DOI:10.16016/j.1000-5404.2004.23.012
第26卷第23期 第三军医大学学报 Vol. 26, No. 23
2114 2004年12月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Dec. 2004

论著

文章编号:1000-5404(2004)23-2114-03

烧伤患者创面淋巴细胞亚群的变化

彭代智,黄文华,艾深海,汪仕良 (第三军医大学西南医院全军烧伤研究所,创伤、烧伤与复合伤国家重点实验室,重庆 400038)

提 要:目的 探讨严重烧伤患者创面免疫细胞浸润反应的变化及其与伤情的关系。方法 采用HE染色和淋巴细胞单克隆抗体ABC法染色对6例严重烧伤患者创面免疫细胞浸润反应的出现时间和细胞种类进行了观察。结果 烧伤创面白细胞(WBC)浸润带在伤后1~2周出现,细胞成分早期以中性粒细胞(PMN)为主,后期以单个核细胞为主。伤情越重,WBC浸润带出现越晚,WBC数量也越少。伤情的不同还影响着创面局部的T淋巴细胞亚群及其活化程度。结论 严重烧伤患者创面免疫细胞浸润反应的变化与伤情密切相关,反映了创面局部抗感染能力和免疫排斥反应的变化规律,为临床合理使用抗生素、正确处理烧伤创面以及创面异体皮移植存活延长提供了重要的理论依据。

关键词:创面;淋巴细胞;烧伤
中图法分类号:R392.12;R644 文献标识码:A

Preliminary observation of the changes of lymphocyte subpopulations in wound surfaces of severely burnt patients

PENG Dai-zhi, HUANG Wen-hua, AI Shen-hai, WANG Shi-liang (State Key Laboratory of Trauma, Burns and Combined Injury, Institute of Burn Research, Southwest Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400038, China)

Abstract: Objective To explore the changes of infiltrated leukocytes in wound surfaces and the relationship with injury severity in severely burnt patients. Methods The appearance time of leukocyte infiltration and cellular components in the infiltrative zone in 6 severely burnt patients were observed by H. E. staining and avidin-biotin peroxidose complex (ABC) technique with lymphocyte-specific monoclonal antibodies. Results The infiltrative zone of leukocytes in the wound surface appeared at 1—2 weeks after burn. The more severe the degree of injury (including burnt area, depth, and combined injuries) was, the later the appearance of the infiltrative zone of leukocyte occurred. The infiltrated cells included mainly polymorphonuclear leukocytes (PMN) at the early postburn stage while macrophages and lymphocytes at the late stage. Different degrees of severity of burn had effects on the T lymphocyte subsets and their activation degrees in the burn wounds. Conclusion The changes of the infiltrative zone of leukocytes in the wound surfaces after burn were closely associated with the injury severity, and reflected the alterations of the local anti-infection ability and immune rejection of wounds. These findings have provided important theoretical evidences for appropriate wound treatment and antibiotic application and prolongation of the survival time of skin allografts as well.

Key words: wound; lymphocyte; burn

大面积烧伤患者的创面处理关系到患者的生命,而创面抵抗病原体入侵防线的建立与否又与临床上对创面的处理时机和措施密切相关。虽然Jackson[1]早在1953年就提出了烧伤创面凝固区、淤滞区和充血区的划分,但至今有关创面抗感染能力的报道仍少见[2,3]。因此,有必要了解严重烧伤创面防御功能的变化规律,为临床的创面处理提供理论依据。本研究通过对6例严重烧伤患者创面防御功能的初步动态观察,认识到患者的伤情和病程与创面防御功能的建立有密切关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料

我院烧伤研究所收治的6例严重烧伤患者,入选条件:伤后24 h内入院,烧伤面积>30%体表面积(body surface area, BSA)。平均年龄28.5岁(18~38岁),平均烧伤面积为62.3%

作者简介:彭代智(1963—),男,四川省中江县人,博士,主任医师,教授,主要从事烧伤免疫、皮肤修复重建等方面的研究,发表论文50余篇。
电话:(023)68754176

收稿日期:2004-09-10;修回日期:2004-11-15

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

(35%～95%), 平均Ⅲ度 19.5%(1%～85%), 其中重度烧伤 3 例, 中度烧伤 3 例(表 1)。

表 1　严重烧伤患者的临床资料

Tab 1　Clinical data of severely burnt patients

Admission Number	Sex	Age (years)	% BSA burn (superficial Ⅱ°/deepⅡ°/Ⅲ°)	Combined Injury	Prognosis	Severity
169 726	M	25	94(5/4/85)	Mild Inhalation Injury	Death	Severe
170 638	M	38	90(15/55/15)	No	Cure	Severe
170 117	F	18	55(5/40/10)	Craniocerebral injury、fracture	Cure	Severe
170 515	M	36	60(35/24/1)	No	Cure	Medium
170 305	M	19	40(15/20/5)	No	Cure	Medium
169 743	M	35	35(22/12/1)	No	Cure	Medium

1.2　观察指标及方法

所有患者均在伤后 3 d、1、2 周及 3 周取深度烧伤(深Ⅱ度或Ⅲ度)创面组织的活检, 10%甲醛固定, 石蜡包埋, 切片 4 μm, 苏木精-伊红(HE)染色。部分病例的样本保存于液氮, 再作冰冻切片, 用 CD3、CD4、CD8、CD25(IL-2Rα)、CD19 淋巴细胞单克隆抗体对切片进行亲和素-生物素化过氧化物酶复合物(avidin and biotinylated peroxidase complex, ABC)法染色显示了淋巴细胞亚群分布[4]。上述单克隆抗体购自武汉生物制品研究所, ABC 免疫组化试剂盒由 Vector 公司购得。ABC 法的主要步骤为冷丙酮固定切片后, PBS 洗涤; 1% H_2O_2 阻断内源性过氧化物, 室温 10 min; PBS 洗涤 2× 3 min; 正常兔血清孵育, 室温 20 min; 滴加一抗, 4℃过夜; PBS 洗涤 3× 3 min; 滴加生物素化二抗, 室温 30 min; PBS 洗涤 3× 3 min; 加 ABC 液, 室温 60 min; PBS 洗; 0.04%DAB+0.03% H_2O_2 显色 5～10 min; 充分水洗, 苏木精复染, 经脱水透明后封片。实验中同时设立空白对照, 用正常兔血清代替一抗孵育切片。阳性细胞为细胞膜部位呈环形或半环形的棕褐色沉淀。

2　结果

2.1　烧伤后创面白细胞浸润反应的变化

常规病理法观察到伤情为中度的烧伤患者伤后 3 d 开始可见创面有少量的白细胞浸润, 散在于毛细血管附近, 呈间断性分布; 在伤后 7 d 已有明显的白细胞浸润带形成, 细胞成分以多形核白细胞(PMN)为主, 可见单个核细胞(PBMC, 包括淋巴细胞和单核细胞); 2～3 周时创面的细胞成分逐渐过度到以 PBMC 为主, 间有少量 PMN, 且浸润带完整、连续、较厚, 甚至分成浅、深几层, 坏死组织与正常组织已明显分离, 部分已开始脱落。重度烧伤患者的早期(休克期)创面极少见白细胞渗出; 直到伤后 1 周左右才有白细胞渗出, 位于创面坏死组织与正常皮下组织之间, 白细胞未连成带, 呈散在分布; 伤后 2 周在正常皮下与坏死组织的交界面上才见到明显的白细胞浸润滞, 仍以 PMN 为主, 少量 PBMC, 且浸润带较薄、未见分层; 3 周时 WBC 浸润带才较厚, 细胞成分尚无明显改变。

2.2　烧伤后创面淋巴细胞亚群的变化

免疫组化法观察到重度伤者伤后 2 周创面切片(有白细胞浸润带者)的每个高倍镜视野下可见 $CD3^+$ 细胞(T 淋巴细胞)6～8 个, $CD19^+$ 细胞(B 淋巴细胞)2～3 个; $CD4^+$ 细胞(T 辅助细胞, Th 细胞)2～3 个, 未见 $CD25^+$ 细胞(IL-2 受体α 阳性细胞, IL-2Rα$^+$ 细胞), 而 $CD8^+$ 细胞(细胞毒性 T 细胞, Tc 细胞)则较 Th 细胞为多。在中度伤情者, 伤后 2 周创面切片每个高倍镜视野下的 $CD4^+$ 细胞多于 $CD8^+$ 细胞, $CD25^+$ 细胞较多见, $CD19^+$ 细胞仅 2～3 个。

3　讨论

有关烧伤创面深度的三度四分法划分现已取得人们的普遍认可, 但对创面抗感染能力的研究报道较少。近年国内外不少学者研究了浅Ⅱ度烧伤水泡液的成分和免疫抑制活性, 如 IgM 含量低于血清、IL-1 含量增多[5], 抑制 PMN 杀菌和淋巴细胞转化[6], 抑制 PMN 凋亡[7] 等。虽然说明了一些问题, 但是大面积烧伤的主要问题是深度烧伤(深Ⅱ度, 尤其是Ⅲ度)创面的处理。因此, 深度创面免疫防御染能力的改变与临床治疗关系更为密切, 尤其值得关注。

PMN 主要为中性粒细胞, 数量最多, 是血液中白细胞的主要成分, 其主要功能是吞噬和杀灭病原体, 在抗微生物的急性炎症中起重要作用。淋巴细胞占成人循环中白细胞的 20%, 包括 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞, 它们在特异性免疫应答中起重要作用。因此, PMN 和淋巴细胞是机体发挥天然免疫和获得性免疫的主力军[8]。它们从血循环中迁移和浸润到烧伤创面的速度与数量反映了创面防御功能的好坏。上述观察结果表明, 伤情不同, 创面白细胞浸润反应时相及程度有差异, 伤情越重, 白细胞浸润带出现越晚, 白细胞数量也越少。中、重烧伤患者一般要在伤后 1～2 周创面局部才初步形成白细胞浸润带, 从而具有一定的抗感染能力。这与临床医生的经验是一致的, 并为之提供了理论根据。临床经验认为大面积烧伤患者应根据其伤情在伤后 1 周或 2 周之后才开始浸浴治疗, 伤后早于此时间使用浸浴疗法可造成患者死于暴发性感染。可见烧伤创面的处理方法和时机与创面防御能力的形成有密切关系。只有正确地认识到创面抗感染能力的变化规律, 才有可能收到较好治疗效果。

就烧伤创面白细胞浸润带的细胞成分改变而言, 中度烧伤患者伤后 1 周左右以 PMN 浸润为主, 2～3 周以 PBMC 为主, 这与陈意生等[3] 报道的烧伤患者尸检结果是一致的; 但重度烧伤患者伤后 2 周的创面才出现大量的 PMN 浸润, 一直持续到伤后 3 周。这表明伤情轻者, 创面的急性炎症反应出现早, 很快转为慢性炎症反应; 伤情重者创面的急性炎症反应出现晚, 持续时间明显延长。这是因为 PMN 浸润和淋巴细胞浸润分别为急性炎症反应和慢性炎症反应的特点[8]。T 淋巴

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

细胞根据其表面标记又可分为辅助或诱导免疫应答的 $CD4^+$ 细胞(Th 细胞)和发挥细胞毒作用的 $CD8^+$ 细胞(Tc 细胞)亚群。CD25 分子为 IL-2 受体的 α 亚单位,表达该分子的淋巴细胞通常处于其功能激活的状态[8]。免疫组化的初步观察还提示,不同伤情的浸润细胞成分虽然相似,但是至少淋巴细胞的亚群存在着差别。伤情重者创面 $CD8^+$ 细胞(Tc)较多,$CD4^+$ 细胞(Th)和 $CD25^+$ 细胞(即 $IL\text{-}2R\alpha^+$ 细胞)较少;伤情轻者创面 Th 细胞和 $CD25^+$ 细胞较多,Tc 细胞较少。这提示伤情的不同还影响着创面局部的淋巴细胞亚群分布及其活化程度。B 细胞($CD19^+$ 细胞)在两组差别不大。因此,重度烧伤创面浸润淋巴细胞成分的差别(主要是 Th 细胞和 Tc 细胞比例的失衡)及淋巴细胞活化的受抑制也削弱了创面局部的抗感染能力,从而在深度创面切削痂时有必要加强围手术期抗生素的使用。

此外,重度烧伤创面局部的淋巴细胞出现时间晚以及 Th 细胞和活化淋巴细胞($IL\text{-}2R\alpha^+$ 细胞)减少妨碍了机体对异体皮免疫排斥反应的建立。这一结果也为烧伤创面异体皮移植存活时间较正常人明显延长提供了重要的理论依据。

参考文献:

[1] Jackson D M. The diagnosis of the depth of burning[J]. Br J Surg, 1953, 40(164): 588-596.
[2] Deitch E A, Bridges R M, Dobke M, *et al*. Burn wound sepsis may be promoted by a failure of local antibacterial host defenses[J]. Ann Surg 1987, 206(3): 340-348.
[3] 陈意生. 烧伤创面的病理变化[A]. 见: 黎 鳌 主编. 黎鳌烧伤治疗学[M]. 上海: 上海科学技术出版社, 2001. 504-507.
[4] 成令忠, 钟翠平, 蔡文琴. 现代组织学[M]. 上海: 上海科学技术文献出版社, 2003. 27.
[5] Kupper T S, Deitch E A, Baker C C, *et al*. The human burn wound as a primary source of interleukin-1 activity[J]. Surgery, 1986, 100(2): 409-415.
[6] Deitch E A, Lu Q, Xu D Z, *et al*. Effect of local and systemic burn microenvironment on neutrophil activation as assessed by complement receptor expression and morphology[J]. J Trauma, 1990, 30(3): 259-268.
[7] 张丕红, 马恩庆, 黄晓元, 等. 烧伤病人早期血清和创面水肿液对中性粒细胞凋亡的影响[J]. 中华烧伤杂志, 2000, 16(2): 100-102.
[8] Roitt I, Brostof J, Male D 原著. 周光炎 主译. 免疫学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002. 15-19, 24-30, 52-54.

(编辑 刘洪娥)

个案与短篇

文章编号: 1000-5404(2004)23-2116-02

鼻咽癌咽旁间隙受累 CT 与 MRI 的比较研究

Comparative study of CT and MRI on parapharyngeal space involvement of nasopharyngeal carcinoma

庞学利, 蒋 勇, 肖 红, 王 希, 谭崇富, 曾 勇 (第三军医大学西南医院肿瘤科, 重庆 400038)

本研究对 10 例鼻咽癌患者同期进行 CT 和 MRI 薄层扫描,探讨二者对咽旁间隙改变显示的不同特点及其临床意义,现报告如下。

1 材料与方法

1.1 一般资料

2003 年 9-12 月,到本院就诊患者 10 例,其中男性 9 例,女性 1 例。经鼻咽部活检确诊,均为低分化鳞状细胞癌。

1.2 检查方法

患者检查取自然平卧位,2 例 CT 扫描时采用热塑性面模固定。CT 采用 SIEMENS SOMATOM plus4 螺旋扫描机或 SIEMENS SOMATOM SENSATION 16 螺旋扫描机。常规平扫,扫描基线平行于硬腭,扫描范围由鞍上池水平至上颈部。层厚 3 mm,连续扫描,2 例患者加用增强扫描。MRI 扫描采用 SIMENS Sonata Maestro 型 1.5 tesla 超导磁共振成像系统,标准头部正交线圈,常规 SE 序列,扫描方向为横断面、矢状面和冠状面,2 例患者平扫后加增强扫描。扫描参数 T1WI 序列为 TR/TE= 500/7.7 ms; T2WI 为 turboSE TR/TE= 4 000/95 ms; NEX2~6 次,反转角 90°,层厚 3 mm,层间距为零。扫描范围由鞍上池至第 2 颈椎下缘水平。

1.3 研究方法

分别对患者 CT 和 MRI 图像在相同平面之咽旁间隙改变进行对比分析。MRI 咽旁间隙侵犯标准定义为肿瘤直接浸润鼻咽侧壁的腭帆张提肌、咽鼓管或脂肪间隙等。CT 咽旁间隙侵犯的标准为咽旁脂肪间隙变形,即在 2 个以上层面出现软组织肿胀致脂肪间隙变窄、模糊等。

(下转 2125 页)

作者简介: 庞学利(1963-), 男, 山西省介休市人, 博士, 副主任医师, 副教授, 主要从事恶性肿瘤放射治疗方面的研究, 发表论文 30 余篇。电话: (023)68754184, E-mail: pangxueli@solu.com

收稿日期: 2004-03-19; 修回日期: 2004-11-09

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net