

• 临床检验研究论著 •

松鼠葡萄球菌抑制屋尘螨引起的混合型气道炎症反应*

赵敏¹, 李智², 于永春³, 陈春球³, Holger Garn⁴, Harald Renz^{4△}

(1. 上海市第十人民医院检验科/同济大学附属第十人民医院检验科, 上海 200072; 2. 上海市杨浦区中心医院检验科, 上海 200090; 3. 上海市第十人民医院中心实验室/同济大学附属第十人民医院中心实验室, 上海 200072; 4. 德国马尔堡大学, 德国马尔堡 35039)

摘要:目的 探讨松鼠葡萄球菌对屋尘螨(HDM)致敏的小鼠哮喘模型的影响作用。方法 BALB/c 小鼠于实验第 0、7、14、21 天接受经鼻腔内注射 PBS 液或 HDM 提取液致敏。松鼠葡萄球菌的“接种”始于致敏前 9 d, 每周 3 次, 止于实验第 20 天。于末次致敏后 24 h 和 48 h 分别处死小鼠。对支气管肺泡灌洗液(BAL)进行细胞计数和分类; ELISA 法检测 BAL 中 CXCL1、CXCL2、CCL11(eotaxin)、IL-5、IFN- γ 、IL-10 和 IL-17 的含量及血清总 IgE, HDM 特异性 IgG1、IgG2a; 流式微球技术(CBA)检测体外培养淋巴分泌液中细胞因子 IL-4、IL-5、IL-13、IFN- γ 、IL-10、IL-17A 和 GM-CSF 的含量; 采用实时荧光定量 PCR 检测肺组织中相关基因 mRNA 表达; 并对肺组织 PAS 染色后进行病理组织学观察。结果 松鼠葡萄球菌抑制了 HDM 抗原诱导的混合型气道炎症(以中性粒细胞和嗜酸性粒细胞为主); 降低了 BAL 中 CXCL1 和 IL-5 的蛋白水平; 阻止体外培养淋巴细胞分泌 IL-5、IFN- γ 、IL-10 和 IL-17 等因子; 并减轻了高脚杯细胞增生(GCH)和黏液分泌增多等组织学改变。结论 “接种”松鼠葡萄球菌对 HDM 致敏的小鼠模型具有保护效应。

关键词: 尘螨科; 葡萄球菌属; 支气管肺泡灌洗液

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2013.17.008

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2013)17-2224-03

Staphylococcus sciuri suppressed mixed allergic airway inflammation induced by house dust mite extract in an experimental mouse model*

Zhao Min¹, Li Zhi², Yu Yongchun³, Chen Chunqiu³, Holger Garn⁴, Harald Renz^{4△}

(1. Department of Clinical Laboratory, the Tenth People's Hospital of Shanghai/the Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Shanghai Municipal Yangpu District Central Hospital, Shanghai 200090, China; 3. Department of Central Laboratory, the Tenth People's Hospital of Shanghai/the Tenth People's Hospital Affiliated to Tongji University, Shanghai 200072, China; 4. Philipps-Universitaet Marburg, Marburg 35039, Germany)

Abstract: Objective To explore the influential role of *Staphylococcus sciuri* (*S. sciuri*) in an experimental murine asthma model sensitized by HDM allergen. **Methods** BALB/c mice received an intranasal instillation of PBS or HDM extract (50 μ g or 100 μ g) on days 0, 7, 14, 21. Nine days before the first sensitization, the mice were given an inoculation of 10^8 CFU/25 μ L *Staphylococcus sciuri*. The inoculation took place for 3 times in one week and stopped on day 20. 24 and 48 hours after the final sensitization, the mice were sacrificed respectively. Cell count and differentiation were made for bronchoalveolar lavage fluid (BAL) cells; protein contents of CXCL1, CXCL2, CCL11 (eotaxin), IL-5, IFN- γ , IL-10 and IL-17 in BAL and the amount of HDM-IgG1, HDM-IgG2a and total IgE in the serum were measured by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA); the levels of cytokines including IL-4, IL-5, IL-13, IFN- γ , IL-10, IL-17A and GM-CSF in *in-vitro* restimulated lymphocytes were detected by Cytometric Bead Array (CBA); mRNA expressions of specific genes were determined by real time PCR; lung tissues were PAS-stained for histological examinations. **Results** *S. sciuri* inhibited the mixed airway inflammation of neutrophils and eosinophils, lowered the protein levels of CXCL1 and IL-5 in the BAL, prevented the secretions of IL-5, IFN- γ , IL-10 and IL-17 from restimulated lymphocytes and altered histological changes including goblet cell hyperplasia (GCH) and mucus hypersecretion in a mouse model which was sensitized by HDM allergen. **Conclusion** Inoculation of *S. sciuri* exerted a protective effect on HDM-induced mouse model.

Key words: pyroglyphidae; staphylococcus; bronchoalveolar lavage fluid

哮喘的病因学研究显示, 哮喘是遗传因素和环境因素相互作用的结果^[1-2]。环境因素在哮喘的发生中起着关键性的作用。一方面, 环境中的过敏原物质如屋尘螨(HDM)、蟑螂、宠物皮屑等被认为是哮喘发生的危险因子^[3-4]; 另一方面, 环境中的某些微生物及其成分可能通过调节机体的固有免疫反应起到保护哮喘的效应^[5-6]。松鼠葡萄球菌是存在于空气中的一种革兰阳性细菌, Ege 等^[7]在最近一项流行病学调查中发现该细菌与儿童哮喘的发生呈负相关。然而松鼠葡萄球菌的作用机制尚不清楚, 其在动物模型中的作用尚未见报道。本研究通过

制备 HDM 过敏原诱导的小鼠哮喘模型, 并观察松鼠葡萄球菌对该模型的影响, 进一步探讨该细菌的作用机制, 为哮喘的生物疫苗疗法提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 实验动物 野生型雌性 BALB/c 小鼠, 6~8 周龄, 体质量(20 \pm 2)g, 购于德国 Harlan Winkelmann 中心, 所有老鼠均在无致病菌环境下饲养。

1.2 仪器与试剂 HDM extract (德国 Allergopharma 公司);

* 基金项目: 国家自然科学基金资助项目(81170345)。 作者简介: 赵敏, 女, 主管检验师, 主要从事临床微生物学与免疫学检验研究。

△ 通讯作者, E-mail: renzh@med.uni-marburg.de。

冻干的 *Staphylococcus sciuri* 菌株(德国慕尼黑农场尘埃);小鼠 IgE、IgG1、IgG2a ELISA kit(美国 BD Pharmingen 公司);小鼠 CXCL1、CXCL2、CCL11、IL-17 试剂盒(美国 R&D systems 公司);小鼠 IL-5、IFN- γ 、IL-10 抗体(美国 BD Pharmingen 公司);SYBR Green PCR Master Mix 试剂盒(德国 Quiagen 公司);FlowCytomix 小鼠 Th1/Th2 7 plex 试剂盒(奥地利 Bender MedSystems 公司);CASY TT 细胞计数仪(德国 Schärfe System 公司);Sunrise 酶标仪(德国 Tecan 公司);BD FACSAArray™ 生物分析仪(美国 BD 公司);Rotor-gene 3000 荧光定量 PCR 仪(澳大利亚 Corbett 公司);Cytocentrifuge Cytospin 3 离心机(英国 Shandon 公司);Centrifuge Megafuge 1.0R 离心机(德国 Heraeus 公司)。

1.3 动物分组及处理 BALB/c 小鼠 40 只,随机分为 4 组:PBS 阴性对照组(PBS/PBS)、未经接种的 HDM 组(PBS/HDM)、*S. sciuri* 对照组(Sci/PBS)、经接种的 HDM 组(Sci/HDM),每组 10 只。于实验第 0、7、14、21 天,各组小鼠接受经鼻腔内(i. n.)注射 50 μ L PBS 液或 HDM 液(100 μ g/50 μ L PBS)致敏。松鼠葡萄球菌的经鼻腔“接种”始于致敏前 9 d,每周 3 次,每次接种 10⁸ CFU/25 μ L PBS 或 25 μ L PBS 并止于实验第 20 天。于末次致敏后 24 h 和 48 h 分别处死各组小鼠 5 只,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

1.4 细胞分类计数及细胞因子检测 小鼠经氯胺酮(i. p.)麻醉后,仰卧固定,剪开气管,气管针插管,注入 1 mL 预冷的含蛋白酶抑制剂的 PBS 液进行支气管肺泡灌洗,灌洗 3 次后于 4 $^{\circ}$ C 高速离心 10 min,收集上清液获得 BAL, -80 $^{\circ}$ C 保存。细胞沉淀(cell pellet)用含 1% BSA 的 PBS 液 1 mL 重悬,使用 CASY TT 细胞计数仪测量细胞总数后,取 50 μ L 重悬液作 1:200 稀释,经 Cytocentrifuge Cytospin 3 离心制备细胞涂片,吉姆萨染色,镜下分类计数。采用 ELISA 法检测 BAL 中趋化因子和细胞因子 CXCL1、CXCL2、CCL11(eotaxin)、IL-5、IFN- γ 、IL-10 和 IL-17 的含量,操作按说明书进行。

1.5 血清免疫球蛋白检测 经小鼠腋静脉采集静脉血 0.8 mL,于室温下静置 1 h 后,高速离心并留取血清。采用 ELISA 法检测血清总 IgE 和 HDM 特异性 IgG1、IgG2a 含量,操作按说明书进行。

1.6 淋巴细胞体外培养及检测 取小鼠纵膈淋巴结置入无菌培养液(RPMI 1640+10%胎牛血清+1%L-谷氨酰胺+1%青霉素/链霉素)。将淋巴结组织磨碎后通过 100 μ m 直径的滤器获得细胞悬液。高速离心 10 min 后弃上清,轻轻混匀细胞沉淀,取 5 μ L 悬液 1:2 000 稀释后进行细胞计数。根据细胞总数制备浓度为 2 \times 10⁶/mL 的淋巴细胞液。于 96 孔细胞培养板中每孔加入 200 μ L 细胞液,并加入 5 μ L HDM 液(2 mg/mL)进行体外刺激或 5 μ L 培养液作为阴性对照。培养板置 5% CO₂ 孵箱 37 $^{\circ}$ C 培养 72 h 后,于 4 $^{\circ}$ C 高速离心,转移上清液, -80 $^{\circ}$ C 保存。采用流式微球技术(CBA)检测该上清液中细胞因子 IL-4、IL-5、IL-13、IFN- γ 、IL-10、IL-17A、GM-CSF 的蛋白含量。

1.7 肺组织中基因 mRNA 表达的检测 采用实时荧光定量 PCR 法检测肺组织中相关基因的 mRNA 表达。扩增的靶基因包括 CXCL1、CCL11(eotaxin)、CCL17、IL-4、IL-5、IL-13。同时扩增靶基因和管家基因 L32 或 β -actin,通过 Δ CT 法^[8]计算靶基因的相对表达量。引物序列列表 1。

1.8 肺组织病理学观察 结扎支气管,切取左肺组织,置 6% 福尔马林液固定过夜,石蜡包埋后连续 5 μ m 切片,PAS 染色。镜下观察肺组织病理学变化,使用 CAST 系统计算高脚杯细

胞的百分比和黏液分泌物的含量,操作按说明书进行。

1.9 统计学处理 统计数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间均数的比较采用 One-way ANOVA 或非配对 *t* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 松鼠葡萄球菌抑制 HDM 诱导的小鼠气道炎症 经 HDM 致敏的小鼠(HDM 小鼠)气道中出现白细胞的大量浸润,与 PBS 小鼠比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。浸润的白细胞主要由中性粒细胞和嗜酸性粒细胞构成,中性粒细胞聚集始于末次致敏后 24 h,而嗜酸性粒细胞的聚集则始于末次致敏后 48 h。松鼠葡萄球菌的“接种”同时抑制了 HDM 小鼠气道中性粒细胞和嗜酸性粒细胞的炎症反应(*P* < 0.05)。

表 1 基因扩增引物序列

基因名称	序列(5'~3')
CXCL1	正义链 CTT GAA GGT GTT GCC CTC AG
	反义链 TGG GGA CAC CTT TTA GCA TC
CCL11(eotaxin)	正义链 CCA AGG ACT TGG CTT CAT GT
	反义链 AAC TCG TCC CAT TGT GTT CC
CCL17	正义链 AAT GTA GGC CGA GAG TGC TG
	反义链 CAT CCC TGG AAC ACT CCA CT
IL-4	正义链 TCA ACC CCC AGC TAG TTG TC
	反义链 TGT TCT TCG TTG CTG TGA GG
IL-5	正义链 CTG TCC TCG CCA CAC TTC
	反义链 ACG ATG AGG CTT CCT TC
IL-13	正义链 CCA TCC CAT CCC TAC AGA AA
	反义链 ATA GGC AGC AAA CCA TGT CC
L32	正义链 GCA AGT TCC TGG TCC ACA AT
	反义链 GGG ATT GGT GAC TCT GAT GG
β -actin	正义链 TGT TAC CAA CTG GGA CGA CA
	反义链 GGG GTG TTG AAG GTC TCA AA

2.2 松鼠葡萄球菌抑制 HDM 诱导的 CXCL1 和 IL-5 分泌 末次致敏后 24 h,HDM 小鼠 BAL 中 CXCL1 和 IL-5 的蛋白含量明显增加,与 PBS 小鼠比较,差异有统计学意义(*P* < 0.01)。末次致敏后 48 h,CXCL1 蛋白水平持续升高,但 IL-5 恢复至正常水平。松鼠葡萄球菌的“接种”显著抑制了 HDM 小鼠 BAL 中 CXCL1 和 IL-5 的蛋白分泌。CXCL2、CCL11(eotaxin)、IFN γ 、IL-10 和 IL-17 的含量在各组小鼠中均低于检测下限。

2.3 松鼠葡萄球菌减轻 HDM 小鼠肺组织中病理学改变 经 PAS 染色后,PBS 组小鼠肺组织切片未见明显病理改变,各级支气管及肺泡结构规则且完整,小支气管及血管周围无炎症细胞浸润,支气管管壁黏膜完整无断裂及脱落。未经“接种”的 HDM 小鼠肺组织切片小支气管及血管周围均见明显的炎症细胞浸润,支气管上皮细胞部分断裂及脱落,高脚杯细胞增生及黏液分泌显著增多(*P* < 0.01)。松鼠葡萄球菌的“接种”则逆转了 HDM 引起的病理组织学改变,见图 2(见《国际检验医学杂志》网站首页“论文附件”)。

2.4 松鼠葡萄球菌抑制 HDM 小鼠体外淋巴因子的分泌 对体外培养淋巴细胞两个不同时间点(末次致敏后 24 h 和 48 h)的检测发现,HDM 小鼠的淋巴细胞经体外 HDM 刺激后在第一个检测点具有较强的免疫活性,其分泌的细胞因子包括 IL-4、IL-5、IL-13、IFN γ 、IL-10、IL-17A、GM-CSF 显著增多,而 PBS 小鼠的淋巴细胞经体外 HDM 刺激后未见任何细胞因子分泌增多。松鼠葡萄球菌的“接种”对体外培养的淋巴细胞具有明显的抑制效应。经“接种”的 HDM 小鼠淋巴细胞接受体外 HDM 刺激后分泌 IL-4、IL-5、IL-13、IFN γ 、IL-10、IL-17A 显著下降,与未经“接种”的 HDM 小鼠相比,差异有统计学意义

($P < 0.01$)。

2.5 松鼠葡萄球菌降低 HDM 小鼠肺组织中相关基因 mRNA 表达 HDM 致敏引起小鼠肺组织中 CXCL1、CCL11 (eotaxin)、CCL17、IL-4、IL-13 基因的 mRNA 表达显著升高,与 PBS 小鼠相比,差异有统计学意义($P < 0.05$)。同时,HDM 小鼠中 IL-5 基因的 mRNA 表达有升高的趋势,接近统计学意义($P = 0.063$)。经松鼠葡萄球菌“接种”后,HDM 小鼠中 CXCL1($P = 0.076$)、CCL11 (eotaxin)、CCL17($P = 0.057$)、IL-4、IL-5、IL-13 基因的 mRNA 表达显著下降。

3 讨论

引起哮喘的发病原因极其复杂。目前认为,环境与哮喘的发生密切相关。环境中的过敏原物质如 HDM 已在不同的动物模型中得到研究,Cates 等^[9]首次以 HDM 作为抗原,连续 10 d 通过鼻腔给小鼠注射 25 μg HDM 后,导致其体内 Th2 细胞活化及嗜酸性气道炎症。Post 等^[10]的试验数据则提示了不同组分的 HDM 抗原可引起不同的细胞因子释放,并导致不同的细胞活化。HDM 广泛存在于日常生活中,如尘埃、地毯、被褥、床垫、枕芯等,它可以直接通过呼吸道引起人类哮喘的发生,且不需要佐剂的辅助,因而较卵清蛋白(OVA)更具临床价值。本研究通过经鼻腔内黏膜滴注 100 μg HDM 抗原,成功诱导了以中性粒细胞和嗜酸性粒细胞为主的混合型气道炎症模型。对气道反应两个不同时间点检测发现,中性粒细胞的活化早于嗜酸性粒细胞。对细胞因子和趋化因子的检测结果显示:HDM 致敏引起 BAL 中 CXCL1 和 IL-5 蛋白水平升高;并诱导体外培养的淋巴细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-13、IL-10、IL-17A、IFN γ 和 GM-CSF 增加。其中,CXCL1、IL-17 和 IFN γ 的表达上调可能与中性粒细胞的活化相关;CXCL1 已多次被证实为中性粒细胞的强效趋化剂^[10],IL-17 则可能通过诱导 CXCL1 发挥募集中性粒细胞的作用^[11],IFN γ 与中性粒细胞间的关系研究较少,Yoshimura 等^[12]证实了 IFN γ 能够有效延长中性粒细胞的生存期。而 IL-4、IL-5、IL-13 和 GM-CSF 的表达增加则与嗜酸性粒细胞的活化有关;IL-5 与嗜酸性粒细胞表面的 IL-5 受体结合而促进嗜酸性粒细胞的炎症聚集^[13],IL-4 和 IL-13 通过与 IL-4 II 型受体结合诱导趋化因子 eotaxin 等的分泌表达,从而间接发挥嗜酸性粒细胞的趋化作用^[14]。GM-CSF 的嗜酸性粒细胞募集作用则可能与其 β 链受体有关^[15]。该模型中同时观察到了小鼠肺组织的病理学改变包括高脚杯细胞增生和黏液分泌增多,这可能因 IL-13 的分泌增多所致^[16]。进一步的研究发现,经松鼠葡萄球菌“接种”的 HDM 小鼠则防止了上述炎症细胞聚集、细胞因子分泌增加、高脚杯细胞增生等表型。同时仅接受该细菌接种的 PBS 小鼠未发现任何异常变化。

细菌对过敏性疾病如哮喘的保护作用目前已引起科学家的关注,众多的研究资料证实了 1989 年 Strachan 提出的卫生假说^[17],如洛菲不动杆菌、大肠埃希菌、乳酸乳球菌、百日咳杆菌、幽门螺杆菌等在 OVA 模型中均显示出哮喘保护作用。但由于 OVA 诱导的是以嗜酸性粒细胞为主的气道炎症,细菌对中性粒细胞气道炎症的影响仍不清楚。本研究首次探讨了松鼠葡萄球菌对 HDM 诱导的混合型气道炎症模型的潜在效应。松鼠葡萄球菌是一种革兰阳性球菌,它广泛存在于自然环境中,如土壤、河流、树林以及动物的皮毛等,但目前有关其对人类致病性的报道较少。Ege 等^[7]在最近一项流行病学调查中发现该细菌对生活在农场的儿童具有哮喘保护作用。本研究的实验数据提示,经鼻腔内“接种”松鼠葡萄球菌能够有效预防 HDM 诱导的哮喘发生并印证了卫生假说。

目前用来解释卫生假说的免疫学机制有多种。在 OVA 诱导的哮喘模型中,细菌的“接种”有效抑制了嗜酸性粒细胞气道炎症,推测其可能通过促进 Th1 和抑制 Th2 免疫应答而发挥其保护作用^[18]。Lyons 等^[19]提出细菌的保护作用可归结为调节性 T 细胞(Treg)的呼吸道募集。Brand 等^[20]的实验数据则提示表遗传学机制起着关键性作用。本研究通过检测特定基因的 mRNA 表达发现,“接种”松鼠葡萄球菌能有效防止 HDM 引起的 CXCL1、CCL11 (eotaxin)、CCL17、IL-4、IL-5 和 IL-13 基因表达上调。其中,CXCL1、IL-4、IL-5 和 IL-13 的 mRNA 表达水平与蛋白表达水平相吻合,提示了固有免疫和获得性免疫应答的共同参与。考虑到支气管上皮细胞不断地接受抗原刺激或细菌“感染”,松鼠葡萄球菌可能以上皮细胞为靶点,调节机体的免疫应答反应。但限于本研究中检测的基因数目,松鼠葡萄球菌保护效应的免疫学机制值得进一步探讨。

综上所述,本研究首次通过小鼠模型证实了松鼠葡萄球菌的哮喘保护作用。“接种”该细菌能够有效抑制 HDM 引起的混合型气道炎症及相应的病理组织学改变,这对于支气管哮喘尤其是非嗜酸性哮喘(NEA)的生物疫苗疗法有着重要的指导意义。

参考文献

- [1] Renz H, Autenrieth IB, Brandtæg P, et al. Gene-environment interaction in chronic disease: A European Science Foundation Forward Look [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2011, 128(6 Suppl): S27-49.
- [2] Mukherjee AB, Zhang Z. Allergic asthma: influence of genetic and environmental factors [J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(38): 32883-32889.
- [3] Litonjua AA, Carey VJ, Burge HA, et al. Exposure to cockroach allergen in the home is associated with incident doctor-diagnosed asthma and recurrent wheezing [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2001, 107(1): 41-47.
- [4] Polk S, Sunyer J, Muñoz-Ortiz L, et al. A prospective study of Fel d1 and Der p1 exposure in infancy and childhood wheezing [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2004, 170(3): 273-278.
- [5] Braun-Fahrlander C, Riedler J, Herz U, et al. Environmental exposure to endotoxin and its relation to asthma in school-age children [J]. *N Engl J Med*, 2002, 347(12): 869-877.
- [6] Preston JA, Thorburn AN, Starkey MR, et al. Streptococcus pneumoniae infection suppresses allergic airways disease by inducing regulatory T-cells [J]. *Eur Respir J*, 2011, 37(1): 53-64.
- [7] Ege MJ, Mayer M, Normand AC, et al. Exposure to environmental microorganisms and childhood asthma [J]. *N Engl J Med*, 2011, 364(8): 701-709.
- [8] Zaslona Z, Wilhelm J, Cakarova L, et al. Transcriptome profiling of primary murine monocytes, lung macrophages and lung dendritic cells reveals a distinct expression of genes involved in cell trafficking [J]. *Respir Res*, 2009, 10(1): 2.
- [9] Cates EC, Fattouh R, Wattie J, et al. Intranasal exposure of mice to house dust mite elicits allergic airway inflammation via a GM-CSF-mediated mechanism [J]. *J Immunol*, 2004, 173(10): 6384-6392.
- [10] Post S, Nawijn MC, Hackett TL, et al. The composition of house dust mite is critical for mucosal barrier dysfunction and allergic sensitization [J]. *Thorax*, 2012, 67(6): 488-495.
- [11] Breslow JM, Meissler JJ Jr, Hartzell RR, et al. Innate immune responses to systemic acinetobacter baumannii infection in mice neutrophils, NOT interleukin-17, mediated host resistance [J]. *Infect Immun*, 2011, 79(8): 3317-3327.

2.2 两组 6 h 血乳酸值与评分比较 见表 2。

2.3 相关性分析 由表 1、2 可见, 6 h 动脉血乳酸清除率与 APACHE II 评分呈显著性负相关($r=0.695, P<0.01$)。

3 讨 论

重症医学科患者大多数出现呼吸或循环障碍, 当组织严重缺氧可导致三羧酸循环中丙酮酸需氧氧化的障碍, 丙酮酸还原成乳酸的酵解作用增强, 血中乳酸与丙酮酸比值增高及乳酸增加, 甚至乳酸水平达到较高水平^[2-3]。这种极值的出现标志着细胞氧化过程的恶化, 并与显著的呼吸增强、虚弱、疲劳、恍惚及最后昏迷相联系。机体血乳酸的清除下降是也是高乳酸血症的另一重要原因。自有研究者发现低血容量休克和乳酸增高相关并发现乳酸和危重症死亡相关后, 很多研究表明乳酸和各种原因休克病死率相关。当血液中乳酸升高而无血 pH 值降低称为高乳酸血症, 当血 pH 值降低而血液中乳酸升高则称为乳酸酸中毒^[4-5]。因此, 乳酸测定对判断组织缺氧, 酸中毒类型和评估危重症患者的预后具有非常重要的意义^[6-7]。

目前国内外已经广泛应用 APACHE II 评分系统对危重病换着病情严重程度的分析和预后评估, 分值越高, 病情越严重, 死亡风险就越大。近些年来, 国内外学者也相继提出连续血乳酸的动态监测以及乳酸清除率的概念, 并把乳酸清除率作为一个重要的评估危重病患者评估预后的指标^[8-9]。Nguyen 等^[10]报道, 6 h 乳酸清除率小于 10% 对于评估脓毒症患者住院期间病死率有很好的特异性和敏感度, 杨从山等^[11]报道, 在感染性休克患者早期诊断和强化治疗时动态监测血乳酸水平具以及 6 h 乳酸清除率可作为判断预后的指标之一。

通过对不同 APACHE II 评分组与 6 h 血乳酸清除率和病死率之间关系分析, 发现危重病患者随着疾病严重程度的不断增加, APACHE II 评分增高, 早期 6 h 动脉血乳酸清除率下降, 尤其在 APACHE II 评分 $>20\sim30$ 分组和大于 30 分组下降更明显, 病死率亦明显增加。另外对存活组与死亡组乳酸清除率与 APACHE II 评分比较, 死亡组患者 APACHE II 评分分值明显高于存活组, 6 h 乳酸清除率低于存活组($P<0.05$)。

因此, 6 h 血乳酸清除率与危重病患者病情严重程度和预后密切相关^[12], 同时也反映各个脏器衰竭的严重程度, 是对危重病检测的预后和效果评价的良好指标。对危重患者进行动态动脉血乳酸监测, 能够早期判断和发现危重病, 早期干

预以及对危重患者预后进行效果评价具有重要的临床意义。

参考文献

- [1] 蒋文中, 汤彦. 危重病乳酸增高机制及其在预后中价值[J]. 临床荟萃, 2004, 19(7): 405-407.
- [2] Levy B, Gibot S, Franck P, et al. Relation between muscle Na-K-ATPase activity and raised lactate concentrations in septic shock: a prospective study[J]. Lancet, 2005, 365(9462): 871-875.
- [3] Sablotzki A, Muhling J, Czeslick E. Sepsis and multiple organ failure-update of current therapeutic concepts[J]. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2005, 40(9): 511-520.
- [4] Maciel AT, Park M. Unmeasured anions account for most of the metabolic acidosis in patients with hyperlactatemia[J]. Clinics, 2007, 62(1): 55-62.
- [5] 李斌, 赵运转. 危重病患者的床旁检验乳酸测定[J]. 医学检验与临床, 2007, 18(2): 5-6.
- [6] Donnino MW, Miller J, Goyal N, et al. Effective lactate clearance is associated with improved outcome in post-cardiac arrest patients[J]. Resuscitation, 2007, 75(2): 229-234.
- [7] Illeter A, Turina M, Seifert B, et al. Early serum procalcitonin, interleukin-6, and 24-hour lactate clearance: useful indicators of septic infections in severely traumatized patients [J]. World J Surg, 2009, 33(3): 558-566.
- [8] Jansen TC, van Bommel J, Bakker J. Blood lactate monitoring in critically ill patients: a systematic health technology assessment [J]. Crit Care Med, 2009, 37(10): 2827-2839.
- [9] Sablotzki A, Muhling J, Czeslick E. Sepsis and multiple organ failure-update of current therapeutic concepts[J]. Anesthesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther, 2005, 40(9): 511-520.
- [10] Nguyen HB, Rivers EP, Knoblich BP, et al. Early lactate clearance is associated with improved outcome in severe sepsis and septic shock[J]. Crit Care Med, 2004, 32(8): 1637-1642.
- [11] 杨从山, 邱海波, 黄英姿, 等. 动态监测动脉血乳酸水平对感染性休克患者预后评价的前瞻性研究[J]. 中华外科杂志, 2009, 47(9): 685-688.
- [12] 林炜, 葛凯杰, 王华强. 血乳酸及 6h 乳酸清除率在 ICU 重症患者中的应用研究[J]. 中国医药科学, 2013, 3(1): 127-128.

(收稿日期: 2013-05-27)

(上接第 2226 页)

- [12] Yoshimura T, Takahashi M. IFN-gamma-mediated survival enables human neutrophils to produce MCP-1/CCL2 in response to activation by TLR ligands[J]. J Immunol, 2007, 179(3): 1942-1949.
- [13] Finkelman FD, Hogan SP, Hershey GK, et al. Importance of cytokines in murine allergic airway disease and human asthma[J]. J Immunol, 2010, 184(4): 1663-1674.
- [14] Munitz A, Brandt EB, Mingler M, et al. Distinct roles for IL-13 and IL-4 via IL-13 receptor $\alpha 1$ and the type II IL-4 receptor in asthma pathogenesis[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008, 105(20): 7240-7245.
- [15] Molfino NA, Gossage D, Kolbeck R, et al. Molecular and clinical rationale for therapeutic targeting of interleukin-5 and its receptor [J]. Clin Exp Allergy, 2011, 42(5): 712-737.
- [16] Tanabe T, Kanoh S, Tsushima K, et al. Clarithromycin inhibits interleukin-13-induced goblet cell hyperplasia in human airway cells

[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2011, 45(5): 1075-1083.

- [17] Garn H, Renz H. Epidemiological and immunological evidence for the hygiene hypothesis[J]. Immunobiology, 2007, 212(6): 441-452.
- [18] Debarry J, Garn H, Hanuszkiewicz A, et al. Acinebacter lwoffii and Lactococcus lactis strains isolated from farm cowsheds possess strong allergy-protective properties[J]. J Allergy Clin Immunol, 2007, 119(6): 1514-1521.
- [19] Lyons A, O'Mahony D, O'Brien F, et al. Bacterial strain-specific induction of Foxp3+ T regulatory cells is protective in murine allergy models[J]. Clin Exp Allergy, 2010, 40(5): 811-819.
- [20] Brand S, Teich R, Dicke T, et al. Epigenetic regulation in murine offspring as a novel mechanism for transmaternal asthma protection induced by microbes[J]. J Allergy Clin Immunol, 2011, 128(3): 618-625.

(收稿日期: 2013-02-05)