

泛素在多器官功能障碍综合征小鼠脾脏中表达变化及其对树突细胞免疫调节作用的影响

曲冰杰 陆江阳 刘茜 王宏伟

【摘要】 目的 探讨多器官功能障碍综合征(MODS)脾脏中泛素(Ub)的表达变化及意义,研究泛素化主要组织相容性复合物 II (MHC II)对树突细胞(DC)活性及免疫调节作用的影响。**方法** 210 只雄性 C57BL/6 小鼠按随机数字表法分为正常对照组(30 只)和 MODS 组(180 只),通过腹腔注射酵母多糖悬液复制 MODS 模型,MODS 组再随机均分为 6、12、24、48 h 和 5~7 d、10~12 d 组。采用免疫组化和免疫荧光法分别检测脾脏中 Ub 蛋白及 CD11c⁺DC 细胞和 MHC II 类分子 I-A^b 的表达;荧光定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测脾脏内 Ub mRNA 表达。**结果** ①免疫组化显示:与正常对照组比较,MODS 组伤后 6 h 脾脏 Ub 阳性细胞逐渐增多,24 h 达高峰[(16.83 ± 0.38)%比(8.60 ± 0.86)%*P*<0.05],后逐渐下降,至 10~12 d Ub 阳性细胞已显著低于正常对照组[(4.66 ± 0.34)%比(8.60 ± 0.86)%*P*<0.05]。②荧光定量 RT-PCR 显示:与正常对照组比较,MODS 组伤后 6 h Ub mRNA 表达增强,至 24 h 达高峰(2.17 ± 0.20 比 1.00 ± 0.00,*P*<0.01),随后逐渐下降,至 10~12 d 表达已显著低于正常对照组(0.72 ± 0.08 比 1.00 ± 0.00,*P*<0.05)。③免疫荧光标记显示:与正常对照组比较,MODS 组伤后 6 h CD11c⁺DC 细胞明显增加,至 24 h 达高峰[(7.55 ± 0.04)%比(2.08 ± 0.13)%*P*<0.05],随后明显减少,至 10~12 d 已接近正常对照组[(2.28 ± 0.06)%比(2.08 ± 0.13)%*P*>0.05]。MODS 组伤后 6 h I-A^b 阳性细胞明显增加[(10.90 ± 1.40)%比(5.78 ± 0.47)%*P*<0.01],24 h 表达明显下降[(3.32 ± 0.91)%比(5.78 ± 0.47)%*P*<0.05],48 h、5~7 d 恢复至正常对照组水平后,10~12 d 再次显著降低 [(2.20 ± 0.97)%比(5.78 ± 0.47)%*P*<0.05]。Ub 阳性细胞数与 I-A^b、CD11c 均呈显著正相关(*r*₁=0.899, *r*₂=0.987, 均 *P*<0.05)。**结论** Ub 可能通过泛素化 DC 表面的 MHC II 类分子影响 DC 成熟和活化,从而影响 MODS 各时期的免疫应答,为调控免疫应答提供新的认识途径与监测指标。

【关键词】 多器官功能障碍综合征; 泛素; 脾脏; 树突细胞; 主要组织相容性复合物 II 类分子

Expression of ubiquitin in the spleen and its influence on the dendritic cell immunomodulation function in multiple organ dysfunction syndrome in mice QU Bing-jie, LU Jiang-yang, LIU Qian, WANG Hong-wei.

Department of Pathology, First Hospital Affiliated to General Hospital of PLA, Beijing 100048, China

Corresponding author: LU Jiang-yang, Email: luji@263.net

【Abstract】 Objective To explore the expression change in ubiquitin (Ub) in the spleen and its significance in multiple organ dysfunction syndrome (MODS) in mice, and to study the effects of ubiquitination of major histocompatibility complex II (MHC II) on the activity and immunomodulation function of splenic dendritic cell (DC). **Methods** Two hundred and ten mice were divided into the normal control group (*n*=30) and MODS group (*n*=180) according to the method of random digital table, and MODS model was replicated by intraperitoneal injection of zymosan. The MODS group mice were further divided evenly into 6, 12, 24, 48-hour and 5-7-day and 10-12-day groups. Ub protein and expression of CD11c⁺DC and MHC II molecule I-A^b were examined using immunohistochemistry and immunofluorescence methods. Ub mRNA expression in the spleen was measured by real-time quantitative reverse transcription-polymerase chain reaction (RT-PCR). **Results** ①Immunohistochemistry results showed: the number of Ub positive cells in the spleen increased significantly at 6 hours in MODS group compared with that of the normal control group, and it reached the peak at 24 hours [(16.83 ± 0.38)% vs. (8.60 ± 0.86)%*P*<0.05] and then decreased gradually. At 10-12 days, the number of Ub positive cells decreased significantly compared with that of the normal control group [(4.66 ± 0.34)% vs. (8.60 ± 0.86)%*P*<0.05]. ②RT-PCR results displayed: compared with normal control group, Ub mRNA expression in spleen increased at 6 hours in MODS group, and it reached the peak at 24 hours (2.17 ± 0.20 vs. 1.00 ± 0.00, *P*<0.01). Then, it decreased gradually. At 10-12 days, Ub mRNA decreased significantly as compared with that of normal control group (0.72 ± 0.08 vs. 1.00 ± 0.00, *P*<0.05). ③Immunofluorescence results displayed: compared with normal control group, CD11c⁺DC increased significantly at 6 hours in MODS group and reached the peak at 24 hours [(7.55 ± 0.04)% vs. (2.08 ± 0.13)%*P*<0.05], and then it decreased gradually. At 10-12 days, it was close to that of the normal control group [(2.28 ± 0.06)% vs. (2.08 ± 0.13)%*P*>0.05]. Compared with the normal control group, I-A^b positive cells in the spleen was significantly increased at 6 hours in MODS group [(10.90 ± 1.40)% vs. (5.78 ± 0.47)%*P*<0.01], but it decreased at 24 hours [(3.32 ± 0.91)% vs. (5.78 ± 0.47)%*P*<0.05]. I-A^b positive cells were restored to the normal level at 48 hours and

5-7 days, and decreased significantly again at 10-12 days [(2.20 ± 0.97)% vs. (5.78 ± 0.47)%, $P < 0.05$]. The number of Ub positive cells correlated positively to the expression of I-A^b and the CD11c ($r_1 = 0.899$, $r_2 = 0.987$, both $P < 0.05$). **Conclusions** Ub might influence the maturation and activation of DC via ubiquitination of the MHC II molecule on DC, thereby influencing the immune response at different stages of MODS. The result might provide a new way to recognize immune response and also a new monitoring index for immune response regulation.

【Key words】 Multiple organs dysfunction syndrome; Ubiquitin; Spleen; Dendritic cell; Major histocompatibility complex II molecule

多器官功能障碍综合征(MODS)的主要发病机制是炎症反应失衡和免疫功能紊乱^[1]。树突细胞(DC)是功能最强大的专职抗原呈递细胞,是细胞免疫应答过程中的关键环节。近年有研究表明,泛素-蛋白水解酶体途径可以通过选择性调控泛素化主要组织相容性复合物 II (MHC II)类分子来影响 DC 活性,进而影响细胞免疫功能^[2-3]。本研究在以往对免疫器官和器官间质 DC 及相关因子研究^[4-6]的基础上,观察小鼠 MODS 病程中 DC 和 MHC II 类分子的表达变化及其与泛素(Ub)变化的关系,探讨 MHC II 类分子泛素化对 DC 的成熟与活化的影响,以期 MODS 及严重脓毒症的免疫防治研究探索新的路径。

1 材料和方法

1.1 动物分组及模型复制:雄性 C57BL/6 小鼠 210 只,6~8 周,体重 20~25 g,购自军事医学科学院实验动物中心,动物合格证号:0005426。按随机数字表法分为正常对照组(30 只)和 MODS 组(180 只),参照文献^[5-8]方法,采用腹腔注射酵母多糖法复制小鼠 MODS 模型。MODS 组再按照不同时间点分为酵母多糖致伤后 6、12、24、48 h 和 5~7 d、10~12 d 组,每个亚组 30 只小鼠。

本实验中动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.2 直接免疫组化法检测脾脏中 Ub 蛋白表达:将脾脏组织用石蜡包埋、切片厚 5 μm,贴于防脱载玻片上脱蜡至水;3% H₂O₂ 作用 10 min;用枸橼酸盐缓冲液(0.01 mol/L, pH 6.0)高压修复 2 min;5%牛血清白蛋白(BSA)封闭,室温 20 min;滴加一抗:兔抗小鼠 Ub(FL-76)多克隆抗体(美国 Santa Cruz 公司),1:50,4 °C 过夜孵育;复温和磷酸盐缓冲液(PBS)浸洗后,加到 Polink-2 plus 二步显示系统(美国 GBI 公司),滴加试剂 1 于室温或 37 °C 下孵育 1~2 h 或 4 °C 过夜。3,3'-二氨基联苯胺(DAB)

显色,苏木素复染,封片,光镜下观察拍照。

1.3 荧光定量逆转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测脾脏内 Ub mRNA 表达:按照北京博迈德 RNA 提取试剂盒(离心柱型)说明书提取总 RNA, mRNA 逆转录成为 cDNA。Ub 引物序列(NM_026842):上游 5'-TGGCCCCAGACTGTATACTTTTC-3',下游 5'-TC CACCCTGACCTTTGTACATG-3';PCR 扩增条件:预孵育 95 °C、120 s,循环 1 次;扩增 95、58、72 °C,循环 20、25、30 s,45 次,在延伸阶段结束时收集荧光信号。溶解曲线 65 °C、95 °C,循环 1 次,在温度缓慢升高中收集信号。采用 Prime Express 3.0 软件分析,获取 Ct 值,用 2^{-ΔΔCt} 法计算 Ub mRNA 的表达量。

1.4 免疫荧光法检测脾脏中 MHC II 类分子 I-A^b 与 CD11c 表达:脾组织用石蜡包埋,切片厚 5 μm,贴于防脱载玻片上,室温干燥 30 min 左右,4 °C 丙酮固定 10 min。PBS 浸洗,5% BSA 封闭。分别滴加美国仓鼠抗小鼠异硫氰酸荧光素(FITC)-I-A^b(1:50)与藻红蛋白(PE)-CD11c(1:100),室温避光孵育 60 min, PBS 浸洗,甘油/PBS 封固剂封片,立即在荧光显微镜下观察拍照。其中 I-A^b 标记阳性细胞显示抗原呈递细胞的免疫活性;CD11c 标记阳性结果显示为 CD11c⁺DC,代表脾脏内所有 DC 含量。

免疫组化或免疫荧光标记的每张切片随机选取 10 个高倍视野,计数所有染色阳性的细胞和细胞总数,阳性细胞率 = 阳性细胞数 / 细胞总数 × 100%。

1.5 统计学处理:采用 SPSS 13.0 统计分析软件处理实验数据。数据以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两组资料之间的比较用 t 检验;在进行多样本均数比较之前,先行多个样本方差齐性检验,正常对照组与 MODS 各亚组间比较用独立样本 t 检验;相关分析采用 Pearson 法; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 脾脏中 Ub 蛋白表达变化(图 1;表 1):正常对照组小鼠脾脏骨髓动脉周围淋巴鞘、边缘区及红髓脾索内可见少量散在分布的 Ub 阳性细胞,胞膜呈深棕色,边缘区含量较多。MODS 组伤后 6 h Ub 阳

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2012.03.008

基金项目:全军“十一五”医学科科研项目(06MB307)

作者单位:100048 北京,解放军总医院第一附属医院病理科(曲冰杰现在北京怀柔区第一医院病理科工作)

通信作者:陆江阳,Email: lujy@263.net

性细胞有所增加,仍以边缘区较为丰富;至 24 h Ub 阳性细胞明显增加,达高峰,与正常对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$);随后 Ub 阳性细胞逐渐减少,至 10~12 d Ub 阳性细胞较正常对照组明显减少($P<0.05$)。

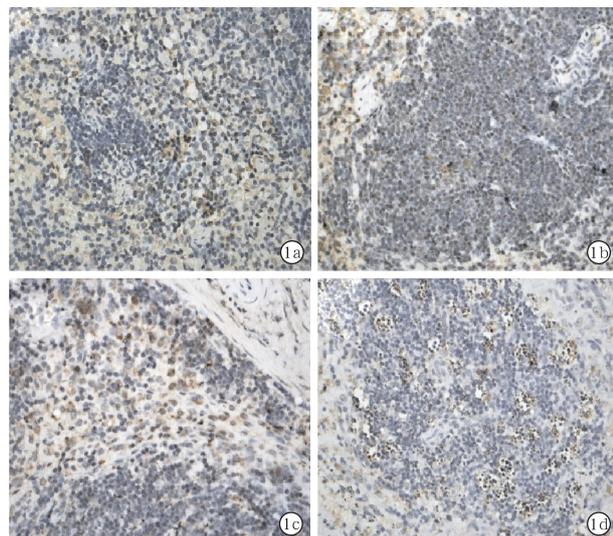


图 1 光镜下观察各组小鼠脾脏泛素(Ub)蛋白表达 Ub 阳性细胞胞膜呈深棕色;正常对照组(a)可见少量散在分布的 Ub 阳性细胞;多器官功能障碍综合征组伤后 6 h(b)Ub 阳性细胞有所增多,24 h(c)Ub 阳性细胞较正常对照明显增多,10~12 d(d)Ub 阳性细胞较正常对照组明显减少 免疫组化 中倍放大

表 1 MODS 小鼠各时间点脾脏中 Ub 的蛋白和 mRNA 表达变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	Ub 阳性细胞(%)	Ub mRNA
正常对照组	30	8.60 ± 0.86	1.00 ± 0.00
MODS 组 6 h	30	8.94 ± 0.80	1.13 ± 0.15
12 h	30	11.76 ± 0.35	1.09 ± 0.06
24 h	30	16.83 ± 0.38 ^a	2.17 ± 0.20 ^b
48 h	30	9.75 ± 0.52	1.33 ± 0.12
5~7 d	30	6.31 ± 0.44	0.73 ± 0.14
10~12 d	30	4.66 ± 0.34 ^a	0.72 ± 0.08 ^a

注:MODS:多器官功能障碍综合征,Ub:泛素;与正常对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$

2.2 脾脏中 Ub mRNA 表达的变化(表 1):MODS 组小鼠伤后 6 h 与 12 h 脾脏 Ub mRNA 表达较正常对照组增加,24 h 表达明显增加达高峰($P<0.01$),48 h 表达开始下降,5~7 d 表达略低于正常对照组,10~12 d 表达较正常对照组明显下降($P<0.05$)。

2.3 脾脏中 I-A^b 表达的变化(图 2;表 2):正常对照组小鼠脾脏白髓与脾索内可见 I-A^b 阳性细胞,胞膜呈亮绿色。MODS 组伤后 6 h I-A^b 阳性细胞显著增加,明显高于正常对照组($P<0.01$);12 h I-A^b 阳

性细胞开始减少,24 h 降至低谷,且明显低于正常对照组水平($P<0.05$);48 h 和 5~7 d I-A^b 阳性细胞有所增加,接近正常对照组水平;10~12 d I-A^b 阳性细胞再次显著减少($P<0.05$)。

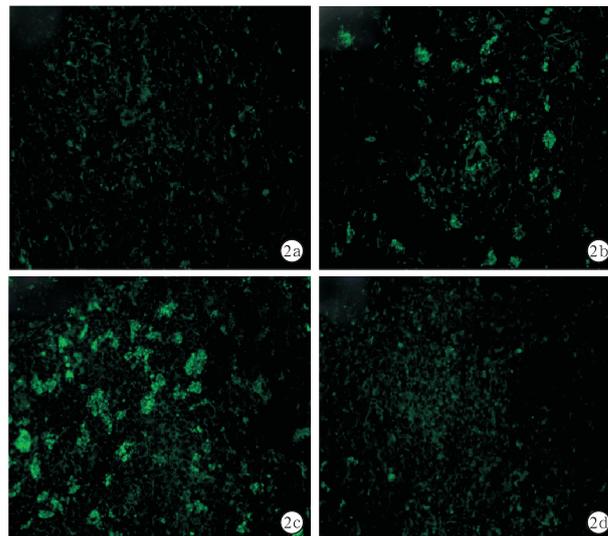


图 2 荧光显微镜下观察各组小鼠脾脏树突细胞(DC)中 I-A^b 表达 I-A^b 阳性细胞为胞膜呈亮绿色;正常对照组(a)DC 中可见少量 I-A^b 阳性细胞;多器官功能障碍综合征组伤后 6 h (b) I-A^b 阳性细胞较正常对照明显增加,24 h (c) I-A^b 阳性细胞较正常对照显著减少,10~12 d(d) I-A^b 阳性细胞进一步减少 直接免疫荧光法 中倍放大

表 2 MODS 小鼠各时间点脾脏中 MHC II 类分子 I-A^b 和 CD11c⁺DC 细胞数的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	I-A ^b 阳性细胞(%)	CD11c ⁺ DC(%)
正常对照组	30	5.78 ± 0.47	2.08 ± 0.13
MODS 组 6 h	30	10.90 ± 1.40 ^a	2.30 ± 0.06 ^b
12 h	30	4.06 ± 0.50	5.80 ± 0.14 ^b
24 h	30	3.32 ± 0.91 ^b	7.55 ± 0.04 ^b
48 h	30	6.98 ± 0.76	1.91 ± 0.11
5~7 d	30	5.98 ± 0.74	2.12 ± 0.07
10~12 d	30	2.20 ± 0.97 ^b	2.28 ± 0.06

注:MODS:多器官功能障碍综合征,MHC II:主要组织相容性复合物 II,DC:树突细胞;与正常对照组比较,^a $P<0.01$,^b $P<0.05$

2.4 脾脏中 CD11c⁺DC 细胞变化(图 3;表 2):正常对照组小鼠脾脏白髓滤泡生发中心和红髓髓质中可见少量胞质和胞膜呈亮红色的 CD11c⁺DC 细胞,尤以边缘区为著。MODS 组伤后 6 h 脾脏中亮红色的 CD11c⁺DC 细胞明显增加,以白髓 T 细胞区含量较多,12~24 h 仍然增加,与正常对照组比较差异有统计学意义(均 $P<0.05$);伤后 48 h 白髓 T 细胞区 CD11c⁺DC 细胞略有减少,5~7 d CD11c⁺DC 细胞接近正常对照组水平;伤后 10~12 d CD11c⁺DC 细胞再次增加,与正常对照组比较差异无统计学意义

($P>0.05$)。

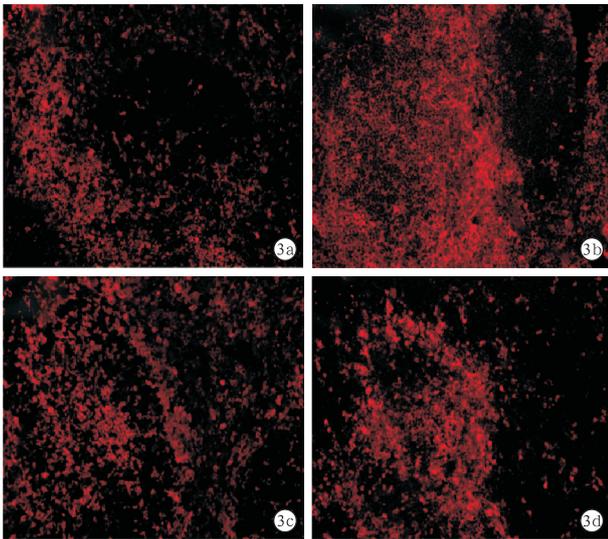


图 3 荧光显微镜下观察各组小鼠脾脏组织 CD11c 表达 CD11c⁺ 树突细胞(DC)胞质和胞膜呈亮红色;正常对照组(a) CD11c⁺DC 细胞较少见;多器官功能障碍综合征(MODS)组伤后 6 h(b)CD11c⁺DC 细胞明显增多,24 h(c)CD11c⁺DC 细胞仍可见,10~12 d (d) CD11c⁺DC 细胞于下降后再次增加 直接免疫荧光法 中倍放大

2.5 脾脏 Ub 表达与 I-A^b、CD11c⁺DC 表达的相关性分析: I-A^b 阳性细胞与 Ub 阳性细胞数呈显著正相关 ($r=0.899, P=0.038$), 提示脾脏 DC 免疫活性变化与 Ub 表达水平有显著相关性; CD11c⁺DC 与 Ub 阳性细胞数呈显著正相关 ($r=0.987, P=0.013$), 提示脾脏 DC 总含量变化与 Ub 变化有明显相关性。

3 讨论

MODS 是脓毒症的终末阶段, 具有高发病率和病死率。脾脏作为最大的外周免疫器官, 其中 DC 等免疫细胞及相关因子的变化在 MODS 免疫失衡中起重要的作用。MHC II 类分子是由以 DC 为主的抗原呈递细胞产生并介导其免疫调节功能的一类免疫活性分子, 作为 T 细胞活化的第一信号, 启动免疫应答反应^[9-11]。泛素-蛋白水解酶体途径是细胞质和细胞核内蛋白 ATP 依赖性降解的重要途径, 是基因转录调控和抗原呈递的关键环节, 通过降解不同位点的分子, 蛋白酶体可以上调或下调其表达。泛素-蛋白水解酶体途径可以通过泛素化 MHC II 类分子限制性抗原呈递功能, 对调节免疫功能起重要的作用^[3,12-13]。

本实验观察了小鼠 MODS 各期脾脏 CD11c⁺ DC 含量与反映其功能活性的 MHC II 类分子 I-A^b 的表达变化, 并同时从蛋白水平和 mRNA 水平检测了 Ub 在脾脏的表达, 尤其对第一次打击期 (24 h) 与

MODS 期 (10~12 d) 进行了比较分析。结果表明: 伤后 24 h DC 活化增生, 抗原呈递过程活跃, I-A^b 表达开始下降, 而 Ub 的蛋白与 mRNA 表达均明显增强; MODS 期, DC 活性与含量下降, 伴随脾脏中 I-A^b 表达也显著下降, 此时, Ub 的蛋白与 mRNA 表达也明显下降。我们推测, 在病程前期的第一次打击中, 由于泛素-蛋白酶体通过泛素化作用降解了 MHC II 类分子, 减少了其在抗原呈递细胞表面的表达, 从而影响 DC 的抗原呈递功能, 使 DC 的免疫活性减弱; 在病程晚期, I-A^b 表达下降至最低点, 提示 DC 活性与抗原呈递作用极度下降, 病程进入免疫抑制阶段, 由于在降解 I-A^b 过程中 Ub 的大量消耗, 故 Ub 的表达也显著降低。

可以认为, 在 MODS 小鼠脾脏中 Ub 通过泛素化 MHC II 类分子降解其在抗原呈递细胞表面的表达, 使 MHC II 抗原呈递能力下降, DC 活性降低, 机体的免疫应答能力也降低, 最终导致 MODS 的发生。提示可以通过调节 MHC II 泛素化途径, 影响 DC 控制的免疫应答反应, 干预 MODS 病程的进展, 为 MODS 病程的治疗提供新的治疗依据和靶点。

参考文献

- [1] 杨丽萍, 姚咏明, 盛志勇. 脓毒症发病的炎症反应与免疫素乱机制. 感染、炎症、修复, 2008, 9: 48-51.
- [2] Bedrosian I, Roros JG, Xu S, et al. Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor, interleukin-2, and interleukin-12 synergize with calcium ionophore to enhance dendritic cell function. J Immunother, 2000, 23: 311-320.
- [3] Shin JS, Ebersold M, Pypaert M, et al. Surface expression of MHC class II in dendritic cells is controlled by regulated ubiquitination. Nature, 2006, 444: 115-118.
- [4] 陆江阳, 王晓虹, 孙宇, 等. MODS 大鼠胸腺树突状细胞病理改变及作用的研究. 中国危重病急救医学, 2001, 13: 675-678.
- [5] 陆江阳, 李志宏, 王晓虹, 等. 脾脏树突状细胞在多器官功能障碍综合征中的变化及意义. 中国危重病急救医学, 2006, 18: 24-27.
- [6] 王宏伟, 陆江阳, 王晓虹, 等. 肝脏间质树突状细胞在多器官功能障碍综合征中的变化与意义. 中国危重病急救医学, 2007, 19: 596-599.
- [7] Jansen MJ, Hendriks T, Vogels MT, et al. Inflammatory cytokines in an experimental model for the multiple organ dysfunction syndrome. Crit Care Med, 1996, 24: 1196-1202.
- [8] Volman TJ, Goris RJ, Lomme RM, et al. Increased expression of matrix metalloproteinases in the murine zymosan-induced multiple organ dysfunction syndrome. J Pathol, 2004, 203: 968-975.
- [9] Buschow SI, Nolte-t Hoen EN, van Niel G, et al. MHC II in dendritic cells is targeted to lysosomes or T cell-induced exosomes via distinct multivesicular body pathways. Traffic, 2009, 10: 1528-1542.

- [10] 田光, 陆江阳, 胡森, 等. 卡巴胆碱对脓毒症小鼠脾脏树突状细胞变化的影响. 中国危重病急救医学, 2006, 18: 684-686.
- [11] Reis e Sousa C. Dendritic cells in a mature age. Nat Rev Immunol, 2006, 6: 476-483.
- [12] De Gassart A, Camosseto V, Thibodeau J, et al. MHC class II stabilization at the surface of human dendritic cells is the result of maturation-dependent MARCH I down-regulation. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105: 3491-3496.
- [13] van Niel G, Wubbolts R, Ten Broeke T, et al. Dendritic cells regulate exposure of MHC class II at their plasma membrane by oligoubiquitination. Immunity, 2006, 25: 885-894.

(收稿日期: 2011-12-03)

(本文编辑: 李银平)

· 病例报告 ·

多种血液净化方式联合救治脑型疟疾合并多器官功能衰竭 1 例

兰玲鲜

【关键词】 血液净化; 脑型疟疾; 多器官功能衰竭

报告 1 例脑型疟疾合并多器官功能衰竭(MOF)患者的抢救结果如下。

1 临床资料

1.1 一般情况: 患者男性, 42 岁, 以发热 5 d、意识障碍 2 d 为主诉, 于 2011 年 7 月 20 日 18:08 急诊入院。曾到非洲疟疾流行区打工半年, 1 周前回国; 5 d 前出现畏寒、发热; 2 d 前出现意识障碍。因血液中找到疟原虫, 以疟疾、继发性血小板减少、MOF 为诊断入院。查体: 体温 37.4 °C、血压 120/80 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa)、脉搏 90 次/min、呼吸频率 20 次/min, 患者呈谵妄状态, 烦躁不安, 中度贫血貌, 全身皮肤、巩膜重度黄染, 心肺检查未见异常, 肝肋下 3 cm 可触及、边缘圆钝。留置胃管, 见引出暗红色胃液; 留置尿管, 可见浓茶样尿液。

1.2 辅助检查: 白细胞 $10.00 \times 10^9/L$, 红细胞 $2.62 \times 10^{12}/L$, 血红蛋白 83.5 g/L, 红细胞比容 0.2420, 血小板 $29 \times 10^9/L$, 中性粒细胞 0.520; 尿 pH 5.50, 尿隐血 +++, 尿蛋白定性 +, 尿胆红素 +, 尿胆原 +, 尿酮体 -, 镜检红细胞 ++。血钠 155 mmol/L, 血钾 5.94 mmol/L, 肌酸激酶 323.1 U/L, 肌酸激酶同工酶 58 U/L, 尿素氮 37.7 mmol/L, 肌酐 349.2 $\mu\text{mol}/L$, 乳酸脱氢酶 1524.2 U/L, 乳酸 10.7 mmol/L, 肌钙蛋白 I 8.7 $\mu\text{g}/L$, 丙氨酸转氨酶

(ALT) 63.5 U/L, 天冬氨酸转氨酶 (AST) 153.6 U/L, 总胆红素 301.7 $\mu\text{mol}/L$, 直接胆红素 233.5 $\mu\text{mol}/L$, 间接胆红素 68.2 $\mu\text{mol}/L$, 总蛋白 45.7 g/L, 白蛋白 21 g/L。凝血功能: 凝血酶原时间 (PT) 15.3 s, 国际标准化比值 (INR) 1.27, 凝血酶原时间活动度 52.4%, 活化部分凝血活酶时间 (APTT) 48.7 s, 纤维蛋白原 (Fib) 4.8 g/L, 凝血酶时间 (TT) 15.9 s。血气分析: 酸碱度 7.17, 动脉血二氧化碳分压 (PaCO₂) 32 mm Hg, 动脉血氧分压 (PaO₂) 114 mm Hg, pH 7.15。脑脊液检查提示颅压高。心电图检查: 窦性心动过速。头颅 CT 检查: 未见明显异常。诊断: 脑型疟疾合并 MOF。

1.3 治疗与结果: 予青蒿琥酯抗疟治疗, 奥曲肽止血、奥美拉唑保护胃黏膜及甘露醇降颅压等治疗, 病情进行性加重。于 2011 年 7 月 21 日 13:20 开始进行血液透析滤过联合人工肝血液灌流、血浆置换治疗, 先予血液透析滤过 2 h、血液透析滤过及血液灌流 2 h, 再单独用新鲜同型血浆 2000 ml 加 500 ml 生理盐水进行血浆置换 2 h。治疗后即复查血常规、血生化等指标有明显好转。48 h 后 (即 23 日) 用同样方法进行第 2 次治疗, 连续 2 次治疗后 (即 24 日) 患者意识清醒, 对答切题, 一般情况明显好转, 复查血生化等各项指标均接近及恢复正常, 白细胞 $8.57 \times 10^9/L$, 红细胞 $2.45 \times 10^{12}/L$, 血红蛋白 69.2 g/L, 红细胞比容 0.0023, 血小板 $316 \times 10^9/L$, 中性粒细胞 0.612,

嗜酸粒细胞 0.054; 血钾 3.73 mmol/L, 血钠 136 mmol/L, 血氯 98.5 mmol/L, 尿素氮 9.2 mmol/L, 肌酐 81.9 $\mu\text{mol}/L$, ALT 78.1 U/L, AST 34.5 U/L, 总胆红素 48.8 $\mu\text{mol}/L$, 直接胆红素 39.0 $\mu\text{mol}/L$, 间接胆红素 9.8 $\mu\text{mol}/L$, 白蛋白 31 g/L。继续抗疟治疗 2 周后痊愈出院。随访 4 周无复发。

2 讨论

脑型疟疾是恶性疟疾死亡的重要因素, 且病死率随着多器官损害而升高。部分病例出现支气管哮喘、失语、精神错乱、肢体运动障碍等不典型症状^[1], 易造成误诊, 延误治疗时机。因此, 早期诊断, 联合治疗十分重要。有文献报道: 对于脑型疟疾合并急性肾衰竭的患者, 在积极抗疟治疗的同时采取血液透析联合血液灌流治疗是一种新的治疗手段, 联合治疗是改善预后的关键^[2]。本例患者诊断脑型疟疾合并 MOF 明确, 经血液透析滤过同时给予人工肝血液灌流及血浆置换三者联合治疗, 为肝、肾等多器官功能的恢复创造了条件, 取得了显著的疗效。

参考文献

- [1] 王玉水, 王海东, Pascal Mongoy. 中西医结合治疗儿童疟疾罕见病例 12 例. 中国中西医结合急救杂志, 2006, 13: 110.
- [2] 李富香. 血液透析联合血液灌流救治恶性疟——脑型疟合并急性肾功能衰竭一例报告. 医学信息 (上旬刊), 2010, 23: 4086.

(收稿日期: 2011-09-01)

(本文编辑: 李银平)

DOI: 10.3760/ema. j. issn.1003-0603. 2012. 03.009

作者单位: 530023 广西, 南宁市第四人民医院血液净化科