

血清乳铁蛋白在脓毒症近期预后评估中的作用

李高峰¹ 包志远² 张琳¹ 通讯作者

1. 安徽医科大学第三附属医院 合肥市第一人民医院 重症医学科 安徽 合肥 230061

2. 安徽医科大学附属巢湖医院急诊科 安徽 合肥 238001

摘要：目的：探究血清乳铁蛋白(LF)在脓毒症近期预后评估中的作用。方法：纳入2022年09月至2023年05月期间入院的40例脓毒症患者和同期健康者40人为对照组，根据脓毒症3.0诊断标准选择脓毒症患者，依据30天生存情况分为生存组和死亡组，并采用ELISA法测定血清中LF水平，比较两组血清LF的差异。结果：与对照组比较，脓毒症生存组、脓毒症死亡组血清LF均明显升高[$\mu\text{g/mL}$: 710.476 (598.7499, 805.086) vs. 948.942 (859.339, 1022.316), 1062.290 (975.902, 1145.964), $P < 0.001$];与生存组比较，死亡组血清LF明显升高[$\mu\text{g/mL}$: 1062.290 (975.902, 1145.964) vs. 948.942 (859.339, 1022.316), $P = 0.002$]。ROC曲线分析显示，血清LF对脓毒症预后的曲线下面积为0.762，截断值为955.534 $\mu\text{g/mL}$ ，此时敏感度0.913、特异度0.588。Cox回归分析显示，血清LF为脓毒症近期预后危险因素(HR = 1.01, $P = 0.0018$)。生存曲线分析生存分析显示，血清LF > 955.534 $\mu\text{g/mL}$ 脓毒症患者30d病死率高于血清LF < 955.534 $\mu\text{g/mL}$ 的脓毒症患者($P < 0.05$)。结论：随着LF的升高，脓毒症患者近期预后的死亡率也越高。

关键词：生物标记物；血清乳铁蛋白；脓毒症；预后

脓毒症是由于机体对感染的反应失调引起的致命性器官功能障碍，可进一步发展为脓毒性休克及多器官功能衰竭^[1]，脓毒症的发病率很高，并且这种疾病仍然是全球死亡的主要原因之一^[2]。目前，大约有3000万脓毒症患者，估计有600万例脓毒症相关死亡^[3]。脓毒症是重症监护室(ICU)中危重患者死亡的主要原因，随着对脓毒症和脓毒性休克的发病机制和生物学了解的增加，宿主对感染和器官功能障碍的失调反应得到了强调^[6-8]。脓毒症的生物标记物参与很多炎症机制失调，所以越来越受到人们的关注。因此，生物标记物用于脓毒症对患者的预后是预测以便及时治疗是至关重要的。

乳铁蛋白(LF)是一种非血红素铁结合糖蛋白，分子量约为80kDa，属于转铁蛋白家族。LF是所有外分泌物，包括血清和中性粒细胞次级颗粒中的主要蛋白质之一^[9]。LF具有抗菌、抗炎、铁吸收调节功能和免疫调节等活性^[9]。其中，乳铁蛋白通过不同的途径在感染和炎症中发挥着不可忽视的作用^[10-11]。据报道，随着感染和炎症的出现，其在血清中的含量会增加，除了作为急性期反应剂外，乳铁蛋白还会因粒细胞的更新而释放出来，并通过改变细胞通透性和增加脂多糖而在细菌吞噬作用中发挥关键作用^[12]。

另外国外一些报告记录了在感染或炎症条件下LF浓度的升高，表明LF是炎症条件下的生物标志物。但关于国内在成人脓毒症中的研究还相当有限，就国内关于乳铁蛋白在脓毒症预后中的作用还没有得到详细的阐

述。

1 资料与方法

1.1 研究对象及分组

采取前瞻性队列研究，选择2022年9月至2023年5月合肥市第一人民医院滨湖医院的急诊ICU、综合ICU新发脓毒症患者40例为实验对象。纳入标准：符合2016年制定的脓毒症3.0诊断标准，感染或高度怀疑感染并SOFA评分 ≥ 2 分即可诊断脓毒症。排除标准：①患者或家属非自愿参加本研究；②年龄 < 18 周岁；③入院24h内死亡或不足24h；④孕产妇；⑤合并恶性肿瘤、血液系统及免疫缺陷疾病；⑥入院前使用抗生素及患严重心、肝、肾疾病；⑦正在使用抗凝剂或激素。根据实验分为脓毒症生存组及脓毒症死亡组。选取同期门诊健康成人40例为对照组。本研究由医院伦理委员会审批通过，[伦研批第2022(53)号]。

1.2 临床资料

收集患者的临床资料，包括年龄、性别、白细胞、降钙素原(PCT)、C反应蛋白、血常规细胞比值和IL-6等相关信息，计算患者入院时急性生理和慢性健康状况评分II(APACHE II)及序贯器官衰竭评分，观察时间设定为30d，根据患者的生存情况分为生存组和死亡组。

1.3 血清LF检测

在患者入院后24h内采集外周静脉血5mL，EDTA抗凝，3000 r/min离心5min，取上层血清于EP管中，-80℃冰箱内保存，避免反复冻融。采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定患者血清LF水平，LF试剂盒由合肥屹景

生物科技有限公司提供，操作严格按照说明书执行。

1.4 统计学处理

汇总数据后采用 R 4.3.0 统计分析。计量资料行正态性检验，正态分布的定量资料以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示，采用单因素方差分析；非正态分布的定量资料以 M(P25, P75) 表示，两组比较采用 Mann-Whitney U 检验，多组间比较采用 Kruskal-Wallis H 检验。绘制 ROC 曲线，评估 LF 对脓毒症预后的判断价值；多因素 Cox 回归分析脓毒症预后危险因素；采用约登指数找出 LF 对脓毒症 30d 病死率的最佳预测阈值，以此为界分为两组，采用 Kaplan-Meier 生存曲线绘制不同血清 LF 分组患者的累积生存率，采用 Log-rank 检验比较差异。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

对照组、死亡组和生存组性别构成比无统计学意义 (P > 0.05)，死亡组、生存组患者血清 LF 水平均高于对照组 (P < 0.05)，死亡组、生存组年龄均高于对照组 (P < 0.05)。死亡组和生存组血清 LF 比较差异有统计学意义 (P < 0.05)。见表 1。

2.2 脓毒症预后效能分析死亡组和生存组

PCT、IL-6、APACHE II 评分、SOFA 评分、LF、年龄、差异有统计学意义 (P < 0.05)，性别差异无统计学意义 (P>0.05)。见表 2。

2.3 ROC

曲线分析各指标对脓毒症预后的预测价值根据 ROC 曲线分析显示，SOFA 预测脓毒症预后最佳，敏感度为 65.2%，特异度为 94.1%，其次为 APACHE II 评分和血清 PCT、LF。见表 3、图 1。

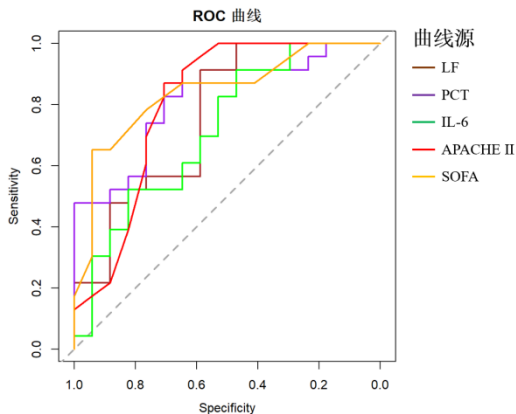


图 1: 各指标对脓毒症预后预测价值的 ROC 曲线

2.4 预后危险因素

以脓毒症患者是否生存 (生存 =0, 死亡 =1)、生存时间为因变量，以 IL-6、SOFA 评分、LF 等为自变量进行多因素 Cox 回归分析，结果显示 APACHE II、SOFA 评分和血清 LF 为脓毒症预后的危险因素 (P < 0.05)。见图 2。

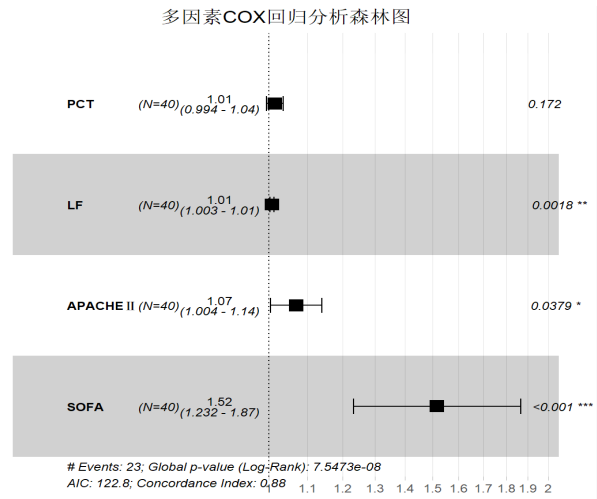


图 2: 脓毒症预后多因素 COX 回归分析森林图

2.5 生存曲线分析生存分析

血清 LF > 955.534 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 脓毒症患者 30d 病死率高于血清 LF < 955.534 $\mu\text{g} / \text{mL}$ 的脓毒症患者 (P < 0.05)。见图 3

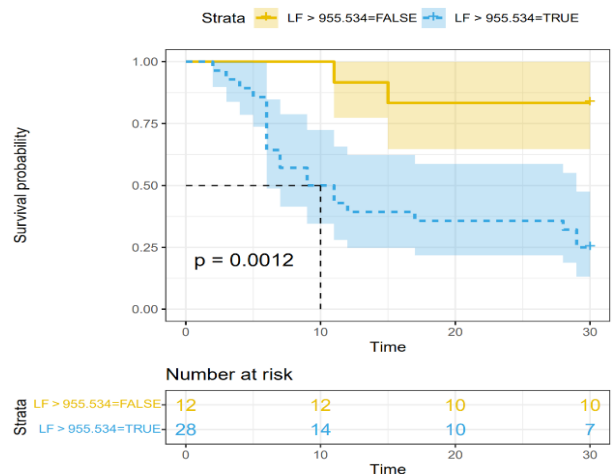


图 3: Kaplan - Meier 生存曲线比较不同血清 LF 分组的累积生存函数

3 讨论

脓毒症是 ICU 常见的急危重症之一，因发病的隐匿性和病情进展的迅速性，使其成为威胁患者生命的主要原因之一。目前，脓毒症因无特异性临床表现，在评估脓毒症预后上尚无明确的统一标准，如能早期评估脓毒症预后并尽早治疗可以降低患者病死率。临床上常见的指标，如白细胞和 C 反应蛋白虽能明显反映出机体感

表 1: 实验组和对照组一般资料、血清 LF 水平比较

组别	对照组 (n=40)	死亡组 (n=23)	生存组 (n=17)	P 值
年龄 [岁, M (P25, P75)]	56.390 (39, 72)	76.391 (69.5, 84.0)	64.765 (51, 79)	<0.001
性别男 (%)	48.78	82.00	60.86	0.061
LF [μ g/mL, M (P25, P75)]	710.476 (598.745, 805.086)	1062.290 (975.902, 1145.964) ^a	948.942 (859.339, 1022.316) ^{ab}	<0.001

注: LF 为乳铁蛋白; 与对照组比较, aP <0.05; 与脓毒症组比较, abP <0.05

表 2: 死亡组和生存组相关指标比较

指标	生存组 (n=17)	死亡组 (n=23)	P 值
年龄 [岁, ($\bar{x} \pm s$)]	64.765 \pm 17.775	76.391 \pm 11.264	0.016
性别男 (%)	82.00	60.86	0.264
LF [μ g/mL, ($\bar{x} \pm s$)]	948.942 \pm 120.352	1062.290 \pm 95.500	0.002
PCT [ng/mL, M(P25, P75)]	2.857 (1.917, 3.965)	10.580 (3.993, 6.685)	0.001
IL-6 [pg/mL, M(P25, P75)]	12.269 (11.427, 15.480)	16.593 (13.190, 18.149)	0.020
APACHE II [分, M(P25, P75)]	19.353 (14, 25)	27.870 (25, 29)	0.001
SOFA [分, ($\bar{x} \pm s$)]	6.059 \pm 2.135	9.391 \pm 2.407	<0.001

表 3: 各指标预测脓毒症预后 ROC 分析

指标	AUC	约登指数	阈值	敏感度	特异度	P 值	95% CI
LF	0.762	0.501	955.534	0.913	0.588	0.002	0.6041 - 0.9202
PCT	0.813	0.532	3.620	0.826	0.706	<0.001	0.6803 - 0.9463
IL - 6	0.716	0.330	12.055	0.913	0.471	0.010	0.5491 - 0.8831
APACHE II	0.806	0.576	22.500	0.870	0.706	0.001	0.6310 - 0.9547
SOFA	0.839	0.593	9.500	0.652	0.941	<0.001	0.7122 - 0.9655

注: PCT 为降钙素原; IL - 6 为白细胞介素 6; APACHE II 为急性生理学和慢性健康状况评分 II; SOFA 为序贯器官衰竭评分; LF 为乳铁蛋白。

染，但其特异性较差，非细菌性感染时也会升高，并且升高程度并不能评估患者预后。因此，寻找敏感度、特异度高的生物标志物一直是脓毒症研究的重要方向。

LF 是乳铁蛋白 (LF) 是一种非血红素铁结合糖蛋白，分子量约为 80kDa，属于转铁蛋白家族。LF 是所有外分泌物、血清和中性粒细胞次级颗粒中的主要蛋白质之一^[9]。LF 在中性粒细胞中产生，并以铁耗尽的状态储存在特定的颗粒中，从颗粒中可以分泌到周围的组织或血液中，在炎症或任何事件中通过中性粒细胞活化和脱粒以非特异性的方式释放^[9]。其中，乳铁蛋白通过不同的途径在感染和炎症中发挥作用。1. 乳铁蛋白以高亲和力和脂多糖结合，并干扰脂多糖与细胞表面受体（如 CD14）的结合，后者通常会引发广泛的促炎作用^[11]。2. LF 通过直接调节关键抗氧化酶来控制活性氧，发挥其有效的抗炎活性。LF 介导的炎性-致耐受性巨噬细胞转变抑制 IL-6 的合成。LF 作为抗炎糖蛋白表达介导的铁稳态的复杂协调中所涉及的促炎细胞因子的减少^[10]。另外国外一些报告记录了在感染或炎症条件下 LF 浓度的升高，表明 LF 是炎症条件下的生物标志物。研究表明，乳铁蛋白本身的分泌与多种炎症性疾病有关，包括：类风湿性关节炎、病毒性肝炎、炎症性肠病、糖尿病相关炎症等^[14-16]。虽然 LF 在脓毒症中的具体机制目前尚未完全清晰，但 LF 与脓毒症的发生和发展存在密切联系。

本研究发现，对照组与实验组年龄之间存在差异，门诊纳入的健康对照组年纪普遍较小，而实验组为住院患者年纪较大，同时 Rowe TA 和 McKoy JM^[18] 发现年龄越大越容易感染脓毒症，本研究结果相符合。脓毒症血清 LF 在健康者、生存组、死亡组中差异有统计学意义，且在脓毒症患者中明显升高。与此同时，可以观察到死亡组血清 LF 水平较生存组升高，而死亡组的 APACHE II 评分 27.870 (25, 29) 明显高于存活组 19.353 (14, 25)，这提示高血清 LF 水平可能与疾病严重程度相关。既往 Thomas NJ^[17] 在大学儿童医院儿科 ICU 的一项研究调查

了严重脓毒症儿童内乳铁蛋白的全身释放。与非脓毒症重症对照患者相比，脓毒症患者的乳铁蛋白血浆浓度升高。此外乳铁蛋白血浆浓度与总白细胞和中性粒细胞计数相关。随着器官衰竭的发展观察到血浆乳铁蛋白浓度增加。乳铁蛋白浓度在非幸存者和幸存者之间没有差异^[17]。本研究中生存组和死亡组血清 LF 水平存在差异，不能排除婴幼儿与成年人合成 LF 和对感染应激有所差异。Berkestedt 等人^[13] 证明，从特定颗粒释放的 LF 中值血浆水平在患有严重脓毒症的成年患者中增加了 10 倍以上，与循环紊乱的程度相关，反映了该病症的剧烈炎症激活。与本研究血清 LF 水平在脓毒症严重程度结果一致。本研究还发现，死亡组血清 LF 水平明显高于生存组。Cox 回归分析显示，血清 LF 为脓毒症预后的危险因素，且血清 LF > 955.534 μg/mL 患者 30d 病死率明显高于血清 LF < 955.534 μg/mL 患者，这可能与高水平血清 LF 可以加重患者组织损伤，促进炎症反应等作用相关。因此 LF 可作为预测脓毒症预后的标志物。

本研究具有的优势，1. 创新性，在中国鲜有研究把 LF 作为脓毒症的生物标记物，为以后国内研究 LF 在脓毒症中的预后提供了有用的数据。2. 通过 R 语言绘制 Cox 回归分析森林图更加直观的观察影响脓毒症预后的风险因素。当然，该项研究也存在一些缺点。1. 样本量少，该研究选取了单中心的脓毒症 40 例。样本量少会导致结果容易产生偏倚，还有待更大样本量的实验来进一步证实研究结果的可靠性及有效性。2. 不易获取，该生物标记物在医院并没有纳入常规检测，因此对医院展开常规检测来评估脓毒症的严重程度是不易获取的。

综上所述，LF 在脓毒症患者中评估病情及近期预后的应用价值优于其他实验室检查指标，预测感染病人的病情进展，具有非常重要的临床意义。但仍需进一步大样本多中心的临床研究，来证实研究结果的可靠性及有效性。

参考文献：

[1] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The Third International Consensus Definitions for Sepsis and Septic Shock (Sepsis-3). JAMA. 2016;315(8): 801-810.
[2] Cecconi M, Evans L, Levy M, et al. Sepsis and septic shock. Lancet. 2018;392(10141):75-87.

[3] Yu MH, Chen MH, Han F, et al. Prognostic value of the biomarkers serum amyloid A and nitric oxide in patients with sepsis. Int Immunopharmacol. 2018;62:287-292.
[4] Rudd KE, Johnson SC, Agesa KM, et al. Global, regional, and national sepsis incidence and mortality,

1990–2017: analysis for the Global Burden of Disease Study. *Lancet*. 2020;395(10219):200–211.

[5] Duggan S, Leonhardt I, Hunniger K, et al. Host response to *Candida albicans* bloodstream infection and sepsis. *Virulence* 2015;6(4):316–326.

[6] Meynaar IA, Droog W, Batstra M, et al. In critically ill patients, serum procalcitonin is more useful in differentiating between sepsis and SIRS than CRP, IL-6, or LBP. *Crit Care Res Pract*. 2011;2011:594645.

[7] Huson MA, Kalkman R, Hoogendijk AJ, et al. Impact of HIV infection on the haemostatic response during sepsis and malaria. *Br. J. Haematol*. 2016;173(6):918–926.

[8] McHugh L, Seldon TA, Brandon RA, et al. A molecular host response assay to discriminate between sepsis and infection-negative systemic inflammation in critically ill patients: discovery and validation in independent cohorts. *PLoS Med*. 2015;12(12): e1001916.

[9] Decembrino L, DeAmici M, De Silvestri A, et al. Plasma lactoferrin levels in newborn preterm infants with sepsis. *J Matern Fetal Neonatal Med*. 2017;30(23):2890–2893.

[10] Lepanto MS, Rosa L, Paesano R, et al. Lactoferrin in Aseptic and Septic Inflammation. *Molecules*. 2019;24(7):1323.

[11] Sortino O, Hullsiek KH, Richards E, et al. The Effects of Recombinant Human Lactoferrin on Immune Activation and the Intestinal Microbiome Among Persons

Living with Human Immunodeficiency Virus and Receiving Antiretroviral Therapy. *J Infect Dis*. 2019;219(12):1963–1968.

[12] Ahmed AM, Mohammed AT, et al.. Serum Biomarkers for the Early Detection of the Early-Onset Neonatal Sepsis. *Advances in Neonatal Care*. 2019;19(5):E26–E32.

[13] Berkestedt I, Herwald H, Ljunggren L, et al. Elevated plasma levels of antimicrobial polypeptides in patients with severe sepsis. *J Innate Immun* 2010;2:478–482.

[14] Drago-Serrano ME, Campos-Rodríguez R, Carrero JC, et al. Lactoferrin: Balancing Ups and Downs of Inflammation Due to Microbial Infections. *Int J Mol Sci*. 2017;18(3):501.

[15] Okubo K, Kamiya M, Urano Y, et al. Lactoferrin Suppresses Neutrophil Extracellular Traps Release in Inflammation. *EBioMedicine*. 2016;10:204–215.

[16] Hu P, Zong Q, Zhao Y, et al. Lactoferrin Attenuates Intestinal Barrier Dysfunction and Inflammation By Modulating the MAPK Pathway and Gut Microbes in Mice. *J Nutr*. 2022:nxac200.

[17] Thomas NJ, Carcillo JA, Doughty LA, et al. Plasma concentrations of defensins and lactoferrin in children with severe sepsis. *Pediatr Infect Dis J*. 2002;21(1):34–38.

[18] Rowe TA, McKoy JM. Sepsis in Older Adults. *Infect Dis Clin North Am*. 2017;31(4):731–742.

作者简介：李高峰（1996.2-），男，汉，河南商丘，毕业于安徽医科大学，硕士研究生学历，重症医学专业，研究方向：脓毒症生物标记物。