

2445 例感染性疾病患者生物样本基本特征分析

王连心¹, 谢雁鸣^{1*}, 常艳鹏^{1,2}, 尤 丽³, 卢鹏飞¹

(1. 中国中医科学院中医临床基础医学研究所, 北京市东城区东直门内南小街 16 号, 100700; 2. 沈阳市骨科医院; 3. 中国人民大学)

基金项目: 国家中医药管理局中医药行业科研专项资助项目 (200907001-5-6)

摘要 **目的** 探讨感染性疾病患者性别、年龄、地域、季节的基本特征及对免疫毒理学指标的影响。 **方法** 采用前瞻性、多中心、大样本、注册登记式研究方法, 收集使用喜炎平注射液、痰热清注射液、热毒宁注射液 3 种清热解毒类中药注射剂的 2445 例患者, 制定《喜炎平/热毒宁/痰热清注射液基本信息表》, 包括患者性别、年龄、地域、季节情况, 并采集患者血液样本, 检测血清环磷酸腺苷 (cAMP)、白细胞介素 1 β (IL-1 β)、白细胞介素 4 (IL-4)、白细胞介素 6 (IL-6)、白细胞介素 8 (IL-8)、巨噬细胞炎性蛋白 1 β (MIP-1 β)、前列腺素 E₂ (PGE₂)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α) 水平。 **结果** 2445 例患者中, 男性占 63.1%, 以 18 岁以下儿童居多, 北方地区人数略多, 春季患者居多。女性患者 IL-1 β 、cAMP、MIP-1 β 、PGE₂、TNF- α 高于男性 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 儿童患者各项指标均高于其他年龄患者, 北方患者 IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、cAMP、TNF- α 高于南方患者, 夏季患者 IL-1 β 、IL-8、cAMP、PGE₂ 和 TNF- α 高于其他季节 ($P < 0.01$)。 **结论** 不同年龄、性别、地域与发病季节感染性疾病患者免疫毒理学指标有所不同, 其可能成为影响临床诊疗决策的混杂因素。

关键词 感染性疾病; 生物样本; 炎症因子; 免疫因子

感染性疾病是由病原微生物引起的疾病的统称。感染性疾病的发生与病原体的侵袭力及宿主的免疫力密切相关^[1]。由于临床上很多感染性疾病往往并不做病原学检验, 甚或一些感染性疾病没有症状或症状十分轻微, 因此, 对感染性疾病相关生物样本特征研究, 有利于早期发现及认识感染性疾病的特点。本研究基于 2009 年中医药行业科研专项子课题“感染性疾病常用中药注射剂临床安全性监测及过敏反应机理研究”, 采用前瞻性、多中心、大样本、注册登记式研究方法^[2], 对感染性疾病患者性别、年龄、地域、患病季节及相关免疫毒理学指标进行特征分析, 以期发现感染性疾病患者生物样本的基本特征。

1 资料与方法

1.1 病例来源

收集 2012 年 12 月至 2013 年 8 月来自长春中医药大学附属医院、首都医科大学附属北京佑安医院、成都市传染病医院、安徽中医药大学第一附属

医院、长沙市第一医院、福州市传染病医院、石家庄第五医院、辽宁中医药大学附属医院、大连市儿童医院、烟台毓璜顶医院 10 家医院使用喜炎平注射液、痰热清注射液、热毒宁注射液 3 种清热解毒类中药注射剂的患者 2445 例, 用于肺部感染、手足口病、水痘、麻疹等急性传染病和结核、肝炎、慢性阻塞性肺炎及哮喘伴感染等慢性传染病等感染性疾病。

1.2 资料收集方法

制定《喜炎平/热毒宁/痰热清注射液基本信息表》, 包括患者基本信息、生命体征、医嘱、药物配置等; 同时通过中药上市后临床再评价公共服务平台 (<http://www.crpcm.com/>), 将数据录入到“喜炎平/热毒宁/痰热清注射液监测平台”。

1.3 免疫毒理学指标检测

抽取患者血液样本时, 患者本人或其合法代理人在清醒、正常精神状态下, 仔细阅读知情同意书, 同意后签字; 或在有证人的情况下, 将知情同意书的内容念给患者听, 患者同意后亲自签字或按手印。同时告知患者其供体的隐私权将被严格保

* 通讯作者: datamining5288@163.com, (010) 64014411 转 3302

密, 未经同意不会泄漏有关信息。采血后, 医生填写《采血卡》, 包括病历号、姓名缩写、原患疾病、采血日期、采血量等。

对采集的血液样本进行离心、分装、标识、低温储存、冷链运输, 送往中心实验室统一检测。采用 ELISA 方法检测血清环磷酸腺苷 (cAMP, 检测范围 1 ~ 20 nmol/L, 批号: 201305)、白细胞介素 1 β (IL-1 β , 检测范围 1 ~ 20 ng/L, 批号: 201305)、白细胞介素 4 (IL-4, 检测范围 20 ~ 400 ng/L, 批号: 201305)、白细胞介素 6 (IL-6, 检测范围 0.4 ~ 9 ng/L, 批号: 201305)、白细胞介素 8 (IL-8, 检测范围 50 ~ 1000 ng/L, 批号: 201305)、巨噬细胞炎性蛋白 1 β (MIP-1 β , 检测范围 3 ~ 70 ng/L, 批号: 201305)、前列腺素 E₂ (PGE₂, 检测范围 20 ~ 400 ng/L, 批号: 201305)、肿瘤坏死因子- α (TNF- α , 检测范围 20 ~ 400 ng/L, 批号: 201305) 水平。试剂盒均由上海达豪生物科技有限公司提供。酶标仪, 型号: RT6100, 深圳雷杜生命科学股份有限公司。

1.4 数据录入及数据质量监控

本研究采用网上平台录入系统的方式^[8], 给采血医院统一发放用户名与密码, 采用双人双录入的形式保证录入质量, 通过中药上市后临床再评价公共服务平台 (<http://www.crpem.com/>) 录入患者基本信息及免疫毒理学指标信息。

1.5 统计学方法

采用 R 2.15.3 软件中的 Epicalc 和 Twang 程序包, 对患者基线特征进行描述分析, 并对各因素的不同水平进行 χ^2 检验。由于会存在个别指标检测

值超出机器检测范围 (异常值) 的情况, 首先将其剔除; 然后对剩余患者的生物样本分布进行正态性检验, 得到各组生物样本在 0.05 置信水平均不服从正态分布, 故采用 Friedman 非参数检验方法分析各因素不同水平的生物标记物是否有差异。

2 结果

2.1 2445 例患者基本情况

表 1 示, 2445 例患者中, 男性所占比例较大; 以 18 岁以下儿童居多; 北方地区人数略多; 春季患者居多。

2.2 不同性别患者免疫毒理学指标比较

在对各项指标分析前, 男性组、女性组首先分别剔除异常值患者。不同性别患者 IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、cAMP、MIP-1 β 、PGE₂、TNF- α 8 项生物样本特征见表 2。利用 W 检验对不同性别的上述 8 项指标分布进行组间差异检验, IL-1 β 、cAMP、MIP-1 β 、PGE₂、TNF- α 在性别间的分布

表 1 2445 例感染性疾病患者基本特征描述

指标	分类	例数	百分比
性别	男	1542	63.1
	女	903	36.9
年龄	儿童 (0 ~ 18 岁)	1142	46.7
	青年 (19 ~ 45 岁)	566	23.1
	中年 (46 ~ 65 岁)	428	17.5
	老年 (66 岁及以上)	309	12.6
地区	北方地区 (长江以北)	1306	53.4
	南方地区 (长江以南)	1139	46.6
季节	春季	1428	58.4
	冬季	942	38.5
	夏季	75	3.1

表 2 不同性别患者免疫毒理学指标比较

指标	性别	例数	剔除例数	实际例数	均值	标准差	中位数	W 值	P 值
IL-1 β (ng/L)	男	1542	1	1541	4.25	3.51	3.08	4.00	0.045
	女	903	1	902	4.69	4.08	3.13		
IL-4 (ng/L)	男	1542	1	1541	75.64	61.29	55.53	3.68	0.055
	女	903	1	902	84.41	73.65	57.65		
IL-6 (ng/L)	男	1542	0	1542	1.44	1.23	1.04	3.21	0.073
	女	903	1	902	1.60	1.45	1.07		
IL-8 (ng/L)	男	1542	8	1534	220.37	174.09	168.91	2.82	0.093
	女	903	7	896	239.95	199.91	171.16		
cAMP (nmol/L)	男	1542	8	1534	4.31	3.58	3.16	6.77	0.009
	女	903	7	896	4.73	3.98	3.27		
MIP-1 β (ng/L)	男	1542	3	1539	15.91	12.21	11.57	5.97	0.015
	女	903	2	901	17.60	14.03	12.09		
PGE ₂ (ng/L)	男	1542	10	1532	85.89	66.12	65.03	6.37	0.012
	女	903	16	887	93.69	74.25	67.04		
TNF- α (ng/L)	男	1542	4	1538	75.27	63.09	53.25	12.06	0.001
	女	903	4	899	84.85	72.62	58.79		

差异具有统计学意义 ($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$), 女性患者的指标值略高。

2.3 不同年龄患者免疫毒理学指标比较

按世界卫生组织 (WHO) 对人群年龄划分标准^[4], 将患者分为儿童组 (0~18 岁)、青年组 (19~45 岁)、中年组 (46~65 岁) 和老年组 (66 岁及以上), 在对各项指标分析前剔除异常值患者, 不同年龄患者 8 项生物样本特征见表 3。对 4 个年龄组 8 项生物样本分布进行组间比较, 发现各指标不同年龄层之间分布比较, 差异皆具有统计学意义 ($P < 0.01$)。进一步利用多个独立样本的非参数多重比较方法, 发现儿童组各指标高于其他组 ($P < 0.01$)。

2.4 不同地域患者免疫毒理学指标比较

以长江为界, 将患者入住医院的地域分为北方地区和南方地区, 剔除异常值患者。不同地域患者 8 项生物样本特征见表 4。利用 W 检验对不同地区 8 项指标分布进行组间差异检验, 除 MIPL-1 β 、PGE₂

外, 其余 6 项指标在不同地域分布差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 北方患者的 6 项指标值略高。

2.5 不同季节患者免疫毒理学指标比较

本研究历经冬季 (12 月 - 次年 2 月)、春季 (3 月 - 5 月)、夏季 (6 月 - 8 月) 3 个季节, 目的是观察季节是否对免疫毒理学指标有影响。首先剔除异常值患者, 不同季节患者 8 项生物样本特征见表 5。利用 Kruskal-Wallis 检验, 对不同季节的 8 项指标分布进行组间比较, IL-1 β 、IL-8、cAMP、PGE₂ 和 TNF- α 在不同季节分布比较, 差异具有统计学意义 ($P < 0.01$), 进而分别对其进行多个独立样本的非参数多重比较, 结果发现各指标值在夏季与其他季节有差异, 且相对较高。

3 讨论

对感染性疾病的研究往往伴随着对感染发展过程中致炎因子、抗炎因子相互作用的研究。如 MIPL-1 β 是一种炎性蛋白, 参与自身免疫的发生发

表 3 不同年龄患者免疫毒理学指标比较

指标	年龄分组	例数	剔除例数	实际例数	均值	标准差	中位数	W 值	P 值
IL-1 β (ng/L)	儿童	1142	1	1141	4.73	3.88	3.25	30.80	<0.01
	青年	566	1	565	4.48	4.15	2.99		
	中年	428	0	428	3.89	3.04	2.94		
	老年	309	0	309	3.86	3.10	3.13		
IL-4 (ng/L)	儿童	1142	2	1140	87.56	70.12	61.76	130.18	<0.01
	青年	566	0	566	79.46	68.61	55.61		
	中年	428	0	428	65.01	54.97	49.98		
	老年	309	0	309	65.00	55.13	49.58		
IL-6 (ng/L)	儿童	1142	1	1141	1.65	1.42	1.14	50.16	<0.01
	青年	566	0	566	1.50	1.41	0.97		
	中年	428	0	428	1.28	1.04	1.00		
	老年	309	0	309	1.27	0.96	1.02		
IL-8 (ng/L)	儿童	1142	10	1132	253.33	197.77	183.41	96.24	<0.01
	青年	566	5	561	223.42	187.05	165.53		
	中年	428	0	428	193.27	150.61	154.99		
	老年	309	0	309	188.40	152.80	151.02		
cAMP (nmol/L)	儿童	1142	10	1132	4.99	3.90	3.59	155.93	<0.01
	青年	566	2	564	4.46	4.21	2.96		
	中年	428	2	426	3.60	2.90	2.81		
	老年	309	1	308	3.70	2.81	2.86		
MIPL-1 β (ng/L)	儿童	1142	3	1139	17.97	13.90	12.57	44.36	<0.01
	青年	566	2	564	16.58	13.48	11.24		
	中年	428	0	428	14.13	10.63	10.61		
	老年	309	0	309	14.48	10.11	11.59		
PGE ₂ (ng/L)	儿童	1142	14	1128	94.14	73.14	69.62	46.04	<0.01
	青年	566	9	557	94.16	75.43	67.03		
	中年	428	2	426	77.33	55.85	60.95		
	老年	309	1	308	75.02	55.03	61.02		
TNF- α (ng/L)	儿童	1142	8	1134	86.76	69.90	61.83	118.06	<0.01
	青年	566	0	566	81.29	75.51	52.27		
	中年	428	0	428	66.46	53.30	49.58		
	老年	309	0	309	62.16	47.99	49.23		

表 4 不同地域患者免疫毒理学指标比较

指标	地域	例数	剔除例数	实际例数	均值	标准差	中位数	W 值	P 值
IL-1 β (ng/L)	北方地区	1306	2	1304	4.55	3.73	3.18	15.51	<0.01
	南方地区	1139	0	1139	4.26	3.74	3.00		
IL-4 (ng/L)	北方地区	1306	2	1304	83.11	69.24	58.41	18.59	<0.01
	南方地区	1139	0	1139	74.03	62.31	54.41		
IL-6 (ng/L)	北方地区	1306	1	1305	1.58	1.36	1.08	13.90	<0.01
	南方地区	1139	0	1139	1.41	1.26	1.02		
IL-8 (ng/L)	北方地区	1306	10	1296	243.89	193.35	178.35	38.99	<0.01
	南方地区	1139	5	1134	208.96	171.42	160.25		
cAMP (nmol/L)	北方地区	1306	12	1294	4.79	3.87	3.47	73.46	<0.01
	南方地区	1139	3	1136	4.09	3.54	2.92		
MIPL-1 β (ng/L)	北方地区	1306	4	1302	17.01	13.77	11.79	0.39	0.532
	南方地区	1139	1	1138	15.99	11.90	11.75		
PGE ₂ (ng/L)	北方地区	1306	13	1293	89.45	71.60	65.19	1.11	0.291
	南方地区	1139	13	1126	87.94	66.57	66.60		
TNF- α (ng/L)	北方地区	1306	6	1300	83.30	67.05	60.18	53.58	<0.01
	南方地区	1139	2	1137	73.67	66.40	51.04		

表 5 不同季节患者免疫毒理学指标比较

指标	季节	例数	剔除例数	实际例数	均值	标准差	中位数	W 值	P 值
IL-1 β (ng/L)	春季	1428	2	1426	4.40	3.82	3.00	15.67	<0.01
	冬季	942	0	942	4.45	3.60	3.29		
	夏季	75	0	75	4.17	3.86	2.48		
IL-4 (ng/L)	春季	1428	2	1426	78.98	66.77	55.64	3.07	0.216
	冬季	942	0	942	78.08	63.09	57.21		
	夏季	75	0	75	86.89	90.79	47.44		
IL-6 (ng/L)	春季	1428	1	1427	1.48	1.31	1.04	3.81	0.149
	冬季	942	0	942	1.53	1.30	1.09		
	夏季	75	0	75	1.66	1.60	1.04		
IL-8 (ng/L)	春季	1428	9	1419	230.46	183.13	171.41	49.10	<0.01
	冬季	942	6	936	225.97	177.69	169.66		
	夏季	75	0	75	193.53	266.77	76.86		
cAMP (nmol/L)	春季	1428	7	1421	4.49	3.77	3.23	10.01	0.007
	冬季	942	4	938	4.37	3.64	3.08		
	夏季	75	4	71	5.18	4.32	3.53		
MIPL-1 β (ng/L)	春季	1428	2	1426	16.66	12.91	11.85	1.52	0.469
	冬季	942	1	941	16.24	12.53	11.64		
	夏季	75	2	73	17.99	17.81	10.70		
PGE ₂ (ng/L)	春季	1428	13	1415	88.82	70.30	64.38	53.70	<0.01
	冬季	942	9	933	85.93	65.61	65.91		
	夏季	75	4	71	124.38	85.74	91.46		
TNF- α (ng/L)	春季	1428	4	1424	75.79	63.62	53.10	81.77	<0.01
	冬季	942	0	942	79.93	68.92	55.11		
	夏季	75	4	71	124.38	85.74	91.46		

展; IL-4 作为抗炎因子, 由 Th2 细胞产生, 具有免疫抑制作用, 对于 B 细胞、T 细胞、肥大细胞、单核细胞和造血细胞均可进行免疫调节^[5-7]; IL-6 在感染性疾病中发挥着复杂的作用, 既会导致细胞因子网络失衡而异常升高产生致病作用, 又会促进特异性抗体生成而产生保护作用; TNF- α 是由单核—巨噬细胞产生的多显性细胞因子, 具有调节免疫应答, 促进细胞生长分化等多种生理功能^[8]; IL-8 是一种具有内源性白细胞趋化性和活化性作用的碱基—肝素结合性蛋白质, 在炎症和免疫反应中可以极

其活跃地表达, IL-1 β 和 TNF- α 等也能诱导一些细胞产生 IL-8^[9]。感染性疾病患者常出现发热症状, 这又与 PGE₂、cAMP 等中枢发热介质有着千丝万缕的联系^[9]。

在感染性疾病 (尤其突发新的感染性疾病) 病原体尚未明确、诊断缺乏特异性, 甚至尚无感染性炎症独立诊断指标的情况下, 对上述炎症指标及自身免疫相关生物活性物质的检测对于感染的诊断甚至是疾病治疗都有重要临床价值^[10-11]。本研究对 2445 例感染性疾病患者 IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-

8、cAMP、MIP-1 β 、PGE₂、TNF- α 生物样本基本特征进行分析,可见患者由于自身基本情况及环境因素的不同,对各个指标的影响也不尽相同:女性患者的 IL-1 β 、cAMP、MIP-1 β 、PGE₂、TNF- α 高于男性,儿童组的各项指标显著高于其他年龄组,北方患者的 IL-1 β 、IL-4、IL-6、IL-8、cAMP、TNF- α 高于南方患者,夏季患者 IL-1 β 、IL-8、cAMP、PGE₂ 和 TNF- α 明显高于其他季节。

因而,借鉴生物样本区别感染性疾病病因,甚至进行治疗具有一定的科学创新及应用前景,但要时刻注意甄别患者自身生物样本基本特征,以免使其成为影响临床诊疗决策的混杂因素。当然,现代统计学的 Logistic 回归分析、倾向性评分等方法^[2]可以帮助研究者确定影响上述感染性疾病生物样本变化的本质因素,为诊疗提供明确的方向和方法,在本科研团队的其他文章中已有阐释。

参考文献

- [1] (德)考夫曼, (美)谢尔, (美)艾哈迈德. 感染性疾病免疫学 [M]. 北京: 化学工业出版社, 2005: 1-30.
- [2] 杨薇, 谢雁鸣, 王永炎. 中医药临床实效研究: 中药注射剂注册登记式医院集中监测方案解读 [J]. 中国中药杂志, 2012, 37(18): 2683-2685.
- [3] 王连心, 谢雁鸣, 王志飞. 建立中药注射剂上市后临床安全性医院集中监测网络的思考 [J]. 中国中药杂志,

2012, 37(18): 2692-2694.

- [4] 李艳平, 马冠生, 潘慧. 不同标准定义的青少年超重发生率的比较 [J]. 中国慢性病预防与控制, 2014, 22(2): 281-282.
- [5] Bone RC. Sir isaac newton, sepsis, SIRS, and CARS [J]. Crit Care Med, 1996, 24(7): 1125-1128.
- [6] 齐文杰, 任爱民, 张淑文, 等. 血清促炎因子、抗炎因子在急性感染患者中的动态变化及中药干预的影响 [J]. 中国中西医结合杂志, 2000, 20(11): 824-827.
- [7] 龚小慧. IL-6 与感染性疾病的关系 [J]. 国外医学儿科学分册, 1996, 23(5): 238-241.
- [8] 许国根, 王戈, 缪群, 等. 全身炎症反应综合征患者抗炎因子对 T 淋巴细胞凋亡的影响 [J]. 中华急诊医学杂志, 2002, 11(4): 249-251.
- [9] 赵红艳. 黄芩甙对发热大鼠下丘脑 PGE₂ 和 cAMP 含量的影响 [J]. 中国应用生理学杂志, 2002, 18(2): 139-141.
- [10] Kluger MJ. Fever: role of pyrogens and cryogens [J]. Physiol Rev, 1991, 71(1): 93-127.
- [11] Majori M, Caminati A. Predominant TH1 cytokine pattern in peripheral blood from subjects with chronic obstructive pulmonary disease [J]. J Allergy Clin Immunol, 1999, 103(3pt1): 458-462.
- [12] 杨伟, 易丹辉, 谢雁鸣, 等. 基于 GBM 倾向评分法对疏通注射液导致谷丙转氨酶异常变化的影响分析 [J]. 中国中药杂志, 2013, 38(18): 3039-3047.

Characteristic Analysis of Biological Samples from 2445 Patients with Infectious Diseases

WANG Lianxin¹, XIE Yanming¹, CHANG Yanpeng^{1,2}, YOU Li³, LU Pengfei¹

(1. China Academy of Chinese Medical Sciences, Beijing 100700; 2. 2 Orthopaedic Hospital of Shenyang; 3. Renmin University of China)

ABSTRACT Objective To study the basic features of gender, age, region and season in patients with infectious diseases and the effects on immune toxicology. **Methods** A prospective, multi-center, large sample and registered study was conducted. A total of 2445 patients injected with *Xiyanping Injection*, *Tanreqing Injection* and *Reduning Injection* were collected. A basic information table of *Xiyanping Injection*, *Tanreqing Injection* and *Reduning Injection* was formulated. The patient information such as gender, age, geographic region and onset season was included in the table. The blood samples from patients were collected to detect the levels of cyclic adenosine monophosphate (cAMP), interleukin-1 β (IL-1 β), interleukin-4 (IL-4), interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), macrophage inflammatory protein-1 β (MIP-1 β), prostaglandin E₂ (PGE₂) and tumor necrosis factor- α (TNF- α). **Results** In 2445 patients, males accounted for 63.1%. Most patients are children under 18 years old and from the northern region. The diseases commonly appeared in the spring. The levels of IL-1 β , cAMP, MIP-1 β , PGE₂ and TNF- α in female patients were higher than those in male patients ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). The levels of the indicators in pediatric patients were higher than those in other age ($P < 0.01$). The levels of IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-8, cAMP and TNF- α in patients from the northern region were higher than those in patients from the southern region ($P < 0.01$). The levels of IL-1 β , IL-8, cAMP, PGE₂ and TNF- α in patients who caught the diseases in summer were higher than those in patients who suffered the diseases in other seasons ($P < 0.01$). **Conclusion** The indicators of immune toxicology in patients with infectious diseases vary in age, gender, geographic region and onset season. It may become the confounding factors influencing the clinical diagnosis and treatment decisions.

Keywords infectious diseases; biological samples; inflammatory cytokines; immune factors

(收稿日期: 2014-04-25; 修回日期: 2014-06-25)

[编辑: 邓媛]