

# 甘露聚糖结合凝集素基因多态性对社区获得性肺炎病情程度的评估作用

刘雪花 张学如 李青 田卓民

**【摘要】** 目的 研究社区获得性肺炎(CAP)患者甘露聚糖结合凝集素(MBL)结构基因第一外显子 54 位密码子基因多态性及血清 MBL、C-反应蛋白(CRP)水平对疾病严重程度评估的价值。方法 采用前瞻性观察性临床研究方法,选择天津市人民医院住院的汉族成人 CAP 患者 104 例,检测 MBL 54 位密码子点突变频率;进行肺炎严重指数(PSI)评分并分级;于治疗前及治疗 4 d、7 d 采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 MBL 水平,用免疫比浊法检测 CRP 水平。另外选取 100 例同地区年龄、性别、民族匹配的健康体检人群作为对照组。比较 CAP 组与对照组及不同 PSI 分级 CAP 患者血清 MBL、CRP 水平,并进行相关性分析。结果 CAP 组与对照组 MBL 54 位密码子存在 GGC→GAC 变异,两组 MBL 54 位密码子野生型及杂合突变型基因型频率( $\chi^2=0.018, P=0.893$ )和等位基因频率( $\chi^2=0.019, P=0.903$ )的分布无统计学差异。CAP 组治疗前及治疗 4 d、7 d 血清 MBL 水平(mg/L)先升后降,分别为  $3.75 \pm 1.78$ 、 $4.53 \pm 1.99$ 、 $4.04 \pm 1.91$ ,均明显高于对照组( $2.84 \pm 1.41$ ,均  $P<0.01$ );血清 CRP 水平(mg/L)逐渐下降,分别为  $66.88 \pm 40.47$ 、 $51.21 \pm 37.54$ 、 $36.91 \pm 36.02$ ,均明显高于对照组( $6.96 \pm 2.19$ ,均  $P<0.01$ )。CAP 患者 PSI 分级 I 级 12 例,II 级 32 例,III 级 20 例,IV 级 22 例,V 级 18 例。不同 PSI 分级之间( $\chi^2=1.210, P=0.876$ )、普通病房与重症监护病房之间( $\chi^2=0.569, P=0.451$ ) MBL 54 位密码子基因型分布无统计学意义。CAP 患者不同 PSI 分级之间血清 MBL 水平在治疗前( $F=1.313, P=0.279$ )、治疗 4 d ( $F=1.705, P=0.165$ )、治疗 7 d ( $F=1.684, P=0.170$ ) 差异均无统计学意义;PSI II ~ V 级患者治疗 4 d 时血清 MBL 浓度较治疗前均明显增高,治疗 7 d 时降至治疗前水平。CAP 患者不同 PSI 分级之间血清 CRP 水平在治疗前( $F=23.179, P=0.000$ )、治疗 4 d ( $F=26.601, P=0.000$ )、治疗 7 d ( $F=10.358, P=0.000$ ) 差异均有统计学意义;PSI 各级患者血清 CRP 水平均随治疗时间逐渐下降,PSI 分级越高,血清 CRP 下降越不明显。CAP 患者治疗前及治疗 4 d、7 d 时 PSI 分级与血清 MBL 均无相关性(治疗前  $r=-0.205, P=0.145$ ;治疗 4 d  $r=-0.062, P=0.662$ ;治疗 7 d  $r=-0.063, P=0.656$ ),与血清 CRP 均呈显著正相关(治疗前  $r=0.809, P=0.000$ ;治疗 4 d  $r=0.842, P=0.000$ ;治疗 7 d  $r=0.702, P=0.000$ )。结论 MBL 54 位密码子基因型对 CAP 疾病严重程度无影响;CAP 患者血清 MBL 升高并随治疗时间呈动态变化,可作为 CAP 的炎症标志物,但尚不能用于对 CAP 疾病严重程度评估。

**【关键词】** 社区获得性肺炎;甘露聚糖结合凝集素;C-反应蛋白;肺炎严重程度评分

**Evaluation of the mannose-binding lectin gene polymorphism on the severity of community acquired pneumonia in adults** Liu Xuehua, Zhang Xueru, Li Qing, Tian Zhuomin. Department of Infection and Immunity, Tianjin People's Hospital, Tianjin 300121, China

Corresponding author: Li Qing, Email: 13702162003@163.com

**【Abstract】** **Objective** To evaluate the significance of the mannose-binding lectin (MBL) gene polymorphism at code 54 of exon1 and MBL serum level and C-reactive protein (CRP) in the severity of community acquired pneumonia (CAP) in adults. **Methods** A prospective observation was conducted. 104 adults Han patients with CAP hospitalized in Tianjin People's Hospital were enrolled. Frequencies of MBL54 alleles and genotypes were measured. The patients were evaluated by pneumonia severity index (PSI) score and were graded. Serum MBL was determined by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA), and serum CRP was detected by immunoturbidimetry before and 4 days and 7 days after the treatment. 100 healthy control subjects with the same region, age, gender, nationality were enrolled as control group. Serum MBL and CRP levels were compared between CAP group and the control group or among different grades of PSI, and the correlation was analyzed. **Results** The variation of GGC→GAC in MBL54 was found in CAP patients and controls. Similar frequencies of genotypes ( $\chi^2=0.018, P=0.893$ ) and alleles ( $\chi^2=0.019, P=0.903$ ) of MBL54 with wild type and mutant type were found between two groups. The serum MBL level (mg/L) before and 4 days and 7 days after the treatment in CAP group was increased followed by the reduction and they were  $3.75 \pm 1.78$ ,  $4.53 \pm 1.99$  and  $4.04 \pm 1.91$ , respectively, which were significantly higher than those in control group

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.09.010

基金项目:天津市医药卫生科研项目(09KZ55)

作者单位:300121 天津市人民医院感染免疫科

通信作者:李青,Email:13702162003@163.com

( $2.84 \pm 1.41$ , all  $P < 0.01$ ). The serum CRP levels (mg/L) in CAP group were gradually declined, and they were  $66.88 \pm 40.47$ ,  $51.21 \pm 37.54$ ,  $36.91 \pm 36.02$ , respectively, which were significantly higher than those in control group ( $6.96 \pm 2.19$ , all  $P < 0.01$ ). There were 12 cases with PSI grade I, 32 cases with grade II, 20 cases with grade III, 22 cases with grade IV and 18 cases with grade V in CAP patients. There was no significant difference in frequencies of MBL54 genotypes among different grades of PSI ( $\chi^2 = 1.210$ ,  $P = 0.876$ ) and between general ward and intensive care unit ( $\chi^2 = 0.569$ ,  $P = 0.451$ ). No differences in the serum MBL level before ( $F = 1.313$ ,  $P = 0.279$ ) and 4 days ( $F = 1.705$ ,  $P = 0.165$ ) and 7 days ( $F = 1.684$ ,  $P = 0.170$ ) after the treatment were found among different PSI grades. The serum MBL level 4 days after the treatment was significantly higher than that before treatment, then decreased to the level before treatment on the 7th day after treatment in CAP patients with grade II-IV. There was significant difference in serum CRP level before ( $F = 23.179$ ,  $P = 0.000$ ) and 4 days ( $F = 26.601$ ,  $P = 0.000$ ) and 7 days ( $F = 10.358$ ,  $P = 0.000$ ) after the treatment among different PSI grades in CAP patients. The serum levels of CRP in patients with different PSI grades were gradually decreased with time prolonged, the higher the PSI grade, the more obscure the serum CRP decrease. No correlation was found between PSI grade and serum MBL before and 4 days and 7 days after the treatment (before treatment:  $r = -0.205$ ,  $P = 0.145$ ; 4 days after treatment:  $r = -0.062$ ,  $P = 0.662$ ; 7 days after treatment:  $r = -0.063$ ,  $P = 0.656$ ), and positive correlation between PSI grade and serum CRP was found (before treatment:  $r = 0.809$ ,  $P = 0.000$ ; 4 days after treatment:  $r = 0.842$ ,  $P = 0.000$ ; 7 days after treatment:  $r = 0.702$ ,  $P = 0.000$ ).

**Conclusions** The MBL54 codon genotypes had no effect on the susceptibility of CAP. The serum MBL was elevated and dynamic changes with increasing treatment time in CAP patients were shown. MBL can be used as a reaction of CAP in acute stage. But it cannot be used as an inflammatory marker for the severity of CAP.

**[Key words]** Community acquired pneumonia; Mannose-binding lectin; C-reactive protein; Pneumonia severity index

目前社区获得性肺炎(CAP)仍然是威胁人类健康的疾病,免疫调节疗法有望降低 CAP 病死率。甘露聚糖结合凝集素(MBL)是一种肝脏合成且存在于血清中的 C 型凝集素,能与细菌、酵母、寄生虫或病毒表面的甘露聚糖残基结合后,直接介导调理吞噬作用和(或)通过凝集素途径激活补体,减轻炎症,促进凋亡,形成早期抵御病原微生物感染的一种先天性免疫防御机制<sup>[1]</sup>,在抗感染早期发挥抵御病原微生物感染的重要作用<sup>[2-3]</sup>。MBL 结构基因点突变和启动子区单核苷酸多态性是决定血清 MBL 水平的关键因素。亚州人群中 MBL 以结构基因第一外显子 54 位密码子点突变为点突变为主,MBL 水平低下可增加各种感染性疾病的易感性和感染的严重程度<sup>[4]</sup>。目前尚未建立中国大陆地区人群血清 MBL 的正常参考值,国外报告的正常参考值标准亦不一致,但大多认为血清 MBL 水平低于  $200 \mu\text{g/L}$  时易发生免疫相关疾病<sup>[5]</sup>。理论上,MBL 的替代治疗能增加机体对疾病的抵抗力,Valdimarsson<sup>[6]</sup>应用亲和层析法纯化的血浆 MBL 治疗 2 例患者,感染频率明显减少,未观察到副作用。本研究旨在观察 CAP 患者 MBL 54 位密码子点突变及血清 MBL 水平,探讨其对 CAP 病情严重程度评估的价值,为临床应用 MBL 治疗 CAP 奠定基础。

## 1 资料与方法

**1.1 研究对象的选择及诊断、排除标准:**采用前瞻性观察性临床研究方法,选择 2009 年 9 月至 2012 年 12 月天津市人民医院确诊为 CAP 的成人患者共

104 例,CAP 诊断标准参照 2007 年中华医学会呼吸病学分会制定的 CAP 诊断与治疗指南<sup>[7]</sup>。104 例患者中男性 62 例,女性 42 例;年龄( $60.90 \pm 14.75$ )岁;普通病房 58 例,重症监护病房(ICU)46 例。46 例 ICU 患者中,24 例出现呼吸衰竭,14 例并发感染性休克,8 例出现肾功能衰竭,其中 2 例进行透析治疗。选择 100 例同地区年龄、性别、民族匹配的健康体检人群作为对照组,其中男性 60 例,女性 40 例;年龄( $53.14 \pm 15.32$ )岁。全部受试人群均为汉族成人。

**排除标准:**① 合并肿瘤、结缔组织病,应用糖皮质激素及免疫抑制剂者;② 合并结核病、人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者;③ 有放疗和化疗史者。

本研究符合医学伦理学标准,经医院伦理委员会批准,并获得研究对象或家属的知情同意。

## 1.2 检测指标及方法

**1.2.1 MBL 54 位密码子点突变(GGC→GAC, Gly→Asp)检测:**提取白细胞全血基因组 DNA,按 MBL 基因序列设计引物进行目的基因扩增,上游引物( $10 \mu\text{mol/L}$ ):5'-CTGGGCTGGCAAGACAACACTAT-3',下游引物( $10 \mu\text{mol/L}$ ):5'-GGTGGCAGCGTCTTACTCAG-3'(金斯瑞生物科技有限公司)。聚合酶链反应(PCR)体系  $50 \mu\text{L}$ :重蒸馏水  $34 \mu\text{L}$ ,dNTP  $5 \mu\text{L}$ , $10 \times$  缓冲液  $5 \mu\text{L}$ (含  $\text{MgCl}$   $215 \text{ mmol/L}$ ),上下游引物各  $2 \mu\text{L}$ ,Taq DNA 聚合酶  $1 \mu\text{L}$ ( $2.5 \text{ U}/\mu\text{L}$ ),DNA  $1 \mu\text{L}$ 。PCR 扩增条件:94 °C 变性 3 min;94 °C 变性 30 s,58 °C 退火 25 s,72 °C 延伸 40 s,35 个循环;终末 72 °C 延伸 3 min。目的基因 PCR 产物进行 DNA 序列测定分析

(由北京奥科鼎盛生物科技有限公司完成)。

**1.2.2 血清 MBL 和 CRP 水平测定:** 于治疗前及治疗 4 d、7 d 时取血, 采用双抗体夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清 MBL 水平, 应用全自动蛋白分析仪、采用免疫比浊法检测血清 CRP 水平。

**1.2.3 检测血细胞计数、血电解质、血糖、血肌酐、血尿素氮和动脉血气分析;** 记录临床特征。

**1.2.4 肺炎严重指数(PSI)评分:** 进行 PSI 评分, 并根据评分进行分级<sup>[8]</sup>。

**1.2.5 对照组检测 MBL 54 位密码子基因多态性及血清 MBL、CRP 水平。**

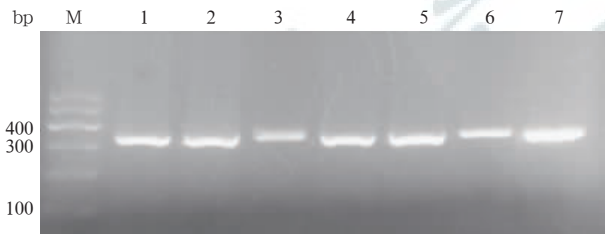
**1.3 统计学处理:** 应用 SPSS 17.0 软件进行数据处理。计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示, 两组间比较采用 *t* 检验及两因素重复测量的方差分析。两因素重复测量资料的方差分析先进行 Mauchly 球形检验, 不满足球形假设, 以 Greenhouse-Geissert 进行校正, 并用 Multivariate 过程的 LSD 法进行两两比较,  $P < 0.05$  (双侧) 为差异有统计学意义。计数资料采用  $\chi^2$  检验。双变量正态分布资料采用 Pearson 相关分析, 非双变量正态分布资料采用 Spearson 相关分析,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 受试者 MBL 54 位密码子基因多态性分布**

**2.1.1 全血基因组 DNA 鉴定:** 琼脂糖凝胶电泳结果表明 DNA 的完整性良好, 适合进行下一步 PCR。

**2.1.2 PCR 扩增产物的电泳检测:** 采用琼脂糖凝胶电泳, 以 100 bp DNA Marker 为标准进行检测。图 1 结果显示目的基因片段长度为 329 bp。

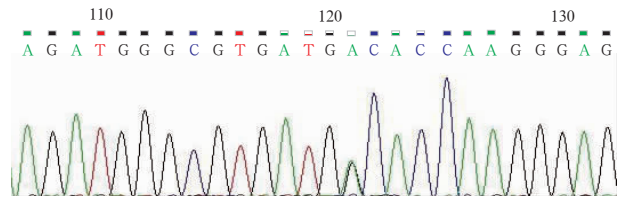


CAP 为社区获得性肺炎, MBL 为甘露聚糖结合凝集素, PCR 为聚合酶链反应, M 为 DNA Marker, 1~7 泳道分别为 7 个样本的 MBL 基因的 PCR 扩增产物

**图 1** CAP 患者白细胞全血 DNA 的 MBL 片段 PCR 产物的琼脂糖凝胶电泳结果

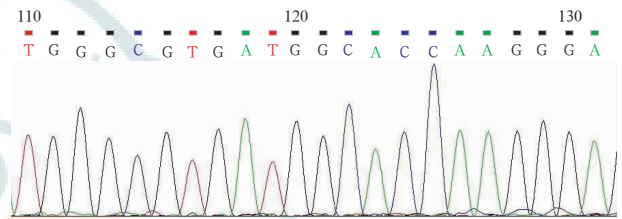
**2.1.3 目的基因测序结果:** 对照组与 CAP 组 MBL 54 位密码子存在 GGC→GAC 变异, 基因型频率以野生型 GGC/GGC 最为常见, 其次为杂合突变型 GGC/GAC, 未发现纯合突变型 GAC/GAC; 等位基因以 GGC 频率最高。MBL 54 位密码子野生型及杂合

型 PCR 产物测序见图 2~3。两组 MBL 54 位密码子 GGC→GAC 的基因型频率和等位基因频率的分布差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ ; 表 1)。



注: MBL 为甘露聚糖结合凝集素, PCR 为聚合酶链反应

**图 2** MBL 54 位密码子野生型 PCR 产物测序图



注: MBL 为甘露聚糖结合凝集素, PCR 为聚合酶链反应

**图 3** MBL 54 位密码子杂合突变型 PCR 产物测序图

**表 1** 健康体检人群和 CAP 成年汉族人群 MBL 54 位密码子 GGC→GAC 多态性分布

组别	例数 (例)	基因型频率[例(%)]			等位基因频率[例(%)]	
		GGC/GGC	GGC/GAC	GAC/GAC	G	A
对照组	100	72(72.0)	28(28.0)	0(0)	172(86.0)	28(14.0)
CAP 组	104	74(71.0)	30(28.8)	0(0)	178(85.6)	30(14.4)
$\chi^2$ 值		0.018			0.019	
<i>P</i> 值		0.893			0.903	

注: CAP 为社区获得性肺炎, MBL 为甘露聚糖结合凝集素

**2.2 CAP 患者 MBL 54 位密码子基因型分布(表 2):** 普通病房与 ICU 患者之间、不同 PSI 分级之间 MBL 54 位密码子基因型分布均无统计学差异。

**表 2** 不同 MBL 54 位密码子基因型 CAP 患者不同病区及 PSI 分级的分布

MBL 基因型	例数 (例)	病区分布(例)		PSI 分级(例)				
		普通病房	ICU	I 级	II 级	III 级	IV 级	V 级
总体	104	58	46	12	32	20	22	18
GGC/GGC	74	43	31	9	22	16	15	12
GGC/GAC	30	15	15	3	10	4	7	6
$\chi^2$ 值		0.569		1.210				
<i>P</i> 值		0.451		0.876				

注: MBL 为甘露聚糖结合凝集素, CAP 为社区获得性肺炎, PSI 为肺炎严重指数评分

**2.3 血清 MBL、CRP 水平随时间和分组的动态变化**

**2.3.1 血清 MBL 水平动态变化(表 3):** 时间因素主效应( $F = 10.793, P = 0.000$ )、时间因素与分组因素交互效应( $F = 10.793, P = 0.000$ )和分组因素主效应

( $F=16.000, P=0.000$ )的方差分析结果均有统计学意义。说明血清 MBL 水平有随时间变化的趋势,且这种趋势因分组而不同,分组因素起作用。

CAP 组治疗前及治疗 4 d、7 d 时血清 MBL 水平均明显高于对照组(均  $P<0.01$ )。CAP 组治疗 4 d 时血清 MBL 水平明显高于治疗前( $P<0.01$ );治疗 7 d 时降至治疗前水平( $P>0.05$ ),且明显低于治疗 4 d 时( $P<0.01$ )。

表 3 两组血清 MBL、CRP 水平的动态变化比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数(例)	MBL(mg/L)	CRP(mg/L)
对照组	100	2.84 ± 1.41	6.96 ± 2.19
CAP 组 治疗前	104	3.75 ± 1.78 <sup>a</sup>	66.88 ± 40.47 <sup>a</sup>
治疗 4 d	104	4.54 ± 1.99 <sup>ab</sup>	51.21 ± 37.54 <sup>ab</sup>
治疗 7 d	104	4.04 ± 1.91 <sup>ac</sup>	36.91 ± 36.02 <sup>abc</sup>

注:CAP 为社区获得性肺炎,MBL 为甘露聚糖结合凝集素,CRP 为 C-反应蛋白;与对照组比较,<sup>a</sup> $P<0.01$ ;与本组治疗前比较,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与本组治疗 4 d 比较,<sup>c</sup> $P<0.01$

**2.3.2 血清 CRP 水平动态变化(表 3):**时间因素主效应( $F=18.186, P=0.000$ )、时间因素与分组因素交互效应( $F=18.186, P=0.000$ )和分组因素主效应( $F=91.430, P=0.000$ )的方差分析结果均有统计学意义。说明血清 CRP 有随时间变化的趋势,且这种趋势因分组而不同,分组因素起作用。

CAP 组治疗前及治疗 4 d、7 d 时血清 CRP 水平均明显高于对照组(均  $P<0.01$ )。CAP 组血清 CRP 水平随治疗时间延长逐渐降低,各时间点间两两比较差异均有统计学意义(均  $P<0.01$ )。

**2.4 不同 PSI 分级 CAP 患者血清 MBL、CRP 变化**

**2.4.1 血清 MBL 水平(表 4):**时间因素主效应的方差分析结果差异有统计学意义( $F=8.394, P=0.002$ ),时间因素与分组因素交互效应( $F=1.274, P=0.282$ )和分组因素主效应( $F=1.630, P=0.182$ )的方差分析结果差异无统计学意义。说明血清 MBL 有随时间变化的趋势,且这种趋势不因分组而不同,

分组因素不起作用,各组间差异无统计学意义。

不同 PSI 分级患者血清 MBL 水平均于治疗 4 d 时升高,治疗 7 d 时下降,各级别间同时间点比较差异均无统计学意义(均  $P>0.05$ )。I 级 7 d 时血清 MBL 浓度也降至治疗前水平;II ~ V 级治疗 4 d 时血清 MBL 浓度较治疗前明显增高(均  $P<0.05$ ),7 d 时 II、III、V 级降至治疗前水平。

**2.4.2 血清 CRP 水平(表 4):**时间因素主效应( $F=18.134, P=0.000$ )、分组因素主效应( $F=51.473, P=0.000$ )的方差分析结果有统计学意义,时间因素与分组因素交互效应( $F=1.434, P=0.232$ )差异无统计学意义。说明血清 CRP 有随时间变化的趋势,且这种趋势因分组而不同,分组因素起作用。

不同 PSI 分级间各时间点血清 CRP 浓度比较差异均有统计学意义(均  $P<0.05$ ),且级别越高血清 CRP 浓度越高;I ~ III 级治疗 7 d 时血清 CRP 浓度无统计学差异,而 IV、V 级均较低级别出现了统计学差异。不同 PSI 分级血清 CRP 浓度均随时间延长呈逐渐下降趋势,但 PSI 分级越高,血清 CRP 浓度降低趋势越不明显,IV、V 级治疗 7 d 时血清 CRP 浓度与治疗前比较无统计学差异,提示血清 CRP 浓度较治疗前无明显改善。

**2.5 CAP 患者 PSI 分级与血清 MBL、CRP 的相关性分析(表 5):**CAP 患者治疗前后各时间点 PSI 分级与血清 MBL 无相关性(均  $P>0.05$ ),而与血清 CRP 呈显著正相关(均  $P<0.01$ )。

表 5 CAP 患者治疗前后 PSI 分级与血清 MBL、CRP 的相关性分析

指标	治疗前		治疗 4 d		治疗 7 d	
	r 值	P 值	r 值	P 值	r 值	P 值
PSI 与 MBL	-0.205	0.145	-0.062	0.662	-0.063	0.656
PSI 与 CRP	0.809	0.000	0.842	0.000	0.702	0.000

注:CAP 为社区获得性肺炎,PSI 为肺炎严重指数,MBL 为甘露聚糖结合凝集素,CRP 为 C-反应蛋白

表 4 不同 PSI 分级 CAP 患者治疗前后血清 MBL、CRP 水平的变化比较( $\bar{x} \pm s$ )

PSI 分级	例数(例)	血清 MBL(mg/L)			血清 CRP(mg/L)		
		治疗前	治疗 4 d	治疗 7 d	治疗前	治疗 4 d	治疗 7 d
I 级	12	3.15 ± 0.71	3.38 ± 0.43	3.01 ± 0.38 <sup>c</sup>	16.75 ± 6.16	10.77 ± 2.87 <sup>a</sup>	8.03 ± 1.09 <sup>a</sup>
II 级	32	4.14 ± 1.47	4.91 ± 1.29 <sup>a</sup>	4.05 ± 1.41 <sup>d</sup>	49.12 ± 18.86 <sup>e</sup>	28.24 ± 19.41 <sup>b</sup>	15.81 ± 12.79 <sup>bd</sup>
III 级	20	4.50 ± 1.49	5.53 ± 1.64 <sup>a</sup>	5.27 ± 1.57	59.47 ± 12.77 <sup>e</sup>	41.47 ± 23.79 <sup>e</sup>	23.92 ± 20.99 <sup>bd</sup>
IV 级	22	3.05 ± 1.95	4.30 ± 2.60 <sup>b</sup>	3.93 ± 2.38 <sup>a</sup>	71.37 ± 18.13 <sup>e</sup>	71.43 ± 25.18 <sup>e</sup>	56.36 ± 31.85 <sup>de</sup>
V 级	18	3.28 ± 2.55	3.81 ± 2.69 <sup>b</sup>	3.51 ± 2.60 <sup>c</sup>	128.87 ± 47.20 <sup>dgh</sup>	105.10 ± 24.72 <sup>dgh</sup>	72.68 ± 39.42 <sup>dgh</sup>
F 值		1.313	1.705	1.684	23.179	26.601	10.358
P 值		0.279	0.165	0.170	0.000	0.000	0.000

注:PSI 为肺炎严重指数,CAP 为社区获得性肺炎,MBL 为甘露聚糖结合凝集素,CRP 为 C-反应蛋白;与同级治疗前比较,<sup>a</sup> $P<0.05$ ,<sup>b</sup> $P<0.01$ ;与同级治疗 4 d 比较,<sup>c</sup> $P<0.05$ ,<sup>d</sup> $P<0.01$ ;与 I 级比较,<sup>e</sup> $P<0.01$ ;与 II 级比较,<sup>f</sup> $P<0.01$ ;与 III 级比较,<sup>g</sup> $P<0.01$ ;与 IV 级比较,<sup>h</sup> $P<0.01$

### 3 讨论

CAP 病情严重程度评估以及预后预测是起始经验性抗感染治疗策略制定的依据。目前 CAP 病情严重程度评分系统应用最广的是 PSI 评分系统<sup>[9]</sup>。PSI 分级是目前预测 CAP 患者病死率和其他不良转归方法中推导和验证过程最严密的方法,可以很好地预测 CAP 患者预后。研究表明,中国成年汉族 CAP 人群病情评估标准与 PSI 分级有很好的相关性<sup>[10]</sup>,PSI 分级常常单独或与其他指标联合用于 CAP 疾病严重程度及预后的评估<sup>[11]</sup>。

MBL 血清水平及功能主要由先天基因决定<sup>[12-13]</sup>,但血清水平在炎症期间有变化<sup>[14-16]</sup>。梁建敏等<sup>[17]</sup>研究发现,脓毒症患者血清 MBL 升高;但 Dean 等<sup>[18]</sup>研究显示,在脓毒症、脓毒性休克临床过程中,血清 MBL 作为急性期反应物的表现形式是异质性的。关于血清 MBL 对感染性疾病易感性、严重程度及预后的影响,有研究显示,MBL 基因点突变及血清 MBL 低下对 CAP 易感性没有影响,但可增加 CAP 的严重程度,加重向脓毒症的进展,是导致 CAP 患者死亡的危险因素<sup>[19-21]</sup>。对血清 CRP 及 MBL 在肺炎链球菌肺炎中作用的研究显示,MBL 野生基因型肺炎链球菌肺炎患者在急性期及恢复期显示出更高的血清 MBL 水平,但未观察到 MBL 水平与 CRP 及 PSI 分级的相关性<sup>[22]</sup>。

本研究中 CAP 组与对照组 MBL 54 位密码子野生型与杂合型基因型频率无统计学差异,提示 MBL 54 位密码子基因型对 CAP 易感性无影响,与文献<sup>[19]</sup>结果相符。CAP 患者不同 PSI 分级间 MBL 54 位密码子野生型与杂合型基因型频率无统计学差异,提示 MBL 54 位密码子基因型对疾病严重程度无影响,与文献<sup>[19]</sup>报道结果不符,其可能原因为本研究仅检测了 MBL 54 位密码子基因多态性。

本研究还显示,CAP 时血清 MBL 增高,且各时间点明显高于对照组,治疗 4 d 时血清 MBL 明显高于治疗前,治疗 7 d 时降至治疗前水平。提示血清 MBL 也可作为 CAP 急性期反应物。不同 PSI 分级 CAP 患者间各时间点血清 MBL 均无差异,其动态变化的总体趋势不明显, I 级患者治疗前后血清 MBL 无明显变化, II ~ V 级血清 MBL 治疗 4 d 时升高,7 d 时降至治疗前水平。CAP 患者各时间点 PSI 分级与血清 MBL 无相关性,这与文献<sup>[22]</sup>结果相符。

血清 MBL 在感染性疾病的生物学功能是识别糖配体,与包括多种细菌、病毒、真菌等表面的糖配体结合形成糖配体-MBL-甘露聚糖相关丝氨酸蛋

白酶复合物,启动补体系统活化,补体病原体或细胞表面活化,发挥溶解病毒、杀菌和调理吞噬等免疫防御功能<sup>[23-24]</sup>;MBL 也能与单核/巨噬细胞表面的受体结合,起到免疫调节作用,抑制革兰阳性菌致病物质肽聚糖刺激单核细胞产生的白细胞介素(IL-8、IL-6)、单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)及肿瘤坏死因子- $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )等炎症细胞因子<sup>[25]</sup>;抑制革兰阴性菌脂多糖诱导的细胞因子分泌<sup>[26-27]</sup>;抑制白色假丝酵母菌诱导的单核/巨噬细胞株 THP1/CD14 产生 TNF- $\alpha$  和 IL-8 等炎症细胞因子<sup>[28]</sup>。MBL 也有直接抑制、中和病毒的作用。血清 MBL 在 CAP 时升高是基于 MBL 生理功能的一种自我防护反应,以达到清除病原体的作用。本研究结果显示血清 MBL 水平在急性期升高不足 2 倍,与 PSI 无相关性。

CRP 是机体应激状态下由肝脏合成的一种急性时相蛋白,是炎症和组织坏死急性期反应物质,可激活补体,促进吞噬和其他免疫调控作用,用于感染性疾病的辅助诊断<sup>[29-30]</sup>、疾病严重程度及预后的评估<sup>[31-32]</sup>。韩寒等<sup>[33]</sup>研究证实,血清降钙素原(PCT)及 CRP 水平与老年 CAP 的严重程度存在相关性,可作为判断 CAP 病情的指标,且血清 PCT 及 CRP 水平均可较好地预测 CAP 患者的预后;也有研究发现,CRP 的变化与 CAP 患者疾病炎症反应及严重程度具有相关性<sup>[30,34]</sup>;张帅等<sup>[35]</sup>观察发现,CAP 患者的 CRP 与 PSI 评分呈正相关,CRP 及 PSI 均可用于 CAP 严重程度的评估,对 CAP 预后评估有指导作用。

本研究 CAP 患者入院时 CRP 升高,约高于对照者 10 倍,证实 CRP 是 CAP 炎症反应的敏感指标。随着治疗,CRP 逐渐下降,但治疗 7 d 时仍高于对照者。按照 CAP 的 PSI 分级观察 CRP 的变化发现,治疗前 PSI 分级越高,血清 CRP 水平越高;随着治疗,PSI 分级越高,血清 CRP 水平的下降速度越慢。CAP 患者中,PSI I ~ II 级者治疗 4 d 时 CRP 水平已开始下降, I 级 7 d 时 CRP 已降至正常水平; III 级治疗 7 d 时 CRP 开始下降;而 IV ~ V 级治疗 7 d 时 CRP 仍维持较高水平,较治疗前未观察到下降趋势。治疗前后各时间点 PSI 与 CRP 均呈显著正相关。提示 CRP 浓度与 PSI 评分对于评价 CAP 严重程度具有重要价值。

CRP 的生物学功能主要是通过凋亡和死亡的细胞,或入侵的病原微生物结合,激活补体经典途径和单核/巨噬细胞系统,将病理物质或病原体清除。CRP 结构中含 Clq、FcR 结合位点,在 IL-6、TNF- $\alpha$  及其他细胞因子的诱导下于肝脏快速合成后与 Clq

结合,从而活化补体经典途径,发挥对不同病原体的调理素作用,提供早期、有效的抗菌反应,这是 CRP 对机体防御反应的主要机制。CRP 能抑制机体对革兰阴性菌脂多糖的损伤性炎症应答,阻止细菌代谢产物对机体的损伤;另外,CRP 能与补体相互作用,促进巨噬细胞对濒死细胞和凋亡细胞的吞噬作用;而且,CRP 能诱导 IL-10 等抗炎因子的产生。CRP 在炎症中的作用是减轻组织损伤。CRP 的生物学功能是本研究 CAP 患者 CRP 与 PSI 呈正相关的原因。

综上所述,MBL 54 位密码子存在 GGC→GAC 变异,血清 MBL 可以作为 CAP 急性期反应物,但用于 CAP 病情严重程度评估的价值有限。血清 MBL 在 CAP 中变化的意义及临床价值需要进一步研究。

### 参考文献

- [1] 金伯泉. 细胞和分子免疫学 [M]. 2 版. 北京: 科学出版社, 2001:244.
- [2] Pradhan V, Gorakshakar A. Are mannose-binding lectin gene 2 (MBL2) polymorphisms and MBL deficiency associated with infections? [J]. Indian J Hum Genet, 2011, 17(2):45-47.
- [3] Eisen DP. Mannose-binding lectin deficiency and respiratory tract infection [J]. J Innate Immun, 2010, 2(2):114-122.
- [4] Worthley DL, Bardy PG, Mullighan CG. Mannose-binding lectin: biology and clinical implications [J]. Intern Med J, 2005, 35(9):548-555.
- [5] Steffensen R, Thiel S, Varming K, et al. Detection of structural gene mutations and promoter polymorphisms in the mannan-binding lectin (MBL) gene by polymerase chain reaction with sequence-specific primers [J]. J Immunol Methods, 2000, 241(1-2):33-42.
- [6] Valdimarsson H. Infusion of plasma-derived mannan-binding lectin (MBL) into MBL-deficient humans [J]. Biochem Soc Trans, 2003, 31(Pt 4):768-769.
- [7] 中华医学会呼吸病学分会. 社区获得性肺炎诊断和治疗指南 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2006, 29(10):651-655.
- [8] Fine MJ, Smith MA, Carson CA, et al. Prognosis and outcomes of patients with community-acquired pneumonia. A meta-analysis [J]. JAMA, 1996, 275(2):134-141.
- [9] Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, et al. A prediction rule to identify low-risk patients with community-acquired pneumonia [J]. N Engl J Med, 1997, 336(4):243-250.
- [10] 薛晓艳, 高占成. 中国社区获得性肺炎病情评估标准与 Fine 危险分层的临床对比研究 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2002, 25(12):719-722.
- [11] 陈云霞, 李春盛. 肾上腺髓质素对急诊社区获得性肺炎患者的预后和危险分层价值 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(2):115-119.
- [12] 苏英, 郭淑兰, 于晓静, 等. 银屑病患者甘露糖结合凝集素基因多态性及血清水平的研究 [J]. 中华皮肤科杂志, 2014, 47(3):157-159.
- [13] 常欣蓓, 倪兆慧, 戚超君, 等. 甘露糖结合凝集素基因多态性与重型狼疮肾炎进展的关系 [J]. 中华肾脏病杂志, 2014, 30(4):267-272.
- [14] Harrison E, Singh A, Morris J, et al. Mannose-binding lectin genotype and serum levels in patients with chronic and allergic pulmonary aspergillosis [J]. Int J Immunogenet, 2012, 39(3):224-232.
- [15] Damiens S, Poissy J, François N, et al. Mannose-binding lectin levels and variation during invasive candidiasis [J]. J Clin Immunol, 2012, 32(6):1317-1323.
- [16] 刘学花, 卢建荣, 李玲, 等. 社区获得性肺炎中医证型与血清 C-反应蛋白及甘露聚糖结合凝集素的研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2014, 21(2):112-116.
- [17] 梁建敏, 谢笛, 汤石林. 脓毒症患者血清甘露聚糖结合凝集素水平及其临床意义 [J]. 现代医药卫生, 2013, 29(22):3366-3367.
- [18] Dean MM, Minchinton RM, Heatley S, et al. Mannose binding lectin acute phase activity in patients with severe infection [J]. J Clin Immunol, 2005, 25(4):346-352.
- [19] Garcia-Laorden MI, Sole-Violan J, Rodriguez de Castro F, et al. Mannose-binding lectin and mannose-binding lectin-associated serine protease 2 in susceptibility, severity, and outcome of pneumonia in adults [J]. J Allergy Clin Immunol, 2008, 122(2):368-374, 374.e1-2.
- [20] Eisen DP, Dean MM, Boermeester MA, et al. Low serum mannose-binding lectin level increases the risk of death due to pneumococcal infection [J]. Clin Infect Dis, 2008, 47(4):510-516.
- [21] Eisen DP, Dean MM, Thomas P, et al. Low mannose-binding lectin function is associated with sepsis in adult patients [J]. FEMS Immunol Med Microbiol, 2006, 48(2):274-282.
- [22] Perez-Castellano M, Peñaranda M, Payeras A, et al. Mannose-binding lectin does not act as an acute-phase reactant in adults with community-acquired pneumococcal pneumonia [J]. Clin Exp Immunol, 2006, 145(2):228-234.
- [23] 陈阿德, 王燕, 张丽芸, 等. 甘露聚糖结合凝集素对中性粒细胞功能的影响 [J]. 南方医科大学学报, 2013, 33(6):842-846.
- [24] 张雅妮, 王明永, 雷鸣, 等. MBL 与人单核细胞系 THP1/CD14 细胞结合及其特性研究 [J]. 现代免疫学, 2008, 28(2):121-125.
- [25] 王凡平, 王明永, 杨建斌, 等. 甘露聚糖结合凝集素抑制肽聚糖刺激 THP-1/CD14 细胞产生的炎症反应及机制 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2012, 32(11):977-982.
- [26] Wang M, Chen Y, Zhang Y, et al. Mannan-binding lectin directly interacts with Toll-like receptor 4 and suppresses lipopolysaccharide-induced inflammatory cytokine secretion from THP-1 cells [J]. Cell Mol Immunol, 2011, 8(3):265-275.
- [27] 王凡平, 王明永, 郭晓芳, 等. MBL 抑制 LPS 诱导 DC 成熟机制的研究 [J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(3):770-774.
- [28] 王明永, 王凡平, 郭晓芳, 等. MBL 抑制白假丝酵母菌刺激 THP1/CD14 细胞产生 TNF- $\alpha$  和 IL-8 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2011, 31(1):14-19.
- [29] 陈炜, 赵磊, 牛素平, 等. 不同炎症因子对细菌性血流感染所致脓毒症患者的早期诊断价值 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(3):165-170.
- [30] 孙萍, 王东强, 谢丽莉. 超敏 C-反应蛋白与白细胞计数联合检测在感染性疾病中的诊断价值 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2013, 20(3):189.
- [31] 赵永祯, 李春盛. 生物标志物组合对急诊脓毒症和重度脓毒症患者的诊断价值 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(3):153-158.
- [32] 桂水清, 冯永文, 吴明, 等. C-反应蛋白与降钙素原对重症监护病房老年患者感染的监测 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(4):244-245.
- [33] 韩寒, 陈可, 燕宪亮, 等. 血清降钙素原、C-反应蛋白与老年社区获得性肺炎病情判断及预后的关系 [J]. 徐州医学院学报, 2013, 33(11):741-742.
- [34] Hohenthal U, Hurme S, Helenius H, et al. Utility of C-reactive protein in assessing the disease severity and complications of community-acquired pneumonia [J]. Clin Microbiol Infect, 2009, 15(11):1026-1032.
- [35] 张帅, 张虹霞, 李晓辉, 等. C 反应蛋白在社区获得性肺炎严重程度及预后评估中的作用 [J]. 中国综合临床, 2012, 28(2):119-121.

(收稿日期:2014-05-02)

(本文编辑:李银平)