DOI:10.16016/j.1000-5404.2000.09.033
第22卷第9期 第三军医大学学报 Vol. 22, No. 9
896 2000年9月 ACTA ACADEMIAE MEDICINAE MILITARIS TERTIAE Sep. 2000

临床研究

文章编号:1000-5404(2000)09-0896-03

严重创伤后血清β-内啡肽与PMNs上CD18、CD54分子含量的变化

姚元章,简华刚,李 磊,程晓斌,黄显凯,吕菊芬,汪志文 (第三军医大学附属大坪医院野战外科研究所全军战创伤中心,重庆 400042)

提 要:目的 探讨严重创伤病人血清β-内啡呔(β-end)及外周血多形核粒细胞(PMNs)CD18、CD54含量变化。方法 65例严重创伤病人按ISS分为两组:ISS≥20分组(n=36);ISS<20分组(n=29)。使用放射免疫分析技术和流式细胞术分别检测65例严重创伤病人入院时、伤后1、3、7 d血清皮质醇、β-end浓度和PMNs上CD18、CD54的平均荧光通道变化,11例健康志愿者为对照组。结果 创伤病人血清皮质醇浓度在伤后24 h内较对照组高(P<0.01),但创伤组间无差异。β-end浓度在入院时达高峰,随后迅速下降,伤后第72 h恢复正常;伤后24 h内ISS≥20分组较ISS<20分组更高(P<0.05)。PMNs上CD18、CD54含量在伤后各时相点与对照组比较差异显著(P<0.01);伤后最初3 d内,ISS≥20分组较ISS<20分组明显增高(P<0.01)。结论 β-end、细胞粘附分子可能间接参与了创伤后PMNs的活化过程,其浓度和含量变化与损伤严重程度相平行;监测其动态变化有益于伤情评估。

关键词:损伤;β-内啡肽;CD18;CD54;ISS
中图法分类号:R392.11;R641 文献标识码:A

Levels of β-endorphin in serum and CD18, CD54 on PMNs in severely injured patients

YAO Yuan-zhang, JIAN Hua-gang, LI Lei, CHEN Xiao-bin, HUANG Xian-Kai, LU Ju-fen, WANG Zhi-wen (Research Institute of Field Surgery, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To investigate the changes of β-endorphin (β-end) in serum and cellular adhesion molecules (CAM) CD18 and CD54 on peripheral polymorphonuclear neutrophils (PMNs) in patients with severe injury. **Methods** Sixty-five patients with severe injury were divided into ISS≥20 and ISS<20 group according to Injury Severity Score and 11 healthy volunteers (control group) were employed in this prospective study. On the 1st, 3rd and 7th d after injury, the concentrations of cortisol, β-endorphin in serum and the levels of CD18, CD54 on PMNs were examined with radioimmunoassay and flow cytometry respectively. The results were compared with those of the control. **Results** Although the serum levels of cortisol were significantly higher in all patients than that in control within 24 h after injury (P<0.01), there were no statistical difference among 2 groups of trauma patients. The concentration of β-end was at the peak when admited to hospital, then reduced rapidly and recovered to normal 72 h after the injury and the concentration of ISS≥20 group was higher than that of ISS<20 group (P<0.05). Significant difference was found in the levels of CD18, CD54 on PMNs in injured group and in control at every time points (P<0.01) and the levels was obviously higher in ISS≥20 group than in ISS<20 group in the first 3 d after injury (P<0.01). **Conclusion** These findings indicate that β-end and CAM may participate indirectly in the activation of PMNs after trauma. The changes of β-end level in serum and CAM concentration on PMNs are parallel to the severity of injury. It is beneficial to monitor the dynamic changes in assessing the severity injury.

Key words: injury; β-endorphin; CD18; CD54; injury severity score

严重创伤后急性炎症反应初始阶段,由细胞粘附分子(Cell adhesion molecule, CAM)介导的白细胞沿内皮细胞(EC)表面滚动、粘附,是白细胞趋化、游走、聚集的基础,同时也与创伤后多种并发症的发生有关[1]。

作者简介:姚元章(1963—),男,四川省自贡市人,硕士,主治医师,讲师,主要从事创伤临床救治及创伤免疫方面的研究,发表论文8篇。电话:(023)68757242

收稿日期:1999-11-18;修回日期:2000-01-14

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

神经肽、皮质醇等是否参与了创伤后白细胞的活化过程, 目前尚缺乏直接证据; 创伤后神经肽、皮质醇的变化及与 CAM 含量的关系, 临床报道较少。本研究动态观察了严重创伤病人早期不同时相血清中 β-内啡肽(β-endorpin, β-end)、皮质醇浓度及多形核粒细胞(Polymorphonuclear neutrophils, PMNs)上 CD18、CD54 分子含量变化, 探讨他们与损伤严重程度及相互间关系, 为创伤的早期治疗及并发症的防治提供参考。

1　材料与方法

1.1　病例

1.1.1　选择标准　①入院时间为伤后 7 h 以内; ②年龄 18~70 岁; ③至少有一个部位损伤 AIS(简明损伤部位评分, 90 版)分值≥3 分, 并超过一个解剖区域; ④伤后生存时间> 48 h; ⑤排除有妊娠, 在 1 个月前无细菌和病毒感染、慢性疾病及使用过对免疫功能有明显抑制的药物, 输血在 2 单位以内。

1.1.2　分组　1997 年 10 月至 1999 年 5 月本中心收治的 65 例严重创伤病人, 交通事故伤 37 例, 挤压伤 6 例, 坠落伤 12 例, 穿透伤 10 例。男性 38 例, 女性 27 例; 平均年龄 42.7 岁, 伤后平均入院时间 4.5 h。损伤严重度评分(ISS)为 12~45 分(平均 20.5 分)。按 ISS 将其分为两组: ISS≥20 分组(n= 36)和 ISS< 20 分组(n= 29)。

1.1.3　对照组　11 例健康自愿者为对照组, 年龄 20~45 岁, 平均年龄 39.5 岁, 男∶女为 8∶3。

1.2　主要仪器

GC-1200 γ 自动放射免疫计数器(北京, 中国科学技术实业公司中佳光电仪器分公司生产)和 FAC 流式细胞仪(美国 COULTER 公司生产)。

1.3　主要试剂

皮质醇、β-end 放免测定药盒分别由北京北方生物技术研究所和北京东雅生物技术研究所提供; 流式细胞仪用单克隆抗体(Monoclonal antibody, McAb)为异硫氰酸荧光素(Flourescein isothiocyanate, FITC)直接标记的鼠抗人 CD54 McAb, 藻红蛋白(Phycoerythrin, PE)标记的 CD18 McAb, 鼠 IgG1-FITC(PE)作阴性对照, 由美国 COULTER 公司提供(Immuntech 公司产品)。

1.4　标本的采集和检测方法

1.4.1　标本的采集　入院后立即采取静脉血 5 ml, 并于伤后 24、72、168 h 各采集 1 次, 流式细胞仪检测标本置于 10% EDTA 抗凝管中, 4 ℃冰箱保存, 放置时间不超 12 h; 放射免疫检测标本为血清, 置-20 ℃冰箱保存, 批量检测。

1.4.2　标记和分析方法　放射免疫分析为取 2 ml 血清, 测定前置室温或冷水中复融混匀, 4 ℃ 3 000 r/min 离心 5 min, 取上清测定, 试剂均为 ^{125}I 标记, 采用平衡饱和分析法, 具体操作方法按试剂盒说明书操作, 由自动 γ-放射免疫计数器给出样本浓度。流式细胞仪分析用抗体标记方法为取全血 100 μl 加单抗 20 μl, 混匀, 25 ℃ 15 min; 加入红细胞裂解液, 轻混匀, 25 ℃ 10 min, 加入磷酸缓冲液 500 μl, 25 ℃下静置 10 min 上机检测; 每标本至少含有 5 000 个 PMNs, 使用流式细胞仪和 LYSYS-Ⅱ计算机软件(Becton-Dickinson)分析, 据 PMNs 的形态学特征在前相散射(Forward light scatter, FSC)对应的侧散射(Side scatter, SSC)所展示的点状图形上开窗, 使用标准的 FITC 或 PE 滤器收集荧光强度, 减去阴性对照值获得平均荧光通道(Mean fluorescence channel, MFC)值(对数值), MFC 直接反映了 PMNs 上抗体的密度。

1.5　统计学处理

检测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间数据比较采用两样本均数 t 检验, 并作单因素相关分析。

2　结果

应用放射免疫分析检测创伤后血清不同时相皮质醇、β-end 浓度及使用流式细胞术间接免疫荧光法检测外周血 PMNs 上 CD18、CD54 含量(MFC), 结果见表 1。

表 1　严重创伤后血清皮质醇、β-end 浓度及 PMNs 上 CD18、CD54 含量变化($\bar{x} \pm s$)

Tab 1　Changes of corticosterone, β-end in serum and CD18, CD54 on PMNs in severely injured patients ($\bar{x} \pm s$)

	Control (n=11)	ISS< 20 (n=29) Time after injury (h)				ISS≥20 (n=36) Time after injury (h)			
		4.5	24	72	168	4.5	24	72	168
Cortisol(ρ_B/ng·ml^{-1})	230.6±51.4	379.1±180.4 *	396.4±140.3 *	247.3±166.7	255.1±81.9	368.7±187.3 *	396.6±125.3 *	190.9±56.1	202.7±93.4
β-end(ρ_B/ng·ml^{-1})	102.5±22.3	202.6±80.8 *	157.7±79.5 *	121.6±25.5	101.2±16.1	316.5±119.1 *##	281.3±181.9 *##	98.8±27.2	120.2±32.7
CD18	1.32±0.47	3.85±0.94 *	3.61±1.21 *	2.12±0.85 *	1.62±0.83 *	4.87±0.92 *##	4.95±1.09 *##	4.73±1.36 *##	1.95±0.89 *#
CD54	1.20±3.5	1.74±0.48 *	2.29±0.70 *	1.91±0.51 *	1.70±0.42 *	2.18±0.64 *##	2.78±0.87 *##	2.72±0.81 *##	1.84±0.58 *#

*: P< 0.01 *vs* control; #: P< 0.05, ##: P< 0.01 *vs* group ISS< 20

两组伤员血清皮质醇激素在伤后 24 h 内均较对照组有明显增高(P< 0.01), 但两组伤员之间比较无差异, 伤后 72 h 均恢复正常。

β-end 血清浓度在两组伤员入院时即明显升高并呈现一高峰, 与对照组比差异非常显著(P< 0.01), 持续至伤后 24 h, 以后迅速下降, 至伤后 72 h 恢复正常; 伤后入院时、24 h 两时相点上, ISS≥20 分组较 ISS< 20 分组更高(P< 0.05)。

PMNs 上 CD18 含量在两组伤员入院时有明显增加, 峰值增多出现在 24 h 内, ISS≥20 分组下降缓慢, 峰值持续至伤后第 3 天, ISS< 20 分组下降幅度快, 峰值维持时间短; 在伤后入院时、伤后 24、72 h 时相点上 ISS≥20 分组含量较 ISS< 20 分组高, 两组差异非常显著(P< 0.01); 伤后第 7 天两组伤员 CD18 含量维持一定水平, 但 ISS≥20 分组仍高于 ISS< 20 分组(P< 0.05)。在伤后各时相点上 CD18 含量较对照组显著增高(P< 0.01)。

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

严重创伤后两组伤员 PMNs 上 CD54 含量在伤后各时相点上与对照组比较均有明显增高($P<0.01$)；两组伤员 CD54 含量在入院时即明显增加，伤后 24 h 达高峰，在伤后 72 h 内 ISS≥20 分组 CD54 含量显著高于 ISS<20 分组($P<0.01$)，24 h 后 ISS<20 分组快速下降，而 ISS≥20 分组仍持续较高水平，72 h 后缓慢下降，伤后第 7 天仍高于 ISS<20 分组($P<0.05$)。

相关分析发现血清β-end 浓度均值与 PMNs 上 CD18、CD54 含量变化间呈明显的正相关(ISS<20 分组 $r=0.9920$、0.9787，$P<0.01$；ISS≥20 分组 $r=0.9425$、0.8911，$P<0.01$)。

3 讨论

3.1 严重创伤对β-end 水平影响及与 CAM 的关系

阿片肽和 CAM 受体可在神经、内分泌及多种免疫细胞上表达，其周期性变化有相似之处，生理情况下处于正负反馈平衡状态，在创伤等因素刺激下这种平衡可遭破坏，引起一系列的病理紊乱[2]。β-end 作为一种自损害因子可能与神经创伤后的损伤程度和继发性损害有关[3]；CD18、CD54 介导了细胞间、细胞与基质的粘附，共同参与细胞活化、信息传导，以及炎症的创伤愈合等重要的病理生理过程[4]。

本研究观察到严重创伤后早期皮质醇浓度明显高于对照组，但伤后创伤组间皮质醇变化差异不明显，与一些临床报道不一致，需要选择更广泛的病例深入研究。创伤组血清β-end 浓度及 PMNs 上 CD18、CD54 含量不明显高于对照组，从升高的时相及相关分析显示，β-end 在入院时即升高持续至伤后 24 h，随后迅速下降，CD18、CD54 的含量则在 24 h 达高峰，随β-end 升高而增加，且持续时间较β-end 长；提示严重创伤后神经肽与 CAM 间可能存在某种相互调节的内在联系，推测过度的创伤应激反应使皮质醇、β-end 分泌增加，并促进了免疫细胞合成、释放多种细胞因子，活化了 PMNs 和 EC 而使 CD18、CD54 含量增加，CAM 对皮质醇、β-end 分泌又起反馈抑制作用；因此，创伤后β-end 可能间接参与了创伤后 PMNs 和 EC 的活化过程。研究表明创伤后 PMNs 上 CAM 的表达增加活化了白细胞，使 PMNs 与 EC 粘附增强，使 EC 受到损害，血管通透性增加，导致广泛的组织器官功能损害和多种并发症[5]；有人把创伤后过量表达 CAM 介导的急性白细胞活化作为器官功能损害的“一个易受攻击的窗口”[6]。在严重创伤病人的临床治疗上，早期适当给予糖皮质激素、抗阿片受体药物(如纳络酮)等，阻止这些 CAM 的过量表达，有可能阻断创伤后组织器官功能继发性损害的始动因素或某一发病环节[7]；对减轻和预防创伤过度的应激和炎症反应、创伤并发症，降低病死率、提高生存率可能会带来有益作用。

3.2 血清β-end 水平、PMNs 上 CD18、CD54 含量变化与损伤严重程度的关系

严重创伤的损伤严重度评估，虽为伤员的优先处理，诊断程序模式的建立及指导治疗提供了判断标准，但多基于解剖部位损伤和生命体征的指标评价，未涉及创伤后的生化和病理生理紊乱，存在一定的局限性[8]。不同个体在遭到同程度损伤时，所产生的病理生理反应不尽相同，预后亦有差异，因此，我们认为在解剖部位的损伤严重度评估基础上，结合个体病理生理指标的检测对判断病人的预后应更为客观、准确。本研究显示在严重创伤早期，ISS≥20 分组血清中β-end水平、PMNs 上 CD18、CD54 含量明显高于 ISS<20 分组，并于伤后数小时或 24 h 内达高峰，提示在创伤后 PMNs 活化引起 CAM 的含量增加和β-end 浓度的升高是与损伤严重程度(ISS)相平行的，认为这些变化在创伤后早期可以反映机体受第一次打击的程度，在一定程度上确能反映创伤的病理生理紊乱和损伤严重程度，其动态变化监测有助于伤情的评估及预后判断；预测未来更为合理的损伤严重度评估应是已确立的解剖部位评分(如 ISS 等)和包括一些生化参数(如β-end、CAM 等)在内的生理学评分的结合。

参考文献：

[1] Giannoudis P V, Smith R M, Banks R E, *et al*. Stimulation of inflammatory markers after blunt trauma[J]. Br J Surg, 1998, 85(7): 986－990.

[2] Nistico G, Hawac H, Spinedi E, *et al*. Communications among central nervous system, neuroendocrine and immune systems[J]. Prog Neurobiol, 1993, 10(2): 463－468.

[3] Young W. Strategies for the development of new and better pharmacological treatments for acute spinal cord injury[J]. Adv Neurol, 1993, 59(1): 249－254.

[4] Scanneli K, Waonan N, Vaziri J, *et al*. Effects of trauma on leukocyte intercellular adhesion molecules-1, CD11b, and CD18 expression[J]. J Trauma, 1995, 39(4): 641－644.

[5] Isaksson J, Farooque M, Holtz A, *et al*. Expression of ICAM-1 and CD11b/CD18 after experimental spinal cord injury in rats[J]. J Neurotrauma, 1999, 16(2): 165－173.

[6] Botha A J, Moore F A, Moore E E, *et al*. Postinjury neutrophil priming and activation: an early vulnerable window[J]. Surgery, 1995, 118(3): 358－364.

[7] Zeni F, Parent C, Correa R, *et al*. ICAM-1 and CD11b/CD18 inhibition worsen outcome in rats with *E. coli* pneumonia[J]. J Appl Physiol, 1999, 87(1): 299－307.

[8] McKeating E G, Andrews P J, Mascia L, *et al*. The relationship of soluble adhesion molecule concentration in systemic and jugular venous serum to injury severity and outcome after traumatic brain injury[J]. Anesth Analg, 1998, 86(4): 759－765.

(编辑 潘式文)

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