

• 研究报告 •

乌司他丁对严重脓毒症患者外周血单核细胞 Toll 样受体 4 表达的影响

刘英 徐陶 雷贤英

【摘要】 目的 观察乌司他丁(UTI)对严重脓毒症患者外周血单核细胞 Toll 样受体 4(TLR4)表达的影响,从而进一步了解 UTI 抑制炎症反应的作用机制。方法 70 例严重脓毒症患者随机分为对照组(30 例)和 UTI 组(40 例),UTI 组在对照组常规治疗基础上加用 UTI(质量分数 5%葡萄糖 250 ml+UTI 600 kU)静脉滴注,每日 2 次,连用 3 d。分别在治疗前及治疗后 1、2、3 d 采集动脉血,用流式细胞仪检测 TLR4 表达,用酶联免疫吸附法(ELISA)检测血浆肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)浓度。结果 两组治疗后单核细胞表面 TLR4 表达及血浆 TNF- α 、IL-6 浓度均较治疗前显著增加(P 均 <0.05);UTI 组各指标值均较对照组上升幅度低(P 均 <0.05)。结论 UTI 可有效抑制单核细胞表面 TLR4 表达,抑制炎症因子释放,对严重脓毒症患者有一定的保护作用。

【关键词】 乌司他丁; 脓毒症; Toll 样受体 4

脂多糖(LPS)是革兰阴性(G^-)菌致脓毒症过程中最重要的介质,可引发全身炎症反应综合征(SIRS),进而引起多器官功能障碍综合征(MODS),这其中与 LPS 和 Toll 样受体 4(TLR4)的结合激活从而导致炎症因子的大量产生密切相关。TLR4 是 LPS 的跨膜受体,是炎症信号传递的门户蛋白,在免疫防御反应中起着十分重要的作用^[1]。TLR4 的大部分配体与脓毒症发病密切相关^[2]。乌司他丁(UTI)不仅对炎症反应过程中造成组织、细胞损伤的毒性介质有拮抗作用,同时还还可促进特异性免疫功能恢复,从而对机体器官起到保护作用^[3]。本研究旨在观察 UTI 对严重脓毒症患者外周血单核细胞 TLR4 表达的影响,从而进一步了解 UTI 抑制炎症反应的作用机制。

1 资料与方法

1.1 一般资料:选择符合 2001 年危重病医学会/欧洲危重病医学会/美国胸科医师协会/美国胸科学会/外科感染学会关于国际脓毒症定义会议制定的严重脓毒症诊断标准^[4]的 70 例患者。原发病:严重肺部感染 33 例,坏死性胰腺炎 15 例,腹膜炎 22 例,脑出血 3 例。

1.2 分组及治疗:按随机原则将患者分为对照组(30 例)和 UTI 组(40 例)。两组均常规给予抗感染、对症及重要脏器

表 1 两组患者血浆 TNF- α 、IL-6 浓度及外周血单核细胞表面 TLR4 表达($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	血浆 TNF- α (ng/L)			
		治疗前	治疗后 1 d	治疗后 2 d	治疗后 3 d
对照组	30	224.6 \pm 20.1	620.5 \pm 23.8 ^a	456.2 \pm 18.6 ^a	398.6 \pm 17.7 ^a
UTI 组	40	215.6 \pm 15.3	420.6 \pm 21.0 ^{ab}	346.7 \pm 15.8 ^{ab}	298.1 \pm 17.6 ^{ab}

组别	例数	血浆 IL-6(ng/L)			
		治疗前	治疗后 1 d	治疗后 2 d	治疗后 3 d
对照组	30	130.5 \pm 11.8	350.3 \pm 12.9 ^a	280.9 \pm 11.1 ^a	160.5 \pm 13.8
UTI 组	40	135.0 \pm 12.9	250.6 \pm 13.7 ^{ab}	200.4 \pm 10.8 ^{ab}	145.6 \pm 14.0

组别	例数	外周血单核细胞表面 TLR4(%)			
		治疗前	治疗后 1 d	治疗后 2 d	治疗后 3 d
对照组	30	25.1 \pm 5.9	52.6 \pm 7.3 ^a	60.3 \pm 8.2 ^a	29.6 \pm 6.8
UTI 组	40	24.3 \pm 5.6	35.1 \pm 6.0 ^{ab}	38.6 \pm 6.4 ^{ab}	27.3 \pm 5.3

注:与本组治疗前比较,^a $P<0.05$;与对照组同期比较,^b $P<0.05$

功能的支持治疗,根据病情需要使用呼吸机。UTI 组在此基础上加用 UTI(质量分数 5%的葡萄糖 250 ml+UTI 600 kU)静脉滴注,每日 2 次,共 3 d。

1.3 标本采集与处理:分别于治疗前和治疗后 1、2、3 d 采集动脉血,肝素抗凝,离心分离血浆,-70℃保存备用。用直接免疫荧光标记单核细胞表面 CD14 和 TLR4;用流式细胞仪检测 TLR4 表达变化;用酶联免疫吸附法(ELISA)测定血浆肿瘤坏死因子- α (TNF- α)和白细胞介素-6(IL-6)浓度。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 14.0 统计软件,计量资料以均数 \pm 标准差($\bar{x}\pm s$)表示,采用 t 检验、单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血浆 TNF- α 、IL-6 浓度(表 1):两组治疗后血浆 TNF- α 、IL-6 均显著增高

(P 均 <0.05);UTI 组治疗后各时间点 TNF- α 及治疗后 1 d、2 d IL-6 浓度均显著低于对照组(P 均 <0.05)。

2.2 外周血单核细胞表面 TLR4 的表达(表 1):两组治疗后 TLR4 表达显著高于治疗前(P 均 <0.05),UTI 组治疗后 1 d、2 d TLR4 表达显著低于对照组(P 均 <0.05)。

3 讨论

TLR4 属模式识别受体,通过细胞外富含亮氨酸的重复结构识别来自 G^- 菌细胞壁的 LPS 并与之结合,在 LPS 跨膜信号转导中起重要作用。TLR4 信号通路可引发核转录因子- κ B(NF- κ B)和其他转录因子的表达,从而诱导炎症细胞因子、趋化因子的产生,引起系统炎症反应,导致器官功能障碍^[5-6]。脓毒症患者由于细菌 LPS 与 TLR4 结合导致单核/巨噬细胞激活,释放炎症细胞因子,

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2009.09.015
作者单位:646000 四川,泸州医学院附属医院急诊科
Email:ccipop002@sina.com

如 TNF- α 、IL-6、IL-8 等,这些细胞因子激活内皮细胞,增加黏附分子表达,促进内皮细胞与活化中性粒细胞的黏附及产生氧自由基,造成组织器官损害。有研究表明,可通过降低内毒素对 TLR4 的刺激,抑制 NF- κ B p65 活化,下调 TNF- α 、IL-1 β 等促炎细胞因子的释放,从而减少组织损伤^[7]。

UTI 是一种广谱的蛋白水解酶抑制剂,具有抗炎、减少细胞与组织损伤、改善微循环与组织灌注等作用,最早被用于临床治疗重症急性胰腺炎(SAP),近年来又被广泛用于体外循环、急性肺损伤等治疗,均取得了良好疗效^[8]。UTI 可能是在始动环节上遏制了脓毒症的病理生理过程^[9]。UTI 对中性粒细胞蛋白酶具有较强的抑制作用,还能抑制白细胞释放炎症介质。UTI 可能是通过阻断蛋白酶所介导的中性粒细胞聚集,从而减轻炎症介质与氧自由基的释放,有效制约酶、细胞因子、氧自由基级联反应所形成的恶性循环和放大效应^[10]。也有研究显示 UTI 通过抑制单核细胞内蛋白激酶 C(PKC)及 NF- κ B 信号转导通路来直接抑制 TNF- α 的翻译和分泌^[11]。UTI 用于治疗严重感染、严重多发伤、SAP 等危重症患者具有器官功能保护作用,可降低这类患者 MODS 的发生率和病死率^[12]。UTI 治疗脓毒症时效果明显且无毒性^[13],但 UTI 治疗脓毒症是否可通过抑制 TLR4 表达来抑制炎症因子的释放还未见报道。

本研究结果显示,严重脓毒症患者在治疗后不同时间点外周血单核细胞表面 TLR4 表达均显著增高,但 UTI 组在治疗后 1 d、2 d TLR4 表达均明显低于对照组,在治疗后 3 d 仍然略低于对照组,说明严重脓毒症患者运用 UTI 治疗

可有效抑制单核细胞表面 TLR4 的表达。本研究中还发现 TNF- α 、IL-6 的变化趋势和 TLR4 表达变化基本一致,UTI 组在治疗后 1 d、2 d 血浆 TNF- α 、IL-6 浓度明显低于对照组,一方面证实了 TNF- α 、IL-6 是 TLR4 的下游炎症因子;另一方面说明了 UTI 抑制炎症反应的作用很可能是通过抑制单核细胞表面 TLR4 表达来实现的。UTI 通过抑制单核细胞表面 TLR4 表达来抑制 TNF- α 、IL-6 等炎症介质的释放,减轻了炎症因子对脓毒症患者器官功能的损害,对脓毒症患者的康复起到了积极的作用。

总之,UTI 对严重脓毒症患者的保护作用有可能通过抑制或水解单核细胞表面 TLR4 表达从而抑制炎症因子的释放而实现的,但 UTI 治疗脓毒症患者保护作用的具体机制有待深入研究。

参考文献

[1] Knuefermann P, Nemoto S, Baumgarten G, et al. Cardiac inflammation and innate immunity in septic shock; is there a role for toll-like receptors? *Chest*, 2002, 121(4):1329-1336.
 [2] 许长涛,姚咏明,李为民,等. 高迁移率蛋白 B1 对小鼠调节性 T 细胞 Toll 样受体 4 表达的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(3):167-170.
 [3] Fry DE, Pearlsteil L, Fulton RL, et al. Multiple system organ failure, the role of uncontrolled infection. *Arch Surg*, 1980, 115(2):136-140.
 [4] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Intensive Care Med*, 2003, 29(4): 530-538.
 [5] Fitzgerald KA, Rowe DC, Barnes DJ, et al. LPS-TLR4 signaling to IRF-3/7 and NF- κ B involves the toll adapters TRAM and TRIF. *J Exp Med*,

2003, 198(7):1043-1055.
 [6] Mansell A, Brint E, Gould JA, et al. Mal interacts with tumor necrosis factor receptor-associated factor (TRAF)-6 to mediate NF- κ B activation by toll-like receptor (TLR)-2 and TLR4. *J Biol Chem*, 2004, 279(36):37227-37230.
 [7] 路小光,战丽彬,刘伟光,等. 大黄附子汤对重症急性胰腺炎肺损伤大鼠肺组织 Toll 样受体 4/核转录因子- κ B 的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2009, 16(1):14-17.
 [8] 王晓琳,张宏,刘荣,等. 乌司他丁对肝缺血/再灌注后急性肺损伤的保护作用. *中国危重病急救医学*, 2003, 15(7): 432-434.
 [9] 张萌,蒋龙元,杨正飞,等. 乌司他丁对脓毒症大鼠肠黏膜上皮防御屏障的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2009, 16(1):45-48.
 [10] Park WY, Goodman RB, Steinberg KP, et al. Cytokine balance in the lungs of patients with acute respiratory distress syndrome. *Am J Respir Crit Care Med*, 2001, 164(10 Pt 1):1896-1903.
 [11] Aosasa S, Ono S, Mochizuki H, et al. Mechanism of the inhibitory effect of protease inhibitor on tumor necrosis factor alpha production of monocytes. *Shock*, 2001, 15(2):101-105.
 [12] 吴群,余小云,雷涌,等. 乌司他丁对危重症患者器官功能保护作用的研究. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15(5): 269-271.
 [13] 寇秋野,杨祖立,管向东,等. 乌司他丁对脓毒症大鼠血浆高迁移率蛋白 B1 水平的影响. *中国中西医结合急救杂志*, 2009, 16(2):103-105.

(收稿日期:2009-01-14
 修回日期:2009-08-14)
 (本文编辑:李银平)

• 书讯 •

《脑血管病手册》(中文翻译版)

由 Harold P. Adams Jr 教授主编,樊东升教授主译的《脑血管病手册》(第 2 版)已于 2009 年 2 月在科学出版社出版;该书系统介绍了脑血管疾病的流行病学与危险因素、临床特点、解剖和血管支配、影像学检查、诊断和预后等;以循证医学的方式系统论述国际上各研究中心对急性缺血性脑血管病的溶栓治疗、抗凝与抗血小板治疗、神经保护剂治疗、脑血管阻塞病变的经皮扩张与支架辅助成形术的研究成果;并详细介绍出血性脑血管病的内科与外科治疗,蛛网膜下腔出血、动脉瘤、动静脉畸形与其他血管异常的处理;最后论述脑静脉血栓、脊髓血管病、脑血管炎、儿童与青年卒中、孕期脑血管疾病等特殊情况的诊断与处理。该书全面、详细介绍了脑血管病的国际发展前沿和新技术。本书适合神经内外科、急诊科医师及研究生参考使用。

各地新华书店及医学专业店有售,定价:188.00 元。邮购电话:010-64034601,64019031;地址:100717 北京市东黄城根北街 16 号 科学出版社 温晓萍(请在汇款附言注明您购书的书名、册数、联系电话、是否要发票等)。