

乌司他丁对胃肠道术后炎症因子与外周血 T 淋巴细胞亚群的影响

章嘉平(上海儿童医学中心麻醉科,上海 200127)

【摘要】 目的 观察胃肠道手术术前静脉滴注乌司他丁对术后炎症因子与外周血 T 淋巴细胞亚群的影响,探讨其作用机制。**方法** 选择 2012 年 7 月至 2014 年 6 月收治的 115 例胃肠道手术患者随机分为研究组(60 例)和对照组(55 例),研究组手术麻醉诱导前静脉滴注乌司他丁 2.5 kU/kg,对照组静脉滴注 5% 葡萄糖氯化钠注射液,术后常规处理,比较术前及术后 1、3 d 的血清炎症因子水平及外周血 T 淋巴细胞亚群变化情况。**结果** 两组术后 1、3 d 白细胞介素(IL)-6、IL-8、IL-10、肿瘤坏死因子(TNF)- α 、C 反应蛋白(CRP)水平呈先上升、后下降趋势;研究组术后 1、3 d 的 IL-6、IL-8、TNF- α 、CRP 水平均明显低于对照组,IL-10 则高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组术后 1、3 d T 淋巴细胞亚群中 CD4⁺、CD8⁺ 呈先下降、后上升趋势,研究组 CD4⁺/CD8⁺ 逐渐上升,对照组 CD4⁺/CD8⁺ 先下降、后上升;研究组术后 1、3 d CD4⁺ 与 CD4⁺/CD8⁺ 均明显高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),CD8⁺ 低于对照组,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 胃肠道手术应用乌司他丁能有效降低炎症介质的释放,改善手术应激状态时的细胞免疫功能,减轻手术造成功能性器官的损害。

【关键词】 胃肠道手术; 乌司他丁; 炎症介质; T 淋巴细胞亚群; 免疫功能

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2016.02.016 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2016)02-0189-03

Effects of ulinastatin on postoperative peripheral blood inflammatory factors and T lymphocyte subsets in patients with gastrointestinal operation ZHANG Jia-ping (Department of Anesthesiology, Shanghai Children's Medical Center, Shanghai 200127, China)

【Abstract】 Objective To observe the effects of ulinastatin on postoperative peripheral blood inflammatory cytokines and T lymphocyte subsets in the patients with gastrointestinal operation, and to explore its protective mechanism. **Methods** 115 patients with gastrointestinal operation from July 2012 to June 2014 were selected and randomly divided into the study group (60 cases) and the control group (55 cases). The study group was intravenously dripped with ulinastatin 2.5 kU/kg before anesthesia induction, while the control group with 5% glucose and sodium chloride injection. All patients were performed the postoperative routine treatment. The variation situation of serum inflammatory factors and peripheral blood T cell subsets were compared between before and after treatment in the two groups. **Results** The IL-6, IL-8, IL-10, TNF- α and CRP levels on postoperative 1, 3 d in 2 groups showed first increasing and then decreasing trend; the IL-6, IL-8, TNF- α and CRP levels on postoperative 1, 3 d in the study group were significantly lower than those in the control group, while the IL-10 level was higher than that in the control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The CD4⁺ and CD8⁺ of T cell subsets on postoperative 1, 3 d in the two groups showed first decreasing and then increasing trend, the CD4⁺/CD8⁺ ratio in the study group was increased gradually, while which in the control group was firstly decreased and then increased; the CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ on postoperative 1, 3 d in the study group were significantly higher than those in the control group, the differences were statistically significant ($P < 0.05$), while the CD8⁺ was lower than that in the control group, but the difference was not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusion** The application of ulinastatin before gastrointestinal operation can effectively reduce the releasing of inflammatory mediators, improves the cellular immune function in the operative stress state and then alleviate the functional organ damage.

【Key words】 gastrointestinal operation; ulinastatin; inflammatory mediators; T lymphocyte cell subsets; immune function

大型胃肠道手术会激活体内多种炎症反应介质,术后组织器官的缺血-再灌注又可引发瀑布样级联反应和白细胞过度激活,释放大氧自由基和溶酶体酶,破坏胃肠道免疫屏障,造成凝血与纤溶系统失衡,加重术后组织损伤。同时,手术会造成机体免疫防御功能低下,术后易出现腹腔感染等并发症,严重

影响患者预后。乌司他丁是由肝脏分泌的具有抑炎作用的广谱蛋白酶抑制剂,在感染、创伤时血液中检测到内源性乌司他丁浓度升高,发挥抑炎作用,并在炎症过程中逐步消耗代谢。研究表明,在重大手术、重症疾病中补充外源性乌司他丁,能有效减轻机体炎症反应,改善微循环,进而保护组织器官^[1]。作

者近年来在胃肠道手术术前应用乌司他丁,并观察其对术后炎症因子与 T 淋巴细胞亚群的影响,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2012 年 7 月至 2014 年 6 月于本院肝胆外科治疗的 115 例行胃肠道手术患者,其中男 61 例,女 54 例;年龄 32~57 岁,平均(43.5±7.8)岁;行胃大部切除、胰十二指肠切除各 31 例,肠梗阻切除术 20 例,直肠癌根治术 16 例,结肠癌根治术 17 例;腹腔镜手术 40 例,非腹腔镜手术 75 例。根据随机数字表,随机分为研究组(60 例)、对照组(55 例),两组患者的性别、年龄、手术类型、手术方式、体质质量指数(BMI)等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。排除 60 岁以上者,近期应用免疫抑制剂或免疫调节剂者,术前行新辅助化疗者,糖尿病患者。

1.2 方法 所有患者进入手术室后,开放外周静脉,研究组行全身麻醉诱导前将 2.5 kU/kg 乌司他丁(每瓶 10 万 U,广东天普生化医药股份有限公司,国药准字 H19990134)加入 250 mL 生理盐水中静脉滴注,而后行全身麻醉诱导。对照组则静脉滴注 250 mL 5%葡萄糖氯化钠注射液,不使用乌司他丁。全身麻醉后行手术,术后常规禁食、胃肠减压、肠外营养支持,维持水和电解质平衡,并给予常规抗菌药物治疗。

表 1 患者一般资料比较[n(%)或 $\bar{x}\pm s$]				
指标	研究组($n=60$)	对照组($n=55$)	χ^2/U	P
性别				
男	33(55.0)	28(50.9)	0.193	0.661
女	27(45.0)	27(49.1)		
年龄(岁)				
30~<40	17(28.3)	14(25.5)	0.717	0.699
40~<50	27(45.0)	29(52.7)		
≥50	16(26.7)	12(21.8)		
手术类型				
胃大部切除术	17(28.3)	14(25.5)	0.615	0.961
胰十二指肠切除术	15(25.0)	16(29.1)		
肠梗阻切除术	11(18.3)	9(16.4)		

表 2 两组患者手术前后炎症因子水平比较($\bar{x}\pm s$,pg/mL)									
组别	n	IL-6			IL-8			IL-10	
		术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术前 1 d	术后 1 d
研究组	60	20.8±7.4	45.7±12.8	25.5±10.4	45.4±10.5	78.3±17.8	56.6±13.9	32.1±7.5	66.4±13.5
对照组	55	22.5±6.9	57.4±14.3	30.7±12.0	48.0±11.7	90.8±20.3	62.5±13.5	30.7±8.0	57.3±10.3
U		1.275	4.607	2.473	1.250	3.498	2.308	0.966	4.083
P		0.205	<0.01	0.015	0.214	0.001	0.023	0.336	<0.01

组别	n	TNF-α			CRP		
		术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d
研究组	60	32.5±11.4	49.6±13.1	36.3±10.1	17.5±5.5	29.2±9.9	21.5±8.6
对照组	55	30.3±10.6	56.1±14.7	42.0±12.3	18.2±6.3	35.6±10.7	25.4±9.3
U		1.072	2.495	2.702	0.632	3.320	2.329
P		0.286	0.014	0.008	0.529	0.001	0.022

续表 1 患者一般资料比较[n(%)或 $\bar{x}\pm s$]				
指标	研究组($n=60$)	对照组($n=55$)	χ^2/U	P
直肠癌根治术	9(15.0)	7(12.7)		
结肠癌根治术	8(13.3)	9(16.4)		
手术方式				
腹腔镜手术	21(35.0)	19(34.5)	0.009	0.959
非腹腔镜手术	39(65.0)	36(65.5)		
BMI(kg/m ²)	24.7±2.3	24.1±2.1	1.462	0.147

1.3 观察指标 血清炎症因子:术前 1 d 及术后 1、3 d 分别采空腹静脉血 5 mL,分离血清后-20℃冻存待检,取其中 3 mL 采用 BD 公司流式细胞仪及配套试剂盒(双抗体夹心酶联免疫吸附试验)测定白细胞介素(IL)-6、IL-8、IL-10、肿瘤坏死因子(TNF)-α水平;取另 2 mL 采用美国 Beckman 全自动生化分析仪测定 C 反应蛋白(CRP)数值(散射比浊法),试剂盒购上海德灵诊断产品有限公司。外周血 T 淋巴细胞亚群构成:另取同一时间空腹静脉血 5 mL,抗凝,采用流式细胞学技术测定外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞亚群构成,计算 CD4⁺/CD8⁺。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件进行统计分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 U 检验,计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者手术前后炎症因子水平比较 两组术后 1、3 d IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α、CRP 数值呈先上升后下降趋势。研究组术后 1、3 d IL-6、IL-8、TNF-α、CRP 水平均明显低于对照组,IL-10 则高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.2 两组患者手术前后 T 淋巴细胞亚群比较 两组术后 1、3 d T 淋巴细胞亚群中 CD4⁺、CD8⁺呈先下降、后上升趋势;研究组 CD4⁺/CD8⁺逐渐上升,对照组 CD4⁺/CD8⁺先下降、后上升。研究组术后 1、3 d CD4⁺与 CD4⁺/CD8⁺均明显高于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$);CD8⁺低于对照组水平,差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 两组患者手术前后 T 淋巴细胞亚群比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	n	CD4 ⁺ (%)			CD8 ⁺ (%)			CD4 ⁺ /CD8 ⁺		
		术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d	术前 1 d	术后 1 d	术后 3 d
研究组	60	34.2±3.1	30.8±3.3	33.2±3.0	30.2±2.5	26.9±2.5	28.2±2.6	1.13±0.25	1.14±0.26	1.17±0.35
对照组	55	33.6±3.0	28.9±3.2	31.9±2.7	29.4±2.7	27.8±2.9	28.9±2.9	1.14±0.31	1.03±0.29	1.10±0.30
U		1.054	3.133	2.446	1.644	1.775	1.358	0.189	2.135	1.154
P		0.294	0.002	0.016	0.103	0.079	0.177	0.850	0.035	0.251

3 讨 论

对胃肠道手术尤其是肠道手术,大型手术及术后炎症反应会损伤肠道免疫屏障,造成细菌移位,内毒素、细菌、抗体介质不断入血导致多种炎性介质释放,引发全身性炎症反应综合征^[2]。同时,手术会对机体免疫功能产生重大影响,可表现为术后自身抗体与免疫复合物形成增加,淋巴细胞计数降低,细胞免疫功能下降等^[3]。对于癌症患者而言,本身机体免疫功能就较为低下,肿瘤细胞持续增殖;急腹症患者术术前已发生较为严重的感染,各种炎性介质的释放,患者的免疫功能受到一定抑制。因此控制术后炎性反应水平,增强机体免疫功能一直是外科医生关注的重大问题。

乌司他丁是从人的新鲜尿液中分离纯化的一种广谱蛋白酶抑制剂,相对分子质量为 67×10³,含有 143 个氨基酸。乌司他丁具有与细胞膜受体识别和结合的位点,且第 10 位丝氨酸上的硫酸软骨素糖链带负电荷,具有稳定细胞膜和溶酶体膜的生理功能,因此能够抑制疾病状态下释放至血的胰、糜蛋白酶等丝氨酸蛋白酶及糖和脂类水解酶的活性,稳定溶酶体膜、白细胞膜等膜结构。近年研究表明,乌司他丁尚具有改善微循环和组织灌注及氧自由基清除功能,能够抑制炎性介质的过度释放,减轻过氧化反应和炎性损伤因子对机体的损伤^[4];抑制凝血因子 Xa、Ⅺ、Ⅷ,阻止凝血酶原转变为凝血酶,抑制血浆 D-二聚体的升高,改善患者的凝血功能^[5]。因而,基于上述功效,乌司他丁逐步应用于危重疾病、大型手术中器官功能的保护,本研究着重探讨术前应用乌司他丁对术后患者炎性因子与免疫功能的影响。

手术后,机体释放 IL-6、IL-8、IL-10、TNF-α 等多种细胞因子参与炎性反应,据功效可分为促炎细胞因子和抗炎细胞因子,“促炎-抑炎”细胞因子失衡直接导致机体炎性反应升级。TNF-α 是最主要的炎性因子,也是炎性反应的最初启动者,能激活中性粒细胞和淋巴细胞,诱发 IL-1、IL-6、IL-8 及血小板激活因子、前列腺素、白三烯等次级炎性介质合成^[6]。IL-6 由辅助性 T 淋巴细胞 2 产生和分泌的急性反应期炎性介质,能诱导 B 细胞分化和产生抗体,刺激 CRP 的合成,活化补体,参与免疫应答。IL-6 形成的免疫复合物沉积在血管壁并激活补体,由此引发的免疫损伤可加重血管炎性反应^[7]。IL-8 主要由单核细胞和淋巴细胞产生,可趋化中性粒细胞、T 淋巴细胞和嗜酸性粒细胞,释放溶酶体酶,损伤内皮细胞,破坏毛细血管,加速组织坏死,是反映组织损伤的早期灵敏标志物和介导体^[8]。IL-10 主要由激活的单核巨噬细胞、部分淋巴细胞和上皮细胞等产生,能抑制巨噬细胞活化和巨噬细胞的抗原提呈,对免疫应答主要起到抑制作用^[9]。CRP 是非特异性的应急性蛋白质,在机体受到感染或损伤时急剧上升,可激活补体和加强吞

噬细胞的吞噬作用,是反应组织损伤和炎性反应的敏感标志物^[10]。李祖能等^[11]报道,肝叶切除术肝门阻断前静脉滴注乌司他丁可明显降低血栓素素 B2 与 6-酮-前列腺素 F1α 比值,改善花生四烯酸代谢紊乱,抑制促炎因子释放,减轻肝脏的缺血再灌注损伤。

本研究结果显示,IL-6、IL-8、TNF-α、CRP 等促炎因子一过性上升,说明术后炎性细胞因子释放,体内炎性反应一过性加重,而研究组术后 1、3 d IL-6、IL-8、TNF-α、CRP 水平均明显低于对照组($P<0.05$),说明研究组促炎因子受到抑制的程度要大于对照组,分析其原因,可能与乌司他丁本身为蛋白酶抑制剂,能够抑制纤维蛋白原合成,进而减少 IL-6、IL-8、TNF-α 的合成有关,也与乌司他丁能减少手术应激造成氧自由基的生成,减轻巨噬细胞、中性粒细胞的活化,降低炎性因子的释放等有关^[12]。同时,两组术后抑炎因子 IL-10 水平上升则说明机体“促炎-抑炎”机制激活,维持炎性反应的动态平衡,研究组术后 1、3 d IL-10 水平均高于对照组($P<0.05$),说明促炎因子释放得到抑制,其作用机制可能与乌司他丁能稳定细胞膜,影响细胞内信号的转导通路来实现^[13]。

T 淋巴细胞亚群中,CD4⁺ T 淋巴细胞是辅助性 T 淋巴细胞,通过与靶细胞接触后产生信号及分泌细胞因子执行免疫功能;CD8⁺ T 淋巴细胞是杀伤性 T 淋巴细胞,具有细胞毒性,能抑制炎性反应,CD4⁺/CD8⁺ 能反映机体的细胞免疫状态,正常维持在 1 以上^[14]。大型手术术后患者由于免疫功能受到破坏,常表现为 CD4⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 一过性降低。本研究中,研究组术前静脉滴注乌司他丁后,术后 CD4⁺、CD8⁺ 呈先下降、后上升趋势,但 CD4⁺/CD8⁺ 维持逐渐上升趋势,且术后 1、3 d CD4⁺ 与 CD4⁺/CD8⁺ 均明显高于对照组($P<0.05$),说明使用乌司他丁后,研究组辅助性 T 淋巴细胞水平相对增加,机体细胞免疫水平高于对照组,免疫机能进一步改善,这也可能与研究组加用乌司他丁后,机体“促炎-抑炎”因子趋于平衡,有助于免疫功能的稳定有关。

综上所述,胃肠道手术应用乌司他丁能有效降低术后促炎因子水平,上调抑炎因子水平,通过减轻术后机体过度的炎性应激反应而保护胃肠道组织器官,同时能够调节辅助性 T 淋巴细胞与杀伤性 T 淋巴细胞比例,改善手术应激状态时的细胞免疫功能,减轻手术造成功能性器官的损害。

参考文献

[1] Inoue K, Takano H. Urinary trypsin inhibitor as a therapeutic option for endotoxin-related inflammatory disorders [J]. Expert Opin Invest Drugs, 2010, 19(4): 513-520.
[2] 刘云书, 陈世松. 乌司他丁对炎性肠梗阻(下转第 195 页)

- pable breast carcinomas; correlation of mammographically detected malignant-appearing microcalcifications and epidermal growth factor receptor (EGFR) family expression [J]. *Cancer Lett*, 2006, 244(1): 34-41.
 - [7] Travis A, Pinder SE, Robertson JF, et al. c-erbB-3 in human breast carcinoma; expression and relation to prognosis and established prognostic indicators [J]. *Br Cancer*, 1996, 74(2): 229-223.
 - [8] Chiu CG, Masoudi H, Leung S, et al. HER-3 overexpression is prognostic of reduced breast cancer survival: a study of 4 046 patients [J]. *Ann Surg*, 2010, 251(6): 1107-1116.
 - [9] Witton CJ, Reeves JR, Going JJ, et al. Expression of the HER1-4 family of receptor tyrosine kinases in breast cancer [J]. *J Pathol*, 2003, 200(3): 290-297.
 - [10] Holbro T, Beerli RR, Maurer F, et al. The ErbB2/ErbB3 heterodimer functions as an oncogenic unit; ErbB2 requires ErbB3 to drive breast tumor cell proliferation [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(15): 8933-8938.
 - [11] Neve RM, Sutterlüty H, Pullen N, et al. Effects of oncogenic ErbB2 on G1 cell cycle regulators in breast tumour cells [J]. *Oncogene*, 2000, 19(13): 1647-1656.
 - [12] Siegel PM, Ryan ED, Cardiff RD, et al. Elevated expression of activated forms of Neu/ErbB-2 and ErbB-3 are involved in the induction of mammary tumors in transgenic mice; implications for human breast cancer [J]. *EMBO J*, 1999, 18(8): 2149-2164.
 - [13] Lee-Hoeich ST, Crocker L, Yao E, et al. A central role for HER3 in HER2-amplified breast cancer; implications for targeted therapy [J]. *Cancer Res*, 2008, 68(14): 5878-5887.
 - [14] Knowlden JM, Hutcheson IR, Jones HE, et al. Elevated levels of epidermal growth factor receptor/c-erbB2 heterodimers mediate an autocrine growth regulatory pathway in tamoxifen-resistant MCF-7 cells [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(3): 1032-1044.
 - [15] Sithanandam G, Smith GT, Masuda A, et al. Cell cycle activation in lung adenocarcinoma cells by the ErbB3/phosphatidylinositol 3-kinase/Akt pathway [J]. *Carcinogenesis*, 2003, 24(10): 1581-1592.
 - [16] Bianchi S, Palli D, Falchetti M, et al. ErbB-Receptors Expression and survival in Breast Carcinoma; a 15-year follow-up study [J]. *J Cell Physiol*, 2006, 206(3): 702-708.
 - [17] Azios NG, Romero FJ, Denton MC, et al. Expression of herstatin, an autoinhibitor of HER-2/neu, inhibits transactivation of HER-3 by HER-2 and blocks EGF activation of the EGF receptor [J]. *Oncogene*, 2001, 20(37): 5199-5209.
 - [18] Berghoff AS, Bartsch R, Preusser M, et al. Co-overexpression of HER2/HER3 is a predictor of impaired survival in breast cancer patients [J]. *Breast*, 2014, 23(5): 637-643.
- (收稿日期: 2015-06-20 修回日期: 2015-08-12)
-
- (上接第 191 页)
- 患者炎症细胞因子的调控作用 [J]. *放射免疫学杂志*, 2012, 25(1): 98-99.
- [3] 江厚象, 潘凯, 李芳芳, 等. 乌司他丁对老年腹腔镜结肠癌根治术患者红细胞免疫功能的保护 [J]. *放射免疫学杂志*, 2009, 22(3): 270-272.
 - [4] 顾金萍, 吕慧怡, 于健. 乌司他丁治疗重症肺炎的临床观察 [J]. *实用药物与临床*, 2010, 13(5): 381-383.
 - [5] 孟炜. 乌司他丁对多器官的保护作用 [J]. *医学综述*, 2012, 18(22): 3833-3836.
 - [6] 刘淑红, 崔朝勃, 王晶, 等. 乌司他丁治疗重症肺炎的临床研究 [J]. *中国急救医学*, 2010, 30(6): 508-511.
 - [7] Bao P, Gao W, Li S, et al. Effect of pretreatment with high-dose ulinastatin in preventing radiation-induced pulmonary injury in rats [J]. *Eur J Pharmacol*, 2009, 603(1/3): 114-119.
 - [8] 龚华, 刘志宏, 祝捷, 等. 乌司他丁对肾移植患者围手术期外周血 T 细胞亚群 CD95 表达以及血浆 sica-1、IL-8 水平的影响 [J]. *临床和实验医学杂志*, 2011, 10(9): 647-649.
 - [9] Bowen H, Kelly A, Lee T, et al. Control of cytokine gene transcription in Th1 and Th2 cells [J]. *Clin Exp Allergy*, 2008, 38(9): 1422-1431.
 - [10] Takano H, Inoue K, Shimada A, et al. Urinary trypsin inhibitor protects against liver injury and coagulation pathway dysregulation induced by lipopolysaccharide/D-galactosamine in mice [J]. *Lab Invest*, 2009, 89(7): 833-839.
 - [11] 李祖能, 黄定蒙. 围手术期应用乌司他丁对肝叶切除术患者血浆 TXB2/6-keto-PGF1 α 平衡和炎症细胞因子的影响 [J]. *中国药业*, 2010, 19(11): 9-11.
 - [12] 严六狮, 袁慧, 王伟, 等. 乌司他丁对腹腔镜直肠癌手术围术期炎症反应的影响 [J]. *临床麻醉学杂志*, 2012, 28(8): 756-758.
 - [13] 施荣, 熊旭东, 李淑芳, 等. 乌司他丁调控脓毒症大鼠 TNF- α 与 IL-6 及 IL-10 水平的研究 [J]. *抗感染药学*, 2009, 6(1): 16-19.
 - [14] 王琳, 樊丽华, 张一梅, 等. 胰十二指肠切除围手术期肠内免疫营养对机体免疫功能调节的影响与护理 [J]. *中华现代护理杂志*, 2009, 15(17): 1620-1623.
- (收稿日期: 2015-04-12 修回日期: 2015-07-15)