

# 血液滤过联合血液吸附对伴人白细胞 DR 抗原低表达脓毒症患者的免疫改善作用

应利君 吕铁 严静

**【摘要】目的** 探讨血液滤过联合血液吸附治疗对伴人白细胞 DR 抗原 (HLA-DR) 低表达脓毒症患者的免疫改善作用。**方法** 采用前瞻性随机对照研究方法,纳入 2012 年 3 月至 2015 年 3 月绍兴市人民医院重症医学科年龄 >18 岁、单核细胞 HLA-DR <30% 的脓毒症患者。将入选的 60 例患者按随机数字表法分为试验组和对照组,每组 30 例。两组均采用脓毒症标准操作程序 (SOP) 进行治疗;试验组在此基础上,于 1~3 d 增加血液滤过联合血液吸附治疗,采用连续性静脉-静脉血液滤过 (CVVH) 模式,前稀释量 4 L/h,血液滤过器 HF2000 串联血液吸附器 HA-330H。分别于治疗前及治疗 3、5、7 d 检测患者外周血单核细胞 HLA-DR 表达水平;评价两组患者急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分、机械通气时间、重症加强治疗病房 (ICU) 住院时间、28 d 存活率。**结果** 试验组和对照组患者治疗前 HLA-DR 表达均 <30%,且差异无统计学意义 [(25.9±7.3)% 比 (26.4±6.7)%,  $P>0.05$ ],试验组治疗 3、5、7 d HLA-DR 表达逐渐升高,且显著高于对照组 [3 d 为 (38.9±8.6)% 比 (29.3±7.1)%, 5 d 为 (42.7±9.2)% 比 (31.4±6.5)%, 7 d 为 (40.9±8.5)% 比 (29.4±6.7)%, 均  $P<0.05$ ]。试验组和对照组患者治疗前 APACHE II 评分差异无统计学意义 (分: 22.4±5.3 比 21.7±6.2,  $P>0.05$ );试验组治疗 3、5、7 d APACHE II 评分逐渐下降,且显著低于对照组 (分: 3 d 为 18.6±3.6 比 20.5±4.3, 5 d 为 15.8±3.9 比 21.1±4.4, 7 d 为 14.9±4.2 比 19.8±3.7, 均  $P<0.05$ )。与对照组比较,试验组机械通气时间 (d: 13.3±3.4 比 19.8±3.7,  $t=6.432$ ,  $P=0.003$ )、ICU 住院时间 (d: 20.7±3.9 比 26.8±4.7,  $t=5.452$ ,  $P=0.006$ ) 均明显缩短,28 d 存活率明显升高 (83.3% 比 73.3%,  $\chi^2=3.121$ ,  $P=0.016$ )。**结论** 血液滤过联合血液吸附可提高 HLA-DR 低表达脓毒症患者 HLA-DR 表达水平,一定程度上改善脓毒症患者免疫功能,并可改善患者病情及预后。

**【关键词】** 血液滤过; 血液吸附; 人白细胞 DR 抗原低表达; 脓毒症; 免疫

**Effect of hemofiltration combined with hemoabsorption on improvement of immune function in septic patients with low expression of human leukocyte antigen DR** Ying Lijun\*, Lyu Tie, Yan Jing. \*Department of Critical Care Medicine, Shaoxing People's Hospital, Shaoxing 312000, Zhejiang, China

Corresponding author: Yan Jing, Department of Critical Care Medicine, Zhejiang Hospital, Hangzhou 310013, Zhejiang, China, Email: zjicu@vip.163.com

**【Abstract】Objective** To investigate the effect on improving immune function by hemofiltration combined with hemoabsorption in septic patients with low human leukocyte antigen DR (HLA-DR) expression. **Methods** A prospective randomized controlled trial was conducted. Sixty sepsis patients aged over 18 years, with HLA-DR expression lower than 30% were enrolled, and they were randomly divided into experimental group and control group,  $n = 30$  in each group. The patients were treated with standard operating procedure for sepsis, and hemofiltration combined with hemoabsorption were added in addition in the experimental group within 1-3 days. The continuous veno-venous hemofiltration (CVVH) mode was performed, with former dilution volume 4 L/h, and the hemofilter HF2000 was carried out with blood absorber HA-330H. The expression of HLA-DR in peripheral blood mononuclear cells was determined before the treatment and 3, 5, 7 days after treatment. Acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score, duration of mechanical ventilation, length of intensive care unit (ICU) stay, and 28-day survival rate were evaluated in both groups. **Results** The HLA-DR expression before treatment in experimental group and control group was both lower than 30%, and there was no statistical difference [(25.9±7.3)% vs. (26.4±6.7)%,  $P>0.05$ ]. The HLA-DR expression at 3, 5, 7 days after treatment in experimental group was gradually increased, and it was significantly higher than that of the control group [3 days: (38.9±8.6)% vs. (29.3±7.1)%, 5 days: (42.7±9.2)%

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2015.09.010

基金项目:浙江省绍兴市科技计划项目 (2013B70077)

作者单位: 312000 浙江绍兴,绍兴市人民医院重症医学科 (应利君、吕铁); 310013 浙江杭州,浙江医院重症医学科 (严静)

通讯作者: 严静, Email: zjicu@vip.163.com

vs.  $(31.4 \pm 6.5)\%$ , 7 days:  $(40.9 \pm 8.5)\%$  vs.  $(29.4 \pm 6.7)\%$ , all  $P < 0.05$ ]. There was no significant difference in APACHE II score before treatment between experimental group and control group ( $22.4 \pm 5.3$  vs.  $21.7 \pm 6.2$ ,  $P > 0.05$ ). APACHE II score at 3, 5, and 7 days after treatment was gradually decreased in experimental group, and it was obviously lower than that of the control group (3 days:  $18.6 \pm 3.6$  vs.  $20.5 \pm 4.3$ , 5 days:  $15.8 \pm 3.9$  vs.  $21.1 \pm 4.4$ , 7 days:  $14.9 \pm 4.2$  vs.  $19.8 \pm 3.7$ , all  $P < 0.05$ ). Compared with the control group, the duration of mechanical ventilation (days:  $13.3 \pm 3.4$  vs.  $19.8 \pm 3.7$ ,  $t = 6.432$ ,  $P = 0.003$ ) and length of ICU stay (days:  $20.7 \pm 3.9$  vs.  $26.8 \pm 4.7$ ,  $t = 5.452$ ,  $P = 0.006$ ) in experimental group were significantly shortened, and the 28-day survival rate was significantly elevated ( $83.3\%$  vs.  $73.3\%$ ,  $\chi^2 = 3.121$ ,  $P = 0.016$ ). **Conclusion** Hemofiltration combined with hemoabsorption can improve the expression of HLA-DR in sepsis patients with low expression of HLA-DR, and it can improve immune function and prognosis of sepsis patients in certain degree.

**【Key words】** Hemofiltration; Hemoabsorption; Low human leukocyte antigen DR expression; Sepsis; Immune

脓毒症是危重病患者死亡的首要原因<sup>[1]</sup>。尽管我们采取了早期液体复苏、及时清除感染灶、抗菌药物早期应用及器官功能支持等集束化治疗,但脓毒症病死率仍然居高不下,临床研究和对脓毒症患者的尸检均发现,免疫麻痹是导致脓症患者死亡的主要原因<sup>[2-5]</sup>。随着对脓毒症免疫麻痹认识的深入,近年来粒-巨噬细胞集落刺激因子(GM-CSF)等免疫增强剂被应用于改善脓毒症免疫麻痹的临床与实验研究。然而,新近 Bo 等<sup>[6]</sup>对 12 项以 GM-CSF 增强脓毒症免疫治疗的随机对照试验(RCT)进行 Meta 分析发现,患者 28 d 存活率并无明显改善。我们仍需要不断寻求更好的改善脓毒症免疫麻痹的治疗方法。目前血液滤过联合血液吸附技术已被应用于临床治疗严重脓毒症,本研究发现其对脓毒症免疫麻痹状态具有一定改善作用,现报告如下。

## 1 资料与方法

**1.1 病例的选择:**采用前瞻性随机对照研究方法,纳入 2012 年 3 月至 2015 年 3 月绍兴市人民医院重症医学科收入的 60 例脓症患者,其中男性 37 例,女性 23 例;平均年龄  $(57.6 \pm 12.3)$  岁。

**1.1.1 入选标准:**① 年龄  $> 18$  岁者;② 符合脓毒症诊断标准者;③ 单核细胞人白细胞 DR 抗原(HLA-DR)  $< 30\%$  者。

**1.1.2 排除标准:**① 孕妇;② 系统性免疫疾病、血液系统疾病(血液系统肿瘤或白血病)、移植术后、实体肿瘤患者;③ 应用泼尼松超过  $10 \text{ mg/d}$  者;④ 人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者;⑤ 已签署不增加生命支持强度者(包括拒绝加入此项研究的患者)。

本研究符合医学伦理学标准,经医院伦理委员会批准,并获得患者或家属的知情同意。

**1.2 分组干预:**按随机数字表法将纳入的 60 例患者分为对照组和试验组,每组 30 例。两组均予脓

毒症标准操作程序(SOP)治疗,包括:中心静脉血氧饱和度( $\text{ScvO}_2$ )指导液体复苏、血管活性药物应用;镇静镇痛治疗;机械通气采用辅助/控制模式;根据指南推荐意见给予经验性抗菌药物治疗等。试验组在标准治疗基础上,于 1~3 d 加用血液滤过联合血液吸附治疗,采用连续性静脉-静脉血液滤过(CVVH)模式,前稀释量  $4 \text{ L/h}$ ,血液滤过器为 HF2000,串联一次性血液吸附器 HA-330H。

**1.3 检测指标及方法:**于治疗前及治疗 3、5、7 d 检测两组患者外周血单核细胞 HLA-DR 表达水平;评价两组患者急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分、机械通气时间、重症加强治疗病房(ICU)住院时间、28 d 存活率。HLA-DR 检测使用 BD FACSCanto II 型流式细胞仪(美国),应用 SYSTEM TM EOFT-WAREV 3.0 获取数据并进行分析。单个样本检测的细胞数为 5 000 个。选用的单克隆抗体购自法国 Immunotech 公司。

**1.4 统计学处理:**采用 SPSS 20.0 统计软件处理和分析数据,计量资料以均数  $\pm$  标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,进行  $t$  检验;计数资料进行  $\chi^2$  检验。 $P < 0.05$  为差异具有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 一般资料(表 1):**两组患者性别构成、年龄、APACHE II 评分以及感染类型构成比差异均无统计学意义(均  $P > 0.05$ ),说明两组基线资料均衡,具有可比性。

**2.2 外周血单核细胞 HLA-DR 表达变化(表 2):**两组患者治疗前单核细胞 HLA-DR 表达水平均  $< 30\%$ ,处于免疫麻痹状态,且两组间无统计学差异。治疗后,试验组单核细胞 HLA-DR 表达水平较治疗前明显升高(均  $P < 0.05$ ),而对照组无显著变化;且试验组治疗 3、5、7 d 单核细胞 HLA-DR 表达水平

表 1 加用血液滤过联合血液吸附治疗组与常规治疗对照组伴 HLA-DR 低表达脓毒症患者的基线资料比较

组别	例数 (例)	性别(例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	APACHE II 评分 (岁, $\bar{x} \pm s$ )	感染类型(例)				
		男性	女性			重症肺炎	AOSC	腹腔感染	胸腔感染	皮肤软组织感染
对照组	30	20	10	59.7 ± 11.6	21.7 ± 6.2	13	7	8	1	1
试验组	30	17	13	54.5 ± 9.4	22.4 ± 5.3	12	9	7	2	0
$\chi^2/t$ 值		0.121		1.213	2.426	0.546	1.451	1.254	0.254	0.231
<i>P</i> 值		0.961		0.241	0.220	0.083	0.051	0.117	0.113	0.061

注:对照组为标准治疗,试验组为在标准治疗基础上加用血浆滤过联合血液吸附治疗;HLA-DR 为人白细胞 DR 抗原, APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II, AOSC 为急性梗阻性化脓性胆管炎

均较对照组显著升高(均  $P < 0.05$ )。

**2.3 APACHE II 评分变化(表 2):** 两组患者治疗前 APACHE II 评分差异无统计学意义。治疗后,试验组 APACHE II 评分逐渐下降(均  $P < 0.05$ ),而对照组 APACHE II 评分无明显变化;且试验组治疗后 3、5、7 d 各时间点 APACHE II 评分明显低于对照组( $P < 0.05$ )。

表 2 血液滤过联合血液吸附对 HLA-DR 低表达脓症患者外周血 HLA-DR 水平及 APACHE II 评分的影响( $\bar{x} \pm s$ )

组别	时间	例数 (例)	HLA-DR (%)	APACHE II (分)
对照组	治疗前	30	26.4 ± 6.7	21.7 ± 6.2
	治疗 3 d	30	29.3 ± 7.1	20.5 ± 4.3
	治疗 5 d	30	31.4 ± 6.5	21.1 ± 4.4
	治疗 7 d	30	29.4 ± 6.9	19.8 ± 3.7
试验组	治疗前	30	25.9 ± 7.3	22.4 ± 5.3
	治疗 3 d	30	38.9 ± 8.6 <sup>ab</sup>	18.6 ± 3.6 <sup>ab</sup>
	治疗 5 d	30	42.7 ± 9.2 <sup>ab</sup>	15.8 ± 3.9 <sup>ab</sup>
	治疗 7 d	30	40.9 ± 8.5 <sup>ab</sup>	14.9 ± 4.2 <sup>ab</sup>

注:对照组为标准治疗,试验组为在标准治疗基础上加用血液滤过联合血液吸附治疗;HLA-DR 为人白细胞 DR 抗原, APACHE II 为急性生理学及慢性健康状况评分系统 II;与本组治疗前比较,<sup>a</sup> $P < 0.05$ ;与对照组同期比较,<sup>b</sup> $P < 0.05$

**2.4 预后指标(表 3):** 与对照组比较,试验组机械通气时间、ICU 住院时间均明显缩短,28 d 存活率明显升高( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ )。

表 3 血液滤过联合血液吸附对伴 HLA-DR 低表达脓症患者预后指标的影响

组别	例数 (例)	机械通气时间 (d, $\bar{x} \pm s$ )	ICU 住院时间 (d, $\bar{x} \pm s$ )	28 d 存活率 [% (例)]
对照组	30	19.8 ± 3.7	26.8 ± 4.7	73.3 (22)
试验组	30	13.3 ± 3.4	20.7 ± 3.9	83.3 (25)
$t/\chi^2$ 值		6.432	5.452	3.121
<i>P</i> 值		0.003	0.006	0.016

注:对照组为标准治疗,试验组为在标准治疗基础上加用血液滤过联合血液吸附治疗;HLA-DR 为人白细胞 DR 抗原, ICU 为重症加强治疗病房

### 3 讨论

脓毒症是以全身性感染导致器官功能损害为特征的复杂临床综合征,其发生率和病死率均很高。近年来,尽管抗感染治疗和器官功能支持技术取得了长足进步,但脓毒症病死率仍高达 30% ~ 70%<sup>[7]</sup>。早期对脓毒症发病机制的研究显示,失控的、持续放大的全身性炎症反应是引起脓症患者死亡的主要原因<sup>[8]</sup>。而近年来对大量死亡的脓症患者进行尸检结果显示,免疫麻痹才是脓症患者死亡的主要原因<sup>[2-5]</sup>。Torgersen 等<sup>[4]</sup>对 235 例脓症患者进行尸检发现,尽管所有患者均使用了广谱抗菌药物并给予了感染灶的清除,但仍有 76.6% 的患者在死亡时感染没有得到有效的控制,感染灶仍存在,且大部分患者出现了新发部位和致病菌的院内感染,42.5% 的患者出现了 2 个以上的部位感染,其主要原因是患者的免疫功能受到了严重的抑制。对新生儿和儿童脓毒症患者的尸检也发现,淋巴细胞凋亡、免疫细胞数量减少和功能失调介导的免疫麻痹是引起患者死亡的主要原因<sup>[3]</sup>。国内一些学者对严重脓毒症采用中药制剂提高免疫功能收到了很好的效果,同时也佐证了免疫麻痹对脓毒症的影响<sup>[9-10]</sup>。

Volck 等<sup>[11]</sup>研究发现,在器官移植合并脓症患者中,CD14<sup>+</sup> 单核细胞 HLA-DR > 30% 者的存活率为 100%, HLA-DR < 30% 但能被免疫刺激治疗如  $\gamma$ -干扰素 (IFN- $\gamma$ ) 逆转者的存活率为 90%,不能被免疫刺激治疗逆转者的存活率仅为 8%。研究证实,以 CD14<sup>+</sup> 单核细胞 HLA-DR < 30% 为阈值能够可靠地筛选出脓毒症免疫抑制患者,该类患者经有效逆转免疫抑制后可明显改善预后<sup>[11-12]</sup>。白细胞介素 (IL-1)、IFN- $\gamma$  等促炎物质被用于肿瘤、艾滋病和使用免疫抑制剂后并发的脓毒症治疗,并显示出了一定的疗效。但是,脓毒症时亢进的全身炎症反应和免疫抑制产生于不同的机制并涉及不同的系统,它们往往是并存的<sup>[13]</sup>,用单一的药物来调节

免疫紊乱似乎极为困难。2011年Bo等<sup>[6]</sup>对12项以GM-CSF增强脓毒症免疫治疗的RCT研究进行Meta分析,结果发现,患者28d存活率并无明显改善。因此,我们需要制定更合理的免疫调理治疗策略,不仅能去除炎性因子,同时还能达到有效的免疫逆转,使免疫调节治疗更具价值,使得CD4<sup>+</sup>单核细胞HLA-DR<30%亚群组临床预后得到改善。

血液滤过联合血液吸附技术目前应用于严重脓毒症的救治,且被认为可能是一种潜在有价值的调节脓毒症免疫手段。胡大兰和赵卫红<sup>[14]</sup>的研究发现,高通量血液滤过联合内毒素吸附治疗在脓毒症合并多器官功能障碍患者治疗中,对氧合指数、平均动脉压、序贯器官衰竭评分(SOFA)、APACHE II评分等的改善作用显著优于单纯血液滤过治疗。吕苏一和孟建中<sup>[15]</sup>研究显示,高通量血液滤过联合内毒素吸附治疗可明显降低脓症患者血浆脂多糖(LPS)、内皮素(ET)和血管性血友病因子(vWF)水平,调控炎症反应,保护内皮细胞功能,防止弥散性血管内凝血(DIC)。

目前临床上对伴CD14<sup>+</sup>单核细胞HLA-DR<30%的脓症患者研究较少,且临床上仍缺乏有效的免疫逆转手段。本研究采用血液滤过联合血液吸附治疗伴HLA-DR低表达脓症患者,结果显示:试验组治疗3、5、7d HLA-DR表达均较治疗前明显升高,且显著高于对照组;APACHE II评分较治疗前逐渐下降,且明显低于对照组;机械通气时间、ICU住院时间较对照组明显缩短,28d存活率较对照组明显升高。说明血液滤过联合血液吸附对伴单核细胞HLA-DR<30%的脓症患者可能具有免疫上调作用,其可能的作用机制包括<sup>[16-18]</sup>:①通过滤过和吸附机制,清除血浆中可溶性炎性介质,减轻介质对免疫细胞功能的直接抑制;②减轻淋巴细胞异常凋亡;③抑制炎症系统与凝血系统的相互作用,阻断炎症级联;④改善脓症患者内环境紊乱,改善组织氧合和心肺功能,重建机体免疫系统内稳态;⑤具有抗炎和免疫增强双向调节作用,改善患者临床预后。

综上所述,血液滤过联合血液吸附可以提高HLA-DR低表达脓症患者HLA-DR表达水平,或

在一定程度上改善脓症患者免疫功能,并改善患者病情及预后,但具体机制仍值得进一步探讨。

## 参考文献

- [1] Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis [J]. *N Engl J Med*, 2003, 348 (2): 138-150.
- [2] Boomer JS, To K, Chang KC, et al. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure [J]. *JAMA*, 2011, 306 (23): 2594-2605.
- [3] Felmet KA, Hall MW, Clark RS, et al. Prolonged lymphopenia, lymphoid depletion, and hypoprolactinemia in children with nosocomial sepsis and multiple organ failure [J]. *J Immunol*, 2005, 174 (6): 3765-3772.
- [4] Torgersen C, Moser P, Luckner G, et al. Macroscopic postmortem findings in 235 surgical intensive care patients with sepsis [J]. *Anesth Analg*, 2009, 108 (6): 1841-1847.
- [5] Kollef KE, Schramm GE, Wills AR, et al. Predictors of 30-day mortality and hospital costs in patients with ventilator-associated pneumonia attributed to potentially antibiotic-resistant gram-negative bacteria [J]. *Chest*, 2008, 134 (2): 281-287.
- [6] Bo L, Wang F, Zhu J, et al. Granulocyte-colony stimulating factor (G-CSF) and granulocyte-macrophage colony stimulating factor (GM-CSF) for sepsis: a meta-analysis [J]. *Crit Care*, 2011, 15 (1): R58.
- [7] Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, et al. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care [J]. *Crit Care Med*, 2001, 29 (7): 1303-1310.
- [8] Calvano SE, Xiao W, Richards DR, et al. A network-based analysis of systemic inflammation in humans [J]. *Nature*, 2005, 437 (7061): 1032-1037.
- [9] 郑瑞强,陈齐红,林华,等.血必净注射液对急性呼吸窘迫综合征患者免疫功能及预后影响的多中心随机对照临床研究[J].中国中西医结合急救杂志,2012,19(1):21-23.
- [10] 张畔,曹书华,崔克亮,等.血必净对多脏器功能障碍综合征单核细胞HLA-DR表达影响的研究[J].中国中西医结合急救杂志,2002,9(1):21-23.
- [11] Volk HD, Reinke P, Krausch D, et al. Monocyte deactivation—rationale for a new therapeutic strategy in sepsis [J]. *Intensive Care Med*, 1996, 22 Suppl 4: S474-481.
- [12] 林洪远,郭旭生,姚咏明,等. CD14<sup>+</sup>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[J].中华危重病急救医学,2003,15(3):135-138.
- [13] 林洪远.脓毒症的免疫调理治疗[J].中国医师进修杂志,2006,29(34):8-10.
- [14] 胡大兰,赵卫红.配对血浆滤过吸附治疗脓毒症合并多器官功能障碍综合征的临床研究[J].中华老年多器官疾病杂志,2010,9(5):428-431.
- [15] 吕苏一,孟建中.高容量血液滤过联合内毒素吸附对脓毒症内皮细胞的影响[J].生物医学工程研究,2011,30(1):43-45.
- [16] 王锦权,陶晓根,高玉华.连续性血液净化对细胞因子清除机制的研究进展[J].中国急救医学,2002,22(10):615-616.
- [17] Hotchkiss RS, Tinsley KW, Swanson PE, et al. Sepsis-induced apoptosis causes progressive profound depletion of B and CD4<sup>+</sup> T lymphocytes in humans [J]. *J Immunol*, 2001, 166 (11): 6952-6963.
- [18] 董月青,黄军华,姚咏明.脓毒症中T淋巴细胞凋亡及其调控研究进展[J].中华危重病急救医学,2004,16(6):381-384.

(收稿日期:2015-05-21)

(本文编辑:保健媛)