

免疫细胞与新生儿坏死性小肠结肠炎病情进展的相关性研究

王钊钊¹, 王 瑜^{2*}, 王化彬²

¹济宁医学院临床医学院, 山东 济宁

²济宁医学院附属医院儿科, 山东 济宁

收稿日期: 2023年10月9日; 录用日期: 2023年12月4日; 发布日期: 2023年12月14日

摘 要

新生儿坏死性小肠结肠炎(Necrotizing Enterocolitis, NEC)是一种危及新生儿生命的肠道疾病, 影响约5%~10%的出生体重 < 1500 g的早产儿, 死亡率从15%~30%不等, 后遗症的发生率约为25%。NEC的早期症状不典型, 临床难以早期诊断, 目前难以获得“理想的”预测和诊断NEC的实验室检查指标和生物标记物, 免疫细胞成为研究的一个热点。患儿的免疫功能状态与NEC的发生、发展和预后密切相关。NLR、PLR、MLR与NEC的病情进展相关, 有助于评估NEC的严重程度和病情演变过程。

关键词

坏死性小肠结肠炎, 免疫细胞, NEC, NLR, PLR, MLR

Study on the Correlation between Immune Cells and the Progression of Neonatal Necrotizing Enterocolitis

Tiantian Wang¹, Yu Wang^{2*}, Huabin Wang²

¹Clinical Medicine School of Jining Medical University, Jining Shandong

²Department of Pediatrics, Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining Shandong

Received: Oct. 9th, 2023; accepted: Dec. 4th, 2023; published: Dec. 14th, 2023

Abstract

Neonatal necrotizing enterocolitis (NEC) is a life-threatening intestinal disease affecting about

*通讯作者。

文章引用: 王钊钊, 王瑜, 王化彬. 免疫细胞与新生儿坏死性小肠结肠炎病情进展的相关性研究[J]. 医学诊断, 2023, 13(4): 389-393. DOI: 10.12677/md.2023.134059

5%~10% of premature infants whose birth weight is less than 1500 g, the mortality varies from 15% to 30%, and the incidence of sequelae is about 25%. The early symptoms of NEC are not typical, and it is difficult to diagnose early in clinic. At present, it is difficult to obtain "ideal" laboratory indexes and biomarkers for predicting and diagnosing NEC. Immune cells have become a hot spot of research. The immune function of children is closely related to the occurrence, development and prognosis of NEC. NLR, PLR and MLR are related to the progression of NEC, which is helpful to evaluate the severity and evolution of NEC.

Keywords

Necrotizing Enterocolitis, Immune Cells, NEC, NLR, PLR, MLR

Copyright © 2023 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

新生儿坏死性小肠结肠炎是一种炎症性肠病,以可变扩展的肠坏死为特征,90%以上的 NEC 发生于早产儿,20%至 40%的患儿需要手术干预,死亡率从 20%到 30%不等[1],出生体重 < 750 克的早产儿因 NEC 的死亡率甚至高达 42% [2]。迄今为止,降低 NEC 发病率和病死率的重点是预防。

NEC 是一种由多种病理因素引起的严重肠壁感染,主要与遗传易感性、肠道微生态失调、早产儿胃肠道发育、免疫功能不成熟以及感染等多重因素导致的肠黏膜缺氧损伤有关[3]。免疫系统不成熟和炎性介质失衡在 NEC 易感性中起重要作用,患儿的免疫功能状态与 NEC 的发生、发展和预后密切相关,免疫细胞成为研究的一个热点。中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞和血小板在黏膜组织损伤的发病机理中起重要作用,NLR、PLR、MLR 是基于中性粒细胞、淋巴细胞、血小板、单核细胞衍生的比值型炎症指标,更为稳定,可作为预测晚期结肠癌、脑胶质瘤、干燥综合征、感染性心内膜炎等多种疾病的有效炎症指标[4] [5] [6]。越来越多的研究表明,NLR、PLR、MLR 与 NEC 的病情进展相关,然而,目前国内外针对 NLR、PLR 对 NEC 的病情进展的影响的报道较少。本文综述了 NEC 的免疫和炎性参与机制,并探讨免疫细胞与 NEC 病情进展相关性的研究现状和应用前景。

2. NEC 的免疫和炎性参与机制

人体对入侵的病原体提供防御依赖于两个独立但密切相关的系统:先天性免疫系统(非特异性)和获得性免疫系统(特异性),其中先天免疫系统包括中性粒细胞、单核巨噬细胞、自然杀伤细胞、肥大细胞和其他细胞,获得性免疫系统包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和其他细胞。

中性粒细胞是先天免疫细胞群的关键组成部分,只有当组织受到各种破坏或细菌感染时,中性粒细胞才会离开循环系统到达受影响的组织。中性粒细胞能够招募和激活丰富的免疫细胞参与肠道炎症,这些免疫细胞的活化将带来与 NEC 相关的炎症反应和上皮损伤。中性粒细胞发挥强大的杀菌功能以限制有害细菌的传播,但不可避免地会因过量产生活性氧(Reactive Oxygen Species, ROS)、蛋白颗粒、促炎细胞因子和中性粒细胞胞外杀菌网络(Neutrophil Extracellular Traps, NETs)而造成组织损伤[7]。此外,NETs 被证明通过 DSS 或 TNBS 诱导的小鼠结肠炎模型中黏膜屏障功能的损害来促进肠道炎症的发病机制[8]。巨噬细胞是先天免疫系统的另一个重要组成部分。NEC 患儿肠道组织中存在巨噬细胞,巨噬细胞隶属于

单核巨噬系统,可吞噬病原体,产生炎症因子,尤其在炎症早期,肠道固有层中的巨噬细胞在调节炎症反应中起关键作用。根据其功能特征,可将巨噬细胞分为经典激活的 M1 型和替代激活的 M2 型。M1 型巨噬细胞通过分泌细胞因子促进组织损伤, M2 型巨噬细胞则发挥抗炎和促进损伤愈合的作用, M1 以及 M2 两型的平衡在调控炎症反应以及修复中发挥重要作用。有实验研究发现, NEC 小鼠肠道病变区组织中有大量的巨噬细胞浸润, M1 显著增多, M2 显著减少,这可能也是 NEC 的发病机制之一[9]。T 淋巴细胞在胸腺的发育成熟过程中,主要分化为 cD4+ T 淋巴细胞和 cD8+ T 淋巴细胞。其中, cD4+ T 淋巴细胞为辅助性 T 细胞(helper T cell, Th),在细胞免疫中发挥主要作用,并且具有协助体液免疫的功能。cD8+ T 淋巴细胞为细胞毒性 T 细胞(cytotoxic T cell, Tc),是一类具有杀伤活性的效应细胞。Funderburg 等在 NEC 患者外周血检测中均发现 cD4+ T 淋巴细胞和 cD8+ T 淋巴细胞活化及比例升高。其中, cD4+ T 淋巴细胞被认为是介导宿主保护和稳态的关键, cD4+ T 淋巴细胞的过度激活,导致宿主对病原体的防御不足,从而导致损伤和慢性炎症。

3. NLR、PLR、MLR 的临床意义及其与 NEC 的相关性研究

3.1. NLR

NEC 是一种炎症反应综合征,中性粒细胞是急性炎症中的主要细胞,有研究报道,新生儿中性粒细胞减少症与 NEC 发病率有显著关系。淋巴细胞是免疫系统的主要细胞,是监控内部细胞变异和对抗外部感染的主要执行者,感染过程中淋巴细胞为对抗感染会持续降低[10]。NLR (Neutrophils/Lymphocytes, NLR)作为一种新型的炎症反应指标,相比单一的中性粒细胞绝对值、淋巴细胞绝对值, NLR 能更好地反映机体炎症情况[11] [12]。在炎症反应状态下,机体一方面会快速激活骨髓中储备的大量成熟中性粒细胞并释放至血液中。另一方面淋巴细胞在受细菌及各种毒素的作用下发生特异性的免疫活化和损伤,导致其凋亡增加。NLR 结合了中性粒细胞和淋巴细胞这两种白细胞亚型,可代表炎症反应的激活(中性粒细胞计数增加)与机体的免疫应激反应(淋巴细胞计数的减少),其比值反映了中性粒细胞与淋巴细胞的相对平衡。因此,随着炎症反应的发展, NLR 的值会逐渐增大, NLR 作为一个完整反映两个重要途径的炎症指标有较高的研究价值。

Mu 和 Wang [10]于 2022 年的一项回顾性病例对照研究发现, NLR 和早产 NEC 之间存在显著的相关性: $NLR \geq 1.60$ 和 <3.20 值被确定为早产儿 NEC 的预测界值(OR, 0.20; 95% CI, 0.10~0.40; $P < 0.001$),与早产儿发生 NEC 的风险降低有关; NLR 值(<1.60 或 ≥ 3.20)可作为早产儿 NEC 的诊断工具。NLR 可以及时、准确地指示炎症反应的状态和身体应激水平。

3.2. PLR

血小板来源于成熟的巨核细胞的细胞质,机体在炎症状态下,血清中的淋巴细胞凋亡增加,而中性粒细胞、巨核细胞以及血小板细胞增殖增加。血小板可以结合细菌、内化病原体,限制病原体扩散。血小板中的 CD40L 和 RANTES 被认为是导致血管炎症的主要内源性因素。血液中 95%的可溶性 CD40L 来源于血小板。CD40/CD40L 信号通路参与了血小板、白细胞和内皮细胞之间的相互作用。RANTES 是一种由多种细胞类型产生的促炎趋化因子,血小板是分泌 RANTES 的主要来源之一。血小板与内皮细胞的结合促进炎症内皮表型,促进单核细胞黏附和中性粒细胞募集,从而导致了血小板-白细胞聚集体形成。

越来越多的研究表明,血小板-淋巴细胞比值(PLR),可以预测急性炎症和心血管事件、血栓前状态,以及肿瘤和代谢性疾病, PLR 作为一种新的潜在的炎症标志物,已受到越来越多的研究关注。PLR 中血小板不但参与凝血和血栓形成等病理生理过程,还参与机体的炎症和免疫反应。NEC 患儿可导致 PLT 明显降低, PLT 越低往往提示病情越重,经治疗好转后有所回升,说明 PLR 也可作为 NEC 诊断、病情发

展以及疗效监测的实验室指标,然而,目前国内针对 PLR 对 NEC 的早期诊断价值及其分期的影响的报道较少。50%~95%的 NEC 患者在发病时出现血小板减少,血小板减少的程度与疾病的严重程度相关,并可以预测手术治疗的需要,NEC 中低血小板水平的确切发病机制尚不清楚[13] [14]。

一项使用感染小鼠模型的动物研究报告称,高 PLR 与感染早期的炎症有关[15]。Zheng 和 Wang [16] 于 2021 年的一项回顾性病例对照研究表明,NEC 诊断前临床异常后 1 周内 PLR > 100 是 NEC 的危险因素,PLR 与早产 NEC 呈正相关,PLR > 100 是预测早产 NEC 的最佳界值。如果早产儿的 PLR < 100,出现 NEC 症状(例如,大便出血或腹胀)的早产儿可以推迟抗生素的使用,这一结论有利于我们更加慎重地选择抗生素,避免过度治疗。

最近 Garg 等[17]的一项回顾性研究发现,与胎龄超过 32 周的婴儿(C 组)相比,胎龄小于 32 周的外科 NEC 婴儿(A 组和 B 组)的血小板减少症明显且持续时间更长,研究结果指向了血小板在 NEC 发病机制中的胎龄特异性作用。今后需要进一步的研究来调查不同水平的 NEC 和 PLR 值之间的关系,并建立 NEC 预测模型,特别是在更多的早产儿中。

3.3. MLR

单核细胞起源于骨髓中的单核细胞前体,成熟后进入血管和组织中,接受抗原后转移至淋巴结或在组织中分化为巨噬细胞[18] [19]。一些研究表明,单核细胞激活在 NEC 中起作用。NEC 患儿的肠道组织有丰富的巨噬细胞浸润,浸润的巨噬细胞通常是由离开血液的单核细胞的分化形成的。MohanKuma 等[20] 小组研究表明,在 NEC 患儿及三硝基苯磺酸诱导的小鼠肠炎模型中病变肠管标本检测发现回肠末端及结肠富集大量巨噬细胞,而无淋巴细胞,骨髓单核细胞趋化因子 CXCL5 在病变组织中高表达。

最近有人提出将单核细胞绝对计数作为早期 NEC 的一个指标。轻、中度 NEC 患儿单核细胞计数增加,可适当反映免疫炎症反应。已经观察到,在极低出生体重儿中,单核细胞绝对值下降>20%可以识别早期 NEC,灵敏度为 0.70,特异度为 0.71,阴性预测值为 88%,因此有助于将这些患者与因其他与 NEC 无关的疾病而出现的喂养不耐受患者区分开来[21]。

NLR、PLR、MLR 作为反映炎症、免疫应激以及凝血三个重要途径的炎症指标有较高的研究价值,比单独的指标更加具有代表性,检测具有简单、快速、经济等优点,其应用价值也逐渐被临床医生所认可。

在 NEC 治疗中,可以通过调节免疫细胞的移行异常和过度的激活状态及恢复其功能来促进感染清除、减轻组织损伤程度,从而改善 NEC 的病情和预后。因此,探究免疫细胞在 NEC 时的异常状态,可以寻找到 NEC 诊断治疗的新靶点。

参考文献

- [1] Meister, A.L., Doheny, K.K. and Travagli, R.A. (2020) Necrotizing Enterocolitis: It's Not All in the Gut. *Experimental Biology and Medicine* (Maywood), **245**, 85-95. <https://doi.org/10.1177/1535370219891971>
- [2] Zozaya, C., García González, I., Avila-Alvarez, A., et al. (2020) Incidence, Treatment, and Outcome Trends of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants: A Multicenter Cohort Study. *Frontiers in Pediatrics*, **8**, Article 188. <https://doi.org/10.3389/fped.2020.00188>
- [3] Duchon, J., Barbian, M.E. and Denning, P.W. (2021) Necrotizing Enterocolitis. *Clinics in Perinatology*, **48**, 229-250. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2021.03.002>
- [4] Uludag, S.S., Sanli, A.N., Zengin, A.K., et al. (2022) Systemic Inflammatory Biomarkers as Surrogate Markers for Stage in Colon Cancer. *The American Surgeon*, **88**, 1256-1262. <https://doi.org/10.1177/0003134821995059>
- [5] Sharma, G., Jain, S.K. and Sinha, V.D. (2021) Peripheral Inflammatory Blood Markers in Diagnosis of Glioma and IDH Status. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*, **12**, 88-94. <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721166>
- [6] Yıldız, F. and Gökmen, O. (2021) Haematologic Indices and Disease Activity Index in Primary Sjogren's Syndrome. *In-*

- ternational Journal of Clinical Practice*, **75**, e13992. <https://doi.org/10.1111/ijcp.13992>
- [7] Cao, D., Qian, K., Zhao, Y., *et al.* (2023) Association of Neutrophil Extracellular Traps with Fistula Healing in Patients with Complex Perianal Fistulizing Crohn's Disease. *Journal of Crohn's and Colitis*, **17**, 580-592. <https://doi.org/10.1093/ecco-jcc/jjac171>
 - [8] Wang, Y., Duan, Y., Tian, F., *et al.* (2022) Ultrathin and Handleable Nanofibrous Net as a Novel Biomimetic Basement Membrane Material for Endothelial Barrier Formation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, **219**, Article ID: 112775. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2022.112775>
 - [9] Szabo, P.A., Miron, M. and Farber, D.L. (2019) Location, Location, Location: Tissue Resident Memory T Cells in Mice and Humans. *Science Immunology*, **4**, eaas9673. <https://doi.org/10.1126/sciimmunol.aas9673>
 - [10] Mu, Y. and Wang, H. (2022) Association of Neutrophil to Lymphocyte Ratio with Preterm Necrotizing Enterocolitis: A Retrospective Case-Control Study. *BMC Gastroenterology*, **22**, Article No. 248. <https://doi.org/10.1186/s12876-022-02329-3>
 - [11] Buonacera, A., Stancanelli, B., Colaci, M. and Malatino, L. (2022) Neutrophil to Lymphocyte Ratio: An Emerging Marker of the Relationships between the Immune System and Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, **23**, Article 3636. <https://doi.org/10.3390/ijms23073636>
 - [12] Yang, Y., Cao, Z.L., Zhou, X.Y., *et al.* (2019) Does Neutrophil/Lymphocyte Ratio Have Good Diagnostic Value in Neonatal Necrotizing Colitis? *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, **32**, 3026-3033. <https://doi.org/10.1080/14767058.2018.1455182>
 - [13] Knell, J., Han, S.M., Jaksic, T. and Modi, B.P. (2019) Current Status of Necrotizing Enterocolitis. *Current Problems in Surgery*, **56**, 11-38. <https://doi.org/10.1067/j.cpsurg.2018.11.005>
 - [14] Maheshwari, A. (2015) Immunologic and Hematological Abnormalities in Necrotizing Enterocolitis. *Clinics in Perinatology*, **42**, 567-585. <https://doi.org/10.1016/j.clp.2015.04.014>
 - [15] Vardon Bounes, F., Mémier, V., Marcaud, M., *et al.* (2018) Platelet Activation and Prothrombotic Properties in a Mouse Model of Peritoneal Sepsis. *Scientific Reports*, **8**, Article No. 13536. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-31910-8>
 - [16] Zheng, J. and Wang, H. (2021) Association between Platelet-to-Lymphocyte Ratio and Preterm Necrotizing Enterocolitis. *Frontiers in Pediatrics*, **9**, Article 686880. <https://doi.org/10.3389/fped.2021.686880>
 - [17] Garg, P.M., Paschal, J.L., Ware, J., *et al.* (2022) Gestational Age-Specific Hematological Patterns in Preterm Infants following Necrotizing Enterocolitis. *The Journal of Maternal-Fetal & Neonatal Medicine*, **35**, 10093-10102. <https://doi.org/10.1080/14767058.2022.2115885>
 - [18] Cox, N., Pokrovskii, M., Vicario, R. and Geissmann, F. (2021) Origins, Biology, and Diseases of Tissue Macrophages. *Annual Review of Immunology*, **39**, 313-344. <https://doi.org/10.1146/annurev-immunol-093019-111748>
 - [19] Yip, J.L.K., Balasuriya, G.K., Spencer, S.J. and Hill-Yardin, E.L. (2021) The Role of Intestinal Macrophages in Gastrointestinal Homeostasis: Heterogeneity and Implications in Disease. *Cellular and Molecular Gastroenterology and Hepatology*, **12**, 1701-1718. <https://doi.org/10.1016/j.jcmgh.2021.08.021>
 - [20] MohanKumar, K., Kaza, N., Jagadeeswaran, R., *et al.* (2012) Gut Mucosal Injury in Neonates Is Marked by Macrophage Infiltration in Contrast to Pleomorphic Infiltrates in Adult: Evidence from an Animal Model. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, **303**, G93-G102. <https://doi.org/10.1152/ajpgi.00016.2012>
 - [21] Schurink, M., Kooy, E.M., Hulzebos, C.V., *et al.* (2015) Intestinal Fatty Acid-Binding Protein as a Diagnostic Marker for Complicated and Uncomplicated Necrotizing Enterocolitis: A Prospective Cohort Study. *PLOS ONE*, **10**, e0121336. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0121336>