

## SLE患者外周血中性粒细胞CD64指数在鉴别并发细菌感染与疾病活动期的临床价值\*

陈芳芳<sup>a</sup>, 张群燕<sup>b</sup>, 邢婕<sup>a</sup>, 李晓军<sup>a</sup> (南京总医院 a. 中心实验科; b. 中西医结合科, 南京 210002)

**摘要:**目的 探讨中性粒细胞CD64表达在鉴别系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)并发细菌感染与SLE活动期的临床价值。方法 随机选取2017年1~5月期间南京总医院就诊的健康体检者30例, SLE患者34例[其中SLE疾病并发细菌感染组12例(其中并发肺炎3例, 其他部位细菌感染9例), 按SLE疾病活动指数(systemic lupus erythematosus disease activity-index, SLE-DAI)分为SLE活动组12例(SLE-DAI $\geq$ 9分)和SLE稳定期组10例(SLE-DAI $<$ 9分)]。各组分别进行血细胞计数, C反应蛋白(CRP)和红细胞沉降率(ESR)的检测; 用流式细胞术检测外周血中性粒细胞CD64的平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI), 并计算出CD64指数(CD64 I)及最佳临界值。筛选出诊断SLE并发细菌感染的差异指标, 绘制受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic, ROC), 对CD64 I联合其他指标判断SLE并发细菌感染的敏感度及特异度进行比较。结果 SLE并发细菌感染组CD64 I( $0.47 \pm 0.40$ )明显高于SLE活动期组( $0.17 \pm 0.13$ )、稳定期组( $0.14 \pm 0.09$ )及健康对照组( $0.12 \pm 0.64$ )(均 $P < 0.05$ ); ROC曲线分析结果显示: CD64 I判断SLE并发细菌感染的敏感度及特异度分别为81.8%和80.0%。结论 与3个炎性指标相比, 中性粒细胞CD64 I对判断SLE并发细菌感染具有更高的准确度, 有望用于SLE活动期患者与并发细菌感染者的鉴别。

**关键词:** CD64指数; 系统性红斑狼疮; 流式细胞术; 感染

中图分类号: R593.241; R446.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2018)03-014-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2018.03.005

### Clinical Value of Peripheral Blood Neutrophil CD64 Index in Identifying SLE Complicated with Bacterial Infection and Active SLE

CHEN Fang-fang<sup>a</sup>, ZHANG Qun-yan<sup>b</sup>, XING Jie<sup>a</sup>, LI Xiao-jun<sup>a</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Integrated Traditional Chinese and Western Medicine, Nanjing General Hospital, Nanjing 210002, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical value of neutrophil CD64 expression in the differential diagnosis of systemic lupus erythematosus (SLE) and combined bacterial infection. **Methods** According to the SLE disease activity index (SLE-DAI), 12 patients (SLE-DAI $\geq$ 9) and 10 patients with stable SLE (SLE-DAI $<$ 9) were divided into SLE activity group, 12 cases of SLE complicated bacterial infection and 30 cases of healthy control were followed-up from Nanjing General Hospital during the period from January to May 2017. Each group was tested for WBC, C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR). The mean fluorescence intensity (MFI) of neutrophils CD64 was measured by flow cytometry. The CD64 index (CD64 I) and the optimal cut off value were calculated. The sensitivity and specificity of the CD64 I combined with other indicators in the differential diagnosis of SLE infection were compared by mapping the receiver operating characteristic (ROC) curve. **Results** The CD64 I ( $0.47 \pm 0.40$ ) in SLE combined bacterial infection group was significantly higher than that in active group ( $0.17 \pm 0.13$ ), stable group ( $0.14 \pm 0.09$ ) and healthy control group ( $0.12 \pm 0.64$ ) ( $P < 0.05$ ). The sensitivity and the specificity of CD64 index was 81.8% and 80.0%, respectively. **Conclusion** Compared with the three inflammatory indexes, the CD64 I of neutrophils had higher accuracy in the diagnosis of SLE complicated bacterial infection, which can be used as the differential diagnosis marker both active and complicated infection SLE.

**Keywords:** CD64 index; SLE; flow cytometry; infection

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种累及多器官、多系统的自身免疫性疾病, 多发于中青年女性, 男女比例1:5~10<sup>[1]</sup>, 并发感染可使死亡率升高。有研究报道, SLE并发细菌感染死亡率可达33.2%<sup>[2]</sup>。SLE疾病本身表现复杂多变, 处于活动期时常表现为非特

异性的发热、乏力等与感染相类似的表现, 临床上尚缺乏能将SLE活动期与并发感染者有效区分开的指标。

中性粒细胞CD64的表达是近年来诊断感染性疾病的主要研究指标之一。CD64是IgG的Fc段受体之一, 主要表达于单核细胞、巨噬细胞及树

\* 基金项目: 国家自然科学基金(No 81470071), 国家临床重点专科建设项目(No 2014ZDZK003-1), 江苏省临床医学科技专项(重点病种的规范化诊疗研究)(No BL2014072), 军区医药卫生科研重大专项(No 14ZX17)。

作者简介: 陈芳芳(1984—), 女, 博士, 主管技师, 主要从事免疫检验工作, E-mail: longysh@163.com。

通讯作者: 李晓军(1962—), 女, 博士, 主任技师, 主要研究方向: 临床检验诊断学, E-mail: xiaojunli62@126.com。

突状细胞上,在中性粒细胞上少量表达<sup>[3]</sup>。当机体发生感染时,中性粒细胞上 CD64 受到细菌脂多糖、粒细胞集落刺激因子等刺激表达明显上调<sup>[4,5]</sup>。

研究表明,SLE 患者的单核细胞 CD64 表达升高,但并未发现在活动期患者与并发感染患者体内有差异<sup>[6]</sup>。本文拟通过检测 SLE 患者外周血中性粒细胞 CD64 的表达水平,观察其与炎性指标的相关性,并探讨其判断 SLE 并发细菌感染的临床应用价值。

## 1 材料和方法

1.1 研究对象 随机选取 2017 年 1~5 月于南京总医院住院的 SLE 患者 34 例,分为 SLE 并发细菌感染患者 12 例(其中并发肺炎 3 例,其他部位细菌感染 9 例),SLE 活动期患者 12 例,SLE 稳定期患者 10 例,平均年龄  $51.3 \pm 4.9$  岁,男性 12 例,女性 22 例。均符合 SLE 国际临床协作组(SLICC) 2009 年修订的 SLE 分类标准<sup>[7]</sup>。另选择 30 例健康体检者作为对照组,平均年龄  $47.7 \pm 5.1$  岁,男性 12 例,女性 18 例。SLE 并发细菌感染组、活动期组、稳定期组及健康对照组年龄、性别差异均无统计学意义( $P > 0.05$ )。所有标本均于入院后 24~48 h 内采集,4 组分别进行 CD64, WBC, CRP 及 ESR 水平检测,并进行比较。

1.2 试剂和仪器 主要试剂有:美国 BD 公司的 CD64 抗体和 CD45 抗体,CRP 检测试剂盒(芬兰 Orion Diagnostica 公司),ESR 检测试剂盒(意大利 VITAL Diagnostica S. r. I 公司)和白细胞计数试剂盒(日本 Sysmex 公司);主要仪器有:FACSCalibur 流式细胞仪(美国 BD 公司),QuickReader go 半自动特定蛋白仪(芬兰 Orion Diagnostica 公司),mouitor-100 血沉分析仪(意大利 VITAL Diagnostica S. r. I 公司),XE-2100 五分类血细胞分析仪(日本 Sysmex 公司)。

## 1.3 方法

1.3.1 流式细胞术检测外周血中性粒细胞 CD64 的表达:收集研究对象抗凝全血,取 100  $\mu$ l 加入流式细胞术专用管,同时加入藻红蛋白(PE)标记的 CD64 抗体与异硫氰酸荧光素(FITC)标记的 CD45 抗体各 5  $\mu$ l;混匀,室温避光静置 15 min;加入红细胞裂解液 1 ml,室温避光静置 10 min;1 500 r/min

离心 5 min,弃上清;加 2 ml 生理盐水洗涤一次后加入 400  $\mu$ l 生理盐水重悬细胞,使用 FACSCalibur 流式细胞仪以 SSC/CD45-Per CP 设门进行双参数分析,分别检测单核细胞(M)、淋巴细胞(L)、中性粒细胞(N)上 CD64 的平均荧光强度(mean fluorescence intensity, MFI),通过 MFI 换算出 CD64 指数(CD64 I),换算公式为:CD64 指数 =  $\frac{MFI_N/MFI_L}{MFI_M/MFI_N}$ 。

1.3.2 其他指标检测:CRP 检测采用免疫比浊法(芬兰 Orion Diagnostica 公司 QuickReader go 半自动特定蛋白仪),ESR 采用魏氏法(意大利 VITAL Diagnostica S. r. I 公司 mouitor-100 血沉分析仪),白细胞计数采用 XE-2100 五分类血细胞分析仪(日本 Sysmex 公司)。

1.4 统计学分析 应用 SPSS18.0 软件进行分析,以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组样本间比较采用 one-way ANOVA 方差分析,方差齐性采用 LSD-*t* 检验,方差不齐采用 Tamhane's  $T^2$  检验,相关性分析采用 Pearson 分析,绘制 ROC 曲线,计算曲线下面积(area under curve, AUC), $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 各组 CD64 I, ESR, CRP 及 WBC 计数的比较

样本分为 SLE 活动期组、SLE 稳定期组、SLE 并发感染组和健康对照组。流式细胞术检测各组外周血中性粒细胞 CD64 表达水平(MFI)见图 1。通过 MFI 换算出 CD64 I,与血清 CRP, WBC 计数及 ESR 三个炎性指标进行比较分析。结果显示:SLE 并发感染组的 CRP 明显高于健康对照组( $t = 0.92$ ,  $P = 0.00$ )与非活动期组( $t = 0.65$ ,  $P = 0.32$ ),差异均具有统计学意义(均  $P < 0.05$ );中性粒 CD64 I 并发感染组明显高于其他三组(健康对照组  $t = 0.31$ ,  $P = 0.00$ ;活动期组  $t = 0.26$ ,  $P = 0.10$ ;稳定期组  $t = 0.30$ ,  $P = 0.007$ ),差异均具有统计学意义(均  $P < 0.05$ );SLE 并发感染组和活动期组的 WBC 计数明显高于健康对照组和稳定期组,差异具有统计学意义(均  $P < 0.05$ );其余各组间比较差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),见表 1。

表 1 各组中性粒细胞 CD64 I, CRP, ESR 及 WBC 检测结果( $\bar{x} \pm s$ )

项 目	健康对照组( $n=30$ )	活动期组( $n=12$ )	稳定期组( $n=10$ )	并发感染组( $n=12$ )	F 值	P 值
CRP(mg/L)	$0.5 \pm 0.2$	$1.4 \pm 0.9$	$0.95 \pm 0.71$	$2.94 \pm 2.49$	6.476	0.002
ESR(mm/h)	$10 \pm 5$	$8 \pm 9$	$12 \pm 9$	$24 \pm 24$	2.145	0.118
WBC 计数( $\times 10^9/L$ )	$5.79 \pm 1.38$	$7.43 \pm 2.43$	$5.58 \pm 2.62$	$8.04 \pm 2.63$	2.537	0.078
CD64 I	$0.12 \pm 0.06$	$0.17 \pm 0.14$	$0.14 \pm 0.09$	$0.47 \pm 0.40$	6.938	0.001

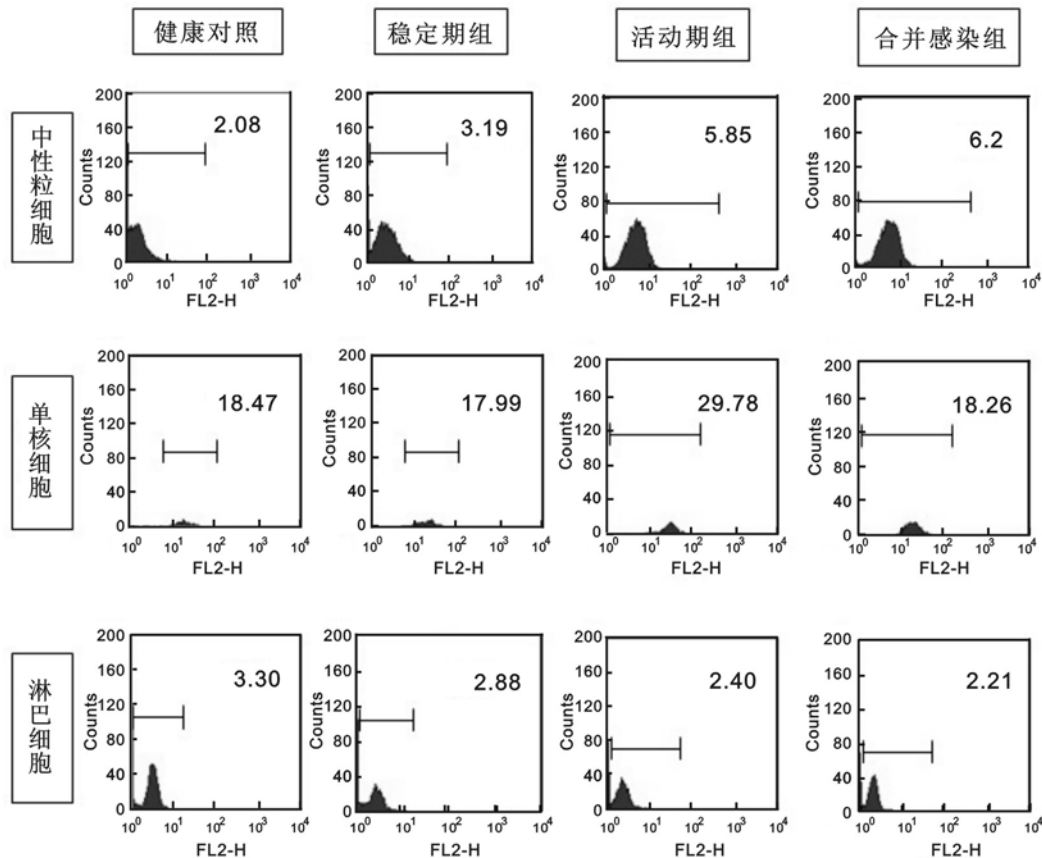


图1 各组外周血中性粒细胞、单核细胞及淋巴细胞上 CD64 的表达

2.2 SLE 并发感染组和活动期组中性粒细胞 CD64 I 与 CRP, ESR 及 WBC 计数相关性分析  
结果显示: SLE 并发感染组 CD64 I 与 CRP 呈显著正相关( $r=0.491, P=0.005$ ), 与 ESR 有相关性( $r=0.382, P=0.034$ ), 与 WBC 无相关性( $r=0.191, P=0.304$ )。1

2.3 中性粒细胞 CD64 I 鉴别诊断并发感染 SLE 和活动期 SLE 的 ROC 曲线分析 见图 2。

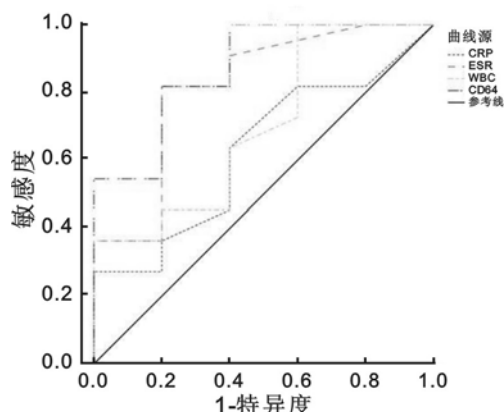


图2 中性粒细胞 CD64 指数鉴别诊断  
并发感染与活动期 SLE 的 ROC 曲线

中性粒细胞 CD64 I, CRP, ESR 及 WBC 计数在鉴别诊断 SLE 并发感染和活动期的曲线下面积 (AUCROC) 分别为 0.873 ( $P=0.020$ ), 0.627 ( $P=0.428$ ), 0.818 ( $P=0.047$ ), 0.700 ( $P=0.213$ )。

中性粒细胞 CD64 鉴别诊断 SLE 并发感染和活动期的最佳 cut off 值为 0.464, 诊断 SLE 并发感染的敏感度及特异度分别为 81.8% 和 80.0%。

3 讨论 SLE 是一种临床表现为多器官损害症状的慢性系统性自身免疫病。目前临床对于 SLE 的治疗多采用糖皮质激素、免疫抑制剂等针对免疫系统的药物, 虽然 SLE 患者的预后取得了一定的改善, 但感染仍是预后不佳的主要原因之一<sup>[8]</sup>。由于 SLE 患者免疫状态及免疫治疗等多种因素的影响, 导致 SLE 并发感染的症状不明显, 容易与 SLE 活动期相混淆, 导致误诊、误治及预后不佳。目前临床上根据 SLE 患者的症状并结合 CRP, ESR 及 WBC 计数等炎性指标来鉴别是否并发细菌感染, 由于这些炎性指标对诊断细菌感染的敏感度较低, 易对患者造成治疗延误或引起不良反应<sup>[9]</sup>。因此, 寻找一种鉴别诊断 SLE 并发细菌感染与活动期的有效指标, 对改善 SLE 患者的预后将具有重要的临床价值。

CD64 是 IgG 的 Fc 段受体之一, 主要分布于单核细胞、巨噬细胞、嗜酸性粒细胞和树突细胞表面。正常情况下, CD64 在中性粒细胞表面低表达, 当机体受到细菌感染时中性粒细胞 CD64 I 4~6h 内即可升高<sup>[10]</sup>。近年来, 多项研究结果表明, 中性粒细胞 CD64 指数是诊断细菌感染的敏感且特

异的指标,具有良好的临床应用前景<sup>[11~13]</sup>。本研究通过流式细胞术检测 SLE 患者及健康人外周血中性粒细胞 CD64 I 发现:SLE 并发细菌感染组中 CD64 I 明显高于其他对照组,CD64 I 可用作鉴别诊断 SLE 并发细菌感染的一个有效指标,与 ESR, CRP, WBC 等炎性指标相比较具有较高的敏感度和特异度。既往研究也发现<sup>[14]</sup>,外周血 CD64 I 对细菌性感染有较高的诊断价值,其诊断效能明显优于 CRP。

本研究的不足之处,首先是样本量偏小,以及选取的男女 SLE 患者的比例对结果的分析可能会有一定的影响;其次,由于收集的是住院患者的标本,患者此前均不同程度地接受了多种药物的治疗,无法保证该患者所使用的药物或其他治疗方式不会对 CD64 I 产生影响。第三,一些患者可能还患有其他一些疾病,虽已根据现有临床资料尽可能排除了显著的心、脑、肝、肾疾病以及肿瘤等患者列入研究对象,但仍不能排除潜在的其他疾病。

此外,应用流式细胞术进行 CD64 I 检测所用试剂目前有多种厂家供应,不同厂家不同批号的标记抗体都有其优缺点,故对于 CD64 I 的临界值和正常参考区间的界定,需要各个实验室通过科学的方法研究大的样本自行制定;并在条件许可时,进行标准化和规范化的研究工作。

综上所述,中性粒细胞 CD64 I 在 SLE 并发感染期较其他组明显升高,很可能成为并发感染 SLE 与活动期 SLE 患者鉴别诊断的指标之一。本研究初步探索性的研究,将进一步积累资料,扩大样本量,进一步验证与评价。

#### 参考文献:

- [1] Shaharir SS, Hussein H, Rajalingham S, et al. Damage in the multiethnic malaysian systemic lupus erythematosus (SLE) cohort: comparison with other cohorts worldwide [J]. PLoS One, 2016, 11(11): e0166270.
- [2] Wang Z, Wang Y, Zhu R, et al. Long-term survival and death causes of systemic lupus erythematosus in China: a systemic review of observational Studies [J]. Medicine, 2015, 94(17): e794.
- [3] 王 芊, 华 川. 中性粒细胞 CD64 在感染诊断中的研究进展 [J]. 临床军医杂志, 2015, 43(1): 78-80, 100.  
Wang Q, Hua C. The progress of neutrophil CD64 in the diagnosis of infection [J]. Clinical Journal of Medical Officers, 2015, 43(1): 78-80, 100.
- [4] 冯 萍, 虞培娟, 朱雪明. 细菌感染患者外周血中性粒细胞表面 CD64 指数的变化 [J]. 检验医学, 2010, 25(2): 96-99.  
Feng P, Yu PJ, Zhu XM. Change of neutrophil CD64 index in the peripheral blood of patients with bacterial infection [J]. Laboratory Medicine, 2010, 25(2): 96-99.
- [5] 蔡鹏威. 中性粒细胞 CD 64 定量检测在感染性疾病检测中的应用 [J]. 实验与检验医学, 2014, 32(6): 719-721.  
Cai PW. Detection of neutrophil CD 64 in the detection of infectious diseases [J]. Experimental and Laboratory Medicine, 2014, 32(6): 719-721.
- [6] Li Y, Lee PY, Sobel ES, et al. Increased expression of FcγRI/CD64 on circulating monocytes parallels ongoing inflammation and nephritis in lupus [J]. Arthritis Res Ther, 2009, 11(1): R6.
- [7] 武建国. SLE 和类风湿关节炎的新分类标准 [J]. 临床检验杂志, 2013, 31(7): 481-483.  
Wu JG. A new classification standard for SLE and rheumatoid arthritis [J]. Chinese Journal of Clinical Laboratory Science, 2013, 31(7): 481-483.
- [8] Costa-Reis P, Nativ S, Isgro J, et al. Major infections in a cohort of 120 patients with juvenile-onset systemic lupus erythematosus [J]. Clin Immunol, 2013, 149(3): 442-449.
- [9] Baek YW, Brokat S, Padbury JF, et al. Inter-alpha inhibitor proteins in infants and decreased levels in neonatal sepsis [J]. J Pediatr, 2003, 143(1): 11-15.
- [10] 林 阳, 万岁桂. 中性粒细胞表面 CD64 在细菌感染诊断与鉴别诊断中的应用价值 [J]. 标记免疫分析与临床, 2014, 21(2): 111-114.  
Lin Y, Wan SG. Clinical value of surface neutrophil CD64 in diagnosis and differential diagnosis of bacterial infection [J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2014, 21(2): 111-114.
- [11] 闫佩毅, 张 骥, 邹玉涵, 等. 流式细胞术检测 CD64 指数及其在诊断细菌感染中的应用 [J]. 检验医学, 2017, 32(6): 514-519.  
Yan PY, Zhang J, Zou YH, et al. Determination of CD64 index by flow cytometry in the diagnosis of bacterial infection [J]. Laboratory Medicine, 2017, 32(6): 514-519.
- [12] 陈 江, 熊永红, 杨学强, 等. CD64 感染指数与细菌感染相关性研究 [J]. 检验医学与临床, 2017, 14(7): 979-981.  
Chen J, Xiong YH, Yang XQ, et al. Research on correlation between CD64 infectious index and bacterial infection [J]. Lab Med Clin, 2017, 14(7): 979-981.
- [13] 张 晶, 张 露, 刘园园. 中性粒细胞 CD64 指数在血流和局部细菌感染中的诊断价值 [J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(19): 2760-2762.  
Zhang J, Zhang L, Liu YY. The diagnostic value of neutrophil CD64 index in blood flow and local bacterial infection [J]. Int J Lab Med, 2017, 38(19): 2760-2762.
- [14] 卢小岚, 蔡嘉镜, 蔡艳娟, 等. 外周血 CD64 index 对细菌感染性疾病的诊断价值 [J]. 现代检验医学杂志, 2014, 29(1): 65-68.  
Lu XL, Cai JJ, Cai YJ, et al. Value of CD64 index in diagnosis of bacterial infection [J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(1): 65-68.