

• 临床检验研究论著 •

重症急性胰腺炎患者早期免疫功能的变化及临床意义*

周 玉¹, 喻 华¹, 张春平¹, 李焱鑫¹, 黄文芳¹, 朱世凯^{2△}

(四川省医学科学院/四川省人民医院:1. 检验科;2. 器官移植中心, 四川成都 610072)

摘要:目的 探讨重症急性胰腺炎(SAP)患者早期免疫功能的变化趋势及临床意义。方法 采用酶联免疫吸附测定(ELISA)法检测 42 例 SAP 患者不同时间血浆 C 反应蛋白(CRP)、IgG、IgM、IgA、C3、C4、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)及白细胞介素-10(IL-10);采用流式细胞仪检测其血浆 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞亚群的分布情况。结果 SAP 患者血浆 CRP 水平具有先升后降的趋势,而血浆 IgG 和 IgM 水平的变化趋势呈 V 字形,差异有统计学意义($P < 0.05$)。血浆 CD4⁺ T 淋巴细胞数及 CD4⁺/CD8⁺ 比值逐渐增高($P < 0.05$),但 CD8⁺ T 淋巴细胞数在观察期间变化的差异无统计学意义($P > 0.05$)。血浆 TNF- α 水平先升后降,而 IL-10 的水平逐步升高($P < 0.05$),IL-10/TNF- α 比值缓慢升高($P < 0.05$)。结论 SAP 患者炎症反应强度呈先升后降趋势,这有助于治疗措施的制定。

关键词:胰腺炎,急性坏死性; 免疫测定; 临床意义

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2014.10.016

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2014)10-1270-03

Changes of immune function of patients with severe acute pancreatitis in early stage and their clinical significance*

Zhou Yu¹, Yu Hua¹, Zhang Chunping¹, Li Yanxin¹, Huang Wenfang¹, Zhu Shikai^{2△}

(1. Department of Clinical Laboratory; 2. Organ Transplant Center, Sichuan Academy of Medical Sciences & Sichuan Provincial People's Hospital, Chengdu, Sichuan 610072, China)

Abstract: **Objective** To investigate the trends of immune function changes of patients with severe acute pancreatitis(SAP) in early stage and their clinical significance. **Methods** Enzyme-linked immunosorbent assay(ELISA) was employed to detect the plasma C-reactive protein(CRP), IgG, IgM, IgA, C3, C4, tumor necrosis factor alpha(TNF- α) and interleukin-10(IL-10) of 42 patients with SAP at different times. Flow cytometry was used to assay the plasma distribution of CD3⁺, CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocyte subsets. **Results** Plasma CRP levels in patients with SAP showed trend of first rising and then decreasing, while the change trends of plasma IgG and IgM were V-shaped, with statistical difference($P < 0.05$). The number of plasma CD4⁺ T lymphocyte and ratio of CD4⁺/CD8⁺ were gradually increased($P < 0.05$), however, the difference of CD8⁺ T lymphocyte changes during the observation period showed no significant($P > 0.05$). Levels of plasma TNF- α were found first increasing and then decreasing, IL-10 levels, gradually increasing($P < 0.05$), and ratios of IL-10/TNF- α , slowly increasing($P < 0.05$). **Conclusion** Inflammation intensity of patients with SAP shows a trend of first increasing and then decreasing, which contribute to the development of therapeutic measures.

Key words: pancreatitis, acute necrotizing; immunoassay; clinical significance

重症急性胰腺炎(severe acute pancreatitis, SAP)发病凶险,进展迅速,救治难度大,患者病死率高达 20%~30%^[1],且国内 SAP 的发病率逐年上升。在整个 SAP 病程中,患者机体免疫系统功能严重损害,特别是早期过度炎症造成的促炎-抗炎自稳失衡所引起的严重全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),以及随后的代偿性抗炎反应综合征(compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS),均导致机体继发性免疫功能低下,它们与 SAP 患者的临床预后密切相关。针对患者机体异常免疫功能的调控已成为目前 SAP 研究的热点问题,如血液透析、细胞因子拮抗、糖皮质激素等调控措施已运用到临床,但其临床效果欠佳^[2-5]。本文旨在观察 42 例 SAP 患者早期免疫功能的变化,以探索有效干预 SAP 患者早期炎症发展的措施,改善临床预后。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 7 月至 2011 年 7 月本院收治的

42 例 SAP 患者进行临床观察研究。其中,男 25 例,女 17 例;年龄 18~65 岁,平均 42.8 岁。纳入标准:(1)符合 SAP 临床诊断标准(2000 年杭州会议);(2)首次发病 72 h 之内;(3)急性生理功能和慢性健康状况评分 II (acute physiology and chronic health evaluation II, APACHE II) ≥ 8 分;(4)Ranson 评分大于 3 分;(5)Balthazar CT 分级评分系统提示 C 级以上。排除标准:(1)血清三酰甘油(triglyceride, TG) > 3.0 mmol/L;(2)出凝血时间延长;(3)有多个重要器官功能衰竭;(4)孕妇;(5)使用免疫抑制剂或其他干预早期急性炎症反应的因素。

1.2 评价体液免疫指标 在 SAP 患者入院时,入院第 4、7、10 及 14 天为时间点抽取外周静脉血,4℃下 2 000 r/min 离心 10 min,分离出血浆,采用酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)法检测 SAP 患者各时点的外周血 C 反应蛋白(C-reactive protein, CRP)、IgG、IgM、IgA、C3 和 C4 水平变化情况。

* 基金项目:四川省卫生厅资助项目(30305030222, 30504010169)。 作者简介:周玉,女,助理研究员,主要从事免疫学与遗传学的研究工作。 △ 通讯作者, E-mail: zhushikai37@163.com。

1.3 评价细胞免疫指标 在 SAP 患者入院时,入院第 4、7、10 及 14 天为时间点抽取外周静脉血, Ficoll 密度梯度离心法分离外周血单个核细胞,磷酸盐缓冲溶液(phosphate buffered solution, PBS)洗涤后,加入 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 单克隆抗体,室温静置 30~60 min,小牛血清封闭后,加入异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)标记的第二抗体,采用流式细胞仪检测外周血 CD3⁺、CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞亚群的分布情况。

1.4 评价血浆促炎-抗炎因子平衡的情况 在 SAP 患者入院时,入院第 4、7、10 及 14 天为时间点抽取外周静脉血,4 ℃ 下 2 000 r/min 离心 10 min,分离血浆,分装冻存于-80 ℃ 冰箱,

待标本收集完成后集中检测,采用 ELISA 试剂盒(武汉博士德生物工程有限公司)检测 SAP 患者各时间点的外周血肿瘤坏死因子 α(tumor necrosis factor alpha, TNF-α)和白细胞介素-10(interleukin-10, IL-10)的变化情况。

1.5 统计学处理 采用 SPSS16.0 软件进行统计学分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验,以 $\alpha=0.05$ 为检验水准,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 体液免疫功能的变化情况 病程中,SAP 患者血浆 CRP 水平具有先升高后下降的趋势,而血浆 IgG 和 IgM 水平的变化趋势呈 V 字形,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

表 1 不同时段 SAP 患者体液免疫指标的比较

检测时间	CRP(mg/L)	IgG(g/L)	IgM(mg/L)	IgA(mg/L)	C3(mg/L)	C4(mg/L)
入院时	58.42±32.04	8.93±2.93	787.26±249.52	1 502.18±342.42	637.05±180.72	275.24±58.40
入院第 4 天	86.12±28.62*	5.87±2.63*	872.40±279.04	1 674.20±367.11*	689.18±156.22*	242.35±63.82*
入院第 7 天	188.43±48.92*	2.24±1.83*	972.32±312.24	1 578.45±388.23*	702.35±192.50	268.42±70.22
入院第 10 天	150.52±34.72*	4.48±1.98*	856.12±256.13	1 652.39±403.81	678.48±201.21	277.09±69.72
入院第 14 天	72.83±38.26*	11.47±3.34*	756.24±272.42	1 643.28±379.52	680.32±172.08	290.11±72.41

*: $P<0.05$,与前一个时段比较。

2.2 细胞免疫功能的变化情况 病程中,SAP 患者血浆 CD4⁺ T 淋巴细胞数逐渐增多($P<0.05$),但 CD8⁺ T 淋巴细胞数在观察期间变化的差异无统计学意义($P>0.05$)。CD4⁺/CD8⁺ 比值随着时间的推移而逐步增加($P<0.05$),见表 2。

表 2 不同时段 SAP 患者细胞免疫指标的比较

检测时间	CD3+(%)	CD4+(%)	CD8+(%)	CD4 ⁺ / CD8 ⁺ 比值
入院时	50.01±7.86	30.02±6.96	19.90±9.20	1.54±0.82
入院第 4 天	56.42±7.20	35.33±5.75*	21.11±8.41	1.68±0.46*
入院第 7 天	62.01±8.16*	38.75±6.24*	24.85±8.86	1.85±0.71*
入院第 10 天	61.65±8.23	40.50±5.74*	21.15±9.43	1.96±0.56*
入院第 14 天	66.18±9.45*	44.21±6.24*	22.05±10.14	2.05±0.61*

*: $P<0.05$,与前一个时段比较。

2.3 血浆促、抗炎因子的变化情况 在病程中,SAP 患者血浆 TNF-α 的水平先上升而后缓慢下降,而 IL-10 的水平逐步升高($P<0.05$),IL-10/TNF-α 比值缓慢升高($P<0.05$),见表 3。

表 3 不同时段 SAP 患者促炎-抗炎因子平衡的比较

检测时间	IL-10(g/L)	TNF-α(g/L)	IL-10/TNF-α 比值
入院时	48.41±21.24	285.62±41.34	0.18±0.10
入院第 4 天	90.22±18.51*	307.12±76.22*	0.28±0.16*
入院第 7 天	121.04±31.42*	352.57±77.32*	0.37±0.12*
入院第 10 天	143.23±38.71*	242.64±85.03*	0.62±0.32*
入院第 14 天	168.24±43.50*	142.61±97.27*	1.18±0.35*

*: $P<0.05$,与前一个时段比较。

3 讨 论

目前的观点认为,SAP 并非为单纯“胰酶自身消化”所致的严重后果,而更多的是与机体免疫功能异常有关。免疫细胞

是机体免疫应答的核心,不仅可启动机体免疫应答,而且免疫细胞的激活可调节机体免疫应答全过程,主要通过分泌的细胞因子发挥其对机体免疫应答的调控作用。成熟的辅助性 T 淋巴细胞 1(helper T lymphocyte 1, Th1)分泌 IL-1、IL-2、IL-12、干扰素 γ(interferon γ, IFN-γ)和 TNF-α 等细胞因子,主要介导细胞免疫,参与机体抗微生物感染的免疫应答^[6];而成熟的 Th2 分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 和 IL-13 等以抗炎介质分泌为主的细胞因子,主要介导体液免疫应答,与感染的持续、进展和慢性化密切相关,对抗微生物感染具有负反馈调节作用。Th1 和 Th2 型细胞因子相互调节,相互抑制。

本研究观察发现,早期病程中 SAP 患者的血浆 IgG 和 IgM 水平的变化趋势呈 V 字形,其低值出现在发病后第 7、10 天,外周血 CRP 水平呈先快速升高,后缓慢下降的趋势,这表明患者初期免疫力明显降低,其后缓慢恢复正常。另外,笔者发现外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞总数显著增加,且 CD4⁺/CD8⁺ 比值随时间的推移而逐步增加,CD4⁺/CD8⁺ 比值反映患者细胞免疫功能的变化,这提示机体细胞免疫逐渐增强,直接反映了 Th1/Th2 平衡变化的趋势。IL-10/TNF-α 比值在某种程度上可代表促炎-抗炎反应的对比,间接反映 Th1/Th2 状态。结果发现,血浆 TNF-α 的水平先上升而后缓慢下降,而 IL-10 水平逐步升高,IL-10/TNF-α 比值缓慢升高。

本研究进一步证实 Th1/Th2 动态失衡参与了 SAP 发生、发展的整个疾病过程。在疾病初期 SAP 患者体内 Th1 分泌的大量促炎性细胞因子导致 Th1/Th2 自稳失衡,产生的一系列“瀑布样”连锁反应(即 SIRS)可加重机体组织细胞损伤,造成 SAP 患者全身毛细血管渗漏综合征(systemic capillary leakage syndrome, SCLS)、多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)和腹腔室隔综合征(abdominal compartment syndrome, ACS)等严重后果;随后,以 IL-10 等为主的 Th2 分泌抗炎因子急剧升高,而促炎性(下转第 1274 页)

100%，且随着 SIRS 评分升高，血葡萄糖、乳酸、CRP 水平也随之升高 ($P < 0.05$)；研究显示，当 SIRS 评分为 3 分时，监测血葡萄糖、乳酸、CRP 水平对 SIRS 的等级评分有重要意义，SIRS 评分与血葡萄糖、乳酸、CRP 水平具有明显的正相关性，SIRS 评分越高，血葡萄糖、乳酸、CRP 水平也越高。因此，SIRS 评分及血葡萄糖、乳酸、CRP 监测显示了其在预测严重创伤转化、转归的临床可行性，同时，SIRS 评分简单易行，更显示其在临床上的应用价值。但 SIRS 评分为 1、2 分的患者，血葡萄糖、乳酸、CRP 的 ROC AUC 均小于 0.5，表明该 3 项指标在 SIRS 评分的应用中尚存在一定的局限性。

参考文献

[1] 刘广湘,李丽,李学锋,等.多发伤患者血清促炎介质水平与创伤预后的相关性[J].创伤外科杂志,2007,9(6):534-536.
 [2] 宋先舟,胡端,白祥军.70例严重创伤后血糖变化与预后[J].临床外科杂志,2003,11(1):18-19.
 [3] Laird AM,Miller PR,Kilgo PD,et al. Relationship of early hyperglycemia to mortality in trauma patients[J]. J Trauma,2004,56(5):1058-1062.
 [4] Weant KA,Bailey AM,Baker SN. Hyperglycemia in critical illness[J]. Adv Emerg Nurs J,2013,35(3):209-216.
 [5] 王占科. 血糖应激适度理论与多器官功能障碍综合征早期诊断与干预[J]. 中国全科医学,2008,11(12):1027-1029.
 [6] Briassoulis G,Venkataraman S,Thompson A. Cytokines and metabolic patterns in pediatric patients with critical illness[J]. Clin Dev Immunol,2010,2010:354047.
 [7] Hwabejire JO,Jin G,Imam AM,et al. Pharmacologic modulation of cerebral metabolic derangement and excitotoxicity in a porcine model of traumatic brain injury and hemorrhagic shock[J]. Surgery,2013,154(2):234-243.
 [8] Jin G,Demoya MA,Duggan M,et al. Traumatic brain injury and

hemorrhagic shock;evaluation of different resuscitation strategies in a large animal model of combined insults[J]. Shock,2012,38(1):49-56.
 [9] Zhao QJ,Zhang XG,Wang LX. Mild hypothermia therapy reduces blood glucose and lactate and improves neurologic outcomes in patients with severe traumatic brain injury[J]. J Crit Care,2011,26(3):311-315.
 [10] Cicarelli DD1,Vieira JE,Benseñor FE. Lactate as a predictor of mortality and multiple organ failure in patients with the systemic inflammatory response syndrome[J]. Rev Bras Anesthesiol,2007,57(6):630-638.
 [11] Scott HF,Donoghue AJ,Gaieski DF,et al. The utility of early lactate testing in undifferentiated pediatric systemic inflammatory response syndrome[J]. Acad Emerg Med,2012,19(11):1276-1280.
 [12] Yang F,Hou C. The effect of Baihu Decoction on blood glucose levels in treating systemic inflammatory response syndrome[J]. Chin J Integr Med,2010,16(5):472-479.
 [13] Celebi OO,Celebi S,Canbay A,et al. The effect of sinus rhythm restoration on high-sensitivity C-reactive protein levels and their association with long-term atrial fibrillation recurrence after electrical cardioversion [J]. Cardiology,2011,118(3):168-174.
 [14] Henningsen KM,Therkelsen SK,Bruunsgaard H,et al. Prognostic impact of hs-CRP and IL-6 in patients with persistent atrial fibrillation treated with electrical cardioversion[J]. Scand J Clin Lab Invest,2009,69(3):425-432.
 [15] Emsley HC,Smith CJ,Georgiou RF,et al. A randomised phase II study of interleukin-1 receptor antagonist in acute stroke patients [J]. J Neurol Neurosurg Psychiatry,2005,76(10):1366-1372.

(收稿日期:2014-01-08)

(上接第 1271 页)

细胞因子却相对不足,使 Th1/Th2 自稳进一步失去控制,导致机体产生 CARS,免疫功能受到广泛抑制,加上肠黏膜屏障功能受损和肠道细菌移位,导致 SAP 患者产生严重的脓毒血症、腹腔脓肿、腹腔出血及肠穿孔等感染相关并发症,甚至死亡^[7-10]。本研究为探索有效干预 SAP 患者早期炎症发展的治疗措施和改善 SAP 患者的临床预后提供了坚实的理论基础。

参考文献

[1] Bank S,Singh P,Pooran N,et al. Evaluation of factors that have reduced mortality from acute pancreatitis over the past 20 years [J]. J Clin Gastroenterol,2002,35(1):50-60.
 [2] Yang Z,Wang C,Tao J,et al. Effect of early hemofiltration on pro- and anti-inflammatory responses and multiple organ failure in severe acute pancreatitis[J]. J Huazhong Univ Sci Technolog Med Sci,2004,24(5):456-459.
 [3] 刘玉兰,胡大一. 消化内科[M]. 北京:北京科学技术出版社,2010.
 [4] 王春友,赵刚,张维康,等. 乌司他丁对重症急性胰腺炎的疗效及

其作用机制的研究[J]. 临床外科杂志,2000,8(3):172.
 [5] Zhang XP,Ling Z,Chen LJ,et al. Influence of dexamethasone on inflammatory mediators and NF-κB expression in multiple organs of rats with severe acute pancreatitis[J]. World J Gastroenterol,2007,13(4):548-556.
 [6] 窦肇华,张远强,郭顺根. 免疫细胞学与疾病[M]. 北京:中国医药科技出版社,2004.
 [7] 耿明霞,殷少华,马杰. 不同检测指标对急性胰腺炎的早期诊断价值探讨[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(22):2798-2800.
 [8] 崔乃强,吴咸中. 重症急性胰腺炎治疗的现况和展望[J]. 中国危重病急救医学,2004,16(12):705-707.
 [9] Bakoyiannis A,Delis S,Dervenis C. Pathophysiology of acute and infected pancreatitis[J]. Infect Disord Drug Targets,2010,10(1):2-4.
 [10] Pandol SJ. Acute pancreatitis[J]. Curr Opin Gastroenterol,2006,22(5):481-486.

(收稿日期:2014-01-21)