

血清肝素结合蛋白在脓毒症患者中的表达与临床意义

朱宏坤

(江苏省中医院重症医学科, 江苏 南京 210029)

【摘要】 目的 探讨血清肝素结合蛋白(HBP)在脓毒症时的表达水平及其临床意义。方法 采用前瞻性研究方法,选择 2011 年 2 月至 2014 年 4 月江苏省中医院重症医学科确诊的各种原因引起的 90 例脓毒症患者为研究对象。按国际脓毒症指南将 90 例患者分为一般脓毒症组(26 例)、严重脓毒症组(29 例)和脓毒性休克组(35 例);按 28 d 预后将患者分为存活组(73 例)和死亡组(17 例)。另选择本院 30 例健康体检者作为健康对照组。采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测各组受试者血清 HBP 水平;同时检测各组受试者血中降钙素原(PCT)、白细胞计数(WBC)、血浆乳酸(Lac)水平和急性生理学与慢性健康状况评分系统 II(APACHE II)评分。结果 一般脓毒症组、严重脓毒症组、脓毒性休克组 HBP、PCT、WBC、Lac 均较健康对照组明显升高,且脓毒性休克组、严重脓毒症组上述各指标升高程度较一般脓毒症组更显著〔HBP($\mu\text{g/L}$): 61.7 ± 12.5 、 25.1 ± 4.9 比 24.4 ± 3.8 , PCT($\mu\text{g/L}$): 32.3 ± 6.4 、 31.5 ± 5.7 比 25.5 ± 3.9 , WBC($\times 10^9/\text{L}$): 30.8 ± 3.7 、 28.1 ± 4.2 比 15.6 ± 3.6 , Lac(mmol/L): 11.6 ± 3.7 、 8.7 ± 3.6 比 5.8 ± 3.8 , 均 $P < 0.05$];脓毒性休克组与严重脓毒症组 APACHE II 评分均明显高于一般脓毒症组(分: 22.0 ± 6.8 、 19.2 ± 7.1 比 12.4 ± 3.9 , 均 $P < 0.05$);脓毒性休克组 HBP 明显高于脓毒症组;脓毒性休克组与严重脓毒症组 PCT、WBC、Lac、APACHE II 评分比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$);不同器官功能障碍数患者血清 HBP 水平比较差异均无统计学意义〔器官功能障碍 1、2、3、4、5 个的患者 HBP 水平($\mu\text{g/L}$)分别为 19.6 ± 7.9 、 27.5 ± 5.3 、 32.0 ± 3.6 、 20.5 ± 5.8 、 24.8 ± 4.1];死亡组血清 HBP 水平明显高于存活组($\mu\text{g/L}$: 101.4 ± 16.2 比 27.3 ± 4.8 , $P < 0.01$)。结论 血清 HBP 是预测脓毒症发生休克和早期死亡较好的特异性指标,但与发生器官功能障碍数无显著相关性。

【关键词】 肝素结合蛋白; 脓毒症; 休克,脓毒性; 预后

The clinical significance and expression of serum heparin binding protein in patients with sepsis Zhu Hongkun. Department of Critical Care Medicine, Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, Nanjing 210029, Jiangsu, China

Corresponding author: Zhu Hongkun, Email: 15951810501@163.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the clinical significance and expression level of serum heparin-binding protein (HBP) in patients with sepsis. **Methods** A prospective study was conducted. Ninety patients with firm diagnosis of sepsis due to a variety of causes from February 2011 to April 2014 were admitted in Department of Critical Care Medicine of Jiangsu Province Hospital of Traditional Chinese Medicine, and were divided into three groups according to international guide for sepsis: general sepsis group (26 cases), severe sepsis group (29 cases) and septic shock group (35 cases). In addition, according to clinical prognosis in 28 days, the patients were divided into survival group (73 cases) and death group (17 cases). Another 30 age-matched healthy cases having passed physical check-up were chosen as the healthy control group. The serum HBP level of patients in all groups was detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA), and at the same time, blood procalcitonin (PCT), white blood cell count (WBC), plasma lactic acid (Lac) and acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score were also determined. **Results** The HBP, PCT, WBC and Lac were significantly higher in three sepsis groups than those of healthy control group. Furthermore, the degrees of increase in the above indexes in severe sepsis and septic shock groups were more marked than those in general sepsis group [HBP ($\mu\text{g/L}$): 61.7 ± 12.5 , 25.1 ± 4.9 vs. 24.4 ± 3.8 ; PCT ($\mu\text{g/L}$): 32.3 ± 6.4 , 31.5 ± 5.7 vs. 25.5 ± 3.9 ; WBC ($\times 10^9/\text{L}$): 30.8 ± 3.7 , 28.1 ± 4.2 vs. 15.6 ± 3.6 ; Lac (mmol/L): 11.6 ± 3.7 , 8.7 ± 3.6 vs. 5.8 ± 3.8 ; all $P < 0.05$]. APACHE II scores were obviously higher in septic shock and severe sepsis groups than the score in general sepsis group (22.0 ± 6.8 , 19.2 ± 7.1 vs. 12.4 ± 3.9 , both $P < 0.05$). HBP was higher in septic shock group than that in sepsis groups. There were no statistically significant differences in PCT, WBC, Lac, and APACHE II scores between septic shock group and severe sepsis group (all $P > 0.05$). There were also no statistically significant differences in HBP levels among the groups with different number of dysfunctional organs [HBP ($\mu\text{g/L}$) of dysfunctional organ number 1, 2, 3, 4, 5 were 19.6 ± 7.9 , 27.5 ± 5.3 , 32.0 ± 3.6 , 20.5 ± 5.8 , 24.8 ± 4.1 , respectively]. However, the serum level of HBP was obviously higher in death group than that in survival group ($\mu\text{g/L}$: 101.4 ± 16.2 vs. 27.3 ± 4.8 , $P < 0.01$). **Conclusions** The serum HBP is a good specific marker of sepsis that may predict the prognosis of the patient early. There is no significant correlation between HBP level and the number of dysfunctional organs.

【Key words】 Heparin-binding protein; Sepsis; Septic shock; Prognosis

脓毒症、脓毒性休克至今仍是重症医学面临的严重挑战之一,内皮细胞功能障碍是患者发生全身炎症反应和凝血功能紊乱的关键环节,在脓毒症的发生发展中起重要作用^[1]。近年来人们越来越关注肝素结合蛋白(HBP)在脓毒症发病中的作用。HBP 是中性粒细胞释放的颗粒蛋白,由 Shafer 于 1984 年首次分离且鉴定,是一种带正电荷的趋化物质,可激活单核/巨噬细胞,扩大内皮细胞间隙,导致毛细血管渗漏,使患者出现难治性休克,病死率增高^[2-3]。本研究通过监测脓毒症患者 HBP 水平,并分析其与传统炎症指标的关系,评估其临床实际价值。

1 研究对象与方法

1.1 研究对象:采用前瞻性研究方法,选择 2011 年 2 月至 2014 年 4 月江苏省中医院重症医学科确诊的各种原因引起的 90 例脓毒症患者为研究对象,将患者按国际脓毒症指南分为脓毒性休克组(35 例)、严重脓毒症组(29 例)和一般脓毒症组(26 例);再按患者 28 d 转归情况分为死亡组(17 例)与存活组(73 例)。脓毒症诊断参考 2001 年美国胸科医师协会/危重病医学会(ACCP/SCCM)华盛顿会议提出的标准。同期选取本院 30 例门诊健康体检者作为健康对照组。

本研究符合医学伦理学标准,并经医院伦理委员会批准,取得受试者知情同意。

1.2 检测指标及方法:分别采集研究组和健康对照组患者静脉血 2 mL,3 500 r/min(离心半径 15.5 cm)离心 20 min 后,取血清于 -75 °C 冰箱中保存待测。采用双抗体两步夹心酶联免疫吸附试验(ELISA)测定各组受试者血清 HBP 水平,试剂盒由上海谷研科技生物有限公司提供,操作严格按照试剂盒说明书进行;同时进行降钙素原(PCT)、血中白细胞计数(WBC)、血乳酸(Lac)、血气分析等检测,记录各组脓毒症患者入重症加强治疗病房(ICU)后 24 h 内急性生理学与慢性健康状况评分系统 II(APACHE II)评分。

1.3 统计学处理:使用 SPSS 19.0 统计软件进行数

据分析;计量资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示;两组间比较采用 *t* 检验;多组间比较采用方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料:90 例脓毒症患者的病因以肺部感染为主,共 73 例(81.1%);其他病因 17 例(18.9%),包括泌尿道感染、胆道感染、导管相关性感染、血行感染、术后感染等。5 例患者经外科手术处理;43 例患者病程中因需要进行了有创或无创机械通气,36 例出现血压下降补液后仍需使用血管活性药物。表 1 结果显示,两组受试者性别、年龄比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$),有可比性。

表 1 健康对照组和脓毒症组一般情况比较

组别	例数 (例)	性别(例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	APACHE II 评分(分, $\bar{x} \pm s$)	28 d 病死率 [% (例)]
		男性	女性			
健康对照组	30	16	14	49.5 ± 21.6		
脓毒症组	90	51	39	51.2 ± 17.8	17.97 ± 3.82	18.89 (17)

注:空白代表无此项

2.2 各组 HBP、PCT、WBC、Lac 及 APACHE II 评分比较(表 2):脓毒症患者 HBP、PCT、WBC、Lac 水平均较健康对照组明显升高(均 $P < 0.05$),且随脓毒症病情加重 APACHE II 评分升高,上述各指标也均逐渐升高。严重脓毒症组和脓毒性休克组各指标均显著高于一般脓毒症组;脓毒性休克组除 HBP 水平显著高于严重脓毒症组外(均 $P < 0.05$),其余各指标两组间比较差异均无统计学意义(均 $P > 0.05$)。

2.3 不同器官功能障碍患者血清 HBP 水平比较(表 3):脓毒症患者随着数目器官功能障碍数增加其 HBP 水平升高,到 3 个器官功能障碍时达峰值,以后下降,5 个器官功能障碍时又升高,但各组间血清 HBP 水平比较差异无统计学意义($F = 1.31$, $P > 0.05$)。

2.4 死亡组和存活组 HBP 水平的比较(表 4):死亡组血清 HBP 水平显著高于存活组($P < 0.05$)。

表 2 各组受试者 HBP、PCT、WBC、Lac 水平及 APACHE II 评分比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	HBP(μg/L)	PCT(μg/L)	WBC($\times 10^9/L$)	Lac(mmol/L)	APACHE II 评分(分)
健康对照组	30	9.5 ± 2.1	6.5 ± 2.1	7.6 ± 2.1	1.5 ± 2.1	无此项
一般脓毒症组	26	24.4 ± 3.8 ^a	25.5 ± 3.9 ^a	15.6 ± 3.6 ^a	5.8 ± 3.8 ^a	12.4 ± 3.9
严重脓毒症组	29	25.1 ± 4.9 ^{ab}	31.5 ± 5.7 ^{ab}	28.1 ± 4.2 ^{ab}	8.7 ± 3.6 ^{ab}	19.2 ± 7.1 ^b
脓毒性休克组	35	61.7 ± 12.5 ^{abc}	32.3 ± 6.4 ^{ab}	30.8 ± 3.7 ^{ab}	11.6 ± 3.7 ^{ab}	22.0 ± 6.8 ^b

注:与健康对照组比较,^a $P < 0.05$;与一般脓毒症组比较,^b $P < 0.05$;与严重脓毒症组比较,^c $P < 0.05$

表 3 脓毒症不同器官功能障碍数患者血清 HBP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

器官功能障碍数(个)	例数(例)	HBP($\mu\text{g/L}$)
1	16	19.6 $\pm$ 7.9
2	23	27.5 $\pm$ 5.3
3	21	32.0 $\pm$ 3.6
4	14	20.5 $\pm$ 5.8
5	5	24.8 $\pm$ 4.1

表 4 存活组和死亡组 HBP 水平比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数(例)	HBP($\mu\text{g/L}$)
存活组	73	27.3 $\pm$ 4.8
死亡组	17	101.4 $\pm$ 16.2 ^a

注:与存活组比较,^a $P<0.05$

3 讨论

HBP 也称为天青杀素,是丝氨酸蛋白酶家族的一员,结构类似于弹性蛋白酶,与其同源率为 45%,但其不具有蛋白酶活性,大约 74% 的 HBP 储存在中性粒细胞嗜苯胺蓝颗粒中,18% 在分泌小泡中,而 8% 在胞质膜上。最初发现 HBP 对革兰阴性(G^-)菌和白色念珠菌有一定杀菌活性,而且因 HBP 带有正电荷,与肝素具有结合能力,故称为肝素结合蛋白,后来,人们发现其有很强的趋化活性。

健康人血中 HBP 含量很低,一旦有感染发生时,部分菌体侵入至血液中,中性粒细胞被大量激活而释放 HBP,从而导致血中 HBP 含量升高^[4]。脓毒症时全身炎症反应及凝血功能紊乱,多形核中性粒细胞被菌体、毒素及凝血因子复合物等激活^[5-6],加之 HBP 带有正电荷,中性粒细胞黏附于血管内皮细胞释放 HBP^[7],后者可诱发血管渗漏及组织损伤,导致血管通透性增加^[8-9]。可见, HBP 在脓毒症的发生发展中起重要作用。

本研究中脓毒性休克组、严重脓毒症组、一般脓毒症组 HBP 均较健康对照组明显升高,与 PCT、WBC、Lac 的变化一致;脓毒性休克组与严重脓毒症组 PCT、WBC、Lac 和 APACHE II 评分比较差异均无统计学意义,而两组 HBP 水平比较差异有统计学意义。说明 HBP 在未出现休克的一般脓症患者中已出现了升高,而在脓毒性休克患者中则升高更加明显。有研究表明, HBP 能增加血管内皮细胞通透性是因为其带有较强的正电荷,与内皮细胞接触导致内皮细胞内 Ca^{2+} 快速激活,形成肌动蛋白张力纤维,从而导致细胞旁通路渗漏,高浓度 HBP 的结果是导致严重的血管渗漏,从而引起低血压甚

至休克。Gautam 等^[10]在体外实验中发现, HBP 能诱导 Ca^{2+} 依赖的细胞骨架重排、单层内皮细胞间隙的形成、微血管中大分子漏出,并呈剂量依赖性; Rasmussen 等^[11]研究发现, HBP 能激活单核/巨噬细胞,使其分泌的炎症介质和相关分子表达上调,影响机体的免疫炎症反应,这与本研究的结果一致。因此,采用 HBP 预测脓毒性休克时较传统炎症指标 PCT、WBC 及 Lac 和 APACHE II 评分更有优势, HBP 对脓毒性休克的发生具有早期提示作用。因此,在危重患者发病早期测定 HBP 水平对脓毒性休克诊疗有指导意义。

本研究中伴器官功能障碍的 79 例严重脓毒症不同器官功能障碍数患者血 HBP 水平比较差异均无统计学意义,这可能是由于 HBP 特异性地作用于循环血管,而并不参与多器官功能障碍的炎症打击反应机制。

存活组 HBP 水平较死亡组明显下降,差异有统计学意义,这可能与 HBP 具有很强的致血管渗漏作用密切相关^[12],也证实了脓症患者血清 HBP 水平能预测疾病的预后,因此可以作为评估病死率的指标。

PCT 是感染较敏感的指标^[13]。研究发现,儿童感染时 HBP 较 PCT 能更早地开始出现变化,而在病毒感染和非特异性炎症时血 HBP 却保持较低的水平,可见 HBP 具有灵敏度高、特异性强的特点^[14],这对指导临床合理启用或及时停止抗菌药物、防止抗菌药物滥用、减少耐药菌群的产生等,都有重要的指导意义^[15]。因为 HBP 对肝素有高度亲和力,肝素可抑制其活化,这也可能为肝素治疗脓毒症提供新的作用靶点。

综上所述,本研究结果表明,血清 HBP 提示了脓毒性休克的发生及疾病严重程度,参与了内皮细胞功能障碍和毛细血管渗漏的机制^[16],是发生脓毒性休克和预测早期死亡较好的且特异性高的可选指标,对脓毒症早期估测、预后评价及疗效观察具有较大的临床价值,有待深入研究观察。

参考文献

- [1] 毛怡然,肇冬梅,马晓春. 肝素对脂多糖诱导内皮细胞通透性增高的保护作用[J]. 中国危重病急救医学, 2012, 24(5): 278-282.
- [2] Holub M, Beran O. Should heparin-binding protein levels be routinely monitored in patients with severe sepsis and septic shock? [J]. Crit Care, 2012, 16(3): 133.
- [3] 吴凯,李霖,江华,等. 肝素结合蛋白的特性及在临床诊断中的应用[J]. 细胞与分子免疫学杂志, 2013, 29(11): 1226-1203, 1231.
- [4] 梁英健,李鑫,张晓娟,等. NF- κ B 在脓毒症血浆诱导的内皮细

- 胞损伤和凋亡中的作用[J]. 中国病理生理杂志, 2013, 29(8): 1508-1511.
- [5] 王亮, 马晓春. 肝素结合蛋白的结构和功能特点及其在脓毒症中的作用[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(3): 200-203.
- [6] Chew MS, Linder A, Santen S, et al. Increased plasma levels of heparin-binding protein in patients with shock: a prospective, cohort study[J]. *Inflamm Res*, 2012, 61(4): 375-379.
- [7] 中国中西医结合学会急救医学专业委员会.《中国中西医结合急救杂志》编辑委员会. 脓毒症中西医结合诊治专家共识[J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25(4): 194-197.
- [8] Schou M, Djurup R, Norris K, et al. Identifying the functional part of heparin-binding protein (HBP) as a monocyte stimulator and the novel role of monocytes as HBP producers[J]. *Innate immun*, 2011, 17(1): 60-69.
- [9] Huttunen R, Syrjänen J. Heparin-binding protein: a potential biomarker in sepsis? [J]. *Clin Infect Dis*, 2010, 50(2): 283-284.
- [10] Gautam N, Olofsson AM, Herwald H, et al. Heparin-binding protein (HBP/CAP37): a missing link in neutrophil-evoked alteration of vascular permeability[J]. *Nat Med*, 2001, 7(10): 1123-1127.
- [11] Rasmussen PB, Bjorn S, Hastrup S, et al. Characterization of recombinant human HBP/CAP37/azurocidin, a pleiotropic mediator of inflammation-enhancing LPS-induced cytokine release from monocytes[J]. *FEBS Lett*, 1996, 390(1): 109-112.
- [12] Linder A, Akesson P, Inghammar M, et al. Elevated plasma levels of heparin-binding protein in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock[J]. *Crit Care*, 2012, 16(3): R90.
- [13] 赵永祯, 李春盛. 生物标志物组合对急诊脓毒症和重度脓毒症患者的诊断价值[J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26(3): 153-158.
- [14] 黄爱蓉, 金益梅, 何时军. 血液肝素结合蛋白联合碱剩余对脓毒症患儿的预测价值[J]. 中华危重症医学杂志(电子版), 2013, 6(5): 16-19.
- [15] McAuley DF, O'Kane CM, Craig TR, et al. Simvastatin decreases the level of heparin-binding protein in patients with acute lung injury[J]. *BMC Pulm Med*, 2013, 13(1): 47.
- [16] Daigo K, Yamaguchi N, Kawamura T, et al. The proteomic profile of circulating pentraxin 3 (PTX3) complex in sepsis demonstrates the interaction with azurocidin 1 and other components of neutrophil extracellular traps [J]. *Mol Cell Proteomics*, 2012, 11(6): M111.015073.

(收稿日期: 2014-07-03)

(本文编辑: 李银平)

• 读者 • 作者 • 编者 •

本刊常用的不需要标注中文的缩略语(一)

急性肺损伤 (acute lung injury, ALI)

急性呼吸窘迫综合征

(acute respiratory distress syndrome, ARDS)

呼气末正压通气 (positive end-expiratory pressures, PEEP)

呼吸机相关性肺损伤 (ventilator-induced lung injury, VILI)

1 秒用力呼气容积

(forced expiratory volume in 1 second, FEV₁)

II 型肺泡上皮细胞 (alveolar type II epithelial cells, AEC II)

急性心肌梗死 (acute myocardial infarction, AMI)

急性心力衰竭综合征 (acute heart failure syndromes, AHFS)

经皮冠状动脉介入术

(percutaneous coronary intervention, PCI)

扩张型心肌病 (dilated cardiomyopathy, DCM)

脉搏指示连续心排量

(Pulse index continuous cardiac output, PiCCO)

慢性心力衰竭 (chronic heart failure, CHF)

B 型利尿肽 (B-type natriuretic peptide, BNP)

C-反应蛋白 (C-reactive protein, CRP)

ST 段抬高型心肌梗死

(ST-elevation myocardial infarction, STEMI)

 α -肌动蛋白 (α -smooth muscle actin, α -SMA) γ -干扰素 (interferon- γ , IFN- γ)

白细胞计数 (white blood cell, WBC)

白细胞介素-6 (Interleukin-6, IL-6)

白细胞三烯 B₄ (Leukotriene B₄, LTB₄)

丙氨酸转氨酶 (alanine transaminase, ALT)

丙二醛 (malondialdehyde, MDA)

肠内营养 (enteral nutrition, EN)

持续气道正压通气

(continuous positive airway pressure, CPAP)

传染性单核细胞增多症 (infectious mononucleosis, IM)

低密度脂蛋白胆固醇

(low density lipoprotein cholesterol, LDL-C)

多器官功能衰竭 (multiple organ failure, MOF)

多器官功能障碍综合征

(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)

肝素结合蛋白 (heparin-binding protein, HBP)

高密度脂蛋白胆固醇

(high density lipoprotein-cholesterol, HDL-C)

格拉斯哥昏迷评分 (Glasgow coma scale, GCS 评分)

格拉斯哥预后评分 (Glasgow outcome scale, GOS 评分)

核转录因子- κ B (nuclear factor- κ B, NF- κ B)

红细胞体积分布宽度 (red blood cell distribution width, RDW)

活化部分凝血活酶时间

(activated partial thromboplastin time, APTT)

肌酐 (creatinine, Cr)

肌酸激酶同工酶 (creatinine kinase MB, CK-MB)

基质金属蛋白酶-9 (matrix metalloproteinase 9, MMP-9)

急性胰腺炎 (acute pancreatitis, AP)

降钙素原 (procalcitonin, PCT)

精氨酸加压素 (arginine vasopressin, AVP)

连续性肾脏替代治疗

(continuous renal replacement therapy, CRRT)

慢性肾衰竭 (chronic renal failure, CRF)

慢性阻塞性肺疾病

(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)