论著

文章编号:1000-5404(2005)14-1512-03

创伤患者血浆内毒素与干扰素-γ、白细胞介素的变化及意义

邓 进,罗开俭,李 青,孙早喜,郑 昆,赵 伟,郭 辉,张磊冰 (贵阳医学院附属医院急诊科,贵阳 550004)

提 要:目的 探讨创伤患者血浆内毒素(lipopolysaccharide, LPS)、干扰素-γ(interferon-γ,IFN-γ)和白细胞介素4(interleukin-4, IL-4)的变化规律及其临床意义。**方法** 采用基质显色法和酶联免疫吸附法(enzyme linked immunosorbent assay, ELISA),动态检测45例创伤患者伤后1周内血浆LPS、IFN-γ和IL-4的水平,并分析IL-4和IFN-γ水平以及IFN-γ/IL-4比值与患者LPS水平、伤情及严重并发症的关系。**结果** 创伤患者血中LPS于第3天达到高峰,IFN-γ含量于伤后第5天下降而IL-4含量伤后呈现上升;IFN-γ/IL-4比值呈持续性下降,其中MODS组下降较非MODS组显著($P<0.05$);IFN-γ/IL-4比值与血浆LPS水平和APACHEⅡ评分呈负相关($r=-0.645, P<0.05$; $r=-0.645, P<0.05$)。**结论** 创伤患者伤后血浆LPS水平升高可能是IFN-γ/IL-4下降的重要因素,IFN-γ/IL-4变化与患者的免疫机能及并发症密切相关。

关键词:创伤;内毒素;干扰素-γ;白细胞介素-4

中图法分类号:R392.11; R446.62; R641.02 **文献标识码**:A

Changes and significance of lipopolysaccharide, IFN-γ and IL-4 in serum of patients with trauma

DENG Jin, LUO Kai-jian, LI Qing, SUN Zao-xi, ZHENG Kun, ZHAO Wei, GUO Hui, ZHANG Lei-bing (Department of Emergency, The Affiliated Hospital of Guiyang Medical College, Guiyan 550004, China)

Abstract: Objective To detect the changes of lipopolysaccharide (LPS) and IFN-γ, IL-4 in serum of patients with trauma. **Methods** The level of LPS, IFN-γ and IL-4 were measured with chromogenic substrate method and enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) in 45 patients with trauma during a week after trauma. The relationship was analyzed between the levels of LPS, ratio of IFN-γ/IL-4, APACHE Ⅱ score and complications. **Results** LPS reached the peak at posttrauma day 3. IFN-γ and ratio of Th1/Th2 cytokines (IFN-γ/IL-4) were decreased but IL-4 was elevated, which was more significant in patients with MODS as compared with the patients without MODS ($P<0.05$). In addition, the ratio was correlated negatively with LPS level and APACHE Ⅱ score ($r=-0.639, P<0.05$; $r=-0.622, P<0.05$). **Conclusion** LPS might play an important role in the change of ratio of IFN-γ/IL-4 that was closely correlated with the immunological function and complication after severe trauma.

Key words: trauma; lipopolysaccharide; interferon-γ; interleukin-4

创伤后细菌内毒素(lipopolysaccharide, LPS)和组织损伤可刺激炎症细胞释放多种炎症介质,导致全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),严重时引起多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)。与此同时,机体通过内源性抗炎机制,即代偿性抗炎症反应综合征(compensatory anti-inflammatory response syndrome, CARS),拮抗炎症介质,导致细胞免疫功能的抑制。近年来的研究表明,创伤后机体的免疫功能存在淋巴细胞功能受抑和活化并存的双相机制[1,2],T辅助淋巴细胞(T helper cell, Th),特别是Th1和Th2细胞功能改变能够反映机体的免疫功能状态,与促炎反应和抗炎反应失衡密切相关。本实验通过动态观察严重创伤患者血清LPS、干扰素-γ(interferon-γ,IFN-γ)和白细胞介素4(interleukin-4,IL-4)的变化,旨在进一步探讨创伤后血清LPS、Th1/Th2相关细胞因子的变化规律及其与患者伤情和严重并发症的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

45例创伤患者为我院急诊科2001年12月至2003年5月

作者简介:邓 进(1960-),男,重庆市人,副主任医师,主要从事创伤外科方面的研究,发表论文11篇。电话:(0851)6855119-3292

收稿日期:2005-04-04;修回日期:2005-07-08

收治的住院患者，其中男 27 例，女 18 例，年龄 18～49 岁，平均 35.7 岁。损伤程度按损伤严重程度评分（ISS）法评定，均为 ISS >16 分。伤后有失血性休克者 32 例，其中脑外伤 16 例，腹部外伤 25 例，四肢骨盆骨折 19 例。病例纳入标准为受伤前无肝脏、心脏、肾及脑部疾患，无中毒及自身免疫性疾病史，入院后未给予免疫抑制剂治疗者。正常对照为健康献血者 15 例，其中男 8 例，女 7 例，年龄（31.4±4.7）岁。

1.2　方法

对严重创伤患者伤后不同时相点血浆 LPS、细胞因子水平与正常对照组比较。所有患者均于入院后 1、3、5 d 和 7 d 进行急性生理学与慢性健康状况评分（APACHE Ⅱ），按照 MODS 诊断标准[3]判断衰竭脏器数，分为 MODS 组和非 MODS 组，并比较两组的各项指标。

1.2.1　血浆 LPS 检测　　采用偶氮基质显色法，试剂盒购自上海伊华临床医学科技公司。

1.2.2　血浆 IFN-γ 和 IL-4 检测　　抽取静脉血 5ml，2% 乙二胺四乙酸（EDTA）抗凝，离心后收集血浆，－20 ℃保存。采用酶联免疫吸附法（ELISA）检测血浆 IFN-γ 和 IL-4 含量。ELISA 检测试剂盒购自深圳晶美生物工程公司，按说明书操作。

1.3　统计学处理

结果以 $\bar{x}\pm s$ 表示，采用 SPSS 10.0 统计软件进行 t 检验。两变量相关性检验采用 Pearson 线性相关分析。

2　结果

2.1　严重创伤患者伤后血浆 LPS、IFN-γ、IL-4 的变化

创伤病人血浆 LPS 于伤后 1 周内均显著高于对照组，第 3 天达到高峰。IFN-γ 含量于伤后第 5 天开始有显著下降，IL-4 含量伤后第 3 天开始呈现显著上升；IFN-γ/IL-4 比值第 3 天开始呈持续性下降（表 1）。

表 1　严重创伤患者血浆 LPS、IFN-γ 和 IL-4 的变化（$\bar{x}\pm s$）

Tab 1　Changes of LPS, IFN-γ and IL-4 in serum of patients with trauma（$\bar{x}\pm s$）

Group	LPS(ng/L)	IFN-γ(ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN-γ/IL-4
Control	12.6±4.3	795.4±102.1	17.9±4.9	53.2±8.7
1 d	46.7±9.4*	943.5±117.4	27.7±7.8	36.4±10.3
3 d	96.5±19.6*	875.3±100.6	28.4±7.2*	31.8±6.9*
5 d	85.3±15.8**	626.7±85.6*	30.0±8.2*	22.7±7.6**
7 d	79.6±14.7**	283.1±79.8**	34.5±7.1**	9.7±8.5**

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$，*vs* control

2.2　严重创伤患者 MODS 组和非 MODS 组伤后血浆 LPS、IFN-γ 和 IL-4 的变化

MODS 组患者 LPS 在各时相点均较非 MODS 组高，IFN-γ/IL-4 比值明显下降，与非 MODS 患者血浆比较差异有显著意义（$P<0.05$）（表 2）。

2.3　部分指标的相关分析

伤后患者血浆 LPS 与 APACHE Ⅱ 评分呈正相关（$r=0.687$，$P<0.05$）；IFN-γ/IL-4 比值与 APACHE Ⅱ 评分呈负相关（$r=-0.645$，$P<0.05$）；伤后患者血浆 LPS 与 IFN-γ/IL-4 比值呈负相关（$r=-0.639$，$P<0.05$）。

表 2　MODS 组和非 MODS 组患者血浆 IFN-γ 和 IL-4 含量比较

Tab 2　Serum level of IFN-γ and IL-4 of patients with or without MODS（$\bar{x}\pm s$）

Group	Time (d)	LPS(ng/L)	IFN-γ(ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN-γ/IL-4
MODS	1	49.1±5.7	934.6±107.8	33.6±13.2*	27.4±13.4*
（$n=21$）	3	116.3±12.2*	651.7±119.3*	35.7±11.9*	20.2±10.4**
	5	99.1±10.8*	573.4±121.9*	37.2±13.3*	16.4±8.6*
	7	91.2±11.3*	142.2±78.5**	40.5±7.2**	4.0±2.9**
Non-MODS	1	43.1±6.1	958.2±115.8	20.1±10.9	47.2±12.6
（$n=24$）	3	90.5±10.7	943.6±127.5	21.3±9.4	43.8±12.1
	5	72.6±11.4	702.3±126.5	23.2±8.8	31.5±11.7
	7	69.2±9.4	391.7±110.8	24.1±9.1	17.1±7.6

*：$P<0.05$，**：$P<0.01$，*vs* non-MODS

3　讨论

肠道是人体最大的细菌和 LPS 库，在严重创伤或感染等应激情况下，肠道内的细菌和 LPS 通过肠粘膜进入血液，介导炎性细胞因子的分泌。此时，如果机体对这些细胞因子失去正确的调控，将导致以细胞自体破坏为特征的 SIRS。为了纠正这种过度激活的炎症反应，创伤微环境中出现大量的抗炎因子。适量的抗炎因子可在一定程度上增加机体抵抗细菌侵蚀的能力，有利于疾病的恢复，但抗炎因子生成过度以至失调控则会引起机体的免疫抑制，增加对感染的易感性或导致二重感染，引起 CARS[4]。因此，在创伤病理过程中，抗炎反应和炎症反应同样强烈，甚至有时强于炎症反应，SIRS 和 CARS 持续发展，机体内环境失去稳态，最终可导致 MODS 甚至死亡。

资料表明，Th1/Th2 的平衡变化有助于反映 SIRS/CARS 的失衡。根据 Th 细胞所分泌的不同淋巴因子及其功能，将 Th 细胞分成 Th1 和 Th2 细胞。Th1 细胞分泌 IL-2、IFN-γ 和 TNF-β 等，主要介导与细胞毒和局部炎症有关的免疫应答，参与细胞免疫和迟发型超敏反应的形成；Th2 细胞分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10 等，主要功能为刺激 B 细胞增生并产生抗体，与体液免疫有关。机体在正常状态下，Th1 和 Th2 细胞在数量或功能上保持动态平衡，从而维持内环境的稳态，但在遭受细菌和创伤等刺激而产生免疫反应时，这种平衡就可能被打破。机体内 Th1 和 Th2 型细胞在疾病发展的不同阶段常以其中的某一型在分化或功能上占优势，持续的 Th1 细胞强烈应答可能造成过度炎症反应，过度的 Th2 细胞应答则可能削弱机体对感染因子的防御机制。Th1/Th2 应答模式的偏移，可能是影响

疾病发展的重要因素[1,5]。因此,研究严重创伤后 Th 细胞的功能变化及意义对于正确评价患者的免疫功能状态、降低 MODS 病死率至关重要。

本实验以创伤病人血浆中 LPS、IFN-γ 和 IL-4 含量动态变化为主要研究对象,以 IFN-γ/IL-4 比值变化间接反映 Th1/Th2 应答模式的偏移。创伤早期,血浆 LPS 水平升高,此时 Th1 细胞功能增强,并大量分泌 IFN-γ,机体处于对肠道来源的 LPS 的高反应状态,有利于机体的防御反应;随着疾病的进一步发展,LPS 水平明显升高,Th2 细胞分化增多,IL-4 分泌增加,并伴随着 Th1 细胞分化减少及其功能如分泌 IFN-γ 的抑制,此时 IFN-γ/IL-4 比值明显下降。可见在严重创伤的病理过程中,存在着由 Th1 免疫应答向 Th2 免疫应答的切换,致使机体的细胞免疫功能抑制,出现难以逆转的多器官功能衰竭甚至死亡。本研究观察到,LPS 水平与 IFN-γ/IL-4 比值变化呈显著的负相关,表明 LPS 对创伤后的免疫功能变化中起重要作用。创伤后 LPS 引起 Th 细胞平衡失调的机制尚不清楚,可能与 PGE2 途径有关,即 LPS 刺激巨噬细胞释放 PGE2,而 PGE2 可强烈抑制 IFN-γ 的释放,透导 Th2 细胞分化增多和 IL-10、IL-13 等抗炎因子释放[6]。此外严重感染可活化下丘脑-垂体肾上腺轴释放糖皮质激素(GC),GC 通过促进 IκB 的合成,抑制核转录因子 NF-κB 的核异位,抑制炎性细胞因子释放,促进 Th2 细胞的分化[7]。Th2 细胞功能占优势的结果导致炎性细胞因子释放明显受抑制而 IL-10 等抗炎因子大量释放,出现 CARS。大量抗炎因子导致免疫功能降低,机体对清除 LPS 的能力降低,最终导致 MODS。本研究中 IFN-γ/IL-4 比值在严重创伤后第 3 ~ 7 天明显下降,其中 MODS 组患者该值下降较非 MODS 组更为明显,反映严重创伤后可出现 Th1/Th2 应答模式向 Th2 方向的偏移,可能预示机体免疫功能抑制。此外 APACHE Ⅱ 评分与 LPS、IFN-γ/IL-4 比值的相关分析,间接说明 Th1/Th2 漂移机制的存在和患者病情密切相关,其中创伤后的肠源性 LPS 移位在其中可能起桥梁作用。

综上所述,动态监测血浆 IFN-γ/IL-4 比值,对于评估机体的免疫功能,判断病情严重度和预后以进行正确的免疫干预治疗具有一定的指导意义。

参考文献:

[1] Iwasaka H, Noguchi T. Th1/Th2 balance in systemic inflammatory response syndrome (SIRS) [J]. Nippon Rinsho, 2004, 62 (12): 2239-2243.

[2] Decker D, Springer W, Decker P, *et al*. Changes in TH1/TH2 immunity after endovascular and conventional infrarenal aortic aneurysm repair: its relevance for clinical practice[J]. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2003, 25 (3): 254 - 261.

[3] 吴孟超, 仲剑平. 外科学新理论新技术[M]. 上海:上海科学技术教育出版社, 1996. 17 - 23.

[4] Ono S, Ichikura T, Mochizuki H. The pathogenesis of the systemic inflammatory response syndrome and compensatory antiinflammatory response syndrome following surgical stress[J]. Nippon Geka Gakkai Zasshi, 2003, 104 (7): 499 - 505.

[5] Russ M A, Reith H B. The severity of infection induces a shift in the type 1/Type 2 T-helper cell balance in patients with or without peritonitis[J]. Surg Infect (Larchmt), 2003, 4 (3): 247 - 254.

[6] Chae B S. Comparative study of the endotoxemia and endotoxin tolerance on the production of Th cytokines and macrophage interleukin-6: differential regulation of indomethacin[J]. Arch Pharm Res, 2002, 25 (6): 910 - 916.

[7] Agarwal S K, Marshall G D Jr. Dexamethasone promotes type 2 cytokine production primarily through inhibition of type 1 cytokines[J]. J Interferon Cytokine Res, 2001, 21(3): 147 - 155.

(编辑 张大春)

"2005 中国消化外科学术会议暨中日消化道肿瘤学术研讨会"征文通知

由第三军医大学西南肝胆外科医院、《消化外科》编辑部主办,上海第二医科大学仁济医院、山东大学齐鲁医院、青岛医学院附属医院、解放军 401 医院协办的"2005 中国消化外科学术会议暨中日消化道肿瘤学术研讨会"将于 2005 年 9 月 15 - 18 日在山东青岛市举行。研讨会将邀请 10 余名日本及欧洲著名消化外科专家以肝胆胰及胃肠肿瘤的外科治疗为主题作学术演讲及 Video 演示。同时国内众多知名中青年消化外科专家亦将应邀出席。欢迎全国外科同仁踊跃投稿参会。

征稿:有关肝脏肿瘤、胆道肿瘤、胰腺肿瘤及胃肠道肿瘤的外科治疗与基础研究。请寄全文及 800 字左右的摘要,优秀论文将在《消化外科》发表,参会者可获得国家继续教育 I 类学分 8 分。截稿日期:2005 年 8 月 20 日。请注明会议征文。欢迎 E - mail 投稿。

地 址:重庆市第三军医大学西南医院《消化外科》编辑部 收 邮 编:400038

联系人:郑树国 陈 敏 电 话:(023)68754655

传 真:(023)65317637 E - mail:digsurg@263.net