

脓毒症的免疫反应与炎症

贺能英 严启滔 郭振辉

脓毒症是指由感染引起的全身炎症反应综合征(SIRS),是临床危重患者最主要的死亡原因之一。目前包括活化蛋白C在内的多种治疗药物及手段,经过循证医学检验均提示无明显疗效,病死率居高不下,脓毒症的治疗陷入举步维艰的境况。随着对脓毒症认识的不断深入,研究发现脓毒症是以非特异性免疫功能障碍为主的免疫麻痹,呈低免疫状态。故免疫失衡是脓毒症发展的关键,而对脓毒症期间免疫反应与炎症演变的认识能让我们更好地认识和治疗脓毒症。

1 SIRS、代偿性抗炎反应综合征(CARS)和混合性抗炎反应综合征(MARS)

在应激状态下,创伤、感染等因素激活补体系统、免疫细胞和其他基质细胞,引起局部组织的防御反应,主要表现为炎症反应。在这一过程中产生的细胞因子和其他代谢产物可增强机体抵抗力,促进组织修复;但是,失控或过度激活的防御反应所释放的大量细胞因子等炎性介质,可引起强烈的全身性炎症反应,临床上称SIRS。

脓毒症免疫反应失调的原因尚待研究。炎症因子的系统性释放导致了全身性炎症的发生。这些循环炎性因子的首要目标是位于血管和组织之间毛细血管内的单层内皮细胞。当“炎性因子风暴”导致血管内皮细胞损伤和随之发生微循环障碍时,即可发生缺血/再灌注损伤。微循环障碍加剧了原有的炎症反应,并最终导致多器官功能衰竭(MOF),被认为是脓毒症进展到严重临床结果的中心环节。

将研究成果转化为成功的治疗手段仍然是研究人员面临的主要挑战。严重脓毒症患者治疗水平的提高得益于早期诊断、有效的抗菌药物治疗和采用积极的治疗以稳定血流动力学状态。尽管支持治疗

水平不断提高,但脓毒性休克和MOF患者仍然缺乏有效的治疗手段。这个残酷的现状导致我们对脓毒症的一些基本观点产生质疑。急性的、不平衡的促炎反应是导致脓毒性休克的初始步骤,这一基本认识曾经被看作是真理,同时也产生了认识上的分歧。

1992年, Bone和同伴发布的脓毒症的临床定义^[1]已经被应用到筛选脓毒性休克患者的临床实践中。脓毒性休克的定义为感染引起的SIRS合并顽固性低血压,脓毒性休克的病理生理机制是感染后的“炎性因子风暴”导致死亡。虽然最初这一机制被有限的实验结果所支持^[2-3],但它已被用于所有的实验研究。

这种“本末倒置”的研究假设导致了最初的病理生理假说——“急性炎症模型表明促炎标志物的产生增加”得到了大量文献支持,然而,在动物模型中仅仅注入一种关键促炎因子[如肿瘤坏死因子- α (TNF- α)、白细胞介素- 1β (IL- 1β)、 γ -干扰素(IFN- γ)]就可致命^[4-5]。这些研究结果得到了早期临床研究数据(脓毒性休克患者的促炎因子水平上升,并且促炎因子全身性水平与患者的临床严重程度相关)的印证^[6-9]。从这些研究中得出的结论是:长期和压倒性的SIRS导致了脓毒性休克。这些研究的主要局限性是所采用的动物模型主要是内毒素血症模型和所检测的细胞因子仅限于标准的促炎因子。

基于靶向内毒素的单克隆抗体疗法不能改善临床结果这一临床事实^[10-11], Bone^[2]推测SIRS可能不是脓毒性休克的唯一原因,从而引出了CRAS和MARS的概念^[2]。

然而,直到Osuchowski等^[12]使用盲肠结扎穿孔术(CLP)小鼠模型证实了在脓毒性休克期间SIRS和CARS的关系,才使这些概念深入人心。在这些研究中,抗炎反应一般与促炎反应同时发生。至关重要的是,这些研究者还观察到,在非存活的动物中抗炎因子IL-10的峰值比促炎因子TNF- α 的峰值出现得早,这就表明早期免疫抑制状态可能发生在SIRS前。随后有研究者根据28d病死率将脓毒症

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.06.004

基金项目:全军医药卫生科研项目重点专项(10BJZ09);广东省科技计划项目(2012A061400010);广东省广州市科研条件建设项目(穗科信字[2012]224-5号)

作者单位:510010 广东广州,广州军区广州总医院老年重症医学科,广东省老年感染与器官功能支持重点实验室,广州市老年感染与脏器功能支持重点实验室

通讯作者:郭振辉, Email: micugzh@126.com

患者分为存活组与死亡组,结果发现,脓毒症早期血清 IL-18 与 IL-10 浓度升高,且死亡组高于存活组,随病程进展 IL-18 呈下降趋势,而 IL-10 呈上升趋势,可见 IL-10 在整个脓毒症期间持续偏高,抗炎持续存在^[13]。最近, Osuchowski 等^[14]又通过感染性休克小鼠模型发现,急性和慢性脓毒症中的 SIRS 与 CARS 混合出现,这就印证了 Bone 第一个提出的 MARS 假说^[2]。

2 前抗炎反应综合征 (PARS)

长期以来我们认为抗炎因子的升高是为了控制和防止炎症反应的有害影响。这个假说很好地说明了 IL-10 在急性炎症模型中具有保护作用^[15]。随着人们对脓毒症免疫状态的不不断认识,促炎/抗炎反应在持续演变中。Huet 和 Chin-Dusting^[16]提出一个假说:局部和(或)全身性的 PARS 可能会损害固有免疫反应(图1)。因此,最初被认为是有益的抗炎反应具有两面性:允许不恰当的病原菌生长并攻克机体防御;在试图控制这些病原体入侵时产生了严重的炎症反应。总而言之,这些研究发现对临床治疗产生了直接影响并在不久的将来得到了验证。尽管我们对炎症反应动力学的理解仍需向前发展,我们认为目前脓毒症的定义可能是不准确的,并且不能导向脓毒症早期的炎症反应,因为这可能损害固有免疫反应。另一方面,针对性治疗在感染得到控制时似乎更有效,而不是在 SIRS 阶段。因此干预时机的选择必须进行仔细的评估。应该挑选从中获益最大的患者,而根据脓毒性休克一般定义募集的各类患者组成的大型随机化临床试验并不是最好的策略。

脓毒性休克不仅仅是“炎症性风暴”,而是比其更复杂的疾病。最近的研究报告显示,在疾病的进程中促炎/抗炎反应之间有着更为复杂的联系。这些报告代表了目前认识的转变,尽管“炎症性风暴”仍然为大家所认可,但是,在对“初始抗炎失调”这一认识背景下,PARS 观念被提了出来。这一概念解

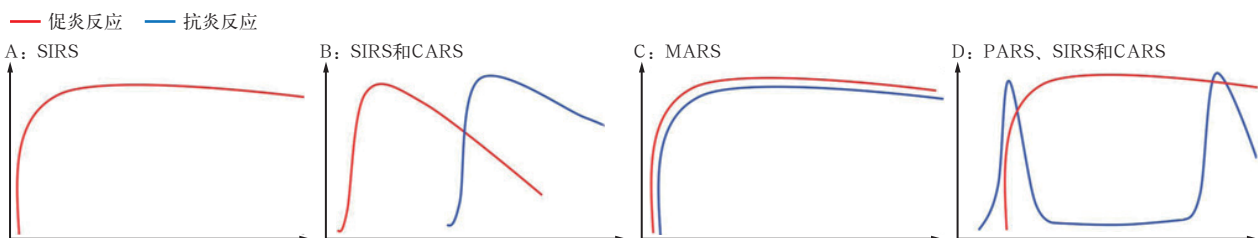
释了为什么抗炎治疗,特别是在疾病的发病阶段进行,不能改善脓毒性休克患者的预后。

3 持续炎症-免疫抑制代谢异常综合征 (PICS)

传统 SIRS-CARS 模式组成要素是早期促炎和晚期抗炎。一些试验数据表明,重症加强治疗病房(ICU)免疫抑制患者持续炎症反应比初始炎症反应减弱^[17]。这种持续炎症反应的特征为:血浆 IL-6 增加、一个持久的急性期反应、中性粒细胞增多以未成熟粒细胞为主、贫血、淋巴细胞减少和频繁心动过速。尽管患者有严重的免疫抑制,但炎症持续存在。重要的是,混乱的炎症-免疫抑制过程消耗了脂肪和蛋白质分解代谢的能量。尽管积极进行营养干预,但持续的分解代谢导致大量体质损失和功能状态比例下降。Gentile 等^[18]将 PICS 替代 ICU 脓症患者晚期出现的 MOF。PICS 患者需延长 ICU 住院时间和常规 ICU 临床监测,诊断标准见表1。马晓春和陈铭铭^[19]认为 PICS 是 ICU 滞留患者炎症、免疫及代谢状态的新解说。PICS 是目前管理同时存在慢性炎症和适应性免疫抑制,是预防院内二次感染及严重的蛋白质分解代谢的挑战。PICS 同时存在多种免疫和生理缺陷,需要多种模式治疗。

不幸的是,当 PICS 被认可时,修正 PICS 的发展过程很困难且患者功能状态的恢复很罕见。新模式的主要挑战是:确定 PICS 发展过程的早期阶段;了解 PICS 潜在的病理生理;对 PICS 采取适当的多模式靶向疗法。我们认为,来自循证指南的计算机化临床决策支持 (CCDS) 患者管理系统将是识别 PICS 及治疗干预发展的一个最好的优化治疗平台^[20-21]。

严重脓毒症和脓毒性休克急性治疗相关的费用可能是巨大的,更令人失望的是,随着治疗技术的改进,PICS 的治疗费用还会不断增加。PICS 的特征和管理需要新技术来直接监测,并在必要时对患者个人营养状况和免疫反应进行调节。PICS 的管理应充分利用现有的证据为基础的准则和基于计算机



注: SIRS 为全身炎症反应综合征, CARS 为代偿性抗炎反应综合征, MARS 为混合性抗炎反应综合征, PARS 为前抗炎反应综合征

图1 脓毒性休克期间促炎/抗炎反应的演变

表 1 PICS 的临床诊断及实验研究方法

PICS 的临床诊断	研究和实验方法
持续时间 住院时间 > 14 d	炎症 液流相蛋白芯片技术 (Luminex™) 检测 IL-6、IL-10、IL-1RA、PCT； 白细胞基因表达模式, 如 ARG1、NOS2、IL-1RA、SILR2、MMP-8、MMP-9、MMP-2
炎症 C-反应蛋白 > 150 mg/L	免疫抑制 单核细胞麻痹； 体内细胞因子产生减少；
免疫抑制 淋巴细胞总数 < 0.80 × 10 ⁹ /L	HLA-DR 表达减少； 吞噬功能降低
分解代谢 血清白蛋白浓度 < 30 g/L； 肌酐升高指数 < 80%； 住院期间体质量下降超过 10% 或体质指数 < 18 kg/m ² ； 前白蛋白 < 10 g/L； 视黄醇结合蛋白 < 10 mg/L	T 细胞衰竭 抑制性分子的表达, 如 PD-L1、CTLA-4、BTLA、HVEM； T 细胞增殖减少； Th2 极化； 调节性 T 细胞数量增加且活性降低

注: PICS 为持续炎症 - 免疫抑制代谢异常综合征, IL-6、IL-10 为白细胞介素 -6/-10, IL-1RA 为白细胞介素 -1 受体拮抗剂, PCT 为降钙素原, ARG1 为精氨酸酶, NOS2 为诱导型一氧化氮合酶 2, SILR2 为血清可溶性白细胞介素 -2 受体, MMP-8、MMP-9、MMP-2 为基质金属蛋白酶 8/9/2, HLA-DR 为人白细胞 DR 抗原, PD-L1 为程序性死亡因子配体 -1, CTLA-4 为细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 -4, BTLA 为 B、T 淋巴细胞衰减因子, HVEM 为单纯疱疹病毒侵入介质, Th 为辅助性 T 细胞

技术在床旁实施。具有特征性患者的标准化治疗的多中心临床试验需要多个临床专家的合作。

目前认为, 导致脓毒症抗炎免疫反应可能主要与下列因素有关^[22]: ① 单核吞噬细胞 (MC) 数量及功能异常。严重脓症患者早期目标导向治疗可以升高细胞免疫中 CD4⁺T 淋巴细胞数及 CD14⁺ 单核细胞人白细胞 DR 抗原 (HLA-DR) 水平, 明显降低促炎因子 TNF-α 水平, 升高抗炎因子 IL-10 水平, 并改善严重脓毒症患者的住院存活率^[23]。同样有研究发现提高单核细胞 HLA-DR 表达水平, 改善患者的免疫功能, 动态监测单核细胞 HLA-DR 的定量表达有助于更精确地了解烧伤患者的免疫功能状态及预后判断, 但其确切的应用价值仍有待多中心大样本临床试验进行评估^[24-25]。② 树突细胞 (DC) 丢失或功能异常。③ 辅助性 T 细胞 1/2 (Th1/Th2) 失衡。动态观察脓毒症时 T 细胞亚群发现, 脓毒症的免疫状态在疾病的不同阶段表现不同, 随着病情进展免疫抑制状态持续并恶化则预示疾病预后不良^[26]。韩璐等^[27]采用 CLP 复制脓毒症小鼠模型发现, 脾淋巴细胞凋亡明显增加, 成为脓毒症免疫抑制的重要机制。腹腔感染大鼠免疫细胞功能抑制, 表现为 Th1/Th2 比值减少, 其机制与肠源性内毒素介导调节性 T 细胞 (Treg) 比例和活性增加有关; 清热解毒方剂可能通过调节 Treg 比例来减少 Th1 向 Th2 的漂移, 从而起到维持机体免疫平衡的作用^[28]。研究报道 Th2 细胞和抗炎反应优势是导致感染加剧和多器官功能障碍综合征 (MODS) 的主要原因^[29]。④ Treg 细胞介导免疫无反应性。CD4⁺CD25⁺Treg 作为具有独立功

能的 T 细胞亚群, 可表现出免疫无能性和免疫抑制性两大特征。血必净注射液能显著促进内毒素介导 Treg 的凋亡, 并呈一定剂量的剂量 - 效应关系, 且能有效降低脓症患者 Treg 的异常表达, 有降低脓症患者病死率的趋势^[30-31]; 而衡炎方具有双向调节脓毒症免疫紊乱, 减轻脓症患者全身炎症反应, 改善脓症患者免疫抑制的作用^[32]。赵鸣雁等^[33]应用胸腺肽 α₁ 能有效逆转严重脓毒症患者的免疫抑制状态。同时, 胸腺肽 α₁ 可改善严重脓毒症患者的免疫状态, 特别是对轻中度免疫抑制状态的患者效果较好, 而在重度免疫抑制患者短期内难以改善, 持续治疗仍可获益^[34]。⑤ Toll 样受体 (TLR) 负性调节因子与内毒素耐受。随着对脓毒症免疫研究的进展, 免疫抑制因子 [包括负性共刺激分子程序性死亡因子 -1 (PD-1) 及其配体 (PD-L1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 -4 (CTLA-4) 和 B、T 淋巴细胞衰减因子 (BTLA)] 表达水平上调, 脾脏内皮细胞表面 PD-L1 表达水平显著上调, 单纯疱疹病毒侵入介质 (HVEM) 显著增高, 免疫抑制细胞数量增加。换言之, 这些脓症患者死亡前呈现显著的免疫抑制状态, 提示如果采用针对性免疫增强疗法, 可能有助于改善脓毒症免疫抑制患者的预后^[35]。

4 展 望

严重的免疫系统功能紊乱是脓毒症的共同病理生理学改变。最近的报告表明, 脓毒性休克期间炎症反应是促炎 / 抗炎因子复杂的重叠。在利用脓毒症动物模型进行研究时, 应该把这些最近的研究结果纳入考虑, 这样才能保证将从动物实验中获取

的研究成果精确地应用到为每位患者确定适当的治疗手段的临床实践中去。因此,无论是动物模型还是临床患者,对于脓毒症免疫状态精心制定的干预措施比随意的干预措施更可能成功。这种方法在逻辑上极具挑战性,并且很消耗时间和资源。尽管这种治疗策略是如此的复杂,但我们必须把当前取得的极具前景的基础性研究成果转化为成功的临床实践,从而改善脓毒症目前的治疗状况。

参考文献

- [1] 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.
- [2] Bone RC. Sir Isaac Newton, sepsis, SIRS, and CARS [J]. *Crit Care Med*, 1996, 24 (7): 1125-1128.
- [3] Oberholzer A, Oberholzer C, Moldawer LL. Sepsis syndromes: understanding the role of innate and acquired immunity [J]. *Shock*, 2001, 16 (2): 83-96.
- [4] Creasey AA, Stevens P, Kenney J, et al. Endotoxin and cytokine profile in plasma of baboons challenged with lethal and sublethal *Escherichia coli* [J]. *Circ Shock*, 1991, 33 (2): 84-91.
- [5] Mathison JC, Wolfson E, Ulevitch RJ. Participation of tumor necrosis factor in the mediation of gram negative bacterial lipopolysaccharide-induced injury in rabbits [J]. *J Clin Invest*, 1988, 81 (6): 1925-1937.
- [6] Casey LC, Balk RA, Bone RC. Plasma cytokine and endotoxin levels correlate with survival in patients with the sepsis syndrome [J]. *Ann Intern Med*, 1993, 119 (8): 771-778.
- [7] Gårdlund B, Sjölin J, Nilsson A, et al. Plasma levels of cytokines in primary septic shock in humans: correlation with disease severity [J]. *J Infect Dis*, 1995, 172 (1): 296-301.
- [8] Riordan FA, Marzouk O, Thomson AP, et al. Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in meningococcal disease [J]. *Arch Dis Child*, 1996, 75 (5): 453-454.
- [9] Pinsky MR, Vincent JL, Deviere J, et al. Serum cytokine levels in human septic shock. Relation to multiple-system organ failure and mortality [J]. *Chest*, 1993, 103 (2): 565-575.
- [10] Ziegler EJ, Fisher CJ Jr, Sprung CL, et al. Treatment of gram-negative bacteremia and septic shock with HA-1A human monoclonal antibody against endotoxin. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. The HA-1A Sepsis Study Group [J]. *N Engl J Med*, 1991, 324 (7): 429-436.
- [11] Greenman RL, Schein RM, Martin MA, et al. A controlled clinical trial of E5 murine monoclonal IgM antibody to endotoxin in the treatment of gram-negative sepsis. The XOMA Sepsis Study Group [J]. *JAMA*, 1991, 266 (8): 1097-1102.
- [12] Osuchowski MF, Welch K, Siddiqui J, et al. Circulating cytokine/inhibitor profiles reshape the understanding of the SIRS/CARS continuum in sepsis and predict mortality [J]. *J Immunol*, 2006, 177 (3): 1967-1974.
- [13] 孙荣青,张少雷.脓毒症早期血清白介素-18和10在疾病严重程度及预后评估中的价值研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2011, 23 (5): 299-301.
- [14] Osuchowski MF, Craciun F, Weixelbaumer KM, et al. Sepsis chronically in MARS: systemic cytokine responses are always mixed regardless of the outcome, magnitude, or phase of sepsis [J]. *J Immunol*, 2012, 189 (9): 4648-4656.
- [15] Gérard C, Bruyns C, Marchant A, et al. Interleukin 10 reduces the release of tumor necrosis factor and prevents lethality in experimental endotoxemia [J]. *J Exp Med*, 1993, 177 (2): 547-550.
- [16] Huet O, Chin-Dusting JP. Septic shock: desperately seeking treatment [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2014, 126 (1): 31-39.
- [17] Delano MJ, Scumpia PO, Weinstein JS, et al. MyD88-dependent expansion of an immature GR-1⁺CD11b⁺ population induces T cell suppression and Th2 polarization in sepsis [J]. *J Exp Med*, 2007, 204 (6): 1463-1474.
- [18] Gentile LF, Cuenca AG, Efron PA, et al. Persistent inflammation and immunosuppression: a common syndrome and new horizon for surgical intensive care [J]. *J Trauma Acute Care Surg*, 2012, 72 (6): 1491-1501.
- [19] 马晓春,陈铭铭.持续性炎症-免疫抑制分解代谢综合征——ICU 滞留患者炎症、免疫及代谢状态新解说[J]. *中华危重病急救医学*, 2012, 24 (9): 514-516.
- [20] East TD, Heermann LK, Bradshaw RL, et al. Efficacy of computerized decision support for mechanical ventilation: results of a prospective multi-center randomized trial [J]. *Proc AMIA Symp*, 1999: 251-255.
- [21] McKinley BA, Moore LJ, Sucher JF, et al. Computer protocol facilitates evidence-based care of sepsis in the surgical intensive care unit [J]. *J Trauma*, 2011, 70 (5): 1153-1166.
- [22] 李成荣.脓毒症免疫功能紊乱机制研究概况[J]. *中国实用儿科杂志*, 2011, 26 (12): 885-887.
- [23] 刘晓峰,胡滢,朱宏泉,等.早期目标导向治疗对严重脓毒症患者免疫功能的影响[J]. *中华临床医师杂志(电子版)*, 2014, (23): 4200-4203.
- [24] 徐杰,张斌,于娜,等.大黄联合山莨菪碱对严重脓毒症患者免疫功能的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2012, 19 (2): 65-67.
- [25] 盛志勇,姚咏明.加强对脓毒症免疫功能障碍及其监测的研究[J]. *解放军医学杂志*, 2011, 36 (1): 8-10.
- [26] 胡海贇,张育才,刘家应.脓毒症及脓毒性休克患儿的免疫功能变化的研究[J]. *中国临床医学*, 2010, 17 (1): 108-110.
- [27] 韩璐,马涛,胡文全,等.脓毒症的免疫损伤[J]. *中国煤炭工业医学杂志*, 2012, 15 (6): 890-892.
- [28] 喻文立,崔乃强,傅强,等.腹腔感染大鼠机体免疫状态变化[J]. *中国中西医结合外科杂志*, 2011, 17 (3): 276-279.
- [29] 孙成栋,刘斯,李真,等.医院获得性肺炎重症患者辅助性T细胞亚群和降钙素原变化及相关性分析[J]. *中华危重病急救医学*, 2012, 24 (2): 100-102.
- [30] 艾宇航,姚咏明,戴新贵.不同剂量血必净对内毒素诱导调节性T细胞凋亡的影响[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2010, 17 (3): 141-144.
- [31] 赵欣,李志军,张书荷.不同剂量血必净注射液治疗脓毒症的临床疗效观察[J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2014, 21 (3): 183-185.
- [32] 张朝晖,周刚,龚勋,等.衡炎方对严重脓毒症免疫调控的前瞻性研究[J]. *中华危重病急救医学*, 2011, 23 (2): 77-80.
- [33] 赵鸣雁,曹延会,费东生,等.胸腺肽 $\alpha 1$ 对严重脓毒症患者细胞免疫的影响[J]. *中国急救医学*, 2007, 27 (3): 206-208.
- [34] 周琴,郭光云.重度脓毒症患者的免疫增强治疗临床研究[J]. *中国医药导报*, 2011, 8 (31): 54-56.
- [35] 薄禄龙,王嘉锋,邓小明.负性共刺激分子:脓毒症免疫调理治疗新靶点[J]. *中国继续医学教育*, 2011, 3 (10): 78-84.

(收稿日期: 2014-12-25)

(本文编辑:李银平)