

• 论 著 •

nCD64 和 mCD169 在急性感染早期患者中的表达及临床价值*

张雅曦, 杨倩婷, 张明霞, 张洁云, 余志勇, 陈 骑[△]

深圳市第三人民医院肝病研究所, 广东深圳 518112

摘要:目的 评价中性粒细胞 CD64(nCD64)和单核细胞 CD169(mCD169)在快速鉴别呼吸道病毒感染和细菌感染的价值。方法 选取 2023 年 4—7 月在该院发热门诊诊断为上呼吸道感染的 392 例患者作为研究对象,包括 287 例呼吸道病毒性感染患者(病毒感染组)和 105 例细菌性上呼吸道感染患者(细菌感染组)。另选取同期无感染的 171 例健康志愿者作为健康对照组。利用流式细胞术检测各组外周血中淋巴细胞、单核细胞和中性粒细胞的 CD64 和 CD169 的平均荧光强度(MFI),并通过各群细胞荧光强度建模计算 nCD64 指数和 mCD169 指数。比较 3 组感染指标的差异,并通过绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析评价各指标对呼吸道细菌感染和病毒感染的诊断效能。结果 3 组受试者 nCD64 和 mCD169、CRP 和 WBC 比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),并且细菌感染组 nCD64 指数、CRP 和 WBC 较健康对照组明显升高,病毒感染组 mCD169 指数较健康对照组明显升高,差异均有统计学意义($P < 0.001$)。ROC 曲线分析显示,nCD64 指数、CRP 和 WBC 诊断细菌感染的曲线下面积(AUC)为 0.918、0.950 和 0.938,mCD169 指数诊断新型冠状病毒感染、甲型流感病毒感染和柯萨奇病毒感染的 AUC 分别为 0.934、0.940 和 0.974。结论 细菌感染指标及 mCD169 指数均对呼吸道感染疾病有较高的诊断效能,流式细胞术快速检测 nCD64 指数和 mCD169 指数对发热就诊分类管理有重要意义。

关键词:流式细胞术; 细菌感染; 病毒感染; nCD64; mCD169

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2023.20.004 **中图法分类号:**R446.1

文章编号:1673-4130(2023)20-2453-05

文献标志码:A

Expression and clinical value of nCD64 and mCD169 in patients with early acute infection*ZHANG Yaxi, YANG Qianting, ZHANG Mingxia, ZHANG Jieyun, YU Zhiyong, CHEN Qi[△]

Institute of Hepatology, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518112, China

Abstract: **Objective** To evaluate the value of neutrophil CD64 (nCD64) and monocyte CD169 (mCD169) in rapidly differentiating respiratory virus infection from bacterial infection. **Methods** Totally 392 patients diagnosed with upper respiratory tract infection in fever clinic of our hospital from April to July 2023 were selected as the study objects, including 287 patients with respiratory tract viral infection (viral infection group) and 105 patients with bacterial upper respiratory tract infection (bacterial infection group). Another 171 healthy volunteers without infection were selected as healthy control group. The mean fluorescence intensity (MFI) of CD64 and CD169 of lymphocytes, monocytes and neutrophils in peripheral blood of each group was detected by flow cytometry, and the nCD64 index and mCD169 index were calculated by modeling the fluorescence intensity of each group of cells. The difference of infection indexes among the three groups was compared, and the diagnostic efficiency of each index for acute bacterial and viral infections of respiratory tract was evaluated by drawing receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** There were statistically significant differences among the three groups on nCD64, mCD169, CRP and WBC ($P < 0.05$). nCD64 index, CRP and WBC in bacterial infection group were significantly higher than those in healthy control group, while mCD169 index and WBC in viral infection group were significantly higher than those in healthy control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.001$). ROC curve analysis showed that the area under the curve (AUC) of nCD64 index, CRP and WBC for diagnosing bacterial infection were 0.918, 0.950 and 0.938, while the AUC of mCD169 index for diagnosing SARS-CoV-2 infection, influenza A virus infection and

* 基金项目:国家自然科学基金面上项目(82172286);深圳市科技计划基础研究面上项目(JCYJ20210324131603008)。

作者简介:张雅曦,女,研究实习员,主要从事基础免疫技术研发及应用相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: chenqi0539@163.com。

Coxsackie virus infection were 0.934, 0.940 and 0.974, respectively. **Conclusion** Both bacterial infection index and mCD169 index have high diagnostic efficacy for respiratory tract infection. Flow cytometry rapid detection of nCD64 index and mCD169 index is of great significance for classification management of fever.

Key words: flow cytometry; bacterial infection; virus infection; nCD64; mCD169

急性呼吸道感染类别的早期鉴别困难,寻找一种新的区分急性感染分类的方法来解决救治时效问题迫在眉睫。既往鉴别细菌或病毒感染多采用血常规五分类及 C 反应蛋白(CRP),但该方法存在诸多缺陷^[1]。因此,现有的研究尝试基于细菌或病毒病原体感染机体,免疫细胞识别途径和防御机制的差异,检测不同可溶性和宿主细胞免疫标志物用于确定感染病原体的类型^[2]。

细胞表面标志物 CD64(Fc γ -受体-I)主要在单核细胞中表达,中性粒细胞中表达低,可利用其与急性细菌性感染负相关来鉴别^[3-4]。而 CD169(唾液酸黏附素或 siglec-1)于病毒感染早期在血液单核细胞上过度表达,在细胞免疫功能中起重要作用^[5-6]。有研究发现,CD169 可作为呼吸道病毒感染的潜在新型诊断标志物,区分急性呼吸道和非呼吸道病毒感染^[7]。本研究用流式细胞术检测血液中性粒细胞 CD64(nCD64)和单核细胞 CD169(mCD169)表达水平,并构建大数据模型建立诊断算法,评估二者在急性感染预测中的诊断效能。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2023 年 4—7 月在本院发热门诊诊断为上呼吸道感染的 392 例患者作为研究对象,包括 287 例患者呼吸道病毒性感染患者(病毒感染组)和 105 例细菌性上呼吸道感染患者(细菌感染组)。另选取同期无感染的 171 例健康志愿者作为健康对照组。诊断标准:依据《成人急性呼吸道感染诊疗急诊专家共识》诊断标准,急性上呼吸道感染病毒感染通过核酸 PCR 快速诊断,辅助诊断包括血清学 IgG/IgM 检测和影像学 CT;细菌感染患者通过培养证实致病病原微生物,或根据临床症状、体征、实验室相关检查及抗菌药物治疗效果进行临床诊断。健康志愿者经胸片或胸部 CT 检查无异常,血常规、炎症指标均正常。健康对照组、细菌感染组、病毒感染组平均年龄分别为(27.38 \pm 7.16)、(32.20 \pm 20.69)、(31.16 \pm 19.69)岁,差异无统计学意义($P>0.05$);细菌性上呼吸道感染患者中,急性感染者(急性感染组)75 例,年龄多为 20~52 岁,重症感染者(重症感染组)30 例,年龄多为 38~70 岁;病毒感染组感染病毒包括新型冠状病毒 168 例,平均年龄(39.88 \pm 18.04)岁;甲型流感病毒 63 例,平均年龄(28.87 \pm 13.07)岁;柯萨奇病毒 56 例,平均年龄(7.55 \pm 5.40)岁。

1.2 仪器与试剂 血常规、CRP 检测试剂及仪器

XN-9000 均购自迈瑞生物医疗电子有限公司,核酸检测试剂购自达安基因股份有限公司,ABI-7500PCR 扩增仪购自美国 ABI 公司,抗原检测试剂购自珠海丽珠试剂股份有限公司,Canto II 流式细胞仪及抗体均购自 BD 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 所有患者均处于治疗前发热期,采集乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝血 2 mL 全血用于血常规和 CRP 检测;干燥管采集 4 mL 全血离心检测血清中甲型流感病毒抗原和新冠病毒抗原。采集咽拭子或鼻拭子进行核酸 PCR 检测,咳痰患者留取痰液样本进行微生物培养。

1.3.2 流式细胞术检测 nCD64 和 mCD169 指数 取 EDTA-K₂ 抗凝全血 100 μ L,加入抗 CD45(BD Bioscience, 2D1)、抗 CD161(Beckman Coulter, 191B8)和抗 CD169(BD Bioscience, 7-239)抗体各 5 μ L,室温避光孵育 20 min,溶血素进行红细胞裂解 5 min 后 2 000 \times g 离心,再用磷酸盐缓冲液 5 mL 洗涤,离心后上机检测。基于 CD64 标记,侧向散射高的群体为中性粒细胞群,中间的为单核细胞群,侧向低角度的为淋巴细胞群。分析中性粒细胞表面 CD64 表达的平均荧光强度(MFI)及单核细胞表面 CD169 表达的 MFI。使用数据建模分析软件计算 nCD64 指数和 mCD169 指数,计算公式:nCD64 指数=(MFI_{PMN CD64}/MFI_{LYM CD64})/(MFI_{MON CD64}/MFI_{PMN CD64});mCD169 指数=MFI_{MON CD169}/MFI_{LYM CD169}。

1.4 统计学处理 采用 GraphPad Prism V7.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用方差分析或非配对 t 检验进行比较。绘制受试者工作特征(ROC)曲线分析最佳 cut-off 值,计算曲线下面积(AUC)及 95%CI,并通过非参数法评估 nCD64 指数和 mCD169 指数在不同灵敏度下诊断感染类型的 cut-off 值和特异度。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

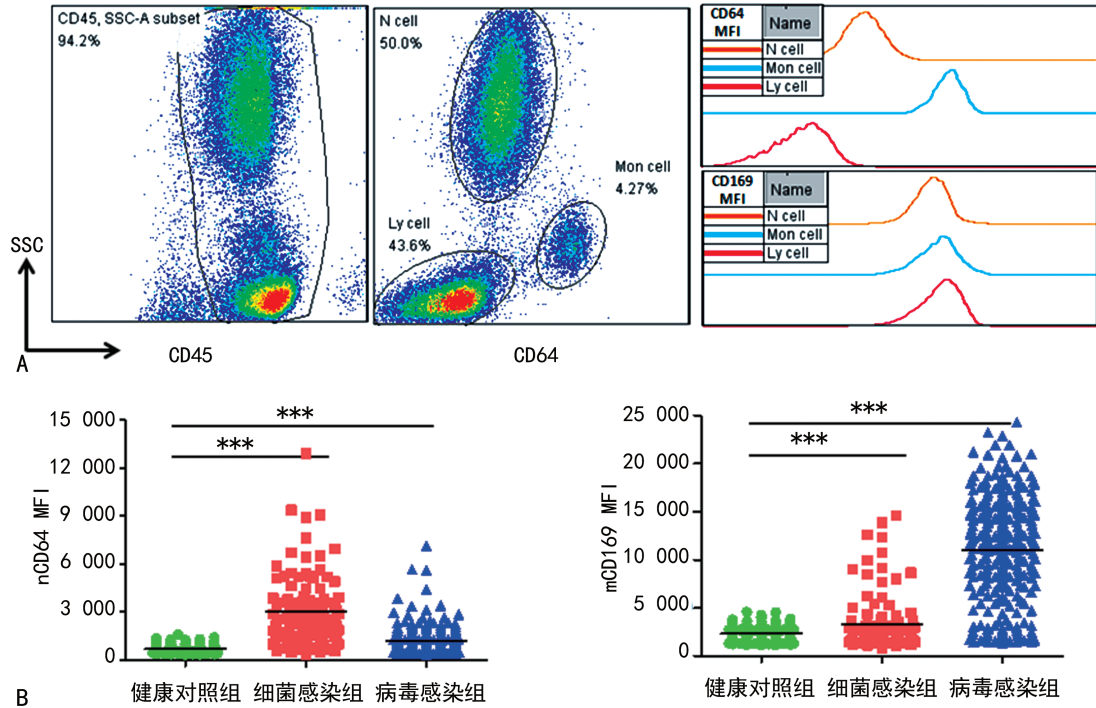
2.1 流式细胞术检测 nCD64 MFI 和 mCD169 MFI 结果及各组 MFI 的比较 按方案流程分析中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞的 CD64 MFI 和 CD169 MFI。健康对照组、细菌感染组和病毒感染组 nCD64 MFI 分别为 684.93 \pm 228.23、2 992.10 \pm 2 204.75 和 1 156.92 \pm 793.83,细菌感染组 nCD64 MFI 值高于其他两组($P<0.001$);健康对照组、细菌感染组、病

病毒感染组 mCD169 MFI 分别为 $2\,348.18 \pm 798.93$ 、 $3\,270.84 \pm 2\,883.00$ 和 $11\,019.43 \pm 5\,502.29$ ，病毒感染组 MFI 明显高于其他两组 ($P < 0.001$)。见图 1。

2.2 3 组急性感染指标比较 3 组受试者 nCD64 指数、mCD169 指数、CRP 和 WBC 比较，差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)；细菌感染组 nCD64 指数、CRP 和 WBC 较健康对照组明显升高，病毒感染组 mCD169 指数和 WBC 均健康对照组明显升高，差异均有统计

学意义 ($P < 0.001$)。见表 1。

2.3 nCD64 指数和 mCD169 指数对呼吸道感染疾病的诊断效能 ROC 曲线分析显示，细菌感染指标及 mCD169 指数均对呼吸道感染疾病有较高的诊断效能，见图 2。急性感染组、重症感染组患者 CRP 和 WBC 比较，差异有统计学意义 ($P < 0.001$)，nCD64 指数比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)，见表 2。



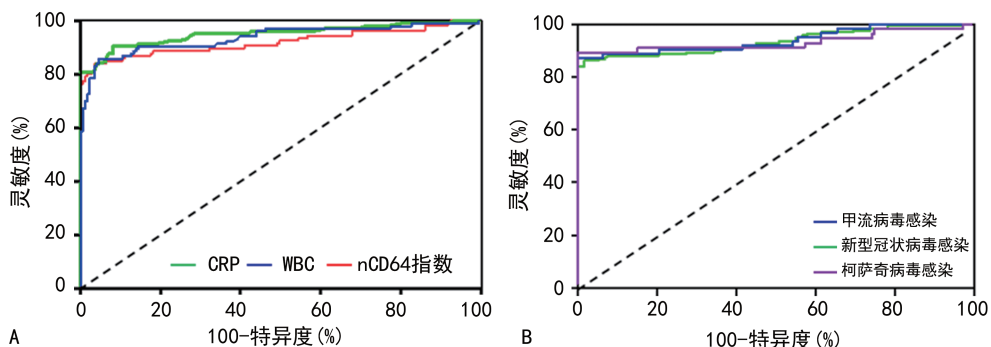
注：A 为对 CD45、CD64 标记进行设门，圈出中性粒细胞、单核细胞和淋巴细胞，并分析 nCD64 MFI 和 mCD169 MFI 的表达；B 为 3 组 nCD64 MFI 和 mCD169 MFI 比较，*** $P < 0.001$ 。

图 1 流式细胞术检测 CD64 和 CD169 的表达

表 1 3 组患者急性感染指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	nCD64 指数	mCD169 指数	CRP(mg/L)	WBC($\times 10^9$)
健康对照组	171	0.51 ± 0.26	0.72 ± 0.17	7.05 ± 1.45	6.89 ± 1.40
细菌感染组	105	5.37 ± 7.26^a	1.22 ± 1.05^a	55.91 ± 69.99^a	13.12 ± 4.01^a
病毒感染组	287	0.87 ± 1.45^a	3.93 ± 2.00^a	18.87 ± 14.60^a	7.40 ± 3.02^a

注：与健康对照组比较，^a $P < 0.001$ 。



注：A 为细菌感染诊断呼吸感染的 ROC 曲线；B 为流式细胞术 mCD169 指数诊断不同病毒感染的 ROC 曲线。

图 2 nCD64 和 mCD169 指数对不同感染的诊断效能

表 2 急性感染组和重症感染组 nCD64、CRP、WBC 比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	nCD64 指数	CRP(mg/L)	WBC($\times 10^9$)
急性感染组	75	5.08±6.24	34.72±35.82	12.51±3.23
重症感染组	30	6.10±9.44	108.90±101.14	14.64±5.27
t		0.653	5.572	2.302
P		0.515	<0.001	0.023

3 讨 论

感染是世界常见的死亡和发病原因之一,导致感染的病原体包括细菌、病毒、真菌和支原体等^[8]。由于感染早期临床表现相似,不能快速区分细菌或病毒感染^[9]。目前临床上使用的常规检测指标,如细菌培养、急性相适应性蛋白、炎症因子等,均存在方法学限制,在感染早期诊断的效能并不理想^[10-11]。因此,研究一种简便、快捷和准确度高的检测方法诊断早期感染并进行分类管理,是一个值得重点关注的问题。

本研究利用流式细胞术检测免疫球蛋白 IgG 重链 Fc 部分的高亲和力受体标志物 nCD64 的表达^[12],以观察其在诊断早期细菌感染中的作用,以及 nCD64 在中性粒细胞的表达是否可以作为感染指标生物标志物^[13-15]。有研究表明,nCD64 指数联合血清标志物、炎症因子和降钙素原(PCT),在儿童肺炎病情发展转归、社区获得性肺炎诊断和 ICU 重症肺炎预后评估中具有一定的临床价值^[16-17]。本研究结果发现,细菌感染组 nCD64 指数、CRP 和 WBC 较健康对照组升高($P < 0.001$),表明它们可用于早期细菌感染的诊断,而且 nCD64 指数在分辨健康者和细菌感染患者时,灵敏度和特异度分别为 84.76% 和 92.98%,比 CRP 和 WBC 的灵敏度和特异度高。因此,nCD64 指数在早期感染中的诊断价值优于 CRP 和 WBC。

此外,本研究还观察了 CD169 在血液中的表达,结果发现 mCD169 在病毒感染后表达上调。有研究显示,mCD169 上调可减弱宿主免疫保护反应,其可作为针对病毒感染和感染相关疾病的诊断标志物^[18-20]。有研究表明,mCD169 在人类免疫缺陷病毒(HIV)感染依赖性传播作用,也是新型冠状病毒感染大流行早期诊断的新工具^[21]。本研究结果发现,在病毒引起呼吸道感染中,新型冠状病毒、甲型流感病毒和柯萨奇病毒 mCD169 指数较健康对照组升高($P < 0.001$),并通过 ROC 曲线分析发现其病毒感染有较高的诊断效能。

综上所述,本研究结果发现 nCD64 指数、mCD169 指数、CRP、WBC 联合应用对早期感染有一定诊断价值,其中 nCD64 指数和 mCD169 指数在疾病早期诊断和就诊感染分类管理价值更高。因此,在发热急诊患者分类管理中,通过对上述指标的检测分析可快速、简单鉴别细菌或病毒性感染性疾病,从而避免患者

之间就诊和留观出现交叉感染,这在预防突发传染病方面具有重要意义。

参考文献

- [1] KAPASI A J, DITTRICH S, GONZÁLEZ I J, et al. Host biomarkers for distinguishing bacterial from non-bacterial causes of acute febrile illness: a comprehensive review[J]. PLoS One, 2016, 11: e0160278
- [2] VAN DINTHER D, VENINGA H, IBORRA S, et al. Functional CD169 on macrophages mediates interaction with dendritic cells for CD8⁺ T cell cross-priming[J]. Cell Rep, 2018, 22: 1484-1495
- [3] VAN DE VEN N L M, BONGERS S H, SPIJKERMAN R, et al. Point-of-care neutrophil CD64 as a rule in diagnostic test for bacterial infections in the emergency department[J]. BMC Emerg Med, 2023, 23(1): 28.
- [4] DE JONG E, DE LANGE D W, BEISHUIZEN A, et al. Neutrophil CD64 expression as a longitudinal biomarker for severe disease and acute infection in critically ill patients[J]. Int J Lab Hematol, 2016, 38(5): 576-584.
- [5] BOURGOIN P, LEDIAGON G, ARNOUX I, et al. Flow cytometry evaluation of infection-related biomarkers in febrile subjects in the emergency department[J]. Future Microbiol, 2020, 15: 189-201.
- [6] BEDIN A S, MAKINSON A, PICOT M C, et al. Monocyte CD169 expression as a biomarker in the early diagnosis of coronavirus disease 2019[J]. J Infect Dis, 2021, 223: 562-567.
- [7] GRABOWSKA J, LOPEZ-VENEGAS M A, AFFANDI A J, et al. CD169⁺ macrophages capture and dendritic cells instruct; the interplay of the gatekeeper and the general of the immune system[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2472.
- [8] PATNAIK R, AZIM A, AGARWAL V, et al. Neutrophil cd64a diagnostic and prognostic marker of sepsis in adult critically ill patients: a brief review[J]. Indian J Crit Care M, 2020, 24(12): 1242-1250.
- [9] DEWITT S, CHAVEZ S A, PERKINS J, et al. Evaluation of fever in the emergency department[J]. Am J Emerg Med, 2017, 35: 1755-1758.
- [10] JÄMSÄ J, ALA-KOKKO T, HUOTARI V, et al. Neutrophil CD64, C-reactive protein, and procalcitonin in the identification of sepsis in the ICU-post-test probabilities[J]. J Crit Care, 2018, 43: 139-142.
- [11] LIU Q, GAO Y, YANG T, et al. nCD64 index as a novel inflammatory indicator for the early prediction of prognosis in infectious and non-infectious inflammatory diseases: an observational study of febrile patients[J]. Front Immunol, 2022, 13: 905060.
- [12] TAMOUTOUNOUR S, HENRI S, LELOUARD H, et al. CD64 distinguishes macrophages from dendritic cells in the gut and reveals the Th1-inducing role of mesenteric lymph node macrophages during colitis[J]. Eur J Immunol, 2012, 42: 3150-3166. (下转第 2461 页)

- 内分泌代谢杂志, 2019, 39(3):194-197.
- [7] 黄好, 贾虹, 王晓霜, 等. 妊娠期糖尿病患者胎盘组织中 MIRNA-508-3P 和 HGF 表达水平及其对滋养细胞胰岛素抵抗的影响[J]. 吉林大学学报(医学版), 2021, 47(1): 187-195.
- [8] 凌思思, 徐琦, 郑小冬, 等. 妊娠早期炎症因子与妊娠期糖尿病发生的相关性初步探讨[J]. 中华妇产科杂志, 2020, 55(5):333-337.
- [9] LI Y, YUAN X, SHI Z, et al. LncRNA XIST serves as a diagnostic biomarker in gestational diabetes mellitus and its regulatory effect on trophoblast cell via miR-497-5p/FOXO1 axis[J]. *Cardiovasc Diagn Ther*, 2021, 11(3): 716-725.
- [10] LI Y, LI J, YU H, et al. HOXA5-miR-574-5p axis promotes adipogenesis and alleviates insulin resistance[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2021, 27(9):200-210.
- [11] 倪娟, 马向华. 妊娠期糖尿病的诊断进展[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版), 2013, 7(5):2185-2187.
- [12] MO X, GAI TOBE R, TAKAHASHI Y, et al. Economic evaluations of gestational diabetes mellitus screening: a systematic review[J]. *J Epidemiol*, 2021, 31(3):220-230.
- [13] 谢奇君, 刘岚. MiRNAs 与妊娠期糖尿病发病机制的研究进展[J]. 国际妇产科学杂志, 2019, 46(4):402-406.
- [14] 叶志鑫, 陈渡波, 陈培松, 等. 血浆外泌体 miRNAs 与妊娠期糖尿病的关系[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2021, 42(3):381-391.
- [15] ZHU Y, TIAN F, LI H, et al. Profiling maternal plasma microRNA expression in early pregnancy to predict gestational diabetes mellitus[J]. *Int J Gynaecol Obstet*, 2015, 130(1):49-53.
- [16] 金鑫, 吴艳. 妊娠期糖尿病并发脂代谢紊乱的危险因素[J]. 现代妇产科进展, 2021, 30(6):426-429.
- [17] 王忠德, 岳欣, 牟凯. 妊娠糖尿病患者糖负荷前后血清氨基酸与胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能的相关性研究[J]. 中国现代医学杂志, 2020, 30(17):609-612.
- [18] 林晶, 陈宇清, 陈蕾. 妊娠期糖尿病妇女甲状腺功能与胰岛素抵抗及胰岛 β 细胞功能的相关性[J]. 现代妇产科进展, 2021, 30(8):593-596.
- [19] ZHANG D, CHEN X, ZHENG D. A novel MIR503HG/miR-497-5p/CCL19 axis regulates high glucose-induced cell apoptosis, inflammation, and fibrosis in human HK-2 cells[J]. *Appl Biochem Biotechnol*, 2022, 194(5):2061-2076.
- [20] HE B, ZHOU W, RUI Y, et al. MicroRNA-574-5p attenuates acute respiratory distress syndrome by targeting HMGB1[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2021, 64(2): 196-207.

(收稿日期:2023-01-06 修回日期:2023-06-26)

(上接第 2456 页)

- [13] FARIAS M G, DE LUCENA N P, DAL BÓ S, et al. Neutrophil CD64 expression as an important diagnostic marker of infection and sepsis in hospital patients[J]. *J Immunol Methods*, 2014, 414:65-68.
- [14] ROGINA P, STUBLJAR D, LEJKO-ZUPANC T, et al. Expression of CD64 on neutrophils (CD64 index): diagnostic accuracy of CD64 index to predict sepsis in critically ill patients[J]. *Clin Chem Lab Med*, 2015, 53:e89-e91.
- [15] GAO Y, LIN L, ZHAO, J, et al. Neutrophil CD64 index as a superior indicator for diagnosing, monitoring bacterial infection, and evaluating antibiotic therapy: a case control study[J]. *BMC Infect Dis*, 2022, 22(1):892.
- [16] 贾亚杰. 重症肺炎患者外周血 MCP-1、KL-6、CD64 指数对预后的联合预测价值及临床意义[J]. 国际检验医学杂志, 2023, 44(5):571-575.
- [17] 周延杰, 蔡圆瑁, 王珂. 外周血 NLR、nCD64 指数和 mH-LA-DR 在肺部感染诊断中的应用[J]. 中国卫生检验杂志, 2023, 33(8):984-986.
- [18] PRENZLER S, RUDRAWAR S, WAESPY M, et al. The role of sialic acid-binding immunoglobulin-like-lectin-1 (siglec-1) in immunology and infectious disease[J]. *Int Rev Immunol*, 2023, 42(2):113-138.
- [19] BOURGOIN P, BIÉCHELÉ G, AIT BELKACEM I, et al. Role of the interferons in CD64 and CD169 expressions in whole blood: relevance in the balance between viral- or bacterial-oriented immune responses[J]. *Immun Inflamm Dis*, 2020, 8(1):106-123.
- [20] P. BOURGOIN T, SOLIVERES D, AHRIZ I, et al. Clinical research assessment by flow cytometry of biomarkers for infectious stratification in an emergency department[J]. *Biomark Med*, 2019, 13:1373-1386.
- [21] COMINS-BOO A, GUTIÉRREZ-LARRAÑAGA M, ROA-BAUTISTA A, et al. Validation of a quick flow cytometry-based assay for acute infection based on CD64 and CD169 expression. new tools for early diagnosis in COVID-19 pandemic[J]. *Front Med (Lausanne)*, 2021, 8:655785.

(收稿日期:2023-08-12 修回日期:2023-08-26)