



[DOI]10.3969/j.issn.1001-9057.2021.09.005

http://www.lcnkz.com/CN/10.3969/j.issn.1001-9057.2021.09.005

· 综述与讲座 ·

# 脓毒症相关的免疫抑制:生物标志物的监测与挑战

朱鹏 余跃天 潘纯

**【摘要】** 脓毒症具有高发病率、高病死率的临床特征,早期识别脓毒症的发生、发展有助于及时进行临床干预,进而改善患者临床预后。目前的研究认为免疫功能紊乱是脓毒症发病的关键环节,而且已经证实免疫抑制是脓毒症发病的重要机制。脓毒症免疫相关生物标志物可对免疫功能抑制产生相应的变化,脓毒症相关免疫抑制生物标志物的监测可用于制定治疗策略、预测临床预后,并为探索脓毒症免疫疗法提供思路。

**【关键词】** 脓毒症; 免疫功能紊乱; 固有免疫; 适应性免疫; 生物标志物

**【中图分类号】** R631 **【文献标识码】** A

脓毒症是指机体对感染导致的宿主免疫功能失调而引起的危及生命的器官功能障碍<sup>[1]</sup>。全球每年约有 3 000 万患者罹患脓毒症,其中约有 500 万患者死亡。Rhee 等<sup>[2]</sup>的流行病学研究发现,在 2009 ~ 2014 年期间美国 409 家医院的成人住院患者中脓毒症的发生率为 6%;一项研究通过对德国 95 家医院 133 个 ICU 的调查发现,ICU 脓毒症的发生率为 12.6%,病死率达 44.3%。免疫功能紊乱是导致脓毒症预后不良的主要因素,并且在脓毒症病情恶化之前,患者的免疫功能已经出现变化,其中免疫功能抑制是导致脓症患者不良预后的主要原因<sup>[3]</sup>。因此,早期监测及评价免疫功能的变化有助于预测脓毒症的发生与发展<sup>[4]</sup>。

## 一、脓毒症相关免疫功能紊乱不容忽视

免疫功能的紊乱是脓毒症发病的重要临床特征。人体的免疫屏障包括皮肤、黏膜及细胞紧密连接组成的解剖/生理屏障,白细胞、自然杀伤(NK)细胞和巨噬细胞等组成的固有免疫,T 细胞及 B 细胞组成的适应性免疫,还有抗菌肽、脂多糖(LPS)结合蛋白、C 反应蛋白等组成的免疫分子。脓毒症引起的免疫功能变化包括免疫功能亢进和免疫功能抑制。免疫功能亢进可直接导致患者器官功能损伤,在数天或数周内引起死亡,也可由固有免疫功能失调引起持续的炎症反应、细

胞因子释放减少、吞噬作用下降等,进而引起反复的感染、持续器官功能损伤最终导致不良结局;免疫功能抑制会导致适应性免疫功能的异常,包括 T 细胞功能丧失及增殖下降、淋巴细胞凋亡、辅助性 T 细胞(Th)1 向 Th2 极化等,进而引起机会性感染的发生及不良预后<sup>[5]</sup>。Boomer 等<sup>[6]</sup>通过比较脓毒症与非脓毒症患者的尸检结果发现,脓毒症死亡患者的脾细胞在受到抗 CD3 和 CD28 刺激 5 小时后炎症因子肿瘤坏死因子(TNF)- $\alpha$ 、干扰素(INF)- $\gamma$ 、白细胞介素(IL)-6 和 IL-10 的分泌量明显减少,脾细胞和肺上皮细胞表面 CD4、CD8 和人白细胞细胞抗原(HLA-DR)的表达明显减少甚至缺乏,提示脓毒症会引起患者免疫功能抑制,进而导致预后不良。近年来,随着对脓毒症相关免疫抑制的认识,以脓毒症相关免疫抑制为靶点的免疫疗法引起越来越多学者的重视。

## 二、脓毒症相关免疫抑制的监测指标及应用价值

脓毒症相关生物标志物能够预测脓毒症免疫功能的变化及相关临床预后。Textori 等<sup>[7]</sup>观察发现,脓毒症状态下的血浆免疫生物标志物水平较生理状态明显升高,并发现免疫生物标志物水平与临床预后相关;这表明免疫生物标志物可用于脓毒症的监测,并对临床具有重要的指导意义。脓毒症免疫功能的抑制需要借助于免疫细胞及树突状细胞的凋亡、活化细胞表面分子的表达下降、抑制性 T 细胞的增加、抗炎因子释放的增加等指标进行评价。经典的脓毒症免疫抑制生物标志物检测方法包括 Toll 样受体(TLR)诱导的 TNF

作者单位:810012 西宁,青海大学附属医院重症医学科(朱鹏);上海交通大学医学院附属仁济医院重症医学科(余跃天);东南大学附属中大医院重症医学科(潘纯)

通讯作者:潘纯, E-mail: panchun1982@gmail.com

反应、单核细胞的 HLA-DR、淋巴细胞计数及亚型分析、淋巴细胞增殖功能、Th1 向 Th2 分化、血浆 IL-10 水平和调节性 T 细胞 (Treg) 数量等。

### 1. 淋巴细胞计数及亚型分析

在通常情况下,机体对感染的反应为淋巴细胞数量增加,而脓毒症患者往往表现为淋巴细胞数量减少。现已发现死于脓毒症的患者淋巴细胞数量明显低于存活者<sup>[8]</sup>,相关研究已经证实脓症患者持续性淋巴细胞数量减少是其 28 天和 1 年病死率的预测指标<sup>[9]</sup>; Hohlstein 等<sup>[10]</sup>发现淋巴细胞亚群变化可作为危重症患者临床预后的预测指标,但与脓毒症无关;然而有研究发现,CD4<sup>+</sup>CD27<sup>+</sup>T 细胞和 CD4<sup>+</sup>CD27<sup>-</sup>CD28<sup>-</sup>T 细胞中 OX40<sup>+</sup>细胞比例可预测脓症患者 28 天死亡率,NK 细胞计数 >87 个/ml 时可预测脓症谵妄,其敏感性及特异性分别为 80.2% 和 80.8%<sup>[11-12]</sup>。

### 2. Treg 细胞数量的改变

Treg 细胞具有免疫无反应性与免疫抑制性两大特征,可通过抑制 CD4<sup>+</sup>效应 T 细胞和抗原提呈细胞、破坏效应 T 细胞和 B 细胞等途径发挥免疫抑制作用<sup>[13]</sup>。有研究表明 IL-33 可激活 2 型固有淋巴样细胞,产生 IL-4 和 IL-13,进而促进 M2 巨噬细胞极化,通过 IL-10 促进 Treg 细胞群的扩张,经 Treg 细胞的介导,导致脓毒症相关免疫抑制<sup>[14]</sup>。相关研究发现,循环 Treg 细胞百分率的增加与淋巴增殖反应的降低显著相关,提示循环 Treg 细胞的相对增加可能在脓毒症休克后的淋巴细胞无能中起作用,并可作为脓毒症后增殖能力下降的替代标志物<sup>[15]</sup>。此外,在脓毒症小鼠模型中,大脑皮层中浸润的 Treg 细胞已被证明可介导神经炎症的消退,缓解脓毒症小鼠的焦虑/抑郁行为<sup>[16]</sup>,这给脓毒症脑病的治疗提供了新的思路。

### 3. 树突状细胞 (DC) 数量的减少

DC 作为适应性免疫应答的始动者,是诱导 T 细胞活化的抗原提呈细胞,DC 数量下降或功能障碍在脓毒症相关免疫抑制过程中意义重大。脓毒性休克与 ICU 获得性感染均已被发现与 DC 数量减少有关<sup>[17]</sup>,这提示 DC 数量减少对早期识别脓毒性休克与预防 ICU 获得性感染有重要的价值。

### 4. 单核细胞人白细胞抗原的表达

单核细胞人白细胞抗原是临床最常用反映免疫功能的指标,在抗原提呈过程中起重要作用,其持续低表达是脓毒症相关免疫抑制的特征。(1)单核细胞人白细胞抗原评估可识别死亡及继发感染高危患者:脓毒性休克发生 48 小时后单核细胞人白细胞抗原/CD14<sup>+</sup>表达下调的患者 28 天病死率显著增高<sup>[18]</sup>,单核细胞人白细胞抗原的表达下调与患者医院获得性感染发病

率增高相关<sup>[19]</sup>。(2)脓毒性休克发生后单核细胞人白细胞抗原监测可预测脓毒症预后及指导治疗:单核细胞人白细胞抗原的低表达与脓毒症的临床恶化有关<sup>[20]</sup>,持续的单核细胞人白细胞抗原低表达可作为免疫调节治疗指征,并且可预测感染性休克患者的不良预后,约半数患者可从免疫调节治疗中获益。

### 5. 程序性死亡受体-1 (PD-1) 和程序性死亡受体配体-1 (PD-L1) 的表达

PD-1 属于负性共刺激因子,与 PD-L1 偶联,可抑制免疫细胞活化与增殖,抑制细胞因子产生。PD-L1/PD-1 通路激活可使 CD4<sup>+</sup>和 CD8<sup>+</sup>T 细胞减少,导致脓毒症相关免疫抑制<sup>[21]</sup>。PD-1 和 PD-L1 抗体已被证明可提高脓毒症动物模型的总体存活率,其安全性也在脓症患者临床试验中得到证实<sup>[22]</sup>,提示 PD-1 和 PD-L1 有望成为脓毒症治疗的潜在靶点。最近研究表明,脓症患者中性粒细胞上 PD-L1 可与 PI3-K 的 P85 亚基形成复合物,该复合物可使 AKT 磷酸化进而延迟中性粒细胞凋亡,导致肺损伤和死亡率增加<sup>[23]</sup>;一项前瞻性观察队列研究结果发现,脓症患者 NK 细胞 PD-L1 表达水平升高,其 28 天死亡率也随之升高<sup>[24]</sup>,这提示中性粒细胞及 NK 细胞上 PD-L1 增加可预测患者的不良预后。

### 6. 免疫相关因子

免疫相关因子也可作为免疫功能抑制的生物标志物对脓症患者免疫功能的抑制情况进行预测。其中 IL-10 和微小 RNA (microRNA, miR)-155 可作为预测脓毒症免疫功能抑制的潜在标志物。

#### (1) IL-10 表达增加

IL-10 是由单核巨噬细胞和 T 细胞分泌的抗炎因子,能够抑制 Th1 细胞合成促炎因子,从而抑制免疫应答。IL-10 可抑制单核细胞表面组织相容性复合物表达,下调 TNF-α 表达,抑制巨噬细胞杀菌活性。近来研究表明,IL-10 可促进 S100A9 核定位,并通过 S100A9 诱导 miR-21 和 miR-181b 的表达,进而促进脓毒症骨髓来源的抑制性细胞 (MDSC) 的增殖和免疫抑制<sup>[25-26]</sup>。

#### (2) miR-155 的升高

MiR-155 是一类小的非编码 RNA,可与靶 mRNAs 的 3' 非翻译区结合来调节基因表达,并与自身免疫性疾病有关<sup>[27]</sup>。一项纳入 60 例脓症患者与 30 例健康者的研究结果显示,脓症患者血清 miR-155 较健康人群水平显著升高,且与脓毒症严重程度呈正比,当 miR-155 > 2.47 时,患者 28 天生存率较低<sup>[28]</sup>,此外 miR-155 抑制剂已被证实可在盲肠结扎穿刺法建立小鼠脓毒症模型中减轻其炎症反应<sup>[29]</sup>,因此,miR-155

可作为脓毒症预后的生物标志物,并可作为脓毒症治疗的潜在靶点。

### 三、脓毒症相关免疫抑制监测的应用前景

既往研究认为,炎症反应是脓毒症发生的关键环节,炎性标志物往往被用于评估脓毒症的严重程度,并根据炎症指标的水平制定治疗策略。目前发现免疫失衡才是脓毒症的根本所在,固有免疫障碍与适应性免疫抑制的关系导致持续的炎症是脓毒症器官功能障碍的关键<sup>[30]</sup>,但目前对脓毒症相关免疫抑制的了解仍然有限。生物标志物的监测有助于进一步认识脓毒症相关免疫抑制,一旦突破,或许可改变脓毒症治疗现状,带来质的飞跃。脓毒症相关生物标志物的监测已经开展,并在评估免疫状态中显示出良好的应用前景,但目前仅小部分应用于临床,大部分反映免疫抑制的标志物仍处于实验室阶段,且检测方法存在异质性,临床及基础研究有待进一步推进。此外单一的标志物难以完全反映脓毒症免疫抑制状态的全貌,临床需要联合监测。

综上所述,脓毒症相关免疫抑制在脓毒症致病过程中起重要的作用,部分免疫细胞、免疫分子及微小 RNA 可作为脓毒症相关免疫抑制的监测指标。其中一些脓毒症相关免疫抑制生物标志物有望成为脓毒症治疗的潜在靶点,或有助于预测脓毒症的临床预后,但目前由于技术的限制,临床未能广泛应用,生物标志物及其监测手段仍需进一步研究。

### 参 考 文 献

- [1] 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.
- [2] Rhee C, Dantes R, Epstein L, et al. Incidence and Trends of Sepsis in US Hospitals Using Clinical vs Claims Data, 2009-2014 [J]. *JAMA*, 2018, 318(13):1241-1249.
- [3] SepNet Critical Care Trials Group. Incidence of severe sepsis and septic shock in German intensive care units: the prospective, multicentre INSEP study [J]. *Intensive Care Med*, 2016, 42(12):1980-1989.
- [4] Lasola JJM, Kamdem H, McDaniel MW, et al. Biomaterial-Driven Immunomodulation: Cell Biology-Based Strategies to Mitigate Severe Inflammation and Sepsis [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1726.
- [5] Hotchkiss RS, Monneret G, Payen D. Sepsis-induced immunosuppression; from cellular dysfunctions to immunotherapy [J]. *Nat Rev Immunol*, 2013, 13(12):862-874.
- [6] Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure [J]. *JAMA*, 2011, 306(23):2594-2605.
- [7] Textoris J. Immunity check should be performed for all patients with septic shock? Yes [J]. *Intensive Care Med*, 2020, 46(3):503-505.
- [8] Duan S, Jiao Y, Wang J, et al. Impaired B-Cell Maturation Contributes to Reduced B Cell Numbers and Poor Prognosis in Sepsis [J]. *Shock*, 2020, 54(1):70-77.
- [9] Drewry AM, Samra N, Skrupky LP, et al. Persistent lymphopenia after diagnosis of sepsis predicts mortality [J]. *Shock*, 2014, 42(5):383-391.
- [10] Hohlstein P, Gussen H, Bartneck M, et al. Prognostic Relevance of Altered Lymphocyte Subpopulations in Critical Illness and Sepsis [J]. *J Clin Med*, 2019, 8(3):353.
- [11] Lu Y, An L, Liu Q, et al. Expression and Clinical Correlations of Costimulatory Molecules on Peripheral T Lymphocyte Subsets of Early-Stage Severe Sepsis: A Prospective Observational Study [J]. *Shock*, 2018, 49(6):631-640.
- [12] Li D, Zhang J, Bai G, et al. Lymphocyte and NK Cell Counts Can Predict Sepsis-Associated Delirium in Elderly Patients [J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12:621298.
- [13] Bergmann CB, Beckmann N, Salyer CE, et al. Lymphocyte Immunosuppression and Dysfunction Contributing to Persistent Inflammation, Immunosuppression, and Catabolism Syndrome (PICS) [J]. *Shock*, 2021, 55(6):723-741.
- [14] Nascimento DC, Melo PH, Pineros AR, et al. IL-33 contributes to sepsis-induced long-term immunosuppression by expanding the regulatory T cell population [J]. *Nat Commun*, 2017, 8:14919.
- [15] Venet F, Chung CS, Kherouf H, et al. Increased circulating regulatory T cells [CD4(+)CD25(+)CD127(-)] contribute to lymphocyte anergy in septic shock patients [J]. *Intensive Care Med*, 2009, 35(4):678-686.
- [16] Montague-Cardoso K. T cells in the brain may contribute to attenuation of sepsis-associated depression [J]. *Commun Biol*, 2021, 4(1):379.
- [17] Grimaldi D, Louis S, Pene F, et al. Profound and persistent decrease of circulating dendritic cells is associated with ICU-acquired infection in patients with septic shock [J]. *Intensive Care Med*, 2011, 37(9):1438-1446.
- [18] Monneret G, Lepape A, Voirin N, et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock [J]. *Intensive Care Med*, 2006, 32(8):1175-1183.
- [19] Landelle C, Lepape A, Voirin N, et al. Low monocyte human leukocyte antigen-DR is independently associated with nosocomial infections after septic shock [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36(11):1859-1866.
- [20] Shankar-Hari M, Datta D, Wilson J, et al. Early Prediction of sepsis using leukocyte surface biomarkers; the EXPRES-sepsis cohort study [J]. *Intensive Care Med*, 2018, 44(11):1836-1848.
- [21] Ruan WS, Feng MX, Xu J, et al. Early Activation of Myeloid-Derived Suppressor Cells Participate in Sepsis-Induced Immune Suppression via PD-L1/PD-1 Axis [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:1299.
- [22] Nakamori Y, Park EJ, Shimaoka M. Immune Deregulation in Sepsis and Septic Shock: Reversing Immune Paralysis by Targeting PD-1/PD-L1 Pathway [J]. *Front Immunol*, 2020, 11:624279.
- [23] Wang JF, Wang YP, Xie J, et al. Upregulated PD-L1 delays human neutrophil apoptosis and promotes lung injury in an experimental animal model of sepsis [J]. *Blood*, 2021. [Epub ahead of print]
- [24] Jiang W, Li X, Wen M, et al. Increased percentage of PD-L1(+) natural killer cells predicts poor prognosis in sepsis patients; a prospective observational cohort study [J]. *Crit Care*, 2020, 24(1):617.
- [25] Alkhateeb T, Kumbhare A, Bah I, et al. S100A9 maintains myeloid-derived suppressor cells in chronic sepsis by inducing miR-21 and miR-181b [J]. *Mol Immunol*, 2019, 112:72-81.
- [26] Bah I, Kumbhare A, Nguyen L, et al. IL-10 induces an immune repressor pathway in sepsis by promoting S100A9 nuclear localization and MDSC development [J]. *Cell Immunol*, 2018, 332:32-38.
- [27] Chen M, Wang F, Xia H, et al. MicroRNA-155; Regulation of Immune Cells in Sepsis [J]. *Mediators Inflamm*, 2021, 2021:8874854.
- [28] Liu J, Shi K, Chen M, et al. Elevated miR-155 expression induces immunosuppression via CD39(+) regulatory T-cells in sepsis patient [J]. *Int J Infect Dis*, 2015, 40:135-141.
- [29] Cao YY, Wang Z, Wang ZH, et al. Inhibition of miR-155 alleviates sepsis-induced inflammation and intestinal barrier dysfunction by inactivating NF-kappaB signaling [J]. *Int Immunopharmacol*, 2021, 90:107218.
- [30] Delano MJ, Ward PA. The immune system's role in sepsis progression, resolution, and long-term outcome [J]. *Immunol Rev*, 2016, 274(1):330-353.

(收稿日期:2021-07-06)

(本文编辑:余晓曼)