

# 白细胞介素-33在脓毒症中的变化及其与疾病严重程度的相关性分析

常均 贾佳 臧彬

**【摘要】** 目的 通过观察脓症患者血浆白细胞介素-33 (IL-33) 的变化规律, 探讨其与感染的关系及对疾病预后的预测价值。方法 采用前瞻性单中心单盲临床研究方法, 选择2012年5月至2013年1月中国医科大学附属盛京医院重症加强治疗病房 (ICU) 收治的脓症患者40例, 并根据全身感染严重程度以及有无器官功能不全, 将脓症患者分为一般脓毒症、严重脓毒症、感染性休克组3组; 按28 d 预后将脓症患者分为死亡组和存活组。同期选择ICU 11例全身炎症反应综合征 (SIRS) 患者和10例健康志愿者作为对照。于患者入ICU 3 h 内、24 h、5 d 取血, 采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测降钙素原 (PCT)、IL-33、IL-6、IL-1 $\beta$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 及 IL-33 受体 sST2 水平, 计算急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分; 同时记录患者转归、ICU 住院时间、机械通气时间。采用 Spearman 相关分析脓症患者 IL-33 与各指标的相关性; 绘制受试者工作特征曲线 (ROC) 获得 IL-33 诊断感染的价值。结果 脓症患者入ICU 时血浆 IL-33 较健康对照组及 SIRS 组明显升高 (ng/L : 15.43  $\pm$  7.22 比 0.67  $\pm$  0.24、1.25  $\pm$  1.09, 均  $P < 0.01$ ), PCT 较 SIRS 组明显上升 [ $\mu$ g/L : 52.23 (19.69, 73.37) 比 1.22 (0.69, 3.73),  $Z = -2.447$ ,  $P < 0.001$ ]。一般脓毒症、严重脓毒症、感染性休克3组患者随病情加重, APACHE II 评分、PCT、IL-33 逐渐升高, ICU 住院时间、机械通气时间逐渐延长 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。脓症患者入ICU 3 h 内、24 h、5 d 血浆 IL-33 水平 (ng/L) 分别为 15.43  $\pm$  7.22、11.82  $\pm$  6.16、5.55  $\pm$  2.25 ( $F = 4.823$ ,  $P = 0.004$ ); 入ICU 3 h 内, IL-33 与 APACHE II 评分 ( $r = 0.351$ ,  $P = 0.031$ )、PCT ( $r = 0.412$ ,  $P = 0.005$ )、IL-6 ( $r = 0.535$ ,  $P = 0.030$ )、IL-1 $\beta$  ( $r = 0.674$ ,  $P = 0.030$ )、TNF- $\alpha$  ( $r = 0.250$ ,  $P = 0.030$ )、sST2 ( $r = 0.620$ ,  $P < 0.001$ ) 及 ICU 住院时间 ( $r = 0.296$ ,  $P = 0.013$ )、机械通气时间 ( $r = 0.385$ ,  $P = 0.011$ ) 均呈显著正相关。脓症存活患者 (37例) 血浆 IL-33 水平随疾病治愈呈现逐渐下降趋势 ( $F = 7.798$ ,  $P < 0.01$ ), 死亡患者 (3例) 则无下降趋势 ( $F = 37.283$ ,  $P > 0.05$ )。ROC 曲线分析显示 IL-33 与 PCT 的 ROC 曲线下面积 (AUC) 分别为 0.821、0.829。IL-33 截断值为 13.79 ng/L 时的敏感度为 74.2%, 特异度为 79.6%; PCT 截断值为 4.70  $\mu$ g/L 时的敏感度为 87.5%, 特异度为 81.4%。结论 脓症患者入ICU 时血浆 IL-33 即明显上升, 与 PCT 水平呈正相关, 对感染有诊断意义; 血浆 IL-33 与脓毒症严重程度有关, 其变化趋势对脓症患者的预后提示意义。

**【关键词】** 白细胞介素-33; 脓毒症; 降钙素原

**Changes in plasma interleukin-33 concentration in sepsis and its correlation with seriousness of sepsis** Chang Di, Jia Jia, Zang Bin. Department of Critical Care Medicine, Shengjing Hospital of China Medical University, Shenyang 110004, Liaoning, China

Corresponding author: Zang Bin, Email: zangb@sj-hospital.org

**【Abstract】 Objective** To observe the changes in plasma interleukin-33 (IL-33) in patients with sepsis and its regularity, the association between IL-33 and the infection, and the significance of IL-33 in predicting the prognosis of sepsis. **Methods** A prospective single-center single-blind clinical study was conducted. Forty patients with sepsis in intensive care unit (ICU) of Shengjing Hospital of China Medical University from May 2012 to January 2013 were enrolled. The patients were divided into general sepsis, severe sepsis and septic shock groups according to the severity of systemic infection and presence of organ dysfunction. The sepsis patients were again divided into 28-day death group and survival group. Ten healthy volunteers and 11 patients with systemic inflammatory response syndrome (SIRS) were enrolled as healthy control and SIRS groups. The levels of procalcitonin (PCT), IL-33, IL-6, IL-1 $\beta$ , tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), and IL-33 receptor sST2 were determined with enzyme linked immunosorbent assay

DOI: 10.3760/ema.j.issn.2095-4352.2015.02.012

基金项目: 辽宁省自然科学基金项目 (201102293)

作者单位: 110004 辽宁沈阳, 中国医科大学附属盛京医院重症医学科

通讯作者: 臧彬, Email: zangb@sj-hospital.org

(ELISA) within 3 hours, and 24 hours and 5 days after enrollment to ICU. The acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score was calculated. The clinical outcome, length of stay in ICU, and duration of mechanical ventilation were recorded. The relationship between IL-33 and each parameter was analyzed by Spearman analysis. Receiver operating characteristic (ROC) curve was drawn to evaluate IL-33 in predicting the outcome of sepsis. **Results** Plasma IL-33 in sepsis patients within 3 hours after admission was significantly increased compared with that of the healthy controls and SIRS group (ng/L:  $15.43 \pm 7.22$  vs.  $0.67 \pm 0.24$ ,  $1.25 \pm 1.09$ , both  $P < 0.01$ ). Compared with SIRS group, PCT in sepsis group was significantly increased [ $\mu\text{g/L}$ :  $52.23$  (19.69, 73.37) vs.  $1.22$  (0.69, 3.73),  $Z = -2.447$ ,  $P < 0.001$ ]. With exacerbation of illness, APACHE II score, the values of PCT and IL-33 were gradually increased in general sepsis, severe sepsis and septic shock groups, while the length of stay in ICU and the duration of mechanical ventilation were gradually prolonged ( $P < 0.05$  or  $P < 0.01$ ). The concentration of IL-33 (ng/L) of sepsis patients admitted to ICU within 3 hours, and 24 hours and 5 days of the illness was  $15.43 \pm 7.22$ ,  $11.82 \pm 6.16$ ,  $5.55 \pm 2.25$ , respectively ( $F = 4.823$ ,  $P = 0.004$ ). There was a positive correlation between IL-33 within 3 hours after ICU admission and APACHE II score ( $r = 0.351$ ,  $P = 0.031$ ), PCT ( $r = 0.412$ ,  $P = 0.005$ ), IL-6 ( $r = 0.535$ ,  $P = 0.030$ ), IL-1 $\beta$  ( $r = 0.674$ ,  $P = 0.030$ ), TNF- $\alpha$  ( $r = 0.250$ ,  $P = 0.030$ ), sST2 ( $r = 0.620$ ,  $P < 0.001$ ), and length of stay in ICU ( $r = 0.296$ ,  $P = 0.013$ ), duration of mechanical ventilation ( $r = 0.385$ ,  $P = 0.011$ ). Decreased plasma IL-33 level could be found in the survivors ( $n = 37$ ,  $F = 7.798$ ,  $P < 0.01$ ), and its level in non-survivors ( $n = 3$ ) was increased ( $F = 37.283$ ,  $P > 0.05$ ). The area under the ROC curve (AUC) of IL-33 and PCT in ROC curve were 0.821, 0.829. When the cut-off value of IL-33 was 13.79 ng/L, the sensitivity was 74.2%, the specificity was 79.6%; when the cut-off value of PCT was 4.70  $\mu\text{g/L}$ , the sensitivity was 87.5%, and the specificity was 81.4%. **Conclusions** The concentration of IL-33 3 hours after ICU admission was obviously increased in sepsis patients, and it was positively correlated with PCT, therefore it is valuable in the diagnosis of the infection. In addition plasma IL-33 is related to the severity of sepsis. Its trend of change is valuable in predicting the outcome and in distinguishing sepsis from SIRS.

**【Key words】** Interleukin-33; Sepsis; Procalcitonin

脓毒症指由感染引起的全身炎症反应综合征(SIRS),在重症加强治疗病房(ICU)发病率高、病死率高,医疗资源消耗大。目前公认严重脓毒症发病的本质是机体过度释放的炎症介质引起免疫反应失控,导致免疫功能紊乱,其过程涉及众多炎症因子。白细胞介素-33(IL-33)是IL-1家族的第11位家族成员,参与T淋巴细胞亚群介导的自身特异性变态反应、心血管稳态、免疫调节等众多病理过程<sup>[1-3]</sup>。有研究表明,在脓毒症动物模型中,IL-33可增强中性粒细胞向感染部位的趋化,从而减轻脓毒症反应,改善预后<sup>[4]</sup>,但目前尚无相关临床研究。本研究通过测定ICU脓症患者血浆IL-33水平,以期揭示IL-33在脓毒症疾病过程中的变化规律及其与感染的关系,以及对疾病预后的预测意义。

## 1 资料和方法

**1.1 病例选择及纳入和排除标准:**采用前瞻性单中心单盲临床研究。入选2012年5月至2013年1月中国医科大学附属盛京医院重症医学科收治的脓症患者共40例,诊断符合1991年美国胸科医师协会/危重病医学会(ACCP/SCCM)专家共识<sup>[5]</sup>。

**排除标准:**年龄 $< 18$ 岁;妊娠;6个月内有免疫抑制类药物使用史;6个月内曾接受细胞毒性药物治疗;诊断为自身免疫性疾病如系统性红斑狼疮

(SLE)、牛皮癣关节病、风湿性关节炎等;既往有哮喘、炎症性肠病、中枢神经系统疾病(如脑血管意外或神经炎症)、冠心病及急、慢性心力衰竭病史者。剔除研究过程中放弃治疗、自动出院的患者。

本研究符合医学伦理学标准,并经医院伦理委员会批准,所有治疗得到患者或家属的知情同意。

**1.2 病例分组:**根据全身感染严重程度以及有无器官功能不全,将脓症患者分为3组:①一般脓毒症组(12例):符合SIRS标准,有实验室病原学证据或高度可疑感染部位,无器官功能不全或组织低灌注表现;②严重脓毒症组(12例):符合脓毒症诊断标准,并且存在器官功能不全和(或)组织低灌注和(或)低血压症状;③感染性休克组(16例):符合脓毒症标准,有休克症状。以转入ICU时符合SIRS诊断标准,且无感染证据的患者(SIRS组,11例)及健康志愿者(健康对照组,10例)作为对照。

**1.3 样本采集:**脓毒症和SIRS患者在入ICU后3h内用乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管采血5mL,室温下静置20min,4000 r/min(离心半径7.5cm)离心20min,取血浆于 $-80$ ℃保存备用。同时留取血液及引流液样本,进行降钙素原(PCT)、血常规、血生化检测及细菌培养。健康志愿者采集外周静脉血5mL,离心后置于 $-80$ ℃保存。

**1.4 观察及检测指标:**于入ICU 3 h内、24 h及5 d 3个时间点分别记录患者的一般生命体征、急性生理学及慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分,观察患者临床病情变化。治疗过程中记录患者微生物学培养结果、ICU 住院时间、机械通气时间及临床转归。采用酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测血浆 IL-33、IL-6、IL-1 $\alpha$ 、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 及 IL-33 受体 sST2 水平,试剂盒购自美国 R&D 公司,操作按说明书要求进行。

**1.5 统计学方法:**用 SPSS 17.0 软件进行统计学分析。采用非参数 K-S 法进行正态评价,符合正态分布的计量资料以均数  $\pm$  标准差 ( $\bar{x} \pm s$ ) 表示,两组间比较采用两独立样本 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;非正态分布的计量资料以中位数 (四分位数) [ $M(Q_L, Q_U)$ ] 表示,两组间比较采用非参数 Mann-Whitney *U* 检验,多组间比较采用 Kruskal-Wallis 检验;相关性检验采用 Spearman 相关性分析;绘制受试者工作特征曲线 (ROC 曲线),获得 IL-33 诊断感染的临界值,计算敏感度、特异度; $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结果**

**2.1 各组一般情况比较 (表 1):**健康对照组、SIRS 组、脓毒症组性别、年龄及入 ICU 时 APACHE II 评分比较差异均无统计学意义 (均  $P > 0.05$ ),说明资料均衡,有可比性。

**2.2 各组 PCT、IL-33 比较 (表 2):**入 ICU 时,脓毒

**表 1 SIRS 组、脓毒症组患者及健康对照组一般情况比较**

组别	例数 (例)	性别 (例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	APACHE II 评分 [分, $M(Q_L, Q_U)$ ]
		男性	女性		
健康对照组	10	6	4	64 $\pm$ 11	
SIRS 组	11	6	5	61 $\pm$ 15	15.0 ( 9.0, 27.0)
脓毒症组	40	20	20	63 $\pm$ 14	18.0 (11.0, 25.0)
检验值		$\chi^2 = 1.314$		$F = 1.010$	$Z = -1.748$
<i>P</i> 值		0.127		0.363	0.080

注: SIRS 为全身炎症反应综合征, APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II;空白代表无此项

症组 PCT 水平较 SIRS 组明显升高 ( $P < 0.01$ ); SIRS 组、脓毒症组 IL-33 水平较健康对照组明显升高,且脓毒症组 IL-33 明显高于 SIRS 组 (均  $P < 0.01$ )。

**2.3 不同程度脓毒症组患者入 ICU 时 APACHE II 评分、PCT 和 IL-33 比较 (表 3):**随病情加重, APACHE II 评分、PCT、IL-33 水平均逐渐升高,一般脓毒症组、严重脓毒症组、感染性休克组组间比较差异均有统计学意义 ( $P < 0.05$  和  $P < 0.01$ )。

**表 2 SIRS 组、脓毒症组患者及健康对照组入时血中 ICUPCT、IL-33 比较**

组别	例数 (例)	PCT [ $\mu\text{g/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	IL-33 (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )
健康对照组	10		0.67 $\pm$ 0.24
SIRS 组	11	1.22 ( 0.69, 3.73)	1.25 $\pm$ 1.09 <sup>a</sup>
脓毒症组	40	52.23 (19.69, 73.37)	15.43 $\pm$ 7.22 <sup>ab</sup>
检验值		$Z = -2.447$	$F = 5.381$
<i>P</i> 值		$< 0.001$	$< 0.001$

注: SIRS 为全身炎症反应综合征, ICU 为重症加强治疗病房, PCT 为降钙素原, IL-33 为白细胞介素-33;与健康对照组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ ;与 SIRS 组比较, <sup>b</sup> $P < 0.01$ ;空白代表无此项

**表 3 不同程度脓毒症组患者入 ICU 时 APACHE II 评分及血中 PCT、IL-33 比较**

组别	例数 (例)	APACHE II 评分 [分, $M(Q_L, Q_U)$ ]	PCT [ $\mu\text{g/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	IL-33 (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )
一般脓毒症组	12	9.0 ( 8.0, 17.0)	32.21 (16.34, 54.32)	12.10 $\pm$ 1.09
严重脓毒症组	12	16.0 (10.0, 22.0) <sup>a</sup>	50.28 (19.69, 78.78) <sup>a</sup>	13.75 $\pm$ 13.52
感染性休克组	16	24.0 (21.0, 33.0) <sup>ac</sup>	73.83 (24.18, 200.00) <sup>ac</sup>	16.24 $\pm$ 12.53 <sup>bc</sup>
检验值		$Z = 9.947$	$Z = 7.009$	$F = 3.122$
<i>P</i> 值		0.008	0.022	0.022

注: ICU 为重症加强治疗病房, APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II, PCT 为降钙素原, IL-33 为白细胞介素-33;与一般脓毒症组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与严重脓毒症组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

**2.4 不同程度脓毒症组患者预后指标的比较 (表 4):**脓毒症组随着病情严重程度提高, ICU 住院时间和机械通气时间不断延长,且感染性休克组  $>$  严重脓毒症组  $>$  一般脓毒症组 ( $P < 0.01$  和  $P < 0.05$ )。

**表 4 不同程度脓毒症组患者预后指标比较**

组别	例数 (例)	ICU 住院时间 [d, $M(Q_L, Q_U)$ ]	机械通气时间 [h, $M(Q_L, Q_U)$ ]	转归 (例)	
				死亡	转科
一般脓毒症组	12	4.0 (2.0, 9.0)	1.0 (1.0, 3.0)	0	12
严重脓毒症组	12	6.0 (3.0, 22.5) <sup>a</sup>	5.0 (2.0, 18.0) <sup>a</sup>	0	12
感染性休克组	16	10.0 (2.0, 24.0) <sup>bc</sup>	9.0 (2.0, 24.0) <sup>bc</sup>	3	16
检验值		$Z = 9.740$	$Z = 6.495$	$\chi^2 = 8.384$	
<i>P</i> 值		0.008	0.028	0.032	

注: ICU 为重症加强治疗病房;与一般脓毒症组比较, <sup>a</sup> $P < 0.01$ , <sup>b</sup> $P < 0.05$ ;与严重脓毒症组比较, <sup>c</sup> $P < 0.05$

**2.5 脓毒症组患者入 ICU 后各时间点血浆 IL-33、APACHE II 评分、PCT 以及其他炎症因子的变化 (表 5):**随入 ICU 时间延长,脓毒症组患者 IL-33、APACHE II 评分、PCT、IL-6 逐渐下降 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ );而 IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、sST2 在整个实验过程中均无明显变化 (均  $P > 0.05$ )。

**2.6 脓毒症组患者入 ICU 后各时间点血浆 IL-33 与 APACHE II、PCT 及其他炎症因子的相关性 (表 6):**入 ICU 3 h 内, IL-33 与 APACHE II 评分、PCT、

表5 40例脓毒症患者入ICU各时间点IL-33、APACHE II评分、PCT及其他炎症因子的变化

时间	例数 (例)	IL-33 (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )	APACHE II评分 [分, $M(Q_L, Q_U)$ ]	PCT [ $\mu\text{g/L}, M(Q_L, Q_U)$ ]	IL-6 (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )	IL-1 $\beta$ (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )	TNF- $\alpha$ (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )	sST2 (ng/L, $\bar{x} \pm s$ )
入ICU 3 h内	40	15.43 $\pm$ 7.22	18.0 (11.0, 25.0)	52.23 (19.69, 73.37)	86.27 $\pm$ 35.46	8.47 $\pm$ 5.59	193.21 $\pm$ 84.17	3 215.01 $\pm$ 1 184.51
入ICU 24 h	40	11.82 $\pm$ 6.16	17.0 (9.0, 23.0)	45.12 (12.35, 71.47)	66.25 $\pm$ 27.78	7.73 $\pm$ 4.31	239.34 $\pm$ 98.55	3 246.00 $\pm$ 856.95
入ICU 5 d	40	5.55 $\pm$ 2.25	11.0 (8.0, 17.5)	5.45 (1.01, 18.29)	34.14 $\pm$ 11.62	7.15 $\pm$ 4.24	216.51 $\pm$ 88.54	2 799.00 $\pm$ 972.35
检验值		$F = 4.823$	$Z = 9.738$	$Z = 9.763$	$F = 4.782$	$F = 2.321$	$F = 2.222$	$F = 1.211$
P值		0.004	0.008	0.007	0.012	0.431	0.378	0.423

注: ICU为重症加强治疗病房, IL-33为白细胞介素-33, APACHE II为急性生理学与慢性健康状况评分系统II, PCT为降钙素原, IL-6、IL-1 $\beta$ 为白细胞介素-6、-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 为肿瘤坏死因子- $\alpha$ , sST2为IL-33受体

IL-6、IL-1 $\beta$ 、TNF- $\alpha$ 、sST2均呈显著正相关( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。入ICU 24 h时, IL-33与IL-6、IL-1 $\beta$ 均呈显著正相关(均 $P < 0.05$ )。入ICU 5 d时, IL-33与APACHE II评分、PCT、IL-6、sST2均呈显著正相关( $P < 0.05$ 或 $P < 0.01$ )。

表6 40例脓毒症患者入ICU各时间点血浆IL-33与APACHE II评分、PCT及其他炎症因子的相关性

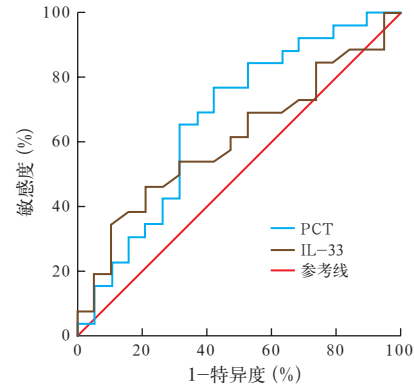
指标	3 h内		24 h		5 d	
	r值	P值	r值	P值	r值	P值
IL-33与APACHE II	0.351	0.031	0.302	0.227	0.311	0.026
IL-33与PCT	0.412	0.005	0.277	0.067	0.143	0.028
IL-33与IL-6	0.535	0.030	0.370	0.013	0.529	0.002
IL-33与IL-1 $\beta$	0.674	0.030	0.216	0.038	0.355	0.050
IL-33与TNF- $\alpha$	0.250	0.030	0.102	0.532	0.010	0.528
IL-33与sST2	0.620	< 0.001	0.170	0.161	0.272	0.036

注: ICU为重症加强治疗病房, IL-33为白细胞介素-33, APACHE II为急性生理学与慢性健康状况评分系统II, PCT为降钙素原, IL-6、IL-1 $\beta$ 为白细胞介素-6、-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$ 为肿瘤坏死因子- $\alpha$ , sST2为IL-33受体

**2.7 脓毒症患者IL-33与预后指标的相关性:**入ICU时脓毒症组患者血浆IL-33水平与ICU住院时间相关程度较弱( $r=0.296, P=0.013$ ),与机械通气时间呈中度相关( $r=0.385, P=0.011$ )。

**2.8 血浆IL-33对感染的诊断价值(图1):**根据ROC曲线计算IL-33、PCT诊断感染的ROC曲线下面积(AUC)分别为0.821、0.829。当IL-33截断值为13.79 ng/L时的敏感度为74.2%,特异度为79.6%;当PCT截断值为4.70  $\mu\text{g/L}$ 时的敏感度为87.5%,特异度为81.4%。

**2.9 脓毒症患者血浆IL-33与预后的关系(表7):**按28 d预后将40例脓毒症患者分为存活组和死亡组。随入ICU时间延长,存活组IL-33水平呈逐渐下降趋势( $P < 0.01$ ),死亡组IL-33水平呈上升趋势( $P > 0.05$ )。与存活组比较,死亡组入ICU 3 h内IL-33水平明显降低( $P < 0.05$ ),入ICU 24 h、5 d时IL-33水平显著升高( $P < 0.05$ 和 $P < 0.01$ )。



注: ICU为重症加强治疗病房, IL-33为白细胞介素-33, PCT为降钙素原, ROC曲线为受试者工作特征曲线

图1 脓毒症患者入ICU时血浆IL-33、PCT诊断感染性疾病的ROC曲线

表7 不同预后脓毒症患者入ICU各时间点血浆IL-33水平的变化比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	例数 (例)	IL-33 (ng/L)			F值	P值
		3 h内	24 h	5 d		
存活组	37	16.04 $\pm$ 8.62	6.76 $\pm$ 3.02	4.08 $\pm$ 1.33	7.798	< 0.01
死亡组	3	15.26 $\pm$ 10.59	17.73 $\pm$ 10.20	20.21 $\pm$ 12.92	37.283	> 0.05
t值		2.163	2.589	3.479		
P值		0.032	0.011	< 0.001		

注: ICU为重症加强治疗病房, IL-33为白细胞介素-33

### 3 讨论

IL-33作为新发现的一种细胞因子,在既往研究中发现其有下调炎症反应、降低脓毒症患者病死率的作用<sup>[4,6-8]</sup>。本研究通过检测脓毒症患者血浆IL-33水平,探讨IL-33在脓毒症中的变化规律。

Baekkevold等<sup>[7]</sup>曾提出,IL-33可作为“警报因子”在炎症反应中出现,在免疫系统引起组织损伤或反应中发挥重要作用。本研究发现,脓毒症组与SIRS组血浆IL-33水平较健康对照组明显上升,提示全身炎症反应状态时血浆IL-33升高。

已有研究显示, PCT是早期诊断脓毒症并能与SIRS鉴别的特异性较高的炎症指标,尤其是在革兰阴性(G<sup>-</sup>)杆菌引起的全身感染时, PCT水平明显升高<sup>[9-11]</sup>。在非感染性疾病如急性胰腺炎时

PCT 虽然也有上升,但升高不超过 0.5  $\mu\text{g/L}$ 。高艳霞等<sup>[12]</sup>的研究也指出,胆系感染引起的胰腺炎较其他原因引起的胰腺炎 PCT 升高更显著。与传统炎症指标相比,PCT 可更准确地反映促炎症因子升高情况<sup>[13]</sup>。血清 PCT 可同时反映疾病严重程度、转归及预后<sup>[14]</sup>。本研究显示,脓毒症患者入 ICU 时血浆 IL-33 与 PCT 呈明显正相关,由此推断 IL-33 可提示感染的存在。从 ROC 曲线所见,血浆 IL-33 的 AUC 为 0.821,对感染有诊断意义,且敏感度和特异度较高。

本研究还显示,一般脓毒症、严重脓毒症及感染性休克 3 组患者血浆 IL-33 水平逐层上升,且其水平与 APACHE II 评分呈正相关,表明脓毒症时血浆 IL-33 水平能够提示感染的严重程度,在出现器官功能不全或合并休克的脓毒症患者体内 IL-33 升高程度更显著。脓毒症患者入 ICU 时 IL-33 水平与 ICU 住院时间及机械通气时间呈正相关;脓毒症存活患者的基线 IL-33 水平较死亡患者高,但随入 ICU 时间延长,24 h、5 d 时存活患者体内 IL-33 水平逐渐下降,死亡患者 IL-33 水平则逐渐上升,且这两个时间点存活患者的 IL-33 水平均明显低于死亡患者。由此提示 IL-33 在感染性疾病初始可作为“预警因子”预测感染,在脓毒症疾病过程中还有可能参与其中的免疫调节,其变化趋势能提示疾病预后。

曾有研究者指出,IL-33 受体 sST2 在严重感染中对疾病的预后具有良好的预测意义,且与疾病严重程度有较好的相关性,sST2 水平与同时期患者体内 IL-6、IL-1、IL-10 水平显著相关<sup>[15]</sup>。在本研究中我们发现,脓毒症患者基线时 IL-33 水平与 sST2 具有良好的相关性,而随时间延长,在入 ICU 24 h、5 d 时两者之间已无相关性,提示在脓毒症过程中 IL-33 与 sST2 可能相互影响、作用,并影响疾病进程。本研究中我们还发现,sST2 在患者入 ICU 初始即上升至高水平,在 5 d 的观察过程中无显著下降,且不能随病情转归而发生变化,提示 sST2 不是急性期蛋白,对病情变化的预示能力不高;而 IL-33 与时间及病情变化平行,且其变化幅度对预后有良好的预测意义。既往国内也有研究显示,脓毒症患者通过免疫调理可以明显降低促炎因子 TNF- $\alpha$  水平,升高抗炎因子 IL-10 水平,轻度提高体液免疫中 IgG 水平,升高细胞免疫中 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞数,提高脓毒症患者的住院生存率<sup>[16]</sup>。提示免疫调理或

对 IL-33 所作用的免疫通路进行一定的干预作用,可能改善患者的预后。

综上所述,本研究显示,IL-33 在 SIRS 患者合并感染的诊断、脓毒症严重程度的判断以及对预后的提示方面均有一定意义。而 IL-33 在炎症反应过程中的免疫调节作用及机制有待进一步探讨。

## 参考文献

- [1] Kurowska-Stolarska M, Kewin P, Murphy G, et al. IL-33 induces antigen-specific IL-5<sup>+</sup> T cells and promotes allergic-induced airway inflammation independent of IL-4 [J]. *J Immunol*, 2008, 181 (7): 4780-4790.
- [2] Carriere V, Roussel L, Ortega N, et al. IL-33, the IL-1-like cytokine ligand for ST2 receptor, is a chromatin-associated nuclear factor in vivo [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2007, 104 (1): 282-287.
- [3] Seki K, Sanada S, Kudinova AY, et al. Interleukin-33 prevents apoptosis and improves survival after experimental myocardial infarction through ST2 signaling [J]. *Circ Heart Fail*, 2009, 2 (6): 684-691.
- [4] Cummings CJ, Martin TR, Frevert CW, et al. Expression and function of the chemokine receptors CXCR1 and CXCR2 in sepsis [J]. *J Immunol*, 1999, 162 (4): 2341-2346.
- [5] Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine [J]. *Chest*, 1992, 101 (6): 1644-1655.
- [6] Sponheim J, Pollheimer J, Olsen T, et al. Inflammatory bowel disease-associated interleukin-33 is preferentially expressed in ulceration-associated myofibroblasts [J]. *Am J Pathol*, 2010, 177 (6): 2804-2815.
- [7] Baekkevold ES, Roussigné M, Yamanaka T, et al. Molecular characterization of NF-HEV, a nuclear factor preferentially expressed in human high endothelial venules [J]. *Am J Pathol*, 2003, 163 (1): 69-79.
- [8] Alves-Filho JC, Sônego F, Souto FO, et al. Interleukin-33 attenuates sepsis by enhancing neutrophil influx to the site of infection [J]. *Nat Med*, 2010, 16 (6): 708-712.
- [9] Tang BM, Eslick GD, Craig JC, et al. Accuracy of procalcitonin for sepsis diagnosis in critically ill patients: systematic review and meta-analysis [J]. *Lancet Infect Dis*, 2007, 7 (3): 210-217.
- [10] 刘慧琳,刘桂花,马青变. 降钙素原对急诊脓毒症患者早期诊断的价值[J]. *中国危重病急救医学*, 2012, 24 (5): 298-301.
- [11] 邢豫宾,戴路明,赵芝焕,等. 血清降钙素原和常用炎症指标结合 SOFA 评分对脓毒症早期诊断和预后价值的评价[J]. *中国危重病急救医学*, 2008, 20 (1): 23-28.
- [12] 高艳霞,李莉,李毅,等. 降钙素原在急性胰腺炎病情判断中的意义[J]. *中国中西医结合急救杂志* 2014年, 20 (3): 201-204.
- [13] 杜斌,陈德昌,潘佳琦,等. 降钙素原与白介素-6 的相关性优于传统的炎症指标[J]. *中国危重病急救医学*, 2002, 14 (8): 474-477.
- [14] 俞娅芬,陈德昌,宋秀琴. 早期诊断严重脓毒症脓毒性休克研究进展[J]. *中国急救医学*, 2007, 27 (2): 154-156.
- [15] Hoogerwerf JJ, Tanck MW, van Zoelen MA, et al. Soluble ST2 plasma concentrations predict mortality in severe sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 2010, 36 (4): 630-637.
- [16] 黄顺伟,管向东,陈娟,等. 免疫调理治疗改善脓毒症炎症因子、体液和细胞免疫以及预后的作用[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2009, 3 (10): 1645-1652.

(收稿日期: 2014-03-12)

(本文编辑: 孙茜)

## 大鼠多发伤致凝血功能障碍模型的建立

包卿 刘政 楚鹰 沈文明 郑旭文 梁华平 岳茂兴

**【摘要】目的** 建立符合临床条件的多发伤致凝血功能障碍大鼠模型。**方法** 雄性SD大鼠60只,按随机数字表法分为正常组及模型4、6、12、24、48 h组,每组10只。造成大鼠重型颅脑损伤、双股骨折、开腹及腹主动脉放血20%制成多发伤模型;各时间点采集腹主动脉血,用血栓弹力图(TEG)检测凝血反应时间(R值)、血块生成时间(K值)、血块生成率(Angle)、最大宽度值(MA)。**结果** 伤后4 h R值( $1.83 \pm 0.41$ )较正常组降低( $2.20 \pm 0.60$ ,  $P > 0.05$ ),12 h开始升高( $2.58 \pm 0.48$ ,  $P > 0.05$ ),24 h时即明显升高( $3.10 \pm 0.20$ ,  $P < 0.05$ ),48 h达高峰( $3.40 \pm 0.58$ , 均  $P < 0.05$ )。伤后各时间点K值和Angle无明显变化。伤后4 h MA(mm :  $76.73 \pm 2.33$ )即开始较正常组增加( $70.40 \pm 4.00$ ,  $P > 0.05$ ),24 h显著增加( $84.03 \pm 1.93$ ,  $P < 0.01$ ),48 h达高峰( $84.58 \pm 2.10$ ,  $P < 0.01$ )。**结论** 大鼠多发伤早期即有凝血功能障碍,与临床相符,说明大鼠模型建立成功。

**【关键词】** 动物模型; 多发伤; 凝血功能障碍; 血栓弹力图

创伤性凝血功能障碍(TIC)发生率及病死率极高<sup>[1]</sup>,有必要进行研究,但目前尚缺乏与临床相符的动物模型。本实验旨在建立大鼠多发伤模型,并用血栓弹力图(TEG)进行检测,以期研究TIC的发生机制及治疗提供基础。

## 1 材料与方 法

**1.1 主要仪器:** ZH-ZYQ型自由落体脑损伤模型打击器、TEG 5000型血栓弹力图检测仪(美国Haemoscope公司)。

**1.2 动物及分组:** 雄性SD大鼠60只,体质量( $180 \pm 20$ )g,由第三军医大学外科研究所实验动物中心提供,动物合格证号:SCXK(军)2012-0013。按随机数字表法将大鼠分为正常组及模型4、6、12、24、48 h组,每组10只。

**1.3 多发伤模型制作:** 用10%水合氯醛4 mL/kg腹腔注射麻醉大鼠,然后固定于立体定向仪上,头部备皮消毒后剪开头皮、剥离骨膜,麻花钻于矢状缝右侧2 mm、冠状缝后4 mm处钻一直径为5 mm的圆形窗,保持硬脑膜完整。使用自由落体脑损伤模型打击器,用40 g砝码于25 cm处落下造成重度损伤,打击力1 000 g/cm,完成后缝合头皮;同时于双下肢股外侧切开皮肤及皮下组织,沿股外侧肌间隔钝性分离暴露股骨干,于股骨中段用组织剪横行剪断,止血后缝合皮肤。随后仰卧位固定大鼠,消毒后沿腹中线自耻骨上至胸骨下剪开皮肤与腹膜,充分暴露腹腔,自左向右轻推移肠管,显露出腹后壁,清除腹膜后脂肪组织,穿刺点为左右髂动脉分叉处向心端1~3 mm处,抽取动脉血量约为大鼠总血容量的20%,压迫止血后将肠管归位,缝合腹膜及皮肤,消毒后放回

鼠笼内正常喂水喂食饲养。正常组不予任何处理。

**1.4 标本采集及检测:** 于腹主动脉采集血液标本,使用1 mL注射器预先吸取0.1 mL枸橼酸钠,抽血0.9 mL后,迅速将血样注入采血管中,轻轻颠倒5~10次混匀血样。将1 mL血样送第三军医大学附属大坪医院输血科进行TEG检测。

TEG参数包括:R值:凝血反应时间,反映凝血因子活性;K值:血块生成时间,反映纤维蛋白交联情况;Angle:血块生成率,反映整体血块形成的速率,与纤维蛋白原浓度和血小板功能状态相关;MA:最大宽度值,反映血块的最大强度,主要反映血小板的功能,也能反映纤维蛋白原水平。

**1.5 统计学分析:** 采用SPSS 16.0统计软件,数据以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,多组间比较用单因素方差分析,两两比较采用Dunnett-t检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

## 2 结 果

TEG检测结果(表1)显示,伤后4 h R值即较正常组降低,12 h开始升高,48 h达到高峰;24 h、48 h时R值较正常组明显升高(均  $P < 0.05$ )。伤后各时间点K值和Angle变化不大,与正常组比较差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。伤后4 h MA即较正常组开始延长,48 h达到高峰;24 h、48 h时MA明显高于正常组(均  $P < 0.01$ )。

表1 多发伤致凝血功能障碍模型大鼠各时间点TEG参数的变化( $\bar{x} \pm s$ )

组别	动物数 (只)	R值 (min)	K值 (min)	Angle (°)	MA (mm)
正常组	10	$2.20 \pm 0.60$	$0.80 \pm 0.00$	$79.73 \pm 1.21$	$70.40 \pm 4.00$
模型组 4 h	10	$1.83 \pm 0.41$	$0.80 \pm 0.00$	$81.75 \pm 3.29$	$76.73 \pm 2.33$
6 h	10	$1.90 \pm 0.36$	$0.80 \pm 0.00$	$80.57 \pm 1.90$	$72.63 \pm 3.06$
12 h	10	$2.58 \pm 0.48$	$0.80 \pm 0.00$	$80.98 \pm 1.43$	$80.08 \pm 2.55$
24 h	10	$3.10 \pm 0.20^a$	$0.80 \pm 0.00$	$80.40 \pm 1.89$	$84.03 \pm 1.93^b$
48 h	10	$3.40 \pm 0.58^a$	$0.80 \pm 0.00$	$80.50 \pm 1.24$	$84.58 \pm 2.10^b$

注:TEG为血栓弹力图,R值为凝血反应时间,K值为血块生成时间,Angle为血块生成率,MA为最大宽度值;与正常组比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ,<sup>b</sup> $P < 0.01$

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.02.013

基金项目:江苏省医药卫生重大课题项目(Z201013);第三军医大学国家重点实验室开放课题(SKLF201312);国家发明专利(ZL2010 1 0248451.9)

作者单位:213002 江苏常州,江苏大学附属武进医院(包卿、楚鹰、沈文明、郑旭文、岳茂兴);400042 重庆,第三军医大学创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室(刘政、梁华平)

通讯作者:岳茂兴,Email: yuemx888@163.com

### 3 讨论

TIC 及凝血病是世界性的治疗难题, 失血是创伤患者入院后早期死亡的首要原因, 第一个 24 h 失血者占 50%。25%~35% 的创伤患者存在凝血功能障碍, 合并 TIC 者病死率升高 4 倍<sup>[2]</sup>。创伤患者在急性创伤性凝血功能障碍 (ATC) 的基础上, 于低温、酸中毒、血液稀释、炎症反应等因素的共同作用下, 出现凝血功能障碍, 称为 TIC<sup>[3]</sup>。如果凝血功能障碍得不到及时纠正, 其病死率极高, 可达到 80%<sup>[4]</sup>。因此, 早期治疗纠正 TIC 成为目前研究的重点<sup>[5]</sup>。

目前用于研究 TIC 的主要动物模型为创伤休克模型, 一般为单一创伤。而临床上大量危重伤员均为多发伤<sup>[6]</sup>, 因此需要一个与临床相符的多发伤动物模型。本实验通过造成大鼠重型颅脑损伤、双股骨骨折、开腹及腹主动脉放血 20%, 制成大鼠多发伤模型。TEG 检测证实 R 值 4 h 时缩短, 12 h 开始升高, 48 h 达到高峰, 说明伤后早期为高凝状态, 而

后期出现纤溶状态, 与临床相一致。为研究凝血功能障碍的发生机制及治疗提供了良好的模型基础。

### 参考文献

- [1] MacLeod JB, Winkler AM, McCoy CC, et al. Early trauma induced coagulopathy (ETIC): prevalence across the injury spectrum [J]. Injury, 2014, 45 (5): 910-915.
- [2] Katrantha ED, Gonzalez LS 3rd. Trauma-induced coagulopathy [J]. Crit Care Nurse, 2014, 34 (4): 54-63.
- [3] Cardenas JC, Wade CE, Holcomb JB. Mechanisms of trauma-induced coagulopathy [J]. Curr Opin Hematol, 2014, 21 (5): 404-409.
- [4] Gonzalez E, Moore EE, Moore HB, et al. Trauma-Induced Coagulopathy: An Institution's 35 Year Perspective on Practice and Research [J]. Scand J Surg, 2014, 103 (2): 89-103.
- [5] 岳茂兴, 夏锡仪, 李瑛, 等. 丰诺安联用大剂量维生素 B6 新疗法救治严重创伤后凝血病大出血患者的临床研究[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (5): 310.
- [6] 齐洛生, 杨宏富, 孙荣青, 等. 严重外伤患者的凝血功能变化 [J]. 中国危重病急救医学, 2010, 22 (6): 379-380.

(收稿日期: 2014-10-15) (本文编辑: 李银平)

## • 科研新闻速递 •

### 严重脓毒症和脓毒性休克患者乳酸 / 白蛋白比值与器官衰竭和病死率相关

近期中国学者设计了一项在重症加强治疗病房 (ICU) 的前瞻性队列研究, 旨在探讨乳酸 / 白蛋白比值是否可作为严重脓毒症和脓毒性休克患者多器官功能障碍综合征 (MODS) 和病死率的预测因子。该研究纳入了 54 例严重脓毒症或脓毒性休克患者, 收集其临床数据以确定乳酸 / 白蛋白比值与 MODS 进展和病死率之间的关系。结果显示: 第 1 日和第 2 日的乳酸 / 白蛋白比值在 MODS 患者中更高 [第 1 日: MODS 组 (30 例) 比非 MODS 组 (24 例), 2.295 (1.818, 3.065) 比 1.550 (1.428, 1.685),  $P < 0.001$ ; 第 2 日: MODS 组 (26 例) 比非 MODS 组 (23 例), 1.810 (1.377, 2.448) 比 1.172 (1.129, 1.382),  $P = 0.002$ ]。在 ICU 期间乳酸 / 白蛋白比值可独立预测 MODS 的进展 [比值比 (OR) = 5.5, 95% 可信区间 (95%CI) = 1.1 ~ 26.1,  $P = 0.033$ ]。乳酸 / 白蛋白比值预测 MODS 和病死率的受试者工作特性曲线下面积 (AUC) 分别为 0.845 8 和 0.844 9。同时研究显示, 急性生理学及慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分越高, 第 1 日和第 2 日的乳酸 / 白蛋白比值越高 ( $r_1 = 0.531 5$ ,  $r_2 = 0.540 8$ , 均  $P < 0.001$ )。氧合指数 (PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub>) 越低, 第 1 日和第 2 日的乳酸 / 白蛋白比值越高 ( $r_1 = -0.514 3$ ,  $r_2 = -0.542 0$ , 均  $P < 0.001$ )。该研究证实, 乳酸 / 白蛋白比值增加与严重脓毒症和脓毒性休克患者 MODS 进展及病死率相关。

喻文, 罗红敏, 编译自《J Crit Care》, 2014-11-11

### 严重脓毒症和脓毒性休克患者心肌功能障碍与炎症细胞因子无相关性

体外研究表明, 循环中炎症细胞因子可引起心肌功能障碍。然而, 并没有体内的临床研究证实是否血清炎症细胞因子浓度与心肌功能障碍相关。因此, 近期有学者进行了一项临床研究, 对 105 例严重脓毒症或脓毒性休克患者进行超声心动图, 测定血清炎症细胞因子白细胞介素 (IL-6、IL-8、IL-1 $\beta$ 、IL-18、IL-10)、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ )、单核细胞趋化因子-1 $\alpha$  (MCP-1 $\alpha$ ), 以及心脏生物标志物超敏肌钙蛋白 T (hs-cTnT)、N 末端脑钠肽前体 (NT-proBNP) 水平; 并分析细胞因子和生物标志物与左室收缩和舒张功能障碍、脓毒症严重程度及病死率的相关性。结果显示: 左室射血分数 (LVEF)  $< 0.50$  或  $< 0.55$  的收缩功能障碍者分别有 13 例 (12%)、24 例 (23%), 组织多普勒二尖瓣环处 e' 峰速度  $< 8$  cm/s 或二尖瓣 E 峰速度与二尖瓣环处 e' 峰速度比值 (E/e') 负比的舒张功能障碍者分别有 53 例 (50%)、26 例 (25%)。44 例患者 (42%) 在院内死亡。除 IL-1 外, 所有细胞因子与序贯器官衰竭评分 (SOFA)、急性生理学及慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分均具有相关性, 所有细胞因子均可预测患者病死率。IL-10、IL-18 可独立预测病死率 [比值比 (OR) = 3.1,  $P = 0.006$ ; OR = 28.3,  $P < 0.000 1$ ]。而细胞因子与 LVEF、舒张期末容积指数 (EDVI)、每搏量指数 (SVI) 或组织多普勒 s' 波、e' 波速度均无显著相关性。同样, 无论是在高或低 LVEF、EDVI、SVI、s' 波和 e' 波速度的患者中, 细胞因子水平差异均无统计学意义。与此相反, NT-proBNP 与 LVEF 及 e' 波速度降低密切相关, hs-cTnT 主要与 e' 波速度减少相关。该研究证实: 在严重脓毒症或脓毒性休克患者中, 炎症细胞因子与心脏收缩或舒张功能障碍并无明显相关性。

喻文, 罗红敏, 编译自《Chest》, 2015-01-15 (电子版)