

• 论著-研究报告 •

脓毒症相关急性肾损伤患者外周血调节性 T 细胞水平
与肾功能恢复的关系*郝迎迎¹ 虞竹溪¹ 钱雅君¹ 唐健¹ 刘宁¹ 顾勤¹

[摘要] 目的:观察脓毒症相关急性肾损伤患者外周血调节性 T 细胞的变化,明确其与肾功能恢复的关系。方法:选择符合脓毒症相关急性肾损伤诊断标准的患者为研究对象,排除预期 7 d 内转出或死亡的患者。在入 ICU 时、病程 7 d、14 d(D1、D7、D14)留取外周血标本,应用流式细胞仪检测 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性 T 细胞(Treg)水平,随访观察时间为 28 d,主要观察指标为肾功能水平是否恢复。结果:根据 SSC 指南及 KDIGO 指南提出的脓毒症相关急性肾损伤(AKI)的诊断标准,南京鼓楼医院 ICU 在 2017-01—2017-08 期间共入选患者 28 例。发生急性肾损伤 1 期、2 期、3 期患者分别为 7 例、7 例和 14 例。随访至 28 d 时,16 例患者肾功能恢复至正常,12 例患者肾功能未恢复。肾功能恢复组的患者在入院时的 APACHE II 评分较未恢复组低,两组分别是(19.8±4.9)分和(24.9±5.0)分($P<0.05$)。入院时两组的 CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺调节性 T 细胞水平差异无统计学意义(3.43±1.88 vs. 3.20±2.04, $P>0.05$),但肾功能恢复组的患者 Treg 细胞水平随病程逐渐上升,未恢复组的患者 Treg 细胞水平呈逐渐下降趋势,其中,肾功能恢复者在第 14 天的 Treg 水平远远高于肾功能未恢复者(3.89±1.56 vs. 1.76±0.45, $P<0.05$)。且肾功能恢复组的患者第 14 天 Treg 细胞水平较基线的上升率为 1.32±0.70,而未恢复组的患者仅为基线水平的 0.59±0.31($P<0.05$)。此外,将急性肾损伤的程度与 Treg 细胞的水平做进一步统计分析,发现急性肾损伤 1 期、2 期及 3 期的 3 组患者在入院时及第 7 天、第 14 天的 Treg 细胞水平均差异无统计学意义($P>0.05$)。结论:脓毒症相关急性肾损伤患者存在 Treg 细胞的异常,Treg 细胞的水平与急性肾损伤的程度无相关性。急性肾损伤患者外周血 Treg 细胞水平逐渐升高,预示着肾功能的恢复。D7、D14 时 Treg 细胞水平的快速上升可能成为脓毒症相关急性肾损伤患者肾功能恢复的预测指标。

[关键词] 脓毒症;急性肾损伤;调节性 T 细胞;肾脏修复;免疫紊乱

doi:10.13201/j.issn.1009-5981.2019.07.006

[中图分类号] R631 **[文献标志码]** A

Changes of regulator T cells in patients with sepsis-induced acute kidney injury and the relationship with renal repair

HAO Yingying YU Zhuxi QIAN Yajun TANG Jian LIU Ning GU qin

(Department of Critical Care Medicine, the Affiliated Drum Tower Hospital of Nanjing University Medical School, Nanjing, 210008, China)

Corresponding author: GU qin, E-mail: icuguqin@sina.com

Abstract Objective: To investigate the level of regulator T cells in peripheral blood of patients with sepsis-induced acute kidney injury and the relationship with renal repair. **Method:** Patients with sepsis-induced acute kidney injury admitted in Intensive Care Unit were enrolled. CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺ regulator T cells were measured using flow cytometry on the day of enrolled and Day 7, Day 14. All the patients are followed up for 28 days. **Result:** A total of 28 patients with sepsis-induced acute kidney injury from Jan. 2017 to Aug. 2017 were enrolled in the study and divided into recovery group(16 cases) and non-recovery group(12 cases) according to the renal function in D28. Compared with non-recovery group, the recovery group had the lower APACHE II score(19.8±4.9 vs. 24.9±5.0, $P<0.05$). The level of Treg cells in peripheral blood in recovery group was the same as the non-recovery group at the baseline, but significantly higher than those in the non-recovery group in D14(3.89±1.56 vs. 1.76±0.45, $P<0.05$). Treg cells level in the recovery group gradually increased during the course of the disease, but remained low in the non-recovery group. Additionally, there were no statistical difference in between Treg cells level and severity of acute kidney injury. **Conclusion:** Treg cells level was lower in patients with sepsis-

* 基金项目:南京市医学科技发展项目(No:YKK18094)

¹ 南京大学医学院附属鼓楼医院重症医学科(南京,210008)

通信作者:顾勤,E-mail:icuguqin@sina.com

induced acute kidney injury, but gradually increased in recovery group. No relevance was found between the Treg cells level and the classification of acute kidney injury. The rapidly increase of Treg cells may predict the renal repair of patients with sepsis-induced acute kidney injury.

Key words sepsis; acute kidney injury; regulator T cell; renal repair; immune disorder

急性肾损伤(acute kidney injury, AKI)是ICU中临床常见的危重病之一,常由脓毒症、休克、烧伤、药物等多种因素引起,发生率高达50%左右,约20%的患者需连续肾脏替代治疗(continuous renal replacement therapy, CRRT)支持^[1],且合并了急性肾损伤的重症患者病死率高^[2]。ICU患者中脓毒症是引起急性肾损伤的主要因素,部分患者待脓毒症控制后,肾功能可逐渐恢复,但有部分患者肾功能则难以恢复。影响肾功能恢复的因素目前尚未完全明确,高龄、疾病的严重度、合并症、是否行CRRT可能与其相关^[3]。我们的前期研究发现,T细胞亚群与脓毒症的发生发展密切相关^[4],近年来的研究也表明,各种免疫细胞也是影响急性肾损伤患者转归的重要因素,调节性T细胞是其中重要的参与免疫调节及组织修复的细胞之一^[5]。本研究通过观察脓毒症继发急性肾损伤患者外周血Treg细胞的动态变化,评估患者免疫状态及其与肾功能恢复的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

2017-01—2017-08期间我院重症医学科收治的脓毒症相关急性肾损伤患者,符合KDIGO指南提出的急性肾损伤的诊断标准及分期^[6]。急性肾损伤定义为:48 h内血肌酐增高 ≥ 0.3 mg/dl(≥ 26.5 $\mu\text{mol/L}$);或血肌酐增高至 \geq 基础值的1.5倍,且明确或经推断其发生在之前7 d之内;或持续6 h尿量 < 0.5 ml \cdot kg⁻¹ \cdot h⁻¹。急性肾损伤分期1期定义为血肌酐值为基础值的1.5~1.9倍或增加 ≥ 0.3 mg/dl(≥ 26.5 $\mu\text{mol/L}$),或尿量 < 0.5 ml \cdot kg⁻¹ \cdot h⁻¹持续6~12 h;急性肾损伤分期2期定义为血肌酐值为基础值的2.0~2.9倍,或尿量 < 0.5 ml \cdot kg⁻¹ \cdot h⁻¹ ≥ 12 h;急性肾损伤分期3期定义为血肌酐值为基础值的3.0倍,或血肌酐增至4.0 mg/dl(≥ 353.6 $\mu\text{mol/L}$),或开始肾脏替代治疗,或 ≤ 18 岁的患者,eGFR下降至 < 35 (ml \cdot min⁻¹)/1.73 m²,或尿量 < 0.3 ml \cdot kg⁻¹ \cdot h⁻¹ ≥ 24 h,或无尿12 h。共入组28例患者,排除恶性肿瘤放化疗、器官移植、长期应用免疫抑制剂及激素的患者,排除既往有慢性肾脏病、慢性肾小球肾炎、间质性肾炎、肾血管炎、肾脏肿瘤、甲状腺疾病等基础疾病,并排除既往曾有急性肾损伤或曾行CRRT

患者,及姑息治疗、预期住院时间小于1周的患者。入选患者均在全面了解本研究方案的基础上,签署知情同意书,研究获鼓楼医院伦理委员会批准。所有入选的患者均给予抗感染、器官功能支持,根据病情需要予液体复苏、呼吸循环支持、CRRT等。患者随访周期为28 d,根据28 d的肾功能恢复情况将患者分为恢复组与未恢复组。

1.2 检测指标及方法

选择符合脓毒症急性肾损伤诊断的患者为研究对象,在入ICU时、病程7 d、14 d留取外周血标本(D1、D7、D14),应用流式细胞仪检测CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺T细胞,代表Treg细胞水平。

1.3 统计学方法

用SPSS 22.0软件进行统计学分析。计量资料数据采用 $\bar{x} \pm s$,正态分布采用独立样本 t 检验及方差分析,非正态分布采用非参数检验比较组间差异, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 基本资料比较

根据入选标准,共入组患者28例,合并休克15例;急性肾损伤1期、2期、3期患者分别为7例、7例、14例。男19例,女9例,平均年龄(61.0 \pm 19.6)岁,APACHE II评分(22.0 \pm 5.5)分。随访结束时,肾功能恢复16例(最终病情好转者14例,未好转2例),未恢复12例(最终病情好转者3例,未好转9例)。见表1。

2.2 两组患者各时间点Treg细胞的变化

入院时两组Treg细胞水平差异无统计学意义(3.43 \pm 1.88 vs. 3.20 \pm 2.04, $P > 0.05$),但肾功能恢复组的患者Treg细胞水平随病程逐渐上升,第7天及第14天分别是3.30 \pm 1.64和3.89 \pm 1.56。未恢复组的患者Treg细胞水平呈逐渐下降趋势,第7天及第14天分别是2.38 \pm 0.88和1.76 \pm 0.45。其中,第14天的Treg水平两组差异有统计学意义($P < 0.05$,图1)。

肾功能恢复组的患者Treg细胞水平在第14天时升高最快,较基线的上升率为1.32 \pm 0.70,而未恢复组的患者仅为基线水平的0.59 \pm 0.31($P < 0.05$,图2)。

2.3 急性肾损伤的程度与Treg水平的关系

急性肾损伤1期、2期及3期3组患者在入院

时及第 7 天、第 14 天的 Treg 细胞水平均差异无统计学意义($P>0.05$,图 3)。

2.4 Treg 水平与脓毒症患者转归的关系

按照 D28 病情,将患者分为好转组与无好转组,两组患者在入院时及第 7 天、第 14 天的 Treg 细胞水平均差异无统计学意义($P>0.05$,图 3)。

表 1 肾功能恢复组与未恢复组一般情况

项目	例, $\bar{x} \pm s$		P
	恢复组 (16 例)	未恢复组 (12 例)	
性别			
男	11	8	
女	5	4	
年龄/岁	57.4±22.3	65.8±14.9	>0.05
脓毒症来源			
腹腔感染	7	3	
创面感染	2	2	
重症肺炎	2	5	
菌血症	3	2	
泌尿系统感染	2	0	
急性肾损伤分期			
1 期	7	0	
2 期	3	4	
3 期	8	6	
APACHE II 评分	19.8±4.9	24.9±5.0	<0.05

3 讨论

急性肾损伤是由于各种原因,包括脓毒症、药物、缺血缺氧等,导致肾功能在短期内迅速恶化的一类疾病,其中,脓毒症导致的急性肾损伤在 ICU 患者中十分常见。AKI 的主要表现为尿量的减少和肌酐的升高,根据 KDIGO 指南,AKI 可分为 1 期、2 期和 3 期,当脓毒症得到控制后,部分患者肾功能可恢复,但部分患者恢复困难,甚至进展为慢

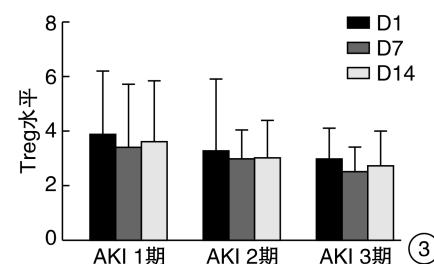
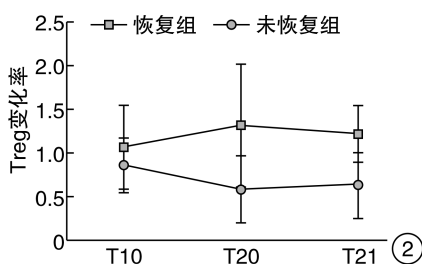
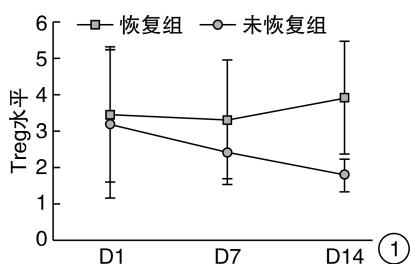
性肾脏病、长期依赖血液净化治疗。

目前的研究显示,当原发因素诱导肾功能损害后,免疫细胞与炎症是导致肾功能持续损害及加重的重要因素,包括 CD4+T 细胞、树突状细胞(DC)、巨噬细胞、NK 细胞、调节性 T 细胞(Treg)等^[7]。同时,它们也参与了组织修复的过程,影响着肾功能的恢复^[8]。其中,Treg 细胞是一类重要的免疫调节细胞,在组织修复中起到重要作用。本研究结果也提示,脓毒症相关急性肾损伤患者外周血 Treg 水平逐渐升高,与肾功能的恢复密切相关。

Treg 细胞是一类 CD4+T 细胞亚群,表面高表达 CD25,胞质中表达 Foxp3 转录因子,具有免疫负性调控作用。Treg 对 T 细胞、B 细胞等的活化均有一定的抑制作用,而且可以通过调节 Th1/Th2 的平衡影响机体的免疫状态,在脓毒症、肿瘤、自身免疫疾病中发挥重要的作用^[9]。此外,Th17 和 Treg 细胞保持着动态平衡,维持机体的免疫稳态。Lee 等^[10] 研究结果提示,转化生长因子-β(TGF-β)可促进活化的 CD4+T 细胞向 Treg 转化,但其和 IL-6 共同作用下,活化的 CD4+T 细胞则向 Th17 转化。

在创伤引起的脓毒症患者中,作为重要的抗炎细胞,外周血 Treg 细胞比例较对照组明显升高,Th17/Treg 比例明显上升,且脓毒症休克、重症脓毒症患者的 Th17/Treg 比例均高于轻症脓毒症患者^[11]。在自身免疫性疾病系统性红斑狼疮中,主要表现为外周血 Th17 细胞升高、Treg 细胞减少、Th17/Treg 细胞比例失调^[12]。自身免疫性肝炎的患者肝脏内 Treg 细胞显著增多,经治疗后,Treg 细胞不成比例的下降。另有学者研究表明,活动期的自身免疫性肝炎患者 Treg 细胞较多,Treg 细胞的数量可能随炎症程度而加重,提示疾病的严重程度可能也影响了 Treg 细胞的数量^[13-14]。

同时,Treg 细胞作为重要的免疫负性调控细胞,可以促进抗炎因子的转化,有利于组织修复。



T10:D7 的 Treg 水平较基线的变化;T20:D14 的 Treg 水平较基线的变化;T21:D14 的 Treg 水平较 D7 的变化。

图 1 肾功能恢复组与未恢复组的患者各时间点 Treg 的变化; 图 2 肾功能恢复组与未恢复组的患者各时间点 Treg 变化率的比较; 图 3 不同 AKI 分期与 Treg 水平的关系

急性肺损伤时,Treg细胞在肺泡内是一个动态变化的过程,它可以增加TGF- β 的表达,促进中性粒细胞凋亡、炎性因子转化为抗炎型,从而使肺泡内由急性促炎状态逐渐转化为抗炎修复环境^[15]。此外,也可以通过调节Th17/Treg的平衡来促进急性肺损伤中肺泡的修复。Wang等^[16]的研究表明,Th17细胞、中性粒细胞、巨噬细胞是引起急性肺损伤中肺泡长期炎症的主要因素,阻断了Th17后,IL-17和IL-22受到抑制,中性粒细胞、巨噬细胞的招募被抑制,CD4⁺CD25⁺FOXP3⁺Treg细胞有所增加,急性肺损伤炎症得以控制。

在肾脏缺血再灌注损伤模型中,也可发现相似的结果。在肾缺血预适应中时,可产生一定数量的Treg细胞,当后续发生更严重的缺血再灌注损伤时,Treg细胞可以抑制这种免疫反应^[17]。应用抗CD25单抗后,Treg细胞显著减少,肾小管坏死增加,T淋巴细胞浸润增多,细胞因子如TNF- α 、IFN- γ 显著增加;而输注了Treg细胞则可减少IFN- γ 的产生而促进肾组织修复,推测Treg细胞也许能成为治疗肾脏缺血再灌注损伤的新手段^[18]。

我们的研究主要关注了脓毒症相关急性肾损伤患者外周血Treg细胞的水平,并分析肾功能是否恢复与外周血Treg细胞水平相关。结果显示,AKI患者早期Treg细胞处于低水平,说明此类患者均存在免疫功能失调。随着疾病的发展,肾功能恢复的患者外周血Treg水平逐渐升高,而未恢复组的患者Treg水平持续较低甚至呈下降趋势,提示Treg细胞可能提供了一个抗炎、组织修复的微环境,在肾脏修复中起到重要作用,这点与过去的研究结论相近。既往对肾功能的严重程度进行进一步分层、分析其与Treg细胞的关系的报道较少,本研究将急性肾损伤患者严重程度按KDIGO指南进行分期,结果显示,AKI的分期与Treg绝对值水平无相关性;在预测脓毒症相关急性肾损伤后肾功能是否可恢复中,外周血Treg的动态变化比其绝对值更加可靠。

因此,我们认为,脓毒症相关急性肾损伤患者存在Treg细胞的异常,但Treg细胞的水平与AKI的严重程度无相关性。脓毒症相关急性肾损伤患者外周血Treg细胞水平的快速升高,可能预示着肾功能的恢复。此外,我们观察到脓毒症相关急性肾损伤患者肾功能的恢复与病情的恢复并不完全一致。Treg细胞水平可能与脓毒症有一定关系,但因为非脓毒症AKI的患者数较少,本研究仅纳入了脓毒症患者,今后会纳入非脓毒症患者作为对

照进一步研究。

参考文献

- [1] Hoste EA, Bagshaw SM, Bellomo R, et al. Epidemiology of acute kidney injury in critically ill patients: the multinational AKI-EPI study[J]. *Int Care Med*, 2015, 41(8):1411-1423.
- [2] Bellomo R, Kellum JA, Ronco C. Acute kidney injury[J]. *Lancet*, 2012, 380(9843):756-766.
- [3] Godin M, Macedo E, Mehta RL. Clinical determinants of renal recovery[J]. *Nephron Clin Pract*, 2014, 127(1-4):25-29.
- [4] 郝迎迎, 虞竹溪, 顾勤. 脓毒症患者外周血Th1/Th2细胞水平及变化趋势与预后的关系[J]. *临床急诊杂志*, 2018, 19(5):303-305.
- [5] Lee SA, Noel S, Sadasivam M, et al. Role of Immune Cells in Acute Kidney Injury and Repair[J]. *Nephron*, 2017, 137(4):282-286.
- [6] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group. KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury: AKI definition[J]. *Kidney Intern Suppl*, 2012, 2:19-36.
- [7] Zarbock A, Gomez H, Kellum JA. Sepsis-induced acute kidney injury revisited: pathophysiology, prevention and future therapies[J]. *Curr Opin Crit Care*, 2014, 20(6):588-595.
- [8] Li L, Huang L, Ye H, et al. Dendritic cells tolerized with adenosine A₂AR agonist attenuate acute kidney injury[J]. *J Clin Invest*, 2012, 122(11):3931-3942.
- [9] Vignali DA, Collison LW, Workman CJ. How regulatory T cells work[J]. *Nat Rev Immunol*, 2008, 8(7):523-532.
- [10] Lee YK, Mukasa R, Hatton RD, et al. Developmental plasticity of Th17 and Treg cells[J]. *Curr Opin Immunol*, 2009, 21(3):274-280.
- [11] 徐斌, 车立新. 创伤脓毒症患者外周血Th17/Treg水平变化及临床意义[J]. *检验医学与临床*, 2013, 10(21):2822-2823.
- [12] Alunno A, Bartoloni E, Bistoni O, et al. Balance between regulatory T and Th17 cells in systemic lupus erythematosus: the old and the new[J]. *Clin Dev Immunol*, 2012, 2012:823085.
- [13] Taubert R, Hardtke-Wolenski M, Noyan F, et al. Intrahepatic regulatory T cells in autoimmune hepatitis are associated with treatment response and depleted with current therapies[J]. *J Hepatol*, 2014, 61(5):1106-1114.
- [14] Peiseler M, Sebode M, Franke B, et al. FOXP3⁺ regulatory T cells in autoimmune hepatitis are fully functional and not reduced in frequency[J]. *J Hepatol*, 2012, 57(1):125-132.

中等剂量糖皮质激素治疗眉弓内侧型与颧骨型 外伤性视神经病变的疗效分析

朱捷¹ 徐毅¹ 郭建¹ 丁宁¹

[摘要] 目的:评价中等剂量激素治疗眉弓内侧型与颧骨型外伤性视神经病变(traumatic optic neuropathy, TON)的疗效。方法:收集2014-02—2016-10期间在我院收治的眉弓内侧型与颧骨型 TON 患者 83 例,根据是否采用激素治疗分为试验组和对照组,试验组 39 例给予中等剂量甲泼尼龙琥珀酸钠(500 mg/d)治疗 3 d 后,减量至 40 mg/d 治疗 4 d 并辅以改神经营养等药物治疗,对照组 44 例除外激素其余相同方法治疗,疗程均为 7 d,所有患者行视觉诱发电位检查。采用单因素和多因素分析的方法比较疗效,随访至 2019 年 2 月,分析所有患者视力维持情况。结果:单因素分析显示:组别($P=0.023$)、视力情况($P=0.001$)、视觉诱发电位(visual evoked potential, VEP)($P=0.001$)和就诊时间($P=0.044$)对治疗效果有影响。患者所处的组别和就诊时间是治疗效果的独立影响因素,与对照组比,试验组可获得更好的疗效($OR=3.351, 95\%CI:1.186\sim 9.473$),与就诊时间 >24 h 的患者比,就诊时间 ≤ 24 h 的患者能获得更好的治疗效果($OR=3.270, 95\%CI:1.117\sim 9.575$)。两组随访 28~40 个月,随访中位数为 34 个月,试验组中 23 例视力有效者视力无明显变化,其余 13 例中视力提高者 1 例,下降者 3 例,视力无明显变化 9 例。对照组中 15 例视力有效者视力无明显变化,其余 29 例中视力提高者 2 例,下降者 4 例,视力无明显变化 23 例。结论:中等剂量激素治疗眉弓内侧型和颧骨型 TON 可获得较好的疗效,但仍需增加样本量和延长随访时间进行观察。

[关键词] 视神经损伤;眉弓内侧型;颧骨型;糖皮质激素;视觉诱发电位

doi:10.13201/j.issn.1009-5981.2019.07.007

[中图分类号] R774.6 **[文献标志码]** A

Clinical effect of medium-dose glucocorticoid therapy in traumatic optic neuropathy patients of medial superciliary arch type and zygomatic type

ZHU Jie XU Yi GUO Jian DING Ning

(Department of Emergency, Beijing Tongren Hospital Affiliated to Capital Medical University, Beijing, 100730, China)

Corresponding author: DING Ning, E-mail: dingningab@163.com

Abstract Objective: To observe the clinical effect of medium-dose glucocorticoid therapy in traumatic optic neuropathy(TON) patients of medial superciliary arch type and zygomatic type. **Method:** A total of 83 TON patients who met the entry criteria at our hospital from February 2014 to October 2016 were enrolled in this study, and divided into the treatment group and the control group. 39 cases of the treatment group were treated with medium-dose corticosteroids(500 mg/d for 3 days, then 40 mg/d for 4 days), combined with neurotrophic drugs. 44 cases of the control group were treated with neurotrophic drugs for 7 days. Visual evoked potential(VEP) measurement was carried out in all cases. We evaluated the therapeutic effect with single factor analysis and multiple factors analysis. All patients were followed in February 2019. **Result:** Single factor analysis revealed: group($P=0.023$), vision situation($P=0.001$), VEP($P=0.001$) and clinic time($P=0.044$) had impacts on treatment

¹首都医科大学附属北京同仁医院急诊科(北京,100730)
通信作者:丁宁,E-mail:dingningab@163.com

- [15] DAlessio FR, Tsushima K, Aggarwal NR, et al. CD4+ CD25+ Foxp3+ Tregs resolve experimental lung injury in mice and are present in humans with acute lung injury[J]. J Clin Invest, 2009, 119(10): 2898-2913.
- [16] Wang L, Wang X, Tong L, et al. Recovery from acute lung injury can be regulated via modulation of regulatory T cells and Th17 cells[J]. Scand J Immunol, 2018, 88(5): e12715.
- [17] Kinsey GR, Huang L, Vergis AL, et al. Regulatory T cells contribute to the protective effect of ischemic preconditioning in the kidney[J]. Kidney Int, 2010, 77(9): 771-780.
- [18] Gandolfo MT, Jang HR, Bagnasco SM, et al. Foxp3 + regulatory T cells participate in repair of ischemic acute kidney injury[J]. Kidney Int, 2009, 76(7): 717-729.

(收稿日期:2019-04-24)