

单核细胞人白细胞 DR 抗原表达的意义及与脓毒症的关系

宁辰飞(综述) 任延波(审校)

【关键词】 人白细胞 DR 抗原; 脓毒症; CD14

在脓毒症发展过程中,不仅存在促炎/抗炎反应导致的非特异性免疫功能亢进,还存在着特异性免疫功能抑制,此结果可导致感染易感性增加,加速脓毒症患者死亡,因此,正确评价患者的免疫状态对脓毒症的治疗有重要意义。

人白细胞 DR 抗原(HLA-DR)是单核/巨噬细胞呈递外来抗原最重要的分子,在活化特异性 T 淋巴细胞进行免疫应答过程中具有关键作用。Volk 等^[1]研究证实 HLA-DR 表达能够反映患者的免疫状态。多器官功能障碍综合征(MODS)是严重感染、脓毒症、创伤后的危重并发症之一,目前仍缺乏早期诊断手段^[2],在严重感染情况下,机体炎症介质大量释放,单核细胞 HLA-DR 表达减少,正常免疫应答受到抑制^[3],从而造成细胞损伤。因此,通过检测单核细胞 HLA-DR 表达的动态变化,了解患者免疫状态,可能对 MODS 作出早期诊断。目前国内外报告的单核细胞 HLA-DR 文献较少,而研究已显示针对脓毒症中监测 HLA-DR 表达指导免疫治疗具有良好的前景,故对 HLA-DR 的分类、表达及与脓毒症的关系进行综述。

1 HLA-DR 的免疫学分类及检测方法

1.1 HLA-DR 的分类:HLA 为 I 类和 II 类基因的表达产物,II 类分子由 α 链和 β 链组成,仅表达于淋巴样组织中的各种细胞表面,识别和呈递外源性抗原肽,与辅助受体 CD4 结合,对辅助性 T 细胞(Th)的识别起限制作用。HLA-DR 属于经典的主要组织相容性复合物(MHC) II 类基因,HLA-DR 基因家族包括 1 个 DR A 和 2~5 个 DR B 基因座。DR B 基因包括 DR B1~DR B5,其中 DR B2 为假基因。HLA-DR 是表达水平最高的 MHC II,在淋巴细胞抗原呈递和免疫应答启动过程中,MHC II 具有至关

重要的作用。

1.2 HLA-DR 检测方法:目前国内外多采用抗体标记免疫荧光法,用流式细胞仪测定 CD14⁺单核细胞 HLA-DR 表达率。取静脉血,乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝,加入异硫氰酸荧光素(FITC)标记的小鼠抗人 CD14 抗体和藻红蛋白(PE)标记的小鼠抗人 HLA-DR 抗体,混匀,室温下避光孵育 15 min,避光储存待测。检测前用流式细胞仪标准液校准流式细胞仪,使变异系数(CV 值)在 2% 以内。检测时每管收集 1×10^5 个细胞,分别记录有核细胞中 CD14⁺细胞 HLA-DR 表达阳性率,或检测标本荧光强度,用平均荧光道数(mcf)表示。

2 HLA-DR 表达与脓毒症的关系

2.1 脓毒症最新诊断标准^[4]:已确定感染或高度怀疑感染,具有下述情况:①发热,体温 $>38.3 \text{ }^\circ\text{C}$ 或 $<36 \text{ }^\circ\text{C}$;②心率 >90 次/min 或高于年龄组正常值 2 个标准差;③呼吸急促;④意识改变;⑤明显的水肿或液体正平衡;⑥高糖血症 ($>7 \text{ mmol/L}$,无糖尿病病史);⑦炎症参数:白细胞计数(WBC) $>12 \times 10^9/\text{L}$ 或 $<40 \times 10^9/\text{L}$,WBC 正常但有 $>10\%$ 不成熟 WBC,血浆 C-反应蛋白 $>$ 正常参考值 2 个标准差,前降钙素 $>$ 正常参考值 2 个标准差;⑧血流动力学参数:低血压 [收缩压(SBP) $<90 \text{ mm Hg}$ ($1 \text{ mm Hg} = 0.133 \text{ kPa}$)、平均动脉压(MAP) $<70 \text{ mm Hg}$,或成人 SBP 下降幅度 $>40 \text{ mm Hg}$,或小于年龄组正常参考值 2 个标准差];心脏指数 $>3.5 \text{ L} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$;⑨器官功能不全指标:动脉血氧含量过低,氧合指数($\text{PaO}_2/\text{FiO}_2$) $<300 \text{ mm Hg}$,急性少尿(尿量 $<0.5 \text{ ml} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$),血肌酐增高 $>44.2 \text{ } \mu\text{mol/L}$,凝血功能异常 [国际标准化比值(INR) >1.5 或活化部分凝血活酶时间(APTT) $>60 \text{ s}$],肠梗阻(无肠鸣音),血小板计数减少 $<100 \times 10^9/\text{L}$,高胆红素血症(血浆总胆红素 $>70 \text{ } \mu\text{mol/L}$);⑩组织灌注参数:高乳

酸血症;⑪毛细血管充盈减慢或皮肤出现白斑纹。

2.2 脓毒症的免疫状态:脓毒症表现为两个阶段,第一阶段主要为前炎因子的表达,对有效的炎症反应来说,前炎因子是必需的,但过量表达可导致器官功能不全,增加病死率;第二阶段,抗炎因子释放、中和和正在进行的炎症反应^[5]。早期人们认为全身炎症反应综合征(SIRS)是脓毒症发生发展的中心环节,因此将注意力集中在促炎因子上。但大规模的抗炎治疗并未取得预期的结果,更无法解释同时发生的免疫功能紊乱。就此,1996 年 Bone 等^[6]针对感染或创伤时机体免疫功能产生的内源性抗炎反应,提出了代偿性抗炎反应综合征(CARS)的假说,并认为 CARS 是 SIRS 发生发展中的一个时期。指出在机体释放促炎介质的同时还释放大量的抗炎介质(综合表现为非特异性免疫功能亢进),CARS 抗炎反应的对抗作用有助于防止 SIRS 引起促炎反应造成的损伤。当抗炎介质释放过量时,可引起继发性特异性免疫抑制,使机体对感染的易感性增加,结果可能从另一方面诱发或加重 MODS 的器官损害。因此,CARS 假说认为脓毒症可以存在截然不同的免疫状态。

单核细胞作为机体重要的免疫细胞之一,参与其中每个过程,有着不可或缺的作用,其功能变化在一定程度上反映机体的免疫功能状态。有学者认为,在初期炎症反应之后发生的抗炎反应的本质,是单核细胞失活所致的免疫功能不全,德国学者 Volk 等^[7]称之为免疫麻痹。CD14⁺单核细胞 HLA-DR 是单核/巨噬细胞表面的抗原表达,其功能是把经单核/巨噬细胞吞噬并处理后的抗原呈递给 Th,继而激活包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和吞噬细胞在内的所有免疫细胞,足够的 HLA-DR 表达对于特异性免疫和非特异性免疫功能都十分重要。

2.3 脓毒症中 HLA-DR 表达的意义:1996 年 Volk 等^[1]提出 CD14⁺单核细胞 HLA-DR 水平是识别脓毒症患者免疫

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.08.023

作者单位:116011 辽宁大连,大连医科大学附属第一医院急诊科

状态的重要指标,在器官移植合并脓毒症患者中,CD14⁺单核细胞 HLA-DR > 30%者的生存率为 100%; < 30%但能被免疫刺激治疗迅速逆转者的生存率为 90%; < 30%且不被免疫刺激治疗逆转者的生存率仅为 8%。在腹部外科患者中,术后 HLA-DR > 30%或术后短期内单核细胞 HLA-DR < 30%者的生存率为 88%,但 < 30%持续超过 5 d 者的生存率则降至 12%。因此,以 HLA-DR < 30%作为阈值诊断免疫抑制和预测预后被认为是可靠和有价值的,以 HLA-DR 表达水平 < 30%作为阈值,可筛选出免疫抑制的患者,且与不良预后有密切关系。Hynninen 等^[8]也认为 CD14⁺单核细胞 HLA-DR 水平与脓毒症预后密切相关。Lekkou 等^[9]指出,CD14⁺单核细胞 HLA-DR 不仅是入院时脓毒症早期预后指标,也是动态评价的指标。

关于免疫抑制发生时间,Heidecke 等^[10]研究认为,术后脓毒症患者发病时就存在明显的免疫抑制,而不是继发的,这种免疫抑制与 T 细胞功能障碍有关。Weighardt 等^[11]的研究同样证实,术后患者发生脓毒症时即可出现免疫抑制,该原发性免疫抑制状态与单核细胞功能缺陷有关。国内的一些研究同样也证实了 Volk 等的发现,林洪远等^[12]的研究指出,22 例未经胸腺 5 肽治疗且单核细胞 HLA-DR > 30%的脓毒症患者全部存活;而 HLA-DR < 30%的 20 例患者经免疫治疗后有 15 例存活,5 例死亡。苏磊等^[13]的研究显示,脓毒症患者入重症监护病房(ICU)时单核细胞 HLA-DR 表达 < 30%者占 16.67%(6/36),患者全部死亡;HLA-DR 表达 < 40%者占 27.78%(10/36),病死率 80%(8/10)。

综上,CD14⁺单核细胞 HLA-DR 表达水平是临床上判定脓毒症患者是否合并免疫抑制的有意义指标,认为 CD14⁺单核细胞 HLA-DR 表达 < 30%是判断脓毒症患者预后的重要指标。

3 HLA-DR 表达与 MODS 的关系

MODS 是脓毒症的严重并发症之一,病死率高,但具有可逆性,对其进行临床研究具有重要意义。目前缺乏统一的 MODS 诊断标准、病情严重程度评分及预后评估系统,此外,关于 MODS 诊断治疗的现状未见有关报道。单核细胞 HLA-DR 作为反映机体免疫状态的指标,在 MODS 中的作用日益受到重视。

最近研究表明,观察单核细胞 HLA-DR 表达的动态变化,对 MODS 做出早期诊断、早期治疗具有重要的意义^[12]。

3.1 MODS 单核细胞表面 HLA-DR 表达变化:正常情况下,外源性蛋白质抗原刺激时,在单核/巨噬细胞等抗原呈递细胞内与 MHC I 分子结合成 MHC 多肽复合物,然后转送到抗原呈递细胞的表面并呈递 MHC I 限制性 CD4 T 淋巴细胞表面的抗原受体,引起 CD4 T 淋巴细胞活化,一方面发挥诱导和增强免疫应答作用,另一方面具有免疫抑制作用,调节免疫应答过程。如果 HLA-DR 表达减少,则抗原呈递作用受阻,机体就不能产生有效的免疫应答,其直接后果是机体不能有效清除病原体以及机体内炎症介质得不到有效的控制,必将导致 MODS 的发生^[14]。

3.2 HLA-DR 表达在 MODS 中的临床意义:Hershman 等^[3]研究指出,在大手术或严重创伤后,患者单核细胞表面 HLA-DR 表达均会有所降低,下降的幅度与脓毒症的发生和预后有一定的相关性。如果不发生脓毒症,HLA-DR 会持续回升,并于发病第 3 日左右恢复到正常水平。国内刘懿禾等^[15]的研究显示,在 MODS 发病早期,患者的临床症状尚未完全表现出来时,外周血单核细胞表面 HLA-DR 表达水平明显降低,说明 MODS 发生与患者免疫应答受抑制有关,并可以此作为 MODS 早期诊断指标之一,有助于对 MODS 进行更有效的早期治疗,提高患者生存率。观察单核细胞 HLA-DR 表达的动态变化,还有助于对 MODS 病情严重程度及预后的判断。

4 小结

脓毒症是感染引起的 SIRS,进一步发展可导致严重脓毒症、脓毒性休克及 MODS,其病死率高达 30%~50%。早期预测脓毒症的发生发展,早期干预,是降低脓毒症发生率及病死率的关键。

CD14⁺单核细胞 HLA-DR 表达持续低下的患者处于免疫抑制状态,病死率高。脓毒症患者及其预后最重要的危险因素是免疫抑制,单核细胞 HLA-DR 水平 < 30%作为阈值诊断免疫抑制和预测预后是临床上判定脓毒症患者是否合并免疫抑制有意义的指标,可用于判断脓毒症患者病情的严重程度,并对评估预后具有重要的价值。通过早期检测

HLA-DR 表达水平能够判断患者免疫状态,指导进一步治疗,并可以此作为 MODS 早期诊断指标之一。

参考文献

- [1] Volk HD, Reinke P, Krausch D, et al. Monocyte deactivation: rationale for a new therapeutic strategy in sepsis. *Intensive Care Med*, 1996, 22 (Suppl 4):S474-481.
- [2] 王今达. 90 年代多脏器综合征: SIRS 与 MODS. *中国危重病急救医学*, 1995, 7(6):324-328.
- [3] Hershman MJ, Cheadle WG, Wellhausen SR, et al. Monocyte HLA-DR antigen expression characterizes clinical outcome in the trauma patient. *Br J Surg*, 1990, 77(2):204-207.
- [4] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med*, 2003, 31(4):1250-1256.
- [5] Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan M, et al. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome (SIRS): a prospective study. *JAMA*, 1999, 273(2):117-123.
- [6] Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARs. *Crit Care Med*, 1996, 24(17):1225-1128.
- [7] Volk HD, Thieme M, Heym S, et al. Alterations in function and phenotype of monocytes from patients with septic disease-predictive value and new therapeutic strategies. *Behring Inst Mitt*, 1991(88):208-215.
- [8] Hynninen M, Pettilä V, Takkinen O, et al. Predictive value of monocyte histocompatibility leukocyte antigen-DR expression and plasma interleukin-4 and -10 levels in critically ill patients with sepsis. *Shock*, 2003, 20(1):1-4.
- [9] Lekkou A, Karakantza M, Mouzaki A, et al. Cytokine production and monocyte HLA-DR expression as predictors of outcome for patients with community-acquired severe infections. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004, 11(1):161-167.
- [10] Heidecke CD, Hensler T, Weighardt H, et al. Selective defects of T lymphocyte function in patients with lethal intraabdominal infection. *Am J Surg*, 1999, 178(4):288-292.
- [11] Weighardt H, Heidecke CD, Emmanuilidis K, et al. Sepsis after major visceral surgery is associated with sustained

and interferon- γ resistant defects of monocyte cytokine production. *Surgery*, 2000, 127(3): 309-315.

[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. *中国危重病急救医学*, 2003, 15

(3): 135-138.

[13] 苏磊, 周殿元, 唐袖青, 等. CD14⁺单核细胞人白细胞 DR 抗原在脓毒症早期检测中的临床意义. *中国危重病急救医学*, 2006, 18(11): 677-679.

[14] 贺石林. 多器官衰竭的发病机制. *中国危重病急救医学*, 1995, 7(6): 333-334.

[15] 刘懿禾, 崔克亮, 曹书华. 单核细胞 HLA-DR 抗原表达在 MODS 早期诊断中的意义. *中国危重病急救医学*, 2001, 13(9): 539-541.

(收稿日期: 2008-10-13
修回日期: 2009-03-10
[本文编辑: 李银平])

• 经验交流 •

血浆置换治疗血栓性血小板减少性紫癜 13 例

蔡奕峰 滕镛 施文喻 秦燕 尤学芬 徐瑞容

【关键词】 紫癜, 血栓性血小板减少性; 血浆置换

以血浆置换(PE)为主治疗 13 例血栓性血小板减少性紫癜(TTP)患者取得了良好的疗效, 报告如下。

1 临床资料

1.1 一般资料: 13 例 TTP 患者中男 8 例, 女 5 例; 年龄 26~73 岁, 中位年龄 56 岁。均为急性起病, 表现为发热、紫癜、黄疸、贫血、出血、意识障碍及肾功能损害, 均有间接胆红素(IBIL)和网织红细胞计数增加, 可见到破碎红细胞。部分实验室检查见表 1。

1.2 治疗方法: 确诊后即给予 PE 和糖皮质激素治疗。开始的置换液为 20 g 白蛋白加 1 000 ml 生理盐水, 后改用新鲜冰冻血浆每次 40~60 ml/kg, 每日置换 1 次, 直至患者意识转清, 血小板计数(PLT)升至 $50.0 \times 10^9/L$ 以上或乳酸脱氢酶(LDH)小于 400 U/L。置换过程中监护患者心电、血压、血氧饱和度。置换结束后将葡萄糖酸钙 20 ml 加到葡萄糖注射液缓慢静脉推注, 防治低钙抽搐。

1.3 观察指标: 测定置换前后血红蛋白(Hb)、PLT、网织红细胞计数、破碎红细胞、LDH 和 IBil。

1.4 统计学方法: 计量资料以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

1.5 结果: 2 例患者死亡, 1 例患者自动出院, 存活的 10 例患者经过 1~13 次不等的 PE 最终痊愈出院。表 1 结果显示, 10 例治愈患者 PE 后 Hb、PLT 较置换前明显升高, 网织红细胞计数、LDH、

表 1 10 例治愈患者 PE 前后相关指标比较($\bar{x} \pm s$)

| 时间 | Hb(g/L) | 网织红细胞计数 | PLT($\times 10^9/L$) | LDH(U/L) | IBil($\mu\text{mol/L}$) |
|-----|-------------------------|--------------------------|--------------------------|-------------------------|---------------------------|
| 置换前 | 58.8±11.3 | 0.100±0.055 | 14.3±12.4 | 831.2±485.8 | 80.9±43.3 |
| 置换后 | 103.1±12.8 ^a | 0.020±0.012 ^a | 207.1±127.4 ^a | 187.8±46.9 ^a | 16.7±11.8 ^a |

注: 与置换前比较, ^a $P < 0.05$

IBIL 较置换前明显下降(P 均 < 0.05)。

2 讨论

TTP 虽然发病率低, 但发病急, 进展迅速, 其诊断主要依赖临床症状、体征, 结合病史并除外其他血栓性微血管病, 尚无金标准, 但以进行性血小板减少和微血管病性溶血性贫血最普遍, 其次表现为神经精神异常、肾损害、发热。目前认为部分病例有特定病因, 可能与感染、恶性肿瘤、免疫性疾病、化疗等引起的广泛性血管内皮损伤、血小板活化以及存在抗血管性血友病因子(vWF)释放增加, 血小板大量聚集致微血管血栓形成和严重的血小板减少有关。以前 TTP 的治疗主要有抗血小板聚集、糖皮质激素抑制免疫和血浆输注等, 但治疗效果差。现以 PE 为首选治疗方法, 可使 TTP 患者的生存率提高。

PE 的作用机制有: ①清除内皮细胞释放异常的 vWF 大分子多聚体; ②清除体内 ADAMTS13 的自身抗体; ③补充 vWF 的裂解酶 ADAMTS13, 恢复血液循环内 vWF 正常的降解; ④补充血浆中的前列环素; ⑤清除血浆中的异常抗体; ⑥清除损害内皮细胞和激活血小板的各种细胞因子; ⑦去除血液中肿瘤坏死因子(TNF)、白细胞介素-6(IL-6)、IL-8 等炎症介质对预防多器官功能障碍综合征

(MODS) 的发生有一定作用^[1-2]。

及时诊断和 PE 治疗是影响预后的重要因素, 也是治疗 TTP 成功率较高的关键。本研究中还发现, 血清 LDH 和 IBil 与病情严重程度及治疗效果有关。有 2 例患者在 1 年内复发, 经再次 PE 后持续缓解至今。有报道认为利妥昔单抗有一定的治疗作用, 主要用于难治复发性病例的治疗^[3-4], 值得进一步研究。

参考文献

- [1] 卢勇, 蔡伟毅, 苏磊, 等. 血浆置换在急性肝功能障碍中的临床应用研究——单一脏器功能障碍与 MODS 的比较. *中国危重病急救医学*, 2007, 19(7): 431-432.
- [2] Iwai H, Nagaki M, Naito T, et al. Removal of endotoxin and cytokines by plasma exchange in patients with acute hepatic failure. *Crit Care Med*, 1998, 26(5): 873-876.
- [3] Rock G. The management of thrombotic thrombocytopenic purpura in 2005. *Semi Thromb Hemost*, 2005, 31(6): 709-716.
- [4] Yomtavian R, Niklinski W, Silver B, et al. Rituximab for chronic recurring thrombotic thrombocytopenic purpura: a case report and review of the literature. *Br J Haematol*, 2004, 124(6): 787-795.

(收稿日期: 2009-07-15
[本文编辑: 李银平])

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.08.024

作者单位: 226001 江苏南通, 南通大学附属医院血液内科
通信作者: 滕镛