

· 论著 ·

重症脓毒症患者血清脂多糖结合蛋白及其受体变化的临床研究

章云涛 丁国娟 方强

【摘要】 目的 观察重症脓毒症患者血清脂多糖结合蛋白(LBP)及其受体 CD14(CD14)的变化,探讨两者与重症脓毒症严重程度及预后的关系。方法 采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定 41 例重症脓毒症患者发病后不同时间血清 LBP 和可溶性 CD14(sCD14)浓度以及发病后 24 h 内血清前降钙素(PCT)和内毒素(LPS)浓度,并且进行相关性分析。结果 重症脓毒症患者发病后各时间点血清 LBP 和 sCD14 水平较正常对照均显著升高(P 均 <0.01);死亡组患者各时间点血清 LBP 水平与存活组间差异均无显著性(P 均 >0.05),而 sCD14 则均较存活组显著升高(P 均 <0.05)。血清 LBP 水平与 PCT、急性生理学与慢性健康状况评分 I (APACHE I)无显著相关性,与 LPS 呈显著正相关;而 sCD14 与 PCT、APACHE I 评分呈显著正相关,与 LPS 无显著相关性。结论 重症脓毒症患者血清 LBP 和 sCD14 浓度均显著升高,LBP 仅反映机体急性炎症反应,而不能作为判断疾病严重程度及预后的指标;而 sCD14 升高程度可提示预后,在一定程度上反映脓毒症的严重程度。

【关键词】 脓毒症; 脂多糖结合蛋白; 可溶性脂多糖受体 CD14; 前降钙素

Clinical study of serum lipopolysaccharide - binding protein and soluble CD14 in severe sepsis patients

ZHANG Yun-tao*, DING Guo-juan, FANG Qiang. * Intensive Care Unit, The First Affiliated Hospital of Medical College, Zhejiang University, Hangzhou 310003, Zhejiang, China

Corresponding author: FANG Qiang (Email: zhangyutao@zju.edu.cn)

【Abstract】 Objective To investigate the changes in serum lipopolysaccharide binding protein (LBP) and soluble CD14 (sCD14) levels in severe sepsis patients, and their relationship with severity and prognosis of patients. **Methods** Serum concentration of LBP and sCD14 were measured by enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) at different periods after the onset of severe sepsis in 41 patients. Serum concentrations of procalcitonin (PCT) and lipopolysaccharide (LPS) were determined within 24 hours of onset of severe sepsis. The relationship between all the determinations and the clinical picture and prognosis of the patients was analyzed. **Results** Significantly higher than normal serum concentrations of LBP and sCD14 were found in severe sepsis patients (all $P < 0.01$). There was no significant difference in LBP serum levels between non-survivors and survivors (all $P > 0.05$). But sCD14 serum levels were significantly higher in non-survivors (all $P < 0.05$). There was no correlation between serum LBP levels and PCT or acute physiology and chronic health evaluation I (APACHE I) at day 0. Serum LBP level was positively correlated with that of LPS significantly. There was significant positive correlation between serum sCD14 levels and PCT, APACHE I at day 0, but no correlation between sCD14 and LPS. **Conclusion** Significantly elevated serum concentrations of LBP and sCD14 are found in severe sepsis patients. LBP level reflects mainly systemic inflammatory response induced by LPS, and it cannot be used as an indicator of severity of sepsis and prognosis of the patient. In contrast, serum sCD14 level may be used as a prognostic marker in severe sepsis, as it can reflect the severity of sepsis in certain degree.

【Key words】 sepsis; lipopolysaccharide binding protein; soluble lipopolysaccharide receptor CD14; procalcitonin

重症脓毒症至今仍是造成患者发生器官功能障碍甚至死亡的重要原因。近年来的研究表明,脓毒症患者病理生理学的变化与革兰阴性(G^-)菌产生的

内毒素(lipopolysaccharide, LPS)所致感染后反应有关,而脂多糖结合蛋白(lipopolysaccharide binding protein, LBP)及其受体 CD14(LBP/CD14)系统在识别和调整 LPS 方面起关键作用,该系统能明显提高各种细胞对 LPS 的敏感性,LPS 的许多生物学效应可能是通过该系统的增敏作用来实现,因此,其在脓毒症的发病过程中起关键作用^[1]。有报道脓毒症时血清 LBP 和可溶性 CD14(soluble CD14, sCD14)浓度均明显升高,且 sCD14 与疾病严重程度

基金项目:浙江省卫生厅科研基金资助项目(2003B055)

作者单位:310003 杭州,浙江大学医学院附属第一医院 ICU (章云涛,方强);312000 浙江省绍兴市人民医院急诊科(丁国娟)

通讯作者:方强,硕士研究生导师,主任医师 (Email: zhangyutao@zju.edu.cn)

作者简介:章云涛(1971-),女(汉族),浙江人,医学硕士,主治医师 (Email: zhangyutao@zju.edu.cn)。

及预后有一定关系,而 LBP 在脓毒症中的意义则报道不一^[2-4]。为此,我们进行了一项前瞻性临床研究,观察重症脓症患者血清中 LBP 和 sCD14 浓度的动态变化,并分析它们与患者预后、血清 LPS 和前降钙素(procalcitonin, PCT)、急性生理学与慢性健康状况评分 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II) 的关系,以期进一步阐明 LBP 和 sCD14 在脓毒症诊治中的作用。

1 资料与方法

1.1 研究对象: 试验组 41 例为 2003 年 9 月 1 日—2004 年 2 月 29 日入住我院重症监护室(ICU)的重症脓症患者,均符合美国胸科医师学会/危重病医学学会(ACCP/SCCM)于 1992 年提出的诊断标准^[5]。其中男 28 例,女 13 例,年龄 31~81 岁,平均(59.9±16.4)岁。20 名同期门诊健康体检者为正常对照组,其中男 12 名,女 8 名;年龄 29~80 岁,平均(62.9±14.6)岁。两组性别和年龄构成比较差异均无显著性(P 均>0.05),具有可比性。

1.2 研究方法: 试验组于发病(指达到重症脓毒症诊断标准)后的 24 h 内(1 d)、2、3 和 6 d 取桡动脉血 2 ml,离心半径 10 cm,2 000 r/min 离心 20 min,取上层血清,置-20℃冰箱保存待测。同时观察患者意识、体温、呼吸、脉搏等生命体征及血常规、血生化、血气分析等指标的变化,并取可疑标本进行培养。记录患者的 APACHE II 评分^[6]及 28 d 后的转归(死亡或存活)。并在发病后 24 h 内测定血清 PCT 和 LPS 含量。正常对照组用同样方法取血保存。血清 LBP 和 sCD14 均采用酶联免疫吸附法(ELISA)测定,所用试剂盒均系 HyCult 生物公司产品,购自北京晶美生物工程有限公司。LBP 和 sCD14 的测定灵敏度分别为 1 μg/L 和 2 μg/L。血清 PCT 水平检测应用免疫荧光分析法,采用 LUMItest PCT 试剂盒,分析检测灵敏度接近 0.1 μg/L。采用鲎试剂与合成基质(鲎三肽)的偶氮显色法来定量检测样品中微量 G⁻菌中的 LPS。

1.3 统计学方法: 所有数据均进行正态性检验,正

态分布的计量资料以均数±标准差($\bar{x}\pm s$)表示,两组均数比较采用 t 检验;非正态分布的计量资料以中位数(25 百分位数,75 百分位数)表示,采用非参数检验的独立样本检验;相关分析用 Person 相关系数。所有统计学分析均用 SPSS 10.0 For Windows 软件, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 患者病情分析: 41 例患者中肺部感染 28 例,腹膜炎 7 例,胆道感染 4 例,细菌性心内膜炎 1 例,破伤风 1 例。微生物培养阳性 38 例,其中革兰阳性(G⁺)球菌 8 例(金黄色葡萄球菌 4 例,表皮葡萄球菌 1 例,溶血性葡萄球菌 1 例,溶血性链球菌 1 例,肺炎双球菌 1 例),G⁻杆菌 18 例(鲍曼不动杆菌 7 例,大肠埃希菌 5 例,肺炎克雷伯杆菌 3 例,铜绿假单胞菌 2 例,粪产碱杆菌 1 例),真菌 6 例(白色念珠菌 4 例,曲霉 2 例),混合感染 6 例(金黄色葡萄球菌和鲍曼不动杆菌 3 例,金黄色葡萄球菌和白色念珠菌 2 例,金黄色葡萄球菌和嗜麦芽寡养单胞菌 1 例)。28 d 病死率 24.4%(10/41 例);APACHE II 评分 9~38 分,平均(18.8±6.5)分。

2.2 重症脓症患者血清 LBP 和 sCD14 水平的变化(表 1): 实验组发病 24 h 内血清 LBP 和 sCD14 水平即明显升高,2 d 达高峰后逐渐下降,各时间点血清水平均较正常对照组显著升高(P 均<0.01)。

表 1 41 例重症脓症患者血清 LBP 和 sCD14 水平变化($\bar{x}\pm s$)

Table 1 Changes of serum LBP and sCD14 levels in 41 patients with severe sepsis($\bar{x}\pm s$) mg/L

指标	正常对照	发病 1 d	发病 2 d	发病 3 d	发病 6 d
LBP	2.92±2.41	10.23±6.73*	10.6±7.87*	9.46±6.41*	8.67±4.18*
sCD14	1.62±0.47	2.40±1.62*	2.70±1.80*	2.41±1.39*	2.17±1.32*

注:与正常对照比较,* $P<0.01$

2.3 不同预后重症脓症患者血清 LBP 和 sCD14 水平比较(表 2): 死亡组各时间点血清 LBP 水平较存活组略有升高,但差异均无显著性(P 均>0.05);死亡组血清 sCD14 水平则较存活组均有显著升高(P 均<0.05)。

表 2 死亡组和存活组血清 LBP 和 sCD14 水平变化($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Changes of serum LBP and sCD14 in levels in survivors and non-survivors($\bar{x}\pm s$) mg/L

组别	例数 (例)	LBP				sCD14			
		发病 1 d	发病 2 d	发病 3 d	发病 6 d	发病 1 d	发病 2 d	发病 3 d	发病 6 d
死亡组	10	12.62±6.92	11.43±5.80	11.41±6.45	9.97±3.69	3.39±1.41	3.72±1.88	3.32±1.14	3.00±0.90
存活组	31	9.35±6.56	10.39±8.58	8.75±6.35	8.23±4.30	2.04±1.56	2.33±1.65	2.07±1.33	1.90±1.33
t 值		1.393	0.371	1.184	1.139	2.527	2.294	2.776	2.440
P 值		0.172	0.712	0.243	0.262	0.016	0.027	0.008	0.019

2.4 重症脓毒症患者血清 PCT 和 LPS 含量变化: 实验组血清 PCT 含量为 $(13.56 \pm 22.49) \mu\text{g/L}$, 较正常对照值 $(0.5 \mu\text{g/L})$ 明显升高 ($P < 0.01$); 血清 LPS 含量为 $(66.09 \pm 35.60) \mu\text{g/L}$, 较正常对照值 $(40 \mu\text{g/L})$ 亦明显升高 ($P < 0.01$)。

2.5 重症脓毒症患者血清 LBP、sCD14 水平与 PCT、APACHE II 评分、LPS 间的关系: 试验组患者发病 24 h 内血清 LBP 水平与 PCT 无显著相关性 ($r = -0.139, P = 0.547$), 与 APACHE II 评分之间亦无显著相关性 ($r = -0.097, P = 0.545$), 与 LPS 则呈显著的正相关 ($r = 0.507, P = 0.019$); sCD14 与 PCT 呈显著的正相关 ($r = 0.649, P = 0.001$), 且与 APACHE II 评分也呈显著的正相关 ($r = 0.408, P = 0.008$), 与 LPS 则无显著相关性 ($r = -0.007, P = 0.975$)。

2.6 重症脓毒症患者血清 PCT 和 LPS 水平与 APACHE II 评分、病死率的关系: 实验组患者血清 PCT 与 APACHE II 评分呈显著正相关 ($r = 0.643, P = 0.002$), 与病死率亦呈显著正相关 ($r = 0.496, P = 0.001$); LPS 与 APACHE II 评分无显著相关性 ($r = -0.109, P = 0.640$), 与病死率亦无显著相关性 ($r = 0.085, P = 0.713$)。

3 讨论

姚咏明等^[4]研究发现, 不论在动物模型还是在临床患者, 肠源性内毒素经上调的 LBP/CD14 系统介导刺激机体产生细胞因子等炎性介质, 其在创伤后多器官功能损害中发挥了重要作用。

LPS 是由 G⁻ 杆菌细胞壁脂多糖和少量蛋白质组成, 是引起脓毒症的主要触发剂。本研究结果表明: 重症脓毒症患者血清 LPS 浓度显著升高, 但与 APACHE II 评分和病死率无显著相关。可能是因为 LPS 仅在脓毒症发生、发展过程中起介导作用, 因此不能反映疾病严重性, 与文献^[2]报道结果相符。

LBP 属于 I 型急性期反应蛋白, 是一种分子量为 55~60 ku 的糖蛋白, 正常人的血浆浓度约 5~10 mg/L, 而急性炎症反应期则明显升高, 可达 200 mg/L 或更高^[6]。肝脏是合成 LBP 的主要场所, 应激时肝外组织如肠上皮细胞、肺泡上皮细胞等也能合成, 但 LBP 和肝功能无明显相关^[7,8]。LBP 具有“酶”的催化作用, 即可促进 LPS 聚集体形成单体和加速与 CD14 结合, 从而使 LPS 的活性增加数百倍至数千倍, LBP 对于 LPS 发挥毒性效应是必需的。本研究结果显示, 生理情况下血中存在一定水平的 LBP, 在重症脓毒症患者中, 血清 LBP 浓度显著升

高, 其峰值是正常对照的数倍, 这与 LBP 在宿主防御反应中作为急性期反应蛋白的生理作用一致, 有助于诊断脓毒症。Opal 等^[2]报道, 重症脓毒症和脓毒性休克患者血清 LBP 水平明显升高, 且 28 d 存活组水平显著高于死亡组, 提示 LBP 在脓毒症中有一定保护作用。而本研究中未发现在存活组和死亡组间血清 LBP 浓度差异有显著性, 与 Blairon 和 Prucha 等^[7,8]报道的结果一致, 并且 LBP 与 PCT、APACHE II 评分间无显著相关, 提示 LBP 仅反映机体急性炎症反应, 而不能作为疾病严重程度及预后的指标。这可能与 LBP 具有浓度依赖性的双重作用(低浓度 LBP 促进 LPS 诱导激活单核/巨噬细胞, 而高浓度 LBP 将抑制 LPS 诱导的细胞反应)^[9], 在脓毒症不同阶段显示不同的作用有关。在不同阶段究竟哪种作用占优势尚需进一步探索。本研究中还发现, LBP 与 LPS 呈显著正相关, 提示 LPS 可能是促进 LBP 合成、释放的重要因素之一。

CD14 是存在于单核/巨噬细胞表面的白细胞分化抗原, 为体内介导脂多糖生物效应的重要受体, 包括单核细胞表面 CD14(mCD14)和 sCD14 两种结构形式。在 LBP 存在时, CD14 以 LPS-LBP-CD14 三联体形式来介导低剂量 LPS 诱导细胞活化, 释放白细胞介素-1(IL-1)、IL-6、肿瘤坏死因子- α (TNF- α)等多种细胞因子^[10]。sCD14 是调控非髓样细胞的重要介质, 与 LPS 结合后可作用于 CD14⁻ 细胞^[11] 如内皮细胞、上皮细胞等相应部位, 激活细胞产生细胞因子。Gluck 等^[3]报道, 脓毒症患者血浆中 sCD14 水平明显升高, mCD14 水平明显下降, 且这种变化与疾病的严重程度及预后相关。而林洪远等^[12]研究发现, 用 CD14⁺ 单核细胞人白细胞 DR 抗原可判断脓毒症免疫抑制状况并指导免疫刺激治疗, 表明 CD14 在脓毒症中的作用。本研究表明, 重症脓毒症患者血清 sCD14 水平显著升高, 且死亡组显著高于存活组, 说明 sCD14 对预测脓毒症患者死亡具有一定的临床价值。Landmann 等^[13]证实, 脓毒性休克中, 升高的 sCD14 起到激活 LPS 的作用, 即 sCD14 介导 LPS 激活内皮细胞等 CD14⁻ 细胞产生炎性介质, 而无中和 LPS 的作用。可以认为, sCD14 在脓毒症中起致病作用, 而无保护作用。

PCT 是无激素活性的降钙素前肽物质, 在脓毒症和感染的患者血浆中被发现明显升高, 其升高程度反映脓毒症的严重程度及预后^[14]。2001 年国际脓毒症会议的脓毒症诊断标准已把 PCT 作为诊断指标之一^[15,16]。本研究中重症脓毒症患者血清 PCT 水

平显著升高,且与 APACHE II 和患者病死率呈显著正相关。APACHE II 是一个传统的反映疾病严重程度的指标,与疾病严重程度呈正相关^[6]。本研究中 sCD14 和 PCT、APACHE II 均呈显著正相关,进一步提示 sCD14 可能有助于诊断脓毒症,升高程度可反映脓毒症的严重程度及预后。

综上所述:本研究结果表明,血清 LBP 和 sCD14 浓度在重症脓毒症患者中显著升高,发病 2 d 达高峰后逐渐下降。LPS 可能是刺激体内 LBP 合成、释放的重要因素之一,LBP 可反映机体急性炎症反应,有助于诊断脓毒症,但不能作为疾病严重程度及预后的指标;而 sCD14 升高程度对预测脓毒症患者病死率具有一定临床价值,能在一定程度上反映脓毒症的严重程度和预后。免疫调节治疗^[12]及祖国医药作为辅助手段^[17]在改善脓毒症患者预后方面取得了一定的经验,这也是我们今后研究的主要方向。

参考文献:

- 1 姚咏明,盛志勇. 脓毒症研究的若干新动向[J]. 中国危重病急救医学,2000,12:323-325.
- 2 Opal S M, Scannon P J, Vincent J L, et al. Relationship between plasma levels of lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein in patients with severe sepsis or septic shock[J]. J Infect Dis, 1999, 180:1584-1589.
- 3 Gluck T, Silver J, Epstein M, et al. Parameters influencing membrane CD14 expression and soluble CD14 levels in sepsis[J]. Eur J Med Res, 2001, 6:351-358.
- 4 姚咏明,于燕,方文慧,等. 创伤后内毒素增敏效应在多器官损害中的作用[J]. 中国危重病急救医学,1998,10:712-718.
- 5 ACCP/SCCM Consensus Conference. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis[J]. Chest, 1992, 101:1644-1655.
- 6 Knaus W A, Draper E A, Wagner D P, et al. APACHE II:

a severity of disease classification system [J]. Crit Care Med, 1985, 13:818-829.

- 7 Blairon L, Wittebole X, Lattre P F. Lipopolysaccharide-binding protein serum levels in patients with severe sepsis due to Gram-positive and fungal infections [J]. J Infect Dis, 2003, 187:287-291.
- 8 Prucha M, Herold I, Zazula R, et al. Significance of lipopolysaccharide-binding protein (an acute phase protein) in monitoring critically ill patients [J]. Critical Care, 2003, 7:R154-R159.
- 9 Zweigner J, Gramm H J, Singer O C, et al. High concentrations of lipopolysaccharide binding protein in serum of patients with severe sepsis or septic shock inhibit the lipopolysaccharide response in human monocytes [J]. Blood, 2001, 98:3800-3808.
- 10 Heumann D, Roger T. Initial responses to endotoxins and Gram-negative bacteria [J]. Clin Chim Acta, 2002, 323:59-72.
- 11 Tapping R I, Tobias P S. Cellular binding of soluble CD14 requires lipopolysaccharide (LPS) and LPS-binding protein [J]. J Biol Chem, 1997, 272:57-64.
- 12 林洪远,郭旭生,姚咏明,等. CD14⁺单核细胞人类白细胞抗原-DR 预测脓毒症预后及指导免疫调理治疗的初步临床研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2003, 15:135-138.
- 13 Landmann R, Reber A M, Sansano S, et al. Function of soluble CD14 in serum from patients with septic shock [J]. J Infect Dis, 1995, 173:661-668.
- 14 Guven H, Altintop L, Baydin A, et al. Diagnostic value procalcitonin levels as an early indicator of sepsis [J]. Am J Emerg Med, 2002, 20:202-206.
- 15 Levy M M, Fink M P, Marshall J C, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS international sepsis definitions conference [J]. Crit Care Med, 2003, 31:1250-1256.
- 16 姚咏明,盛志勇,林洪远,等. 脓毒症定义及诊断的新认识 [J]. 中国危重病急救医学, 2004, 16:321-324.
- 17 谢晓华,姚睿智,陈铭,等. 中西医结合治疗急腹症并发脓毒症 38 例 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2002, 9:342-343.

(收稿日期:2005-11-03 修回日期:2006-01-12)
(本文编辑:李银平)

• 消息 •

第 13 届中国科技论文统计结果

2004 年百种中国杰出学术期刊

2005 年 12 月 6 日,科技部中国科技信息研究所在北京国际会议中心公布了 2004 年度中国科技论文统计与分析结果(STPCD2004 年统计)。根据中国科学技术期刊综合评价指标体系,采用分层分析法,由专家打分确定了重要指标的权重,对各学科的每种期刊进行了综合评定,评选出了 2004 年百种中国杰出学术期刊,其中,医药卫生类期刊有 22 种,分别为:

刊名	刊名	刊名	刊名
WORLD JOURNAL OF GASTROENTEROLOGY	中华耳鼻咽喉科杂志	中华放射学杂志	中华医学杂志
北京大学学报医学报	中华医院感染学杂志	中华病理学杂志	中华肿瘤杂志
中国危重病急救医学	中华检验医学杂志	中华外科杂志	中华护理杂志
中国中西医结合杂志	中华口腔医学杂志	中华儿科杂志	中国药理学报
中华结核和呼吸杂志	中华流行病学杂志	中华骨科杂志	中草药
	中华神经科杂志	中华内科杂志	