· 临床检验研究论著 ·

严重烧伤患者促炎和抗炎细胞因子的变化及其意义*

潘宇红[1]，黄　璇[1]，丁羚涛[2]，陈　江[1]，龚　芳[1△]

（1. 无锡市第三人民医院检验科，江苏无锡 214041；2. 无锡市第三人民医院烧伤科，江苏无锡 214041）

摘　要：目的　检测严重烧伤患者血清中促炎和抗炎细胞因子水平，探讨严重烧伤患者体内免疫状态变化的特点。**方法**　选取烧伤总体表面积（TBSA）＞30％的患者 64 例，按烧伤面积将严重烧伤患者分为 2 组：Ⅰ组 39 例（TBSA 30％～50％），Ⅱ组 25 例（TBSA ＞ 50％）；同时选取年龄和性别相匹配的 20 例健康人作为对照组。分别收集烧伤患者伤后 1、3、7 和 21 d 的血清，采用酶联免疫吸附试验法（ELISA）检测血清中促炎细胞因子 IL-6、IL-8、TNF-α 和抗炎细胞因子 IL-4 、IL-10、G-CSF 的浓度。**结果**　(1) 与对照组相比，两组烧伤患者血清中促炎细胞因子 IL-6、IL-8、TNF-α 和抗炎细胞因子 IL-4、IL-10、G-CSF 在烧伤后不同时间点均显著增高（$P<0.01$）。(2) 烧伤Ⅱ组 IL-6 水平在伤后 7 d 明显高于烧伤Ⅰ组（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），并持续较长时间。烧伤Ⅱ组血清中 IL-8 和 TNF-α 水平在伤后 1 d 就显著高于烧Ⅰ组（$P<0.01$）。(3) 烧伤 II 组 IL-4、G-CSF 水平在伤后 3 d 明显高于烧伤Ⅰ组（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），并持续较长时间。烧伤Ⅱ组血清中 IL-10 水平在伤后 1 d 就显著高于烧伤Ⅰ组（$P<0.01$）。**结论**　严重烧伤患者体内促炎抗炎细胞因子处于失衡状态，并且不同烧伤面积的烧伤患者促炎和抗炎细胞因子的表达存在明显差异，早期监测严重烧伤患者的促炎和抗炎细胞因子水平对疾病的治疗具有重要意义。

关键词：烧伤；　炎症介导素类；　生物因子

DOI：10.3969/j.issn.1673-4130.2013.19.006　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1673-4130(2013)19-2510-02

Changes of serum of pro- and anti-inflammatory cytokines in severely burned patients*

Pan Yuhong[1], *Huang Xuan*[1], *Ding Lingtao*[2], *Chen Jiang*[1], *Gong Fang*[1△]

(1. *Department of Laboratory medicine*, *Wuxi No. 3 people's hospital*, *Wuxi*, *Jiangsu* 214041, *China*;

2. *Department of Plastic Surgery and Burn*, *Wuxi No. 3 people's hospital*, *Wuxi*, *Jiangsu* 214041, *China*)

Abstract: Objective　To investigate the characteristics of immune status changes in severely burned patients by analyzing the serum concentrations of pro- and anti-inflammatory cytokines. **Methods**　A total of 64 patients with total burn surface area (TBSA) larger than 30% were included in the study and divided into two groups according to the burn area: Group Ⅰ (TBSA of 30%－50%, $n=39$) and Group Ⅱ (TBSA>50%, $n=25$). 20 sex and age paired healthy controls were also enrolled in this study. The serum were collected at days postburn: 1 d, 3 d, 7 d and 21 d. The levels of IL-6, IL-8, TNF-α, IL-4, IL-10 and G-CSF were measured by ELISA. **Results**　Compared with healthy control, the levels of pro-inflammatory cytokines IL-6, IL-8, TNF-α and anti- inflammatory cytokines IL-4, IL-10, G-CSF were significantly increased in severely burned patients during the observation period ($P<0.01$). The levels of IL-8, TNF-α and IL-10 in Group Ⅱ were much higher than those in Group Ⅰ during the observation period ($P<0.01$). The levels of IL-6, IL-4 and G-CSF in Group Ⅱ were much higher than those in Group Ⅰ at days 7－21, 3－21 and 3－21 postburn ($P<0.05$ or $P<0.01$). **Conclusion**　There are large perturbations in the expression of pro- and anti-inflammatory cytokines in severely burned patients and the levels of these cytokines show significant differences in patients with different burn areas. Their monitoring allows for an assessment of the immunological status which is helpful to reduce post-burn immune dysfunction and enhance burn healing.

Key words: burns;　inflammation mediators;　biological factors

烧伤是常见的机体损伤情况之一，是诸多因素作用于机体而造成的一种极其复杂的外伤性疾患，有着严重的致死和至畸性。大面积烧伤引起的疼痛、创面的坏死组织以及随之发生的休克、感染等导致炎症细胞活化，从而释放大量细胞因子等炎症介质[1]。如果致炎介质与抗炎介质之间彼此取得平衡，内环境稳定则得以保持。否则，当出现过度炎症反应时，机体发生组织细胞损伤、器官功能障碍，继而出现过度抗炎症反应时，则会出现免疫功能抑制。IL-6、IL-8、TNF-α 等为最有影响的促炎症细胞因子，IL-4 、IL-10、G-CSF 则为最重要的抗炎细胞因子[2]。本研究通过检测烧伤后不同时间点促炎细胞因子及抗炎细胞因子变化规律，探讨严重烧伤患者免疫状态变化的特点。

1　资料与方法

1.1　一般资料　标本采集对象为 2012 年 1 月至 2012 年 12 月收治于无锡市第三人民医院烧伤科的烧伤患者。病例入选标准：(1) 征得患者本人或其亲属知情同意；(2) 年龄大于或等于 18 岁；(3) 烧伤总体表面积（total burn surfaee area，TBSA）＞30％；(4) 患者无免疫缺陷情形（如器官移植或造血干细胞移植，人类免疫缺陷病毒（human mmunodeficiexy virus，HIV）感染，先天性免疫缺陷或正在使用免疫抑制剂）。根据上述标准，本研究入选的病例共 64 例，其中男性 44 例，女性 20

*　基金项目：无锡市医院管理中心医学技术重大扶持项目（YGZF1101）。　作者简介：潘宇红，女，副主任技师，主要从事感染免疫及免疫调节的研究。　△　通讯作者，E-mail：gongfang2004@aliyun.com。

例。按烧伤面积将患者分为 2 组：Ⅰ组 39 例（TBSA 30%～50%），Ⅱ组 25 例（TBSA ＞ 50%），见表 1。入选患者分别于烧伤后 1、3、7、21 d 采集静脉血 4 mL，室温放置 30 min 后，3 000 r/min，8 min，4 ℃离心，分离血清，置于－80 ℃冻存。选择年龄和性别相匹配的 20 例健康献血员为对照组。本实验获南通大学医学伦理委员会的批准。

1.2　方法　酶联免疫吸附试验（enzymel inked immunosobent，ELISA）检测血清各细胞因子水平　IL-4、IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α、G-CSF 试剂盒均购自美国 R&D 公司，各细胞因子检测灵敏度分别为：10.0 pg/mL、0.7 pg/mL、7.5 pg/mL、3.9 pg/mL、5.5 pg/mL、20 pg/mL。严格按照试剂说明书进行操作。

1.3　统计学处理　采用 SPSS 19.0 统计学软件包进行数据处理和统计分析，计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示，经正态性检验后，符合正态性分布的数据比较采用 t 检验，以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2　结　　果

2.1　严重烧伤患者血清促炎细胞因子 IL-6、IL-8、TNF-α 变化情况　与对照组相比，两组烧伤患者血清中 IL-6、IL-8、TNF-α 在烧伤后 1、3、7、21 d 各时间点均显著增高（$P<0.01$）。烧伤Ⅱ组 IL-6 水平在伤后 7 d 明显高于烧伤Ⅰ组（$P<0.01$），并持续较长时间。烧伤Ⅱ组血清中 IL-8 和 TNF-α 水平在伤后 1 d 就显著高于烧伤Ⅰ组（$P<0.01$），见表 2。

表 1　入选烧伤病例基本资料

组别	性别（男/女）	n	年龄（岁）	烧伤面积（TBSA%）
对照组	15/5	20	28.7±9.5	0
Ⅰ组	24/15	39	32.3±10.1	42.4±7.1[a]
Ⅱ组	20/5	25	35.7±7.5	73.5±12.1[ab]

[a]：$P<0.01$，与正常组比较；[b]：$P<0.01$，与Ⅰ组比较。

表 2　严重烧伤患者血清促炎细胞因子变化情况（pg/mL）

组别	烧伤后时间（d）	IL-6	IL-8	TNF-α
Ⅰ组	1	200.3±35.1[a]	187.8±51.4[a]	55.7±16.2[a]
	3	148.4±23.3[a]	123.5±35.3[a]	48.3±17.1[a]
	7	75.3±21.5[a]	67.9±19.2[a]	113.6±24.3[a]
	21	52.1±12.8[a]	45.8±7.3[a]	98.5±14.7a
Ⅱ组	1	191.3±40.4[a]	219.2±55.7[ac]	81.7±18.7[ac]
	3	132.8±17.5[a]	232.1±63.4[ac]	102.3±21.4[ac]
	7	136.7±36.4[ac]	250.5±59.2[ac]	144.7±29.5[ac]
	21	68.5±15.2[ab]	223.6±51.6[ac]	150.3±36.5[ac]
对照组	—	1.2±0.7	20.6±2.6	13.1±3.2

[a]：$P<0.01$，与正常组比较；[b]：$P<0.05$，[c]$P<0.01$，与同时间点Ⅰ组比较；—：此项无数据。

2.2　严重烧伤患者血清抗炎细胞因子 IL-4、IL-10、G-CSF 变化情况　与正常对照组相比，两组烧伤患者血清中抗炎细胞因子 IL-4、IL-10、G-CSF 在烧伤后 1、3、7、21 d 各时间点均显著增高（$P<0.01$）。烧伤Ⅱ组 IL-4、G-CSF 水平在伤后 3 d 明显高于烧伤Ⅰ组（$P<0.05$ 或 $P<0.01$），并持续较长时间。烧伤Ⅱ组血清中 IL-10 水平在伤后 1 d 就显著高于烧伤Ⅰ组（$P<0.01$），见表 3。

表 3　严重烧伤患者血清抗炎细胞因子变化情况（pg/mL）

组别	烧伤后时间（d）	IL-6	IL-8	TNF-α
Ⅰ组	1	37.2±7.6[a]	46.2±15.4[a]	285.4±57.1[a]
	3	59.4±15.2[a]	25.6±11.3[a]	396.2±67.9[a]
	7	115.3±38.5[a]	21.5±9.8[a]	195.3±41.6[a]
	21	127.7±46.3[a]	16.7±5.8[a]	56.1±12.7a
Ⅱ组	1	45.8±8.7[a]	102.5±35.6[ac]	291.6±49.5[a]
	3	74.1±11.3[ab]	70.7±22.4[ac]	472.3±51.4[ab]
	7	215.2±59.8[ac]	53.8±16.1[ac]	388.2±57.6[ac]
	21	260.3±64.4[ac]	48.8±15.9[ac]	364.5±60.3[ac]
正常组	—	25.6±6.8	4.2±1.3	31.5±5.3

[a]：$P<0.01$，与正常组比较；[b]：$P<0.05$，[c]：$P<0.01$，与同时间点Ⅰ组比较；—：此项无数据。

3　讨　　论

烧伤患者体内存在免疫功能紊乱，天然免疫应答变化的表现特征为炎症反应过度，而适应性免疫应答又表现为细胞免疫功能低下[1]。因此严重烧伤患者容易出现全身性炎性反应（systemic inflammatory response syndrome，SIRS）、脓毒症及多器官功能衰竭。近年研究表明 SIRS 实际上是机体炎症反应和抗炎反应失衡的表现[1]。目前，细胞因子参与炎症反应的过程是烧伤免疫研究的热点之一。根据细胞因子在炎症反应中的不同作用，又可分为促炎细胞因子和抗炎细胞因子。因此重视促炎和抗炎细胞因子的研究，对探索烧伤患者体内免疫功能紊乱的发生机制、治疗及病情监测有一定的临床价值。近年来，国外关于烧伤患者促炎和抗炎细胞因子已有大量报道[3-5]，并且有文献指出升高的细胞因子水平和患者预后相关[6-7]。国内有学者报道重度烧伤患者血清 IL-6、IL-10 含量变化与脓毒症发生及预后相关[8]。另外宋振举等[9]报道了不同病情程度的脓毒症患者血清中存在促炎和抗炎细胞因子的表达差异，但其研究结果只是基于伤后某一时间点的分析，对于烧伤后促炎和抗炎细胞因子表达全貌我们仍然不得而知。

本研究结果发现，与对照组相比严重烧伤后患者血清中促炎细胞因子 IL-6、IL-8、TNF-α 和抗炎细胞因子 IL-4、IL-10、G-CSF 在烧伤后不同时间点均显著增高，且差异具有统计学意义。随着烧伤面积的增大即烧伤Ⅱ组的促炎因子 IL-8 和 TNF-α 水平在伤后 1 d 就显著高于烧伤Ⅰ组；促炎因子 IL-6 水平在伤后 7 d 明显高于烧伤Ⅰ组。烧伤Ⅰ组和烧伤Ⅱ组的抗炎因子 IL-4、G-CSF 在烧伤早期即伤后 1 d 相比无明显变化，但在伤后 3 d 开始明显高于烧伤Ⅰ组；烧伤Ⅱ组血清中抗炎因子 IL-10 水平在伤后 1 d 就显著高于烧伤Ⅰ组。本研究结果提示，严重烧伤患者体内促炎抗炎细胞因子处于失衡状态，并且不同烧伤面积的烧伤患者促炎和抗炎细胞因子的表达存在明显差异。由于烧伤越重、病程越长，感染发病率越高[10-11]，而且炎症反应过度往往导致 SIRS 的发生以及对组织器官的直接损伤，因此如何保持炎症因子和抗炎因子之间的平衡是预防和治疗严重烧伤后炎症的重点[12]。

总之，本研究发现了严重烧伤患者体内促炎和抗炎症细胞因子变化规律，可为早期有效地监测严重烧伤患者的免疫功能状态，根据免疫状态进行“个体化”的免疫调节治疗提供参考依据。至于烧伤患者体内促炎抗炎失衡状态是否和临床疾病转归相关还需要进一步深入研究。

（下转第 2513 页）

中并发 MAS,其中 8%～22%的 MAS 患儿最终死于多脏器的功能衰竭,MAS 已成为 SoJIA 致残致死的重要原因。MAS 的临床表现通常为急性起病,以肝脾淋巴结肿大、全血细胞减少、肝功能异常、弥散性血管内凝血和中枢神经障碍为特征,组织学表现为 T 淋巴细胞及活化增生的巨噬细胞浸润,骨髓病理显示有大量分化良好的巨噬细胞吞噬血细胞现象[3-4]。MAS 发生的确切机制尚不清楚,对其发病机制的假设多源于反应性噬血性淋巴组织细胞增生症。研究表明,广泛分布的高度活化的淋巴细胞和巨噬细胞产生的炎性细胞因子如 TNFα、IL-1、IL-6、IL-18、IFNα 的大量释放[12],是造成其各种病理性损伤,产生各种临床症状的主要原因。其中 IL-18 作为调节巨噬细胞活性的细胞因子,可刺激产生一系列的炎症反应,因此可能在 MAS 的发生过程中起到重要作用。有研究认为[13],IL-18 与其天然抑制因子 IL-18 结合蛋白之间的不平衡导致 Th1 淋巴细胞和巨噬细胞活化,由此逃避了 NK 细胞介导的细胞毒作用并继发噬血细胞综合征是其可能作用机制。

本研究显示 JIA 患者血清 IL-18 水平高于对照组,其中 SoJIA 患者血清 IL-18 水平明显高于其他 JIA 亚型。尽管 SoJIA 患者高水平的 IL-18 来源及作用机制尚不清楚,但本研究结果表明 IL-18 对于诊断 SoJIA 有较大价值,通过检测患者的 IL-18 水平,可能鉴别诊断活动性 SoJIA 与 JIA 其它亚型。本研究还显示 SoJIA 合并 MAS 患者 IL-18 水平较活动性 SoJIA 有明显升高,提示 IL-18 还可能是 SoJIA 疾病活动性的敏感指标,可能有助于判断 SoJIA 疾病的转归,对活动性 SoJIA 患者的血清 IL-18 水平进行动态监测,可能有助于预测 MAS 的发生。在以后的研究中,本实验将对同一 SoJIA 患者不同病情阶段进行血清 IL-18 水平动态监测,以期进一步证实 IL-18 在 SoJIA 病情监测甚至疗效判断中的重要意义。

参考文献

[1] Grom AA. Natural killer cell dysfunction: a common pathway in systemic-onset juvenile rheumatoid arthritis, macrophage activation syndrome, an hemophagocytic lymphoh istiocytosis? [J]. Arthritis Rheum, 2004, 50(3): 689-698.

[2] Ravelli A, GromAA, Behrens EM, et al. Macrophage activation syndrome as part of systemic juvenile idiopathic arthritis: diagnosis, genetics, pathophysiology and treatment [J]. Genes Immun, 2012, 13 (4): 289-298.

[3] Woo P. Systemic juvenile idiopathic arthritis: diagnosis, management, and outcome [J]. Nat Clin Pract Rheumatol, 2006, 2(1): 28-34.

[4] GromAA, Mellins ED. Macrophage activation syndrome: advances towards understanding pathogenesis [J]. Curr Opin Rheumatol, 2010, 22 (5): 561-566.

[5] Gracie JA, Robertson SE, McInnes IB. Interleukin-18 [J]. J Leukoc Biol, 2003, 73(2): 213-224.

[6] Gracie JA. Interleukin-18 as a potential target in inflammatory arthritis [J]. Clin Exp Immunol, 2004, 136 (3): 402-404.

[7] Yoshimoto T, Tsutsui H, Tominaga K, et al. IL-18, althoughantiallergic when administered with IL-12, stimulates IL-4 and histamine release by basophils[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1999, 96(24): 13962-13906.

[8] Ravelli A, Magni-Manzoni S, Pistorio A, et al. Preliminary diagnostic guidelines for macrophage activation syndrome complicating systemic juvenile idiopathic arthritis[J]. J Pediatr, 2005, 146(5): 598-604.

[9] Ravelli A, Martini A. Juvenile idiopathic arthritis [J]. Lancet, 2007, 369 (9563): 767-778.

[10] Zeng HS, Chen XY, Luo XP, et al. The association with the -159C/T polymorphism in the promoter region of the CD14 gene and juvenile idiopathic arthritis in a Chinese Han population[J]. J Rheumatol, 2009, 36(9): 2025-2028.

[11] 潘宇琛,马嵩春,幺远,等. 幼年特发性关节炎 229 例的诊断和分型[J]. 实用儿科杂志, 2007, 22(21): 1636-1638.

[12] Villanueva J, Lee S, Giannini EH, et al. Natural killer cell dysfunction is a distinguishing feature of systemic onset juvenile rheumatoid arthritis and macrophage activation syndrome [J]. Arthritis Res Ther, 2005, 7(1): 30-37.

[13] Mazodier K, Marin V, Novick D, et al. Severe imbalance of IL-18/IL-18BP in patients with secondary hemophagocytic Syndrome [J]. Blood, 2005, 106(10): 3483-3489.

(收稿日期:2013-02-05)

(上接第 2511 页)

参考文献

[1] Dahiya P. Burns as a model of SIRS[J]. Front Biosci, 2009, 14: 4962-4967.

[2] Gauglitz GG, Finnerty CC, Herndon DN, et al. Are serum cytokines early predictors for the outcome of burn patients with inhalation injuries who do not survive? [J]. Crit Care, 2008, 12(3): R81.

[3] Foldi V, Lantos J, Bogar L, et al. Effects of fluid resuscitation methods on the pro- and anti-inflammatory cytokines and expression of adhesion molecules after burn injury[J]. J Burn Care Res, 2010, 31(3): 480-491.

[4] Mace JE, Park MS, Mora AG, et al. Differential expression of the immunoinflammatory response in trauma patients: burn vs. nonburn[J]. Burns, 2012, 38(4): 599-606.

[5] Jeschke MG, Gauglitz GG, Kulp GA, et al. Long-term persistance of the pathophysiologic response to severe burn injury[J]. PLoS One, 2011, 6(7): e21245.

[6] Pileri D, Accardo Palombo A, D'Amelio L, et al. Concentrations of cytokines IL-6 and IL-10 in plasma of burn patients: their relationship to sepsis and outcome[J]. Ann Burns Fire Disasters, 2008, 21 (4): 182-185.

[7] Kim HS, Kim JH, Yim H, et al. Changes in the levels of interleukins 6, 8, and 10, tumor necrosis factor alpha, and granulocyte-colony stimulating factor in Korean burn patients: relation to burn size and postburn time[J]. Ann Lab Med, 2012, 32(5): 339-344.

[8] 周华,涂家金,黄毅,等. 重度烧伤患者血清白细胞介素 6、10 含量变化与脓毒症发生及预后的相关性研究[J]. 中华烧伤杂志, 2012, 28(2): 111-115.

[9] 宋振举,郦珊珊,童朝阳,等. 脓毒症患者血清促炎和抗炎细胞因子的变化[J]. 中华急诊医学杂志, 2008, 17(11): 1191-1194.

[10] 龚芳,潘宇红,吕国忠,等. 烧伤患者巨细胞病毒复发感染及其对患者预后的评估价值[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(1): 103-106.

[11] Rafla K, Tredget EE. Infection control in the burn unit[J]. Burns, 2011, 37(1): 5-15.

[12] Farina JA Jr, Rosique MJ, Rosique RG. Curbing inflammation in burn patients[J]. Int J Inflam, 2013: 715645.

(收稿日期:2013-03-13)