

血必净注射液对肠外营养患者血清 HLA-DR、IL-10 表达的影响

张艳妮, 薛 文

(衡阳市中心医院药剂科, 湖南 衡阳 421001)

摘要: **目的** 通过检测危重患者外周血人白细胞抗原 DR (HLA-DR)、白细胞介素-10 (IL-10) 水平在血必净联合全肠外营养下的表达, 从而预测不同营养支持条件下危重病患者免疫水平的变化, 并指导临床治疗。 **方法** 回顾性选择 54 例危重患者, 根据不同营养途径分为血必净联合全肠外营养组 (血必净组) 18 例、单纯全肠外营养组 (TPN 组) 16 例、早期肠内营养组 (EN 组) 20 例, 同时设立健康对照组。流式细胞仪检测不同时间段外周血单核细胞 HLA-DR 表达率, ELISA 法检测各组患者血清 IL-10 水平。 **结果** 外周血 HLA-DR 检测与对照组比较, TPN 组下降最为明显 ($P < 0.01$), EN 组无显著差异 ($P > 0.05$); 而血必净组 HLA-DR 与 EN 组比较无显著差异 ($P > 0.05$), 与 TPN 组差异显著 ($P < 0.05$)。血清 IL-10 水平检测与对照组比较, TPN 组上升最明显 ($P < 0.01$), EN 组无显著差异 ($P > 0.05$); 而血必净组与 EN 组比较无显著差异 ($P > 0.05$)。与 TPN 组差异显著 ($P < 0.05$)。 **结论** 全肠外营养联合血必净注射液较单纯使用 TPN 比较, 前者能明显改善其免疫抑制, 降低炎症反应, 对需进行 TPN 的危重患者值得临床验证。

关键词: 血必净; 危重患者; 免疫抑制; HLA-DR; IL-10

中图分类号: R961

文献标识码: A

危重患者适时给予肠内营养, 有助于维持肠黏膜细胞的结构与功能完整, 减少内毒素释放与细菌移位, 降低炎症与感染性并发症发生, 防止其可能出现的原发及继发的免疫功能降低。然而在危重病患者的救治中有相当一部分人无法早期进行肠内营养, 因此, 在治疗时除供给营养以维持机体功能代谢, 还应考虑如何改善患者的免疫功能, 降低患者的炎症反应促进康复。

血必净注射液具有改善免疫功能、保护组织细胞、抗内毒素、拮抗炎性介质等作用。而外周血人白细胞抗原 DR (human leukocyte antigen-DR, HLA-DR) 是抗原递呈和辅助 T 淋巴细胞活化所必需的, 是机体针对感染启动特异性免疫应答的中心分子, 是反应患者机体免疫功能的敏感指标。白细胞介素-10 (IL-10) 是内源性抗炎因子, 作为抗炎反应的免疫指标对免疫炎症发展过程中多环节均有阻断作用, 具有重要的抗炎和免疫抑制作用。

本研究观察本院 ICU 54 例危重患者不同营养

支持途径下外周血单核细胞 HLA-DR、IL-10 的表达水平及其变化, 探讨血必净注射液联合静脉营养支持, 是否能促使 HLA-DR 回升, 并使患者的免疫功能得到有效恢复, 从而维持机体免疫炎症调节功能的平衡。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 主要试剂及仪器

异硫氰酸荧光素 (FITC) 结合的鼠 IgG2ak 抗人 HLA-DR 单克隆抗体购自美国 EPITOMICS 生物公司; FACScan 流式细胞仪由美国 Sigma 公司生产; IL-10 试剂盒购自 Sigma 公司; 血必净注射液 (0.5 g/mL) 由天津红日药品有限公司生产, 规格 10 mL/支。

1.2 一般资料

回顾性选择 2010 年 12 月 ~ 2011 年 6 月入住本院 ICU 的危重患者 54 例, 其中男 36 例, 女 18 例, 年龄 47.31 ± 13.72 岁 (22 ~ 70 岁)。根据不同营养途径分为血必净联合全肠外营养组 (血必净组) 18 例、单纯全肠外营养组 (TPN 组) 16 例、早期肠内营养组 (EN 组) 20 例, 同时设立健康对照组。病例纳入标准为: 无自身免疫性疾病、非恶性肿瘤终末期、无慢性器

官功能不全、无代谢性疾病、无干扰免疫和代谢药物治疗患者。TPN 组及血必净组患者为缺血性肠病、腹腔间室综合征、肠梗阻、近期行肠切除肠吻合术、严重消化道出血及呕吐、急性加重的炎性肠病等危重患者。急性生理学与慢性健康状况评分系统Ⅱ(A-PACHEⅡ)评分 15~36 分(表 1)。各组间临床资料经统计学分析差异无显著性($P>0.05$),具有可比性。

表 1 不同营养途径危重患者临床资料的比较

组 别	n	年龄(岁)	男/女(例)	APACHE Ⅱ 评分
健康对照组	16	37.80±5.05	10/6	
EN 组	20	45.34±4.95	15/5	24.71±4.45
TPN 组	16	48.70±0.43	9/7	26.20±6.07
血必净组	18	47.89±3.25	12/6	26.01±0.55

1.3 营养支持

EN 组采用由纽迪希制药公司生产的能全力 500 mL(1 kal/mL)通过鼻空肠管进行喂养,入住 ICU 24 h 后开始喂养,喂养量根据患者耐受情况,3 天后达到目标量(每天 20~25 kcal/kg);TPN 组则根据病人机体每日需要配制全胃肠外营养液,经中心静脉导管输入;血必净组则在 TPN 基础上给予血必净 50 mL 加 0.9% 生理盐水 100 mL 静脉点滴,每天 2 次。分别于营养支持前、支持后第 3、7、14 天各组留取血清及全血标本。

1.4 单核细胞的分离

营养支持前、支持后第 3、7、14 天清晨空腹采集各组静脉血标本,乙二胺四乙酸(EDTA,1 g/L)抗凝,用 Ficoll Hypaque 法分离单核细胞,然后利用单

核细胞的贴壁特性获得纯度>95%的单核细胞,测定单核细胞 HLA-DR 抗原表达阳性细胞率。

1.5 流式细胞术和 ELISA 法检测 HLA-DR 抗原表达和 IL-10 水平

采静脉血,EDTA 抗凝。制备单核细胞悬液,测定细胞浓度,并用磷酸盐缓冲液将细胞浓度调整为 1×10^{10} /L。向反应管中加入 50 μ L 细胞悬液,再加入 HLA-DR 单克隆抗体 10 μ L,冰浴避光反应 30~45 min,再经过洗涤、固定后悬浮待测。使用 FACS-can 流式细胞仪检测阳性细胞率。IL-10 水平的测定采用 ELISA 检测。

1.6 统计学分析

数据以 $\bar{x}\pm s$ 表示,应用 SPSS13.0 统计软件对数据进行方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组间 HLA-DR 表达的比较

与健康对照组比较,在开始营养支持后 TPN 组单核细胞表达 HLA-DR 的阳性细胞率下降最为明显($P<0.01$),EN 组差异无显著性($P>0.05$);而血必净组 HLA-DR 与 EN 组比较差异无显著性($P>0.05$),与 TPN 组比较,差异有显著性($P<0.05$)。

2.2 各组间 IL-10 水平的比较

与对照组比较,TPN 组 IL-10 水平上升最明显($P<0.01$),EN 组差异无显著性($P>0.05$);而血必净组与 EN 组比较差异无显著性($P>0.05$)。与 TPN 组比较差异有显著性($P<0.05$)(表 3)。

表 2 不同营养途径支持前后血浆单核细胞 HLA-DR 表达阳性细胞率的比较(%)

组 别	营养支持前	营养支持后 3 天	营养支持后 7 天	营养支持后 14 天
健康对照组	67.70±5.14	70.01±2.47	68.70±7.82	67.90±9.10
EN 组	65.20±7.12	67.94±9.10	67.91±2.40	66.70±7.55
TPN 组	64.06±3.31	48.27±2.43 ^b	50.26±2.59 ^b	49.39±9.07 ^b
血必净组	64.77±9.10	64.76±8.5 ^{ac}	65.20±7.1 ^{ac}	66.82±2.17 ^{ac}

与健康对照组比较,a: $P<0.05$;b: $P<0.01$;与 TPN 组比较,c: $P<0.05$

表 3 不同营养途径支持前后血清 IL-10 水平的比较(pg/mL)

组 别	营养支持前	营养支持后 3 天	营养支持后 7 天	营养支持后 14 天
健康对照组	2.10±7.12	2.09±4.21	1.97±8.13	2.30±0.01
EN 组	2.27±5.51	3.02±0.91	2.50±4.06	3.00±0.41
TPN 组	2.37±8.31	9.01±0.11 ^b	11.00±1.41 ^b	8.40±3.02 ^b
血必净组	2.20±9.06	3.50±0.06 ^{ac}	3.00±9.43 ^{ac}	2.85±9.96 ^{ac}

与健康对照组比较,a: $P<0.05$;b: $P<0.01$;与 TPN 组比较,c: $P<0.05$

3 讨 论

临床工作中已经注意到,TPN 支持患者除了代谢并发症的发生,胃肠黏膜屏障的废用破坏以外,其严重应激对机体免疫系统的抑制是患者恢复的最大障碍。单核细胞是机体最重要的抗原呈递细胞,外源或内源性抗原经单核细胞处理后呈递给 T 细胞,从而诱发免疫应答,HLA-DR 表达的高低反映其抗原呈递功能的强弱,是反映机体免疫功能状态的重要指标^[1]。一般认为 HLA-DR 表达低于 30% 时机体可出现免疫麻痹状态^[2]。IL-10 是内源性抗炎因子,作为抗炎反应的免疫指标,具有重要的抗炎和免疫抑制作用。

TPN 患者免疫功能受到抑制,肠道的免疫屏障和机械屏障作用均受到破坏,严重者甚至造成细菌和毒素移位发展成为肠源性败血症,并可导致脓毒症多脏器功能衰竭(MOF)而危及生命。早期研究发现,单核细胞 HLA-DR 表达水平的高低与 EN、TPN 以及腹部手术创伤程度密切相关;EN 较 TPN 能更好地维护黏膜免疫功能,使 HLA-DR 早期表达于机体免疫所需水平^[3-4]。

血必净注射液的主要有效成分包括红花黄色素 A、川芎嗪、阿魏酸、芍药苷、原儿茶醛。有研究发现,血必净具有保护肠黏膜屏障功能^[5-6],在体内外能有效拮抗内毒素,抑制体内多种炎症介质的病理生理作用,下调促炎介质水平,恢复受到抑制的免疫反应^[7-9]。本实验结果发现血必净组病人与单纯 TPN 组病人比较,其 HLA-DR、IL-10 水平表达差异显著,尤其是在营养支持后期(14 天)血必净组 HLA-DR、IL-10 表达水平接近 EN 组。同时也发现 IL-10 水平与 HLA-DR 的表达呈负相关,HLA-DR 低表达的病人其血 IL-10 水平明显升高,尤其是在治疗 3~7 天时间段变化明显,这与 Giannoudis 等^[10]研究一致。人体外源性或内源性抗原经单核细胞处理后呈递给 T 细胞诱发免疫应答,体外脂多糖(LPS)刺激可明显上调大鼠 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞(Treg)对效应 T 细胞(Teff)的抑制功能,而血必净注射液能通过促进 Treg 凋亡而有效改善其对 Teff 的抑制效应,抑制 T 淋巴细胞毒性相关抗原 4(CTLA-4)表达及 IL-10 的分泌^[11],从而间接提升 HLA-DR 表达。本实验结果亦表明 IL-10 水平与 HLA-DR 的表达呈负相关。因此有理由认为,HLA-DR 的表达与 IL-10 的释放调节有关,并与抗炎反应和免疫应答联系紧密,HLA-DR 抗原可作为一个反映机体免疫状况的指标,有助于预测患者的预

后,并指导临床治疗。

本研究结果表明,对需进行 TPN 支持的重症患者,在积极常规救治的基础上早期即给予血必净注射液治疗,能促使 HLA-DR 的回升使患者的免疫功能得到有效恢复,从而有助于维持免疫炎症调节功能的平衡。

参考文献:

- [1] Lekkou A, Karakantza M, Mouzaki A, et al. Cytoline production and monocyte HAL-DR expression as predictors of outcome for patients with community-acquired severe infections [J]. Clin Diagn Lab Immunol, 2004, 11(1): 161-167.
- [2] Hans DV, Petra R, Wof IDD. Clinical aspects: from systemic inflammation to immunoparalysis [J]. Chem Immunol, 2000, 74: 162-177.
- [3] 赵允召, 任建安, 黎介寿, 等. 营养支持及手术应激对 IL-10、HLA-DR 表达的影响 [J]. 肠外与肠内营养, 2003, 10(4): 200-202.
- [4] 赵允召, 李维勤, 王新波, 等. 不同营养支持及手术应激对肠道黏膜免疫功能的影响 [J]. 肠外与肠内营养, 2003, 3(11): 131-132.
- [5] 张云杰, 田昭春. 血必净注射液对小肠缺血再灌注大鼠肠道组织形态学的影响 [J]. 中国中西医结合外科杂志, 2009, 2: 177-180.
- [6] 潘永, 林旋, 徐杰, 等. 血必净对脓毒症患者胃肠道黏膜保护作用的临床观察 [J]. 中国全科医学 2007, 2: 10-14.
- [7] 李冰, 朱志宏, 田万管, 等. 血必净注射液对脓毒症大鼠肠系膜微循环动态变化的影响 [J]. 中国全科医学, 2009: 10-15.
- [8] 张畔, 曹书华, 崔克亮, 等. 血必净对多脏器功能障碍综合征单核细胞 HLA-DR 表达影响的研究 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2002, 9(1): 21-23.
- [9] 李志军, 孙元莹, 吴云良, 等. 血必净注射液防治家兔应激性脏器损伤的研究 [J]. 中国危重病急救医学, 2006, 18(2): 105.
- [10] Giannoudis PV, Smith RM, Perry SL et al. Immediate IL-10 expression following major orthopaedic trauma: relationship to anti-inflammatory response and subsequent development of sepsis [J]. Intensive Care Med, 2000, 26(8): 1076-1081.
- [11] 艾宇航, 戴新贵, 姚咏明. 血必净注射液对脂多糖刺激大鼠调节性 T 细胞凋亡及其介导效应性 T 细胞免疫功能的影响 [J]. 中华急诊医学杂志, 2009, 18(9): 932-936.

(此文编辑:朱雯霞)