

doi:10.3969/j.issn.1005-3697.2021.03.014

❖ 临床研究 ❖

外周血 CD44、TNF- α 和 IL-6 在胸部钝性创伤所致肺挫伤的表达水平及其临床意义

张盼盼, 易军, 董家寿, 柳雅奎, 李奎

(荆门市第一人民医院胸外、心脏大血管外科, 湖北 荆门 448000)

【摘要】目的: 探讨外周血 CD44、TNF- α 和 IL-6 在胸部钝性创伤所致肺挫伤患者的表达水平及临床意义。**方法:** 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 水平在胸部钝性创伤所致肺挫伤患者 (病例组, $n = 45$) 和同期健康人群 (对照组, $n = 45$) 的表达水平。分析 CD44、TNF- α 和 IL-6 与病例组肺挫伤严重 (轻度、中度、高度) 及继发急性呼吸窘迫综合征 (ARDS) 的差异, 并通过 Logistic 回归分析肺挫伤后继发 ARDS 的危险因素, 绘制 ROC 曲线评价外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 及三者联合对肺挫伤后继发 ARDS 的预测价值。**结果:** 病例组外周血 CD44、TNF- α 和 IL-6 的表达水平均高于对照组 ($P < 0.05$); 且 CD44、TNF- α 和 IL-6 的表达水平在轻度组、中度组、重度组肺挫伤中呈依次上升趋势 ($P < 0.05$); CD44、TNF- α 和 IL-6 表达水平在肺挫伤继发 ARDS 高于非 ARDS ($P < 0.05$)。Logistic 回归分析显示年龄、血小板计数、合并糖尿病、合并多发伤及外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平是肺挫伤后继发 ARDS 的危险因素 ($P < 0.05$); 当 CD44 > 3.17 ng/mL 时预测肺挫伤后继发 ARDS 的敏感度为 57.1%, 特异性为 94.7%; 当 TNF- $\alpha > 26.31$ ng/L 时, 敏感度为 71.4%, 特异性为 73.7%; 当 IL-6 > 41.25 ng/L 时, 敏感度为 71.4%, 特异性为 92.1%; 三者联合的敏感度为 85.7%, 特异性为 89.4%。**结论:** 胸部钝性创伤所致肺挫伤患者外周血 CD44、TNF- α 和 IL-6 表达水平明显上升, 且与肺挫伤严重程度和继发 ARDS 相关, 三者联合可作为预测继发 ARDS 的辅助指标。

【关键词】 肺挫伤; 钝性创伤; CD44; 肿瘤坏死因子- α ; 白细胞介素-6; 急性呼吸窘迫综合征

【中图分类号】 R563; R655 **【文献标志码】** A

Expression and clinical significance of CD44, TNF- α and IL-6 in peripheral blood of patients with pulmonary contusion caused by blunt chest trauma

ZHANG Pan-pan, YI Jun, DONG Jia-shou, LIU Ya-kui, LI Kui

(*Extrathoracic and Cardiovascular Surgery, Jingmen First People's Hospital, Jingmen 448000, Hubei, China*)

【Abstract】 Objective: To investigate the expression and clinical significance of CD44, TNF- α , and IL-6 in peripheral blood of patients with pulmonary contusion caused by blunt chest trauma. **Methods:** Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was used to detect the expression of CD44, TNF- α and IL-6 in peripheral blood of patients with pulmonary contusion caused by blunt chest trauma (case group, $n = 45$) and healthy people (control group, $n = 45$). The differences of CD44, TNF- α and IL-6 with severe pulmonary contusion (mild, moderate and high) and secondary acute respiratory distress syndrome (ARDS) were also analyzed. Logistic regression was used to analyze the risk factors of ARDS secondary to pulmonary contusion, and ROC curve was drawn to evaluate the predictive value of peripheral blood CD44, TNF- α , IL-6 and their combination on ARDS secondary to pulmonary contusion. **Results:** The expression levels of CD44, TNF- α and IL-6 in peripheral blood in the case group was significantly higher than that in the control group ($P < 0.05$), and that in the mild group, moderate group and severe group increased in turn ($P < 0.05$). The expression levels of CD44, TNF- α and IL-6 in the ARDS group was obviously higher than that in the non-ARDS group ($P < 0.05$). Logistic regression analysis showed that age, platelet count, diabetes mellitus, multiple trauma and the expression of CD44, TNF- α and IL-6 in peripheral blood were the independent influencing factors of ARDS after pulmonary contusion ($P < 0.05$). When CD44 > 3.17 ng/mL, the sensitivity and specificity respectively were 57.1% and 94.7%. When TNF- $\alpha > 26.31$ ng/L, the sensitivity and specificity were 71.4% and 73.7%, respectively. When IL-6 > 41.25 ng/L, the sensitivity and specificity were 71.4% and 92.1%, the sensitivity and specificity

基金项目: 湖北省荆门市科学技术研究与开发计划(2019YFZD022)

作者简介: 张盼盼(1985-), 男, 硕士, 主治医师。E-mail: 373136006@qq.com

通讯作者: 李奎。E-mail: 360230302@qq.com

of the combination of the three were 85.7% and 89.4%. **Conclusion:** The expression levels of CD44, TNF- α and IL-6 in peripheral blood of patients with pulmonary contusion caused by blunt chest trauma increased, which are related to the severity of pulmonary contusion and secondary ARDS. The combination of the three may be used as an auxiliary index to predict secondary ARDS.

[Key words] Pulmonary contusion; Blunt trauma; Adhesion molecule CD44; Tumor necrosis factor- α ; Interleukin-6; Acute respiratory distress syndrome

肺挫伤是一种胸外科中较常见损伤之一,随着全球范围内工业化进程及交通工具不断发展,在生产过程中及交通事故造成的胸部钝性创伤所致肺挫伤患者呈上升趋势^[1]。肺挫伤对患者的呼吸循环功能产生严重影响,主要包括胸痛、呼吸困难以及血痰等,致残率及致死率较高^[2]。肺挫伤患者通常合并多发伤,增加急性呼吸窘迫综合征 (acute respiratory distress syndrome, ARDS) 发生风险,不利于患者预后^[3]。目前,对肺挫伤继发 ARDS 以支持、对症治疗为主,缺乏疗效确切的治疗方式,因此判定肺挫伤严重程度及在入院早期预测 ARDS 发生的可能性具有一定的现实意义。黏附分子 CD44 是一种细胞表面跨膜糖蛋白,在炎症、免疫等反应过程中扮演重要角色^[4],肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 是一种重要的促炎因子,白细胞介素-6 (interleukin-6, IL-6) 是反应组织损伤程度的敏感指标之一。本研究以胸部钝性创伤所致肺挫伤患者为研究对象,探讨胸部钝性创伤所致肺挫伤患者外周血 CD44 及 TNF- α 、IL-6 的表达水平,并进一步分析其临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2019 年 1 月至 2019 年 12 月荆门市第一人民医院收治的 45 例胸部钝性创伤所致肺挫伤患者为病例组,同期入院体检的 45 名健康人群为对照组。对照组中,男性 31 例,女性 14 例;年龄 40 ~ 65 岁,平均 (52.33 \pm 12.18) 岁。病例组中,男性 30 例,女性 15 例;年龄 42 ~ 65 岁,平均 (52.60 \pm 11.83) 岁。两组性别、年龄差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。病例组纳入标准:(1) 患者有明确的胸部外伤病史,符合肺挫伤诊断标准:临床表现为胸痛、气短、咳嗽、咯血甚至呼吸困难,胸部 X 线粟粒样或斑片状阴影,CT 检查表现为肺纹理增多、增粗、轮廓模糊,伴有斑点状阴影或边缘模糊不清的片絮状影^[5];(2) 无活动性感染;(3) 受伤致入院时间 2 ~ 4 h;(4) 临床资料完整。两组排除标准:(1) 哺乳期、妊娠期妇女;(2) 合并休克、肺不张患者;(3) 胸部手术史患者;(4) 合并恶性肿瘤患者。全部病例组患者入院后均接受止血、吸氧、祛痰、止痛以及抑酸等对症治疗,治疗过程中密切监测患者动脉血气变化,其中 4 例患者并发血气胸接受胸腔闭式引流者治疗,4 例患者合并多发肋骨骨折接受手术治疗,

3 例患者给与呼吸机辅助呼吸,均未接受抗生素治疗。45 例患者均成功治愈出院,无死亡病例。本研究经医院伦理委员会批准,患者自愿参加试验并签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平的测定

入院时,取受试者外周静脉血 3 mL,采用低温高速离心机以 3 000 rpm 的转速离心 10 min,取上层血浆,保存于 -80 $^{\circ}$ C 冰箱中待测。采用酶联免疫吸附试验 (enzyme linked immunosorbent assay, ELISA) 法测定受试者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 水平,CD44 检测 ELISA 试剂盒购自上海钰博生物科技有限公司。

1.2.2 观察指标 (1) 比较健康对照组与病例组患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平;(2) 采用简明损伤定级标准 (abbreviated injury scale, AIS) 和损伤严重度计分 (injury severity score, ISS)^[6] 对患者入院情况进行评分,根据肺挫伤的严重程度分级标准将病例组患者分为轻度组 (AIS-ISS < 4)、中度组 (4 \leq AIS-ISS \leq 15)、重度组 (AIS-ISS \geq 16)^[7],比较 3 组患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平;(3) 根据 ARDS 柏林定义^[8],明确诱因下 1 周内出现的急性或进展性呼吸困难;胸部 X 线平片/胸部 CT 显示双肺浸润影,不能完全用胸腔积液、肺叶/全肺不张和结节影解释;呼吸衰竭不能完全用心力衰竭和液体负荷过重解释。如果临床没有危险因素,需要用客观检查 (如超声心动图) 来评价心源性肺水肿。根据 PaO₂/FiO₂ \leq 300 mm Hg 确立 ARDS 诊断,将病例组患者分为 ARDS 和非 ARDS 组,比较两组患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平;(4) 采用 Logistic 回归分析肺挫伤后继发 ARDS 的影响因素;(5) 通过绘制 ROC 曲线评价外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 及三者联合对肺挫伤后继发 ARDS 的预测价值。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 20.0 软件进行统计分析。计量资料以 ($\bar{x} \pm s$) 表示,组间比较采用 t 检验或 F 检验;对 CD44、TNF- α 、IL-6 检测结果进行受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线评价,比较 ROC 曲线下面积 (area under curve, AUC)。 $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平

比较

病例组患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平平均高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.001$)。见表 1。

表 1 两组患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD44 (ng/mL)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
病例组 ($n = 45$)	3.18 \pm 0.89	22.18 \pm 5.60	34.25 \pm 6.33
对照组 ($n = 45$)	0.53 \pm 0.32	9.36 \pm 2.51	12.33 \pm 3.12
t 值	18.796	14.014	20.836
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 不同严重程度肺挫伤患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平比较

轻度组、中度组、重度组患者肺挫伤外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平均呈上升趋势。其中重度组 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平高于中度组 ($t = 4.434, 4.948, 7.003$), 重度组高于轻度组 ($t = 10.220, 12.789, 11.989$), 中度组高于轻度组 ($t = 6.817, 9.355, 5.298$), 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

表 2 不同严重程度肺挫伤患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD44 (ng/mL)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
轻度组 ($n = 21$)	2.04 \pm 0.33	15.61 \pm 4.10	22.67 \pm 5.18
中度组 ($n = 15$)	2.85 \pm 0.38	29.18 \pm 4.55	32.18 \pm 5.49
重度组 ($n = 9$)	3.69 \pm 0.55	40.06 \pm 6.21	50.03 \pm 6.91
F 值	16.139	15.242	20.108
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 肺挫伤后继发与未继发 ARDS 患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平比较

ARDS 组患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平高于非 ARDS 组($P < 0.05$)。见表 3。

表 3 肺挫伤后继发与未继发 ARDS 患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD44 (ng/mL)	TNF- α (ng/L)	IL-6 (ng/L)
ARDS 组 ($n = 7$)	3.50 \pm 0.49	33.26 \pm 4.50	48.17 \pm 6.67
非 ARDS 组 ($n = 38$)	2.36 \pm 0.33	20.58 \pm 3.24	31.22 \pm 5.38
t 值	7.771	8.952	7.388
P 值	<0.001	<0.001	<0.001

2.4 肺挫伤后继发 ARDS 影响因素的 Logistic 回归分析

Logistic 回归分析显示,年龄、血小板计数、合并糖尿病、合并多发伤及外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平是肺挫伤后继发 ARDS 的独立影响因素($P < 0.05$)。见表 4。

表 4 肺挫伤后继发 ARDS 影响因素的 Logistic 回归分析

影响因素	回归系数	标准误	Wald 值	P 值	OR 值	95% CI
年龄 >60 岁	2.933	0.744	7.023	0.002	10.443	3.686 ~ 18.223
血小板计数 <80 $\times 10^9/L$	2.946	0.860	7.206	0.001	11.238	7.285 ~ 32.121
合并糖尿病	0.630	0.092	3.112	0.036	1.781	0.691 ~ 5.552
合并多发伤	2.680	0.531	5.858	0.004	9.240	2.554 ~ 14.299
CD44 (ng/mL)	1.539	0.346	4.129	0.018	3.588	1.703 ~ 7.587
TNF- α (ng/L)	3.020	0.877	7.230	0.000	11.681	7.301 ~ 32.180
IL-6 (ng/L)	3.145	0.911	7.418	0.000	12.909	9.560 ~ 32.188

2.5 外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 及三者联合对肺挫伤后继发 ARDS 的预测价值

当 CD44 > 3.17 ng/mL 时,预测肺挫伤后继发 ARDS 的 AUC 为 0.689,敏感度为 57.1%,特异性为 94.7%;当 TNF- α > 26.31 ng/L 时,AUC 为 0.799,敏感度为 71.4%,特异性为 73.7%;当 IL-6 > 41.25 ng/L 时,AUC 为 0.788,敏感度为 71.4%,特异性为 92.1%;三者联合预测肺挫伤后继发 ARDS 的 AUC 为 0.902,敏感度为 85.7%,特异性为 89.4%。见表 5 及图 1。

表 5 外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 峰值及三者联合对肺挫伤后继发 ARDS 的诊断效能

项目	敏感度	特异性	AUC	标准误	P 值	95% CI	Cut-off 值
CD44 (ng/mL)	0.571	0.947	0.689	0.120	0.016	0.554 ~ 1.025	3.17
TNF- α (ng/L)	0.714	0.737	0.799	0.112	0.007	0.580 ~ 1.018	26.31
IL-6 (ng/L)	0.714	0.921	0.788	0.127	0.024	0.538 ~ 1.037	41.25
三者联合	0.857	0.894	0.902	0.081	0.000	0.744 ~ 1.060	-

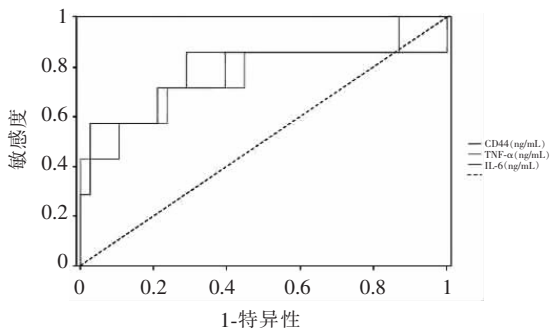


图 1 血清 CD44、TNF- α 、IL-6 预测肺挫伤后继发 ARDS 的 ROC 曲线

3 讨论

TNF- α 是由粒细胞及单核巨噬细胞系统分泌产生的促炎性因子,可通过多条信号通路发挥促进炎症反应的作用^[9];IL-6 主要由 T 细胞及单核细胞产生,在急性炎症反应过程中水平迅速上升,急性肺损伤后患者血清 IL-6 水平持续升高,从而激活中性粒细胞并使其聚集于炎症部位,损伤肺泡上皮细胞及肺毛细血管内皮细胞^[10];黏附分子 CD44 是一种跨膜蛋白多糖分子,在细胞膜上广泛表达,促进 T 细胞活化、巨噬细胞及 T、B 细胞的分化,并广泛参与炎症反应^[4]。CD44 异常活化更是与非酒精性脂肪

性肝病^[11]、肺结核^[4]、肺癌^[12]等多种疾病的发生及发展密切相关,但在肺挫伤中伤未见报道。在本研究中,病例组外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平高于对照组 ($P < 0.05$),且轻度组、中度组、重度组依次呈上升趋势 ($P < 0.05$),徐晓娅等^[13]以实验性自身免疫性脑脊髓炎大鼠为实验对象,发现模型组大鼠黏附分子 CD44 水平高于对照组,推断其参与自身免疫性脑脊髓炎发生发展- α 水平高于无损伤对照组。上述研究结果与本研究基本一致。

研究^[14-15]表明,肺挫伤患者病情多变,随着病程的不断进展可能继发 ARDS,增加治疗难度,严重威胁患者的健康甚至生命。因此,对肺挫伤后能否继发 ARDS 的进行预测,并尽早采取干预措施是提高救治成功率的主要方式。ARDS 组外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平高于非 ARDS 组 ($P < 0.05$),分析原因是由于肺挫伤后随着时间推移,早期的仅因机械性损伤因素引起的肺泡内出血逐渐发展成至炎症细胞激活、释放大炎症性介质等过程,推断其中的炎症性介质可能包括 CD44、TNF- α 及 IL-6。Logistic 回归分析显示,年龄、血小板计数、合并糖尿病、合并多发伤以及外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平是肺挫伤后继发 ARDS 的独立影响因素 ($P < 0.05$),对于年龄较高的患者,身体各项机能下降且多合并基础疾病,预后较差;血小板过低表示患者凝血功能较差,与不良预后相关;过高的血糖可能导致氧自由基聚集、对细胞免疫功能造成破坏,导致免疫力降低,增加继发 ARDS 风险,且通过绘制 ROC 曲线发现,三者联合预测肺挫伤后继发 ARDS 的敏感度为 85.7%,特异性为 89.4%。孙丽等^[16]发现,重症肺炎并发 ARDS 的老年患者血清 TNF- α 、IL-6 表达水平高于未合并 ARDS 组,二者水平升高可作为重症肺炎患者不良预后的危险因素;国外 Law 等^[17]发现,将小鼠 CD44 基因敲除后其炎症细胞因子水平降低,肺内炎症细胞数目减少,ARDS 发生率降低,与本研究结果基本一致。综合本研究结果得知,肺挫伤可通过引起早期的体液和细胞防御反应,发生系统性炎症反应,从而导致 ARDS,由此推断进行抗炎治疗以期实现对肺挫伤后 ARDS 的防治效果。近年来研究^[18-19]发现,通腑泻肺法、葶苈大枣泻肺汤等中医疗法可通过调控炎症反应发挥对 ARDS 的治疗效果,但其对于 ARDS 的预防作用仍需进一步探讨。本研究存在不足之处,由于样本量受限,肺挫伤继发 ARDS 患者较少,因此研究还需进行大样本多中心试验验证。

综上所述,胸部钝性创伤所致肺挫伤患者外周血 CD44、TNF- α 、IL-6 表达水平上升,且随着肺挫伤的严重程度加重而逐步上升,三者联合可作为辅助

指标以预测继发 ARDS。

参考文献

- [1] Karaboğa I. Caffeic acid phenethyl ester ameliorates pulmonary inflammation and apoptosis reducing Nf- κ B activation in blunt pulmonary contusion model[J]. TJTES,2018,25(5):433-439.
- [2] 张杰,郑芳芳,叶慧芳,等.严重肺挫伤机械通气治疗疗效及影像学变化分析[J].中国 CT 和 MRI 杂志,2018,16(11):65-68.
- [3] Li Y,Dai YL,Duan XY, et al. Application of automated bronchial 3D-CT measurement in pulmonary contusion complicated with acute respiratory distress syndrome[J]. J Xray Sci Technol,2019,27(4):641-654.
- [4] Shiratori B,Zhao J,Okumura M, et al. Immunological Roles of Elevated Plasma Levels of Matricellular Proteins in Japanese Patients with Pulmonary Tuberculosis[J]. Int J Mol Sci,2016,18(1):19.
- [5] Stolz A,Schützner J,Lischke R. Pulmonary contusion[J]. Rozhl Chir,2017,96(12):488-492.
- [6] 朱政鸣,刘科,陈维庭.多发伤创伤严重度评分法 AIS-ISS 法[J].四川医学,1997,(2):111-112.
- [7] 王长保,董黄勇. AIS-ISS 创伤评分在人体损伤程度鉴定中的应用[J].中国法医学杂志,2015,30(5):524-525.
- [8] ARDS Definition Task Force. Acute respiratory distress syndrome: the Berlin Definition[J]. JAMA,2012,307(23):2526-2533.
- [9] He Y,Xiao Y,Yang X, et al. SIRT6 inhibits TNF- α -induced inflammation of vascular adventitial fibroblasts through ROS and Akt signaling pathway[J]. Exp Cell Res,2017,357(1):88-97.
- [10] Chepurnova DA,Samoilova EV,Anisimov AA, et al. Compounds of IL-6 Receptor Complex during Acute Lung Injury[J]. Bull Exp Biol Med,2018,164(5):609-611.
- [11] Patouraux S,Rousseau D,Bonnafous S, et al. CD44 is a key player in non-alcoholic steatohepatitis[J]. J Hepatol,2017,67(2):328-338.
- [12] Song JM,Im J,Nho RS, et al. Hyaluronan-CD44/RHAMM interaction-dependent cell proliferation and survival in lung cancer cells[J]. Mol Carcinog,2019,58(3):321-333.
- [13] 徐晓娅,郭晓晓,邱涛,等.黏附分子 CD44 在实验性自身免疫性脑脊髓炎中的作用[J].国际神经病学神经外科学杂志,2019,46(4):383-386.
- [14] 戴宁凰,郑中锋,李威,等.钝性胸部创伤所致多发性肋骨骨折或肺挫伤患者血清表面活性蛋白 D 和白介素 6 水平变化及其临床意义[J].实用心脑血管病杂志,2019,27(7):97-99.
- [15] 李东锦,王伟,熊新明,等.急性肺挫伤早期肺泡灌洗液表面活性蛋白与 TNF- α 、IL-32 的变化趋势及相关性[J].实用医学杂志,2018,34(20):3372-3375.
- [16] 孙丽,徐刚.重症肺炎并发 ARDS 老年患者血清 TNF- α 、IL-6、IL-10、HMGB1 水平及其与预后的相关性分析[J].临床肺科杂志,2020,25(8):1180-1183.
- [17] Law GP,McKallip RJ,Sun J, et al. CD44 as a novel target for treatment of staphylococcal enterotoxin B-induced acute inflammatory lung injury[J]. Clinical immunology,2012,144(1):41-52.
- [18] 苏景深,刘恩顺,孙增涛,等.通腑泻肺法对 ALI/ARDS 大鼠炎症反应的调控作用[J].中国中医急症,2018,27(7):1133-1136.
- [19] 薛敏.葶苈大枣泻肺汤加减治疗肺挫伤致急性呼吸窘迫综合征临床观察[J].中医临床研究,2018,10(8):19-21.

(收稿日期:2020-10-14

修回日期:2020-11-25)