

CD64 指数在儿童呼吸系统感染性疾病中的应用分析*

陈娜云, 方代华[△], 文 成, 邓罗华, 刘 洋, 柴新梅
(江苏徐州市儿童医院输血科, 江苏徐州 221006)

摘 要:目的 探讨感染指标 CD64 在常见儿童呼吸系统感染性疾病中的应用价值。方法 收集 2014 年 6 月至 2016 年 6 月来该院住院治疗的支原体肺炎患者 137 例, 支气管哮喘 85 例, 疱疹性咽峡炎 379 例, 大叶性肺炎 238 例, 支气管肺炎 513 例, 同时收集 73 例体检健康儿童样本作为健康对照组, 用流式细胞术分析患者中性粒细胞的 CD64 表达水平, 计算 CD64 表达指数, 比较各组疾病的 CD64 指数差异。结果 CD64 指数从低到高依次为: 健康对照、支原体肺炎、支气管哮喘、疱疹性咽峡炎、支气管肺炎、大叶性肺炎。肺炎支原体感染患者 CD64 表达指数较低, CD64 指数高的患者偏向于细菌感染。结论 不同疾病患者的 CD64 表达指数具有显著差异, CD64 表达指数对儿童呼吸系统感染性疾病的诊断具有一定的指导价值。可以帮助从细菌和病毒感染中区分支原体感染, 并在一定程度上可区分细菌和病毒感染。

关键词: CD64 指数; 儿童; 呼吸系统感染; 细菌感染; 病毒感染

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2018.18.019

中图法分类号: R725.6; R446.6

文章编号: 1673-4130(2018)18-2272-04

文献标识码: A

The application of CD64 index in children's respiratory infectious diseases*

CHEN Nayun, FANG Daihua[△], WEN Cheng, DENG Luohua, LIU Yang, CHAI Xinmei

(Department of Blood Transfusion, Xuzhou Children's Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract: **Objective** To explore the application value of CD64 in children with respiratory infectious diseases. **Methods** From June 2014 to June 2016, 137 cases of mycoplasma pneumonia, 85 cases of bronchial asthma, 379 cases of herpetic angina, 238 cases of lobar pneumonia, 513 cases of bronchopneumonia were collected, and 73 cases of healthy children were collected as the healthy control group, the expression levels of CD64 in neutrophils of patients were analyzed by flow cytometry, and the CD64 expression index was calculated. The difference of CD64 index in each group was compared. **Results** The CD64 index from low to high followed by: healthy control, mycoplasma pneumonia, bronchial asthma, herpetic angina, bronchopneumonia, lobar pneumonia. The CD64 expression index of patients with Mycoplasma pneumoniae infection was low, and patients with high CD64 index tend to be infected with bacteria. In disease groups, the CD64 index of MPP was the lowest. The higher CD64 index of patients tended to bacterial infection. **Conclusion** The CD64 expression index of patients with disease is significantly different. The CD64 expression index has a certain guiding value for the diagnosis of respiratory infectious diseases in children. It can help mycoplasma infection from bacteria and virus infection, and to some extent distinguish bacteria and virus infection.

Key words: CD64 index; children; respiratory infectious; bacteria infection; virus infection

儿童呼吸系统发育未成熟, 且免疫功能较差, 容易发生多种感染性疾病和过敏性疾病。细菌、病毒和支原体等均可以引起儿童严重的呼吸系统疾病, 不同病原体引起的感染在临床上有很多相似的症状, 常常很难通过临床症状区分。常用的病原检测方法具有局限性, 不能很准确或及时地判断病原情况。

CD64 作为免疫反应的一个重要指标, 在机体免

疫功能活化时会在中性粒细胞上迅速增加, 并且不同的病原体和过敏原引起的免疫功能活化中 CD64 的增加量会有差异^[1-4]。支原体肺炎、支气管哮喘、疱疹性咽峡炎、大叶性肺炎和支气管肺炎是较为常见的儿童呼吸系统疾病, 它们在病原和病理上有所不同。本研究回顾性分析了 2014 年 6 月至 2016 年 6 月本院治疗的支原体肺炎、支气管哮喘、疱疹性咽峡炎、大叶性肺

* 基金项目: 徐州市科技局资助项目(XZZD1368)。

作者简介: 陈娜云, 女, 主管技师, 主要从事细胞免疫学和输血医学的研究。 [△] 通信作者, E-mail: fangdaihua@163.com。

本文引用格式: 陈娜云, 方代华, 文成, 等. D64 指数在儿童呼吸系统感染性疾病中的应用分析[J]. 国际检验医学杂志, 2018, 39(18): 2272-

炎和支气管肺炎患儿 1 425 例。分析其中性粒细胞上 CD64 的表达率差异,以探索 CD64 这一指标在这些疾病中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2014 年 6 月至 2016 年 6 月来本院住院治疗的患者 1 425 例为研究对象,其中支原体肺炎 137 例,支气管哮喘 85 例,疱疹性咽峡炎 379 例,大叶性肺炎 238 例,支气管肺炎 513 例,同时收集 73 例体检健康儿童样本作为健康对照。所有患者的诊断均符合相应疾病的诊断标准^[5]。肺炎分组的原则是先把支原体检测阳性的肺炎设为支原体感染肺炎组,支原体检测阴性或病原体不明的肺炎按病理分为大叶性肺炎组和支气管肺炎组。

1.2 仪器与试剂 流式细胞仪型号为 BD FACS Canto II,单克隆抗体 CD64-PE 和红细胞裂解液(FACSLysin)均购自美国 BD 公司。

1.3 方法

1.3.1 样本收集 入院当天采集空腹静脉血 1~2 mL,采用乙二胺四乙酸抗凝。

1.3.2 流式检测 样本处理:分别向已编好号的试管中加入 20 μ L CD64-PE 单克隆荧光抗体和 50 μ L 抗凝全血混匀,室温避光孵育 15 min。然后向试管中加入 FACSLysin 1 mL,混匀,室温避光孵育 10 min。接着用 2 mL PBS 缓冲液洗涤细胞 2 次,最后用 450 μ L PBS 缓冲液悬浮细胞,进行流式细胞仪检测。上机检测:首先在 FSC/SSC 散点图中分别圈出淋巴细胞、单核细胞和中性粒细胞。分别建立直方图,显示三群细胞的几何平均荧光强度(MFI)。每个样本获

取10 000个细胞,获得每种细胞的 CD64 平均荧光强度数据。

1.3.3 CD64 指数计算 计算公式为:CD64 指数=(中性粒细胞-淋巴细胞)/(单核细胞-中性粒细胞)。

1.3.4 支原体检测 使用 MP-IgM 和 MP-IgG 酶联免疫吸附法检测支原体。

1.4 统计学处理 使用 SPSS19.0 和 MedCalc15 统计软件进行分析。对数据进行正态性检验,符合正态分布的数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,进行 one-way ANOVA 分析,不符合正态分布的数据使用中位数(四分位数) $[M(P_{25},P_{75})]$ 描述,进行非参数检验(Kruskal-Wallis 检验)和两两比较(Mann-Whitney 检验)检验各组间的差异。分类变量以 $[n(\%)]$ 表示,采用 χ^2 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者基线资料比较 分别以性别和年龄作为变量分析性别和年龄对健康对照组样本中 CD64 指数的影响,结果显示健康对照组中男女样本间 CD64 指数差异无统计学意义($P=0.98$),正常样本各年龄段间的 CD64 指数差异无统计学意义($P=0.85$)。健康对照组中年龄和 CD64 指数的相关系数 $r=0.58$ 。因此,进一步分析各疾病组与 CD64 指数关系时忽略性别和年龄构成差异对二者的影响。各种疾病儿童的性别和年龄构成统计结果显示,支原体肺炎、疱疹性咽峡炎和支气管肺炎患儿年龄多小于 3 岁,支气管哮喘和大叶性肺炎患儿童年龄 3 岁及以上比例较高,见表 1。

表 1 各种疾病儿童样本性别和年龄构成比较 $[n(\%)]$

项目	支原体肺炎	支气管哮喘	疱疹性咽峡炎	大叶性肺炎	支气管肺炎	健康对照	<i>P</i>
性别(男/女, <i>n</i> / <i>n</i>)	89/48	63/22	209/170	130/108	322/191	39/34	0.003
例数 $[n(\%)]$							
<3 岁	81(59.12)	5(5.88)	44(18.49)	387(75.44)	329(86.81)	38(52.05)	<0.05*
3~6 岁	44(32.12)	50(58.82)	119(50.00)	108(21.05)	47(12.40)	19(26.03)	
>6 岁	12(8.76)	30(35.29)	75(31.51)	18(3.51)	3(0.79)	16(21.92)	
合计(<i>n</i>)	137	85	238	513	379	73	

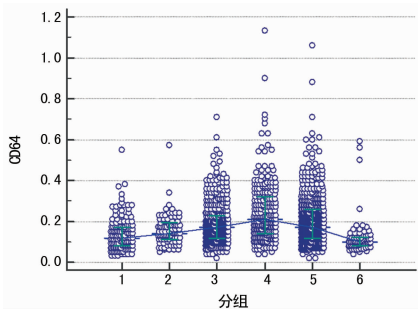
注:各疾病年龄构成差异有统计学意义,* $P<0.05$

表 2 各组样本间 CD64 指数的统计学差异

组别	$M(P_{25},P_{75})$	支原体肺炎	支气管哮喘	疱疹性咽峡炎	大叶性肺炎	支气管肺炎
支原体肺炎	0.12(0.08,0.17)	—	—	—	—	—
支气管哮喘	0.14(0.11,0.20)	0.02	—	—	—	—
疱疹性咽峡炎	0.17(0.12,0.23)	<0.001	0.02	—	—	—
大叶性肺炎	0.21(0.14,0.32)	<0.001	<0.001	<0.001	—	—
支气管肺炎	0.17(0.12,0.26)	<0.001	<0.001	0.11	<0.001	—
健康对照	0.10(0.08,0.13)	0.03	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001
<i>P</i>	<0.05					

注:—表示此项无数据

2.2 CD64 指数比较 对各组样本的 CD64 指数的正态性检测显示数据呈偏态分布。因此,采用非参数检验方式比较 CD64 指数在不同疾病的差异,结果显示差异有统计学意义($P<0.05$)。不同组间的两两比较结果显示,疱疹性咽峡炎和支气管肺炎之间差异无统计学意义($P=0.11$),其余各组间差异有统计学意义($P<0.05$),见表 2。各组 CD64 指数从低到高依次为:健康对照组、支原体肺炎、支气管哮喘、疱疹性咽峡炎、支气管肺炎和大叶性肺炎的 CD64 指数。见图 1。



注:1 代表支原体肺炎;2 代表支气管哮喘;3 代表疱疹性咽峡炎;4 代表大叶性肺炎;5 代表支气管肺炎;6 代表健康对照

图 1 各组样本 CD64 指数的中位值点状图

3 讨 论

CD64 又称作 Fc-gamma 受体蛋白 1(FcγR I)。CD64 在外周血中性粒细胞表面呈现低表达,当机体受到感染后细菌细胞壁脂多糖、粒细胞集落刺激因子以及干扰素等刺激因子可引起中性粒细胞表面 CD64 由低表达迅速转变为高表达^[6],并活化中性粒细胞,因此被作为一种感染指标^[4,7]。不同病原体引起的活化程度具有差异,研究发现其对细菌和病毒感染有一定的鉴别能力^[1-3]。SIMONIN-LE 等^[8]的研究提示 CD64 表达水平与感染严重程度有紧密联系。CD64 与 C 反应蛋白、降钙素原等感染指标比较,在新生儿败血症的诊断中获得了很高的灵敏度和特异度^[9-11]。若炎症刺激解除或得到有效的控制,CD64 将会在 48 h 内下降,7 d 左右恢复至正常水平^[12]。因此认为,CD64 在感染性疾病的早期诊断、疗效监测等方面都具有很高的临床应用价值^[13-14]。

笔者团队的先前研究发现,以单核细胞和淋巴细胞作为参考可以评估中性粒细胞上的 CD64 表达水平,并提出一种反映中性粒细胞 CD64 表达水平的计算公式,称作 CD64 指数或比率^[15]。本研究中,笔者使用该 CD64 指数来比较不同疾病患者的 CD64 表达差异。

本研究选取了 5 种常见的儿科呼吸系统疾病作为研究对象。其中支原体肺炎是确定的肺炎支原体感染,占儿童肺炎的 10% 以上,流行期高达 60%^[16-17]。疱疹性咽峡炎是主要由柯萨奇 A 组病毒引起的急性传染性疾病。支气管哮喘是多种细胞引起的慢性炎症性疾病。分组中的大叶性肺炎和支气

管肺炎是排除肺炎支原体感染后根据病理学进行的分组,可以是细菌、病毒或混合感染引起^[5]。

CD64 指数的差异表明,肺炎支原体感染引起的中性粒 CD64 表达增幅最低[0.12(0.08,0.17)]。显著低于由病毒或细菌引起的疱疹性咽峡炎、大叶性肺炎和支气管肺炎。表明 CD64 指数可以帮助从细菌和病毒感染中区分支原体感染。

PAUKSENS 等^[18]研究发现流感病毒感染患者外周血中性粒细胞上 CD64 的表达显著低于细菌感染患者。本研究中大叶性肺炎和支气管肺炎患者中性粒细胞 CD64 的表达显著高于柯萨奇 A 组病毒引起疱疹性咽峡炎[0.17(0.12,0.23)],这或许可以印证这一结论。说明 CD64 指数能够在一定程度上区分细菌和病毒感染。

在各组疾病中,跟过敏等相关的非感染性疾病支气管哮喘相对于健康对照有显著的升高[0.14(0.11,0.20)vs. 0.10(0.08,0.13)],表明能引起中性粒细胞 CD64 增加表达的因素不只是病原微生物的感染,过敏原等能够引起炎症的因素也可以引起中性粒细胞 CD64 表达升高,但又不及细菌和病毒引起的 CD64 升高强烈。

本研究从支原体、病毒、细菌和非病原微生物等多种致病因素方面对比了它们引起中性粒细胞 CD64 的表达情况。但是受限于病原检测的能力,未能对具体的支原体、病毒、细菌种类和混合感染等进行细化,不排除支原体肺炎中混合有细菌、病毒或其他病原体的感染,也不排除大叶性肺炎和支气管肺炎中混有未检出的支原体感染。因此,需要未来进一步深入研究,并纳入更多种类的病原体疾病,以强化 CD64 指数在这些疾病研究中的价值。

4 结 论

肺炎支原体肺炎、支气管哮喘、疱疹性咽峡炎、支气管肺炎和大叶性肺炎患儿中性粒细胞 CD64 指数依次升高,表明 CD64 指数可以为肺炎支原体、细菌和病毒的临床诊断提供参考。

参考文献

[1] JALAVA-KARVINEN P, HOHENTHAL U, LAITINEN I, et al. Simultaneous quantitative analysis of Fc gamma RI (CD64) and CR1 (CD35) on neutrophils in distinguishing between bacterial infections, viral infections, and inflammatory diseases[J]. Clin Immunol, 2009, 133(3): 314-323.

[2] LEINO L, SORVAJARVI K, KATAJISTO J, et al. Febrile infection changes the expression of IgG Fc receptors and complement receptors in human neutrophils in vivo[J]. Clin Exp Immunol, 1997, 107(1): 37-43.

[3] MOKUDA S, DOI O, TAKASUGI K. Simultaneous quantitative analysis of the expression of CD64 and CD35 on neutrophils as markers to differentiate between bacterial

- and viral infections in patients with rheumatoid arthritis [J]. *Mod Rheumatol*, 2012, 22(5): 750-757.
 - [4] VAN DER MEER W, PICKKERS P, SCOTT C S, et al. Hematological indices, inflammatory markers and neutrophil CD64 expression; comparative trends during experimental human endotoxemia[J]. *J Endotoxin Res*, 2007, 13(2): 94-100.
 - [5] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 1139-1265.
 - [6] DU J, LI L, DOU Y, et al. Diagnostic utility of neutrophil CD64 as a marker for early-onset sepsis in preterm neonates[J]. *PLoS One*, 2014, 9(7): e102647.
 - [7] HERRA C M, KEANE C T, WHELAN A. Increased expression of Fc gamma receptors on neutrophils and monocytes may reflect ongoing bacterial infection[J]. *J Med Microbiol*, 1996, 44(2): 135-140.
 - [8] SIMONIN-LE JEUNE K, LE JEUNE A, JOUNEAU S, et al. Impaired functions of macrophage from cystic fibrosis patients: CD11b, TLR-5 decrease and sCD14, inflammatory cytokines increase [J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e75667.
 - [9] CHOO Y K, CHO H S, SEO I B, et al. Comparison of the accuracy of neutrophil CD64 and C-reactive protein as a single test for the early detection of neonatal sepsis[J]. *Korean J Pediatr*, 2012, 55(1): 11-17.
 - [10] GROSELJ-GRENC M, IHAN A, PAVCNIK-ARNOL M, et al. Neutrophil and monocyte CD64 indexes, lipopolysaccharide-binding protein, procalcitonin and C-reactive protein in sepsis of critically ill neonates and children [J]. *Intensive Care Med*, 2009, 35(11): 1950-1958.
 - [11] 李月梅, 郝玲, 李艳芝. 中性粒细胞 CD64 在新生儿败血症诊断中的价值[J]. *实用儿科临床杂志*, 2006, 21(22): 1536-1537.
 - [12] DANIKAS D D, KARAKANTZA M, THEODOROU G L, et al. Prognostic value of phagocytic activity of neutrophils and monocytes in sepsis; correlation to CD64 and CD14 antigen expression [J]. *Clin Exp Immunol*, 2008, 154(1): 87-97.
 - [13] GILFILLAN M, BHANDARI V. Biomarkers for the diagnosis of neonatal sepsis and necrotizing enterocolitis: clinical practice guidelines [J]. *Early Hum Dev*, 2017, 105: 25-33.
 - [14] AYDIN M, BARUT S, AKBULUT HH, et al. Application of Flow Cytometry in the Early Diagnosis of Neonatal Sepsis[J]. *Ann Clin Lab Sci*, 2017, 47(2): 184-190.
 - [15] FANG D H, FAN C H, LI J, et al. Ratios of CD64 expressed on neutrophils, monocytes, and lymphocytes may be a novel method for diagnosis of neonatal sepsis[J]. *J Infect Dev Ctries*, 2015, 9(2): 175-181.
 - [16] 黄海辉, 张婴元, 黄绍光, 等. 上海地区社区获得性肺炎的病原学调查[J]. *中国抗感染化疗杂志*, 2003, 3(6): 321-324.
 - [17] 庞保东, 董琰, 张慧玉, 等. 儿童社区获得性肺炎非典型病原体临床分析[J]. *中国综合临床*, 2005, 26(9): 849-850.
 - [18] PAUKSENS K, FJAERTOFT G, DOUHAN-HAKANSON L, et al. Neutrophil and monocyte receptor expression in uncomplicated and complicated influenza A infection with pneumonia[J]. *Scand J Infect Dis*, 2008, 40(4): 326-337.
- (收稿日期: 2018-02-11 修回日期: 2018-04-28)
-
- (上接第 2271 页)
- [4] Mise K, Yamaguchi Y, Hoshino J, et al. Paratubular basement membrane insudative lesions predict renal prognosis in patients with type 2 diabetes and biopsy-proven diabetic nephropathy[J]. *PLoS One*, 2017, 12(8): e0183190.
 - [5] 张剑文, 刘炜, 傅斌生, 等. Fibulin-1 蛋白的真核表达与 ELISA 检测方法的建立[J/CD]. *中华腔镜泌尿外科杂志(电子版)*, 2013, 7(6): 56-59.
 - [6] 杨欢, 付海龙, 毛佳慧, 等. 血清外体内 fibulin-1 检测在胃癌诊断中的应用[J]. *临床检验杂志*, 2016, 34(2): 107-109.
 - [7] 王静, 赵亮. Fibulin-1 基因启动子区域甲基化与食管癌的关系研究[J]. *临床与病理杂志*, 2017, 37(1): 133-136.
 - [8] 董小英, 周贺, 张如意. 2 型糖尿病合并颈动脉病变患者血清 Fibulin-1 蛋白检测及与相关代谢指标的关系[J]. *宁夏医科大学学报*, 2017, 39(7): 764-767.
 - [9] 周慧娟, 李怀芳. Fibulin-1 在女性压力性尿失禁患者盆底组织中的表达及意义[J]. *同济大学学报(医学版)*, 2012, 33(3): 42-46.
 - [10] 王琪. Fibulin-1 在肾癌中的表达及相关功能的初步研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2013.
 - [11] 汤佳城. 血管生成素与 Fibulin 蛋白家族相互作用的验证与功能探索[D]. 杭州: 浙江大学, 2010.
 - [12] 董会, 英晓霞. 舌鳞状细胞癌中 FBLN1 基因甲基化及肿瘤抑制作用研究[J]. *慢性病学杂志*, 2014, 15(7): 501-504.
 - [13] CANGEMI C, SKOV V, POULSEN M K, et al. Fibulin-1 is a marker for arterial extracellular matrix alterations in type 2 diabetes[J]. *Clin Chem*, 2011, 57(11): 1556-1565.
 - [14] NEIMAN M, HEDBERG J J, DNNES P R, et al. Plasma profiling reveals human fibulin-1 as candidate marker for renal impairment[J]. *J Proteome Res*, 2011, 10(11): 4925-4934.
 - [15] SCHOLZE A, BLADBJERG E M, SIDELMANN J J, et al. Plasma concentrations of extracellular matrix protein fibulin-1 are related to cardiovascular risk markers in chronic kidney disease and diabetes[J]. *Cardiovasc Diabetol*, 2013, 12(1): 6.
- (收稿日期: 2018-01-14 修回日期: 2018-04-21)