

• 论 著 •

严重创伤后超敏 C 反应蛋白与 T 淋巴细胞亚群变迁之间的关系

龚扬彬, 吴丽娟, 邓菊慧, 刘霞

(成都军区总医院检验科, 成都 610083)

摘要:目的 探讨严重创伤患者血清超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)与 T 淋巴细胞亚群变迁之间的关系及其意义。方法 将 83 例严重创伤患者(ISS 评分 ≥ 16 分)按治疗过程中是否并发感染分为感染组和非感染组,检测患者伤后第 1、2、3、7 天 hs-CRP 与 T 淋巴细胞亚群的水平。实验同时以 20 例健康人作健康对照组进行比较研究。结果 非感染组 hs-CRP 水平先升高后降低,总 T 细胞(CD3⁺)、T₄ 细胞(CD3⁺CD4⁺)、T₄/T₈ 比值(CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺)的水平先降低后升高,T₈ 细胞(CD3⁺CD8⁺)水平先升高后降低,而感染组 hs-CRP 水平持续升高,总 T 细胞、T₄ 细胞、T₄/T₈ 的水平持续降低,两组患者在伤后各天 hs-CRP、T 细胞亚群的变化与健康对照组比较都差异有统计学意义($P < 0.05$)。感染组与非感染组间各时相点比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。严重创伤患者的 hs-CRP 峰值与总 T 细胞、T₄ 细胞、T₄/T₈ 的水平呈显著负相关(相关系数分别为 $r_1 = -0.67$, $r_2 = -0.71$, $r_3 = -0.61$, 均 $P < 0.05$)。结论 严重创伤后急性期患者细胞免疫功能受到抑制,炎症因子 hs-CRP 与 T 淋巴细胞亚群变迁有相关性,与创伤严重程度及有无并发感染的发生密切相关,根据病情程度和时限变化主动给予适当的免疫调控,并制定有效的抗感染治疗方案,对救治严重创伤患者有重要的临床意义。

关键词:创伤和损伤; T 淋巴细胞亚群; C 反应蛋白质

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.001

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)20-2299-02

High sensitivity C-reactive protein and T-lymphocyte subpopulation after severe trauma

Gong Yangbin, Wu Lijuan, Deng Juhui, Liu Xia

(Department of Clinical Laboratory, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

Abstract: Objective To inquire into the relationship between high sensitivity C-reactive protein(hs-CRP) and T-lymphocyte subpopulation in the seriously injured and its significance. **Methods** The 83 seriously injured(ISS ≥ 16) were divided into 2 groups according to the infection in the course of treatment, or the infection group and the non-infection group. The levels of hs-CRP and T-lymphocyte subpopulation were detected 1, 2, 3 and 7 days after trauma. Twenty healthy persons were used as controls for comparison at the same time. **Results** In the non-infection group, the level of hs-CRP rose at first and fell later, the levels of total T cells(CD3⁺), T₄ cells(CD3⁺CD4⁺) and T₄/T₈ (CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺) fell at first and rose later and the level of T₈ cells(CD3⁺CD8⁺) rose at first and fell later while in the infection group, the level of hs-CRP rose continuously and the levels of total T cells and T₄/T₈ fell continuously. Hs-CRP and T-lymphocyte subpopulation change showed a significant difference each day after trauma in both groups compared with the control group($P < 0.05$). Each phase point showed a significant difference between the infection and non-infection groups ($P < 0.05$). The peak value of hs-CRP was negatively correlated with the levels of total T cells, T₄ cells and T₄/T₈ in the seriously injured (correlation coefficient: $r_1 = -0.67$, $r_2 = -0.71$, $r_3 = -0.61$, $P < 0.05$). **Conclusion** Cellular immune function is inhibited at the acute stage after severe trauma. Inflammatory factor hs-CRP is correlated with T-lymphocyte change and closely correlated with the severity of trauma and the occurrence of infection. The proper immuno-regulation given actively according to the degree of the patient's condition and the change of the time limit and the making of an effective therapeutic plan for anti-infection are of important clinical significance for the emergency treatment of the seriously injured.

Key words: wounds and injuries; T-lymphocyte subsets; C-reactive protein

随着急救医学的发展,人们对创伤救治有了更高要求,严重创伤救治水平的提高,关键在于对创伤的损伤机制的认识和研究,有效控制创伤后感染,能够降低患者的死亡率。近年来,很多学者证实严重创伤与机体免疫功能存在密切联系,其中机体免疫功能紊乱及炎症因子的作用已日益受到重视,但两者之间相互关系少见报道。本研究通过动态观察严重创伤患者急性期血清超敏 C 反应蛋白(hs-CRP)与 T 淋巴细胞亚群的变迁,以探讨其细胞免疫功能与炎症反应之间的关系,为临床救治提供有效的参考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 83 例均为本院急诊科 2009 年 5 月至 2011 年 5 月收治入院的严重创伤患者,既往无疾病史,伤前均健康,伤后 8 h 以内入本院,损伤严重程度评分(ISS) ≥ 16 分。其中男性 52 例,女性 31 例,年龄 19~70 岁,平均(38.2 $\pm$ 11.8)岁。

根据治疗过程中有无并发创伤感染分为感染组 33 例和非感染组 50 例。健康对照组 20 例为接受体检的健康人,其中男性 13 例,女性 7 例,年龄 20~63 岁,平均(36.8 $\pm$ 10.9)岁。

1.2 标本 分别于伤后立即入院(为第 1 天)及第 2、3、7 天清晨用美国 BD 公司真空采血管采集患者空腹外周静脉全血。其中 EDTA-K₂ 抗凝管(紫色帽)采集静脉血 2~3 mL,进行 T 淋巴细胞亚群分析;分离胶促凝管(黄色帽)采集静脉血 2~3 mL,分离血清进行 hs-CRP 分析。健康对照组采空腹静脉血 1 次。所有标本在对应时间采集并在 2 h 内分析。

1.3 T 细胞亚群分析 采用流式细胞术进行测定。同型对照抗体 IgG1-PC5/IgG1-FITC/IgG1-PE、测定抗体 CD3-PC5/CD4-FITC/CD8-PE、标本预处理试剂等均购自 Beckman-Coulter 公司,仪器为美国 Beckman-Coulter 公司 EPICS-XL4 MCL 流式细胞仪。具体检验方法参见参考文献[1]执行,记录总 T

细胞(CD3⁺)、T4 细胞(CD3⁺CD4⁺)、T₈ 细胞(CD3⁺CD8⁺)和 T4/T₈ 比值(即 CD3⁺CD4⁺ / CD3⁺CD8⁺)。

1.4 hs-CRP 测定 采用德灵 BN ProSpec 特定蛋白分析仪及配套试剂,严格按操作规程处理标本和上机检测 hs-CRP。分析前仪器及试剂状态良好,质控在控。

1.5 统计学处理 采用 SPSS13.0 进行统计学分析,检测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料的组间两两比较采用 *t* 检验,百分率比较采用 χ^2 检验,以 *P* < 0.05 为差异有统计学意义。并进行两因素直线相关分析及相关系数的显著性检验。

2 结 果

hs-CRP 与 T 淋巴细胞亚群的水平在各时相点的检测结

果见表 1。非感染组 hs-CRP 水平先升高后降低,总 T 细胞(CD3⁺)、T₄ 细胞(CD3⁺CD4⁺)、T₄/T₈ 比值(CD3⁺CD4⁺ / CD3⁺CD8⁺)的水平先降低后升高,T₈ 细胞(CD3⁺CD8⁺)水平先升高后降低,而感染组 hs-CRP 水平持续升高,总 T 细胞、T₄ 细胞、T₄/T₈ 的水平持续降低,两组患者在伤后各天 hs-CRP、T 细胞亚群的变化与健康对照组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。感染组与非感染组间各时相点比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。严重创伤患者的 hs-CRP 峰值与总 T 细胞、T₄ 细胞、T₄/T₈ 的水平呈显著负相关(相关系数分别为 *r*₁ = -0.67, *r*₂ = -0.71, *r*₃ = -0.61, *P* < 0.05)。

表 1 hs-CRP 与 T 淋巴细胞亚群的水平在各时相点的变化($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	总 T 细胞(%)	T ₄ 细胞(%)	T ₈ 细胞(%)	T ₄ /T ₈	hs-CRP(mg/L)
感染组(<i>n</i> = 33)	1 d	47.35 ± 21.51 [○]	30.53 ± 7.80 [○]	35.98 ± 12.01 ^{○□}	0.90 ± 0.46 [○]	226.78 ± 34.12 ^{○□}
	2 d	48.01 ± 19.54 [○]	31.70 ± 7.66 [○]	32.70 ± 10.65 [○]	0.95 ± 0.45 [○]	255.34 ± 41.11 ^{○□}
	3 d	47.46 ± 17.72 ^{*□}	31.55 ± 12.02 ^{*□}	32.05 ± 11.20 [*]	0.96 ± 0.51 ^{*□}	246.50 ± 39.07 ^{○□}
	7 d	51.38 ± 12.14 ^{#□}	32.09 ± 9.85 ^{#□}	33.14 ± 8.11 ^{*○}	1.08 ± 0.66 ^{#□}	244.78 ± 30.82 ^{○□#}
非感染组(<i>n</i> = 50)	1 d	52.11 ± 19.84 [○]	31.02 ± 6.12 [*]	31.87 ± 11.35 [*]	0.95 ± 0.42 [○]	108.91 ± 35.22 [○]
	2 d	54.17 ± 18.01 [*]	33.15 ± 8.64 [*]	30.38 ± 11.03 [*]	1.11 ± 0.38 [*]	117.38 ± 40.15 [○]
	3 d	63.43 ± 16.53 ^{*#}	36.24 ± 10.28 ^{*#}	30.09 ± 9.45 [*]	1.30 ± 0.55 [*]	99.73 ± 30.46 [○]
	7 d	67.25 ± 10.76 [#]	40.73 ± 7.69 ^{*#}	29.13 ± 7.91 [#]	1.42 ± 0.58 [#]	66.78 ± 32.04 ^{○#}
健康对照组(<i>n</i> = 20)	—	72.41 ± 7.54	45.70 ± 5.82	28.78 ± 6.01	1.68 ± 0.75	1.92 ± 1.01

*: *P* < 0.05, [○]: *P* < 0.01, 与健康对照组比较; #: *P* < 0.05, 与伤后第 1 天比较; [□]: *P* < 0.05, 与非感染组比较。—: 无数据。

3 讨 论

严重创伤后的感染问题是引起患者后期死亡的最主要原因。T 淋巴细胞亚群是人体最重要的免疫细胞,在机体免疫功能中发挥主要作用,不仅参与体内细胞免疫应答,而且对体液免疫应答也有重要的调节作用,如辅助性 T 细胞(Th)和抑制性 T 细胞(Ts)之间的相互协调与制约,就产生适度的免疫应答。T 淋巴细胞按 CD 抗原分为 T₄ 细胞(CD3⁺CD4⁺)和 T₈ 细胞(CD3⁺CD8⁺)两大亚群,总 T 细胞(CD3⁺)为外周血成熟的 T 淋巴细胞总数,T₄ 细胞主要包括辅助/诱导 T 细胞(Th/Ti),具有辅助细胞转变为效应细胞,细胞生成抗体和巨噬细胞活化等功能,起辅助诱导细胞及体液免疫的作用;T₈ 细胞主要包括抑制/杀伤 T 细胞(Ts/Tk),具有抑制细胞活化,抑制细胞产生抗体和细胞毒作用,起抑制细胞和体液免疫的作用。正常情况下 T₄ 细胞和 T₈ 细胞始终保持相对恒定的比例,相互作用,共同参与免疫应答,维持机体的正常免疫功能。当机体受到细菌、病毒感染或过敏反应时,不同 T 淋巴细胞亚群的数量和功能发生变化,导致机体免疫功能紊乱。有研究表明,各种严重的危重症均有免疫功能的变化,主要表现在细胞免疫受到抑制,即 T 淋巴细胞在数量、比例、功能等方面发生不同程度的变化^[2]。本组资料显示,83 例严重创伤患者在伤后各天 T₄ 细胞和 T₈ 细胞及 T₄/T₈ 的水平都降低,与健康对照组比较差异有统计学意义(*P* < 0.05)。总 T 细胞的减少,一方面表示成熟的 T 细胞减少,另一方面也会影响 T 细胞对抗原呈呈细胞(APC)上 MHC-抗原决定簇复合物的识别。因此,总 T 细胞的减少,是免疫功能受抑制的总体反映。由此可见,严重创伤后患者 T 细胞免疫功能低下,与临床上严重创伤后患者易并发感染的现象一致。T₄ 细胞是 T 淋巴细胞中最多且最重要

的,在免疫应答的全面调节中起关键性作用。T₄ 细胞在严重创伤后发生两个方面的变化,一方面是总数的减少,辅助其他细胞参与免疫应答的能力减弱,另一方面是 Th1/Th2 失衡,即为 SIRS 与 CARS 之间的失衡,最终临床上表现为“免疫麻痹”^[3]。T₈ 细胞的 Ts(抑制 T 细胞)亚群具有抑制体液免疫与细胞免疫的功能,本实验 T₈ 细胞增多,说明机体在经受严重创伤应激后,Ts 发生过度增殖,其结果抑制 Th 细胞的增殖及其功能,从而表现为免疫功能低下。T₄/T₈ 降低是疾病严重程度及预后不良的重要标志之一。严重创伤后 T₄/T₈ 显著降低,且与 ISS 评分呈负相关,说明免疫功能低下且紊乱,对判断预后有一定的价值^[4]。严重创伤后,患者总 T 细胞、T₄ 细胞、T₄/T₈ 的水平下降将影响机体正常的免疫应答,削弱机体抗细菌包括非胞内菌感染的能力^[5]。严重创伤患者出现总 T 细胞、T₄ 细胞、T₄/T₈ 明显下降的原因可能是创伤后巨噬细胞和中性粒细胞异常活化,前列腺素 E2(PGE2)产生增加,PGE2 对免疫系统产生向下调控,同时 PGE2 还可激活 T₈ 细胞,导致免疫抑制。另外,创伤后患者血清中出现多种具有免疫抑制作用的血清因子,同时血清中具有免疫增强作用的物质(如纤维结合蛋白)减少,这些物质共同作用于机体,导致免疫抑制。

hs-CRP 是机体在应激状态下由肝脏合成的一种敏感的急性时相蛋白,是反映全身性炎症反应的非特异性标志物,健康人体中含量极微,但在有组织损伤、炎症的情况下可升高 100 倍以上,反应迅速而敏感。在炎症反应早期特异性抗体出现前,它对抗体免疫功能发动有重要意义,有类调理素作用,能促进单核-巨噬细胞和中性粒细胞吞噬细菌和释放溶酶体酶,发挥非特异抗炎作用。hs-CRP 可与补体系统相互作用,与 C1q 结合,由经典途径激活补体,释放炎症介质,(下转第 2303 页)

率和漏诊率,从而提高 PAIg 的诊断效率给临床更准确的结果。因此,血小板减少性疾病检测 PAIg 时,应同时提供 PAIg 的 FPP 和 MF 的结果给临床,才能提高 ITP 的确诊率。

采用 FCM 方法检测血小板抗体操作简单,但是一些步骤仍然需要注意。血液标本的保存条件需要注意,保存和制备时所处环境温度以 16~20℃ 为宜;标本采集后应尽量在 2 h 内检验,因为结合自身抗体的血小板容易发生破裂造成假阴性结果;同型对照管十分重要;每天的每批检验必须进行同型对照管的平行测定,甚至每一份标本需要进行平行同型对照管的测定。一方面同型对照管可以用于每次测定各荧光通道电压是否合适的再次审核与调节参考,另一方面也有助于发现个别标本存在污染荧光物质的情况,如患者输入了某种可以自发特定荧光的药物。如果血小板上结合有大量自身抗体,这种血小板本身就容易破裂,使流式细胞仪很难捕捉到阳性信号。因此,病情较重的血小板减少症病例检验结果为阴性,这是方法学无法规避的问题,需要向临床解释清楚,至少流式检验的灵敏度还是很高的,对于免疫性血小板减少症的诊断与亚型分类仍然具有一定诊断价值。在平时工作中,一般是血小板总数在 $(50\sim 100)\times 10^9/L$ 的情况下进行加样,如果标本中血小板总数减少,应适当增加血浆标本用量,按比例减少 PBS 用量,甚至不加入 PBS;如果标本中血小板总数在 $100\times 10^9/L$ 以上,应减少血浆标本用量,按比例增加 PBS 用量。遇到血小板严重减少的病例,需要制备富含血小板血浆再行检验。

作者认为流式细胞仪检测具有以下优点:所需标本量少,即使血小板计数低于 $10\times 10^9/L$ 仍可分析,简便、省时并且可随时测定单个标本。开展 FCM 检测血小板抗体将给临床提供更多帮助,建议临床对于血小板减少的患者把血小板表面 IgG、IgA 和 IgM 的 FPP 和 MF 都进行测定,以更好提高 PAIg 的诊断效率给临床更准确的结果。

(上接第 2300 页)

促进黏附和吞噬细胞反应,使细胞溶解,其在炎症反应中起着积极作用,参与机体免疫系统防卫。hs-CRP 的个体变异较低,具有长期稳定性。hs-CRP 虽对疾病诊断无特异性,但其水平上升是各种原因引起的炎症和组织损伤的灵敏指标,可反映出炎症和组织损伤的程度。从本组资料显示,严重创伤患者伤后 1 周内 hs-CRP 的变化与健康对照组比较差异有统计学意义 ($P<0.01$),说明机体一直处于高应激状态,其的动态变化对病情预测具有一定的价值。

非感染组 hs-CRP 水平先升高后降低,总 T 细胞、 T_4 细胞、 T_4/T_8 的水平先降低后上升, T_8 细胞水平先升高后降低,说明严重创伤患者在无并感染的情况下,随着时间的推移,机体免疫功能逐步恢复,炎症得到控制,预后良好;而有感染组 hs-CRP 水平持续升高,总 T 细胞、 T_4 细胞、 T_4/T_8 的水平持续降低,说明在 1 周内机体免疫功能持续低下,预后较差,从而进一步说明了 hs-CRP 和 T 淋巴细胞亚群的水平能够很好地反映患者病情的严重程度以及转归。严重创伤患者 hs-CRP 峰值与总 T 细胞、 T_4 细胞、 T_4/T_8 的水平呈显著负相关(相关系数分别为 $r_1=-0.67$, $r_2=-0.71$, $r_3=-0.61$, $P<0.05$)。创伤后急性期 hs-CRP 的升高程度不仅与创伤严重程度呈正相关,而且与创伤感染的发生密切相关,hs-CRP 的持续升高和总 T 细胞、 T_4 细胞、 T_4/T_8 的水平持续降低提示患者预后

参考文献

- [1] 钟明华,廖军鲜,龙红,等.流式细胞术检测红细胞相关抗体及临床应用[J].中日友好医院学报,2001,15(1):3-6.
- [2] Alimardani G,Guichard J,Fichelson S,et al. Pathogenic effects of anti-glycoprotein Ib antibodies on megakaryocytes and platelets [J]. Thromb Haemost,2002,88(6):1039-1041.
- [3] 吴丽娟.临床流式细胞学检验技术[M].北京:人民军医出版社,2010:167-170.
- [4] Kokawa T,Nomura S,Yanabu M,et al. Detection of platelet antigen for antiplatelet antibodies in idiopathic thrombocytopenic purpura by flow cytometry, antigen-capture ELISA, and immunoblotting: a comparative study[J]. Eur J Haematol,1993,50(2):74-80.
- [5] Nel JD,Stevens K. A new method for the simultaneous quantitation of platelet-bound immunoglobulin (IgG) and complement (C3) employing an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) procedure[J]. Br J Haematol,1980,44:281-290.
- [6] Stockelberg D,Hou M,Jacobsson S,et al. Detection of platelet antibodies in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura (ITP). A comparative study using flow cytometry, a whole platelet ELISA, and an antigen capture ELISA[J]. Eur J Haematol,1996,56:72-77.
- [7] 许艳丽,邓庆华.流式细胞术检测原发性血小板减少性紫癜患者外周血血小板相关抗体[J].国际检验医学杂志,2006,27(8):758.
- [8] Memillan R. The role of antiplatelet autoantibody assays in the diagnosis of immune thrombocytopenia purpura[J]. Curr Hematol Rep,2005,4(2):160-165.

(收稿日期:2011-08-08)

不佳。

总之,将 T 淋巴细胞亚群各指标和 hs-CRP 作为临床判断病情轻重及预后好坏的客观指标,为临床医生提供有力的参考依据,及时采取相应的救治方案和措施,针对患者的免疫状态情况,合理地调整其免疫功能,减轻机体的继发性损害,增强机体的抗感染能力,提高治愈率,有十分重要的临床价值。

参考文献

- [1] 吴丽娟.临床流式细胞学检验技术[M].北京:人民军医出版社,2010:79-82.
- [2] Uehara S,Gothoh K,Handa H,et al. Immune function in patients with acute pancreatitis[J]. J Gastroenterol Hepatol,2003,18(4):363-370.
- [3] Monneret G,Debard AL,Venet F,et al. Marked elevation of human circulating $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells in sepsis-induced immunoparalysis[J]. Crit Care Med,2003,31:2068-2071.
- [4] 王触灵.重症颅脑损伤急性期 T 细胞亚群 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 和 $CD4^+/CD8^+$ 的变化及其临床意义[J].兰州大学学报:医学版,2005,31(3):41-45.
- [5] 占世坤,胡秉诚,沈健康.重型颅脑外伤患者免疫功能的观察[J].上海医学,1997,20(8):470-472.

(收稿日期:2011-08-18)