tel J, Wimmers F, et al. Probing cellular heterogeneity in cytokine-secreting immune cells using droplet-based microfluidics[J]. Lab Chip, 2023, 13(24): 4740-4744. doi: 10. 1039/c3lc50945a.

[24] Carpenter LR, Moy JN, Roebuck KA. Respiratory syncytial virus and TNF alpha induction of chemokine gene expression involves differential activation of Rel A and NF-kappa B1[J]. BMC Infect Dis, 2002, 2: 5. doi: 10. 1186/1471-2334-2-5.

[25] Tian B, Nowak DE, Brasier AR, et al. A TNF-induced gene expression program under oscillatory NF-kappaB control[J]. BMC Genomics, 2005, 6: 137. doi: 10. 1186/1471-2164-6-137.

[26] Kany S, Vollrath JT, Relja B. Cytokines in inflammatory disease[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(23): 6008. doi: 10. 3390/ijms20236008.

（编辑：龙小芬）