

. 论 著 .

颅脑损伤术后细胞免疫指标变化及脾多肽对其影响

满明昊 李立宏 杨彦龙 李 敏 郭少春

【摘要】目的 探讨颅脑损伤术后外周血免疫指标变化及免疫调节剂脾多肽对其影响。**方法** 2014年6月至2015年6月开展一项单中心、随机、对照、单盲的临床试验,纳入符合入组标准的颅脑损伤60例,随机分为脾多肽组(30例)和对照组(30例)。脾多肽组急诊行去骨瓣减压术26例,单纯脑室外引流术4例;对照组急诊行去骨瓣减压术25例,单纯脑室外引流术5例。脾多肽术后静脉滴注10 ml脾多肽(用250 ml 5%葡萄糖稀释),1次/d,连续7 d;对照组术后给予10 ml生理盐水(用250 ml 5%葡萄糖稀释)。主要观察指标为感染发生率,统计时段为患者在接受治疗至搬离监护室时间,超出28 d的以28 d为终点;次要观察指标为反应免疫状态的一系列指标,包括白细胞计数及分类、白细胞介素(IL)-2、IL-4、IL-6、IL-12、 γ -干扰素(IFN- γ)、儿茶酚胺(CA)浓度及全血CD14或mHLA-DR阳性细胞比例。**结果** 脾多肽组感染发生率(20.0%, 6/30)明显低于对照组(46.7%, 14/30; $P < 0.05$);而且,脾多肽组耐药菌株比例(33.3%, 2/6)明显低于对照组(57.1%, 8/14; $P < 0.05$)。脾多肽组监护室住院时间最长为24 d,对照组截止28 d仍有7例未转出监护室;但是Kaplan-Meier生存分析显示两组监护室住院时间无统计学差异($P > 0.05$)。脾多肽组28 d GOS评分[(2.6 \pm 0.5)分]与对照组[(2.9 \pm 0.5)分]无统计学差异($P > 0.05$)。治疗前,两组外周血免疫指标无统计学差异($P > 0.05$);治疗后1周,脾多肽组外周血单核细胞细胞数、CD14阳性细胞比例、IL-12水平均明显增高($P < 0.05$),而外周血IL-2水平明显降低($P < 0.05$)。**结论** 脾多肽可改善颅脑损伤术后被抑制的免疫功能,降低感染率,但并不影响患者总体预后。

【关键词】 颅脑损伤;手术;免疫抑制;脾多肽

【文章编号】 1009-153X(2016)06-0362-04 **【文献标志码】** A **【中国图书资料分类号】** R 651.1⁺5; R 651.1⁺1

Changes in peripheral cells immunity after operation and effect of spleen polypeptide on them in patients with traumatic brain injury

MAN Ming-hao, LI Li-hong, YANG Yan-yong, LI Min, GUO Shao-chun. Department of Neurosurgery, Tangdu Hospital, The fourth Military Medical University, Xi'an 710038, China

【Abstract】 Objective To study the changes in the peripheral cells immunity after the operation in the patients with traumatic brain injury (TBI) and observe the effect of immunomodulator, spleen polypeptide (SP) on them. **Methods** we performed a single-center, randomized, controlled, single-blind clinical trial from Jun 10, 2014 to July 1, 2015. Sixty eligible patients with TBI undergoing neurosurgery in neurosurgical intensive care unit (NICU) were randomly divided into the control group (n=30) in which the patients received an intravenous infusion of 250 ml 5% glucose solution per day for 7 days and SP treatment group (n=30) in which the patients received an intravenous infusion of 250 ml 5% glucose solution containing 10 ml SP per day for 7 days. The immunological indexes in the peripheral venous blood were determined before the treatment and 7 days after the treatment and the infectious rates were observed in both the groups. **Results** The infectious rate (20.0%) was significantly lower in SP treatment group than that (46.7%) in the control group ($P < 0.05$). The levels of monocytes, CD14 and interleukin (IL) 12 expressions in the peripheral venous blood were significantly higher SP treatment group than those control group 7 days after the treatment ($P < 0.05$). The levels of norepinephrine (NA) and IL-2 expressions in the peripheral venous blood was significantly lower in SP treatment groups than in those in the in the control group ($P < 0.05$). However, there were insignificant differences in hospital stay in NICU and GOS 28 days after the treatment between both the groups ($P > 0.05$). **Conclusions** SP treatment can be helpful to improving the impaired immune function in the patients with TBI, in whom its effect on the prognosis is significant.

【Key words】 Traumatic brain injury; Nosocomial infections; Immune suppression; Spleen polypeptide

颅脑损伤术后感染是影响患者预后的重要因素

素。脾多肽为小牛脾脏组织提取物,为新型静脉输注免疫调节药物,具有促进T细胞活化、诱导干扰素、调节淋巴及单核细胞功能的作用。本实验目的在于观察颅脑损伤术后患者细胞免疫变化,及脾多肽干预对患者预后及免疫指标的影响,为颅脑损伤

doi:10.13798/j.issn.1009-153X.2016.06.014

作者单位:710038 西安,第四军医大学唐都医院神经外科(满明昊、李立宏、杨彦龙、李敏、郭少春)

术后并发症的治疗提供新思路。

1 资料与方法

1.1 一般资料 由我院神经外科重症监护室为中心,开展一项前瞻性、单中心、随机、对照、单盲临床试验,此实验方案经第四军医大学附属唐都医院伦理委员会批准,收集2014年6月至2015年6月急诊收入神经外科重症监护室的重型颅脑损伤60例,按入选标准及排除标准筛选后,由随机信封法分为脾多肽组和对照组。

1.2 入选标准 ①符合闭合性重型颅脑损伤诊断,伤后24 h内入院;②入院时GCS评分4~8分;③年龄20~65岁,性别不限;④心肝肾功能正常。

1.3 排除标准 ①开放性颅脑损伤脑脊液漏、病史不详的颅内自发出血、合并肿瘤等颅内基础疾病;②存在符合伤、血气胸、合并严重误吸及重度创伤性湿肺;③有慢性阻塞性肺病、糖尿病等慢性基础疾病;④有心肝肾并发症或肿瘤免疫缺陷;⑤有心绞痛、充血性

心衰、严重心率失常病史或过去6个月有心肌梗死;⑥入组前4周使用免疫调节药物;⑦有两种或以上食物或药物过敏史;⑧使用机械通气超过24 h。

1.4 随机化与设盲 为减少患者异质性对结果的影响,患者主治医师不参与患者随机及数据收集,由入选患者的临床医师进行随机化分组,填写临床试验登记表并签署知情同意书。本研究使用生理盐水作为安慰剂。患者不清楚被分配的治疗组别。数据分析员在设盲状态下进行数据分析。

1.5 基线数据 共有60例入组,脾多肽组和对照组各30例,见图1。两组基线资料均无统计学差异($P>0.05$),见表1。

1.6 治疗方法 脾多肽组急诊行去骨瓣减压术26例,单纯脑室外引流术4例。对照组急诊行去骨瓣减压术25例,单纯脑室外引流术5例。完成入选随机分组后4 h内开始治疗。脾多肽组,将10 ml脾多肽用5% 250 ml葡萄糖稀释,静脉滴注,1次/d,连续7 d。稀释后,脾多肽浓度为0.16 mg/ml。对照组,将10 ml生理盐水用5% 250 ml葡萄糖稀释,静脉滴注,1次/d,连续7 d。

主治医师按照现行国际指南指导患者整体治疗过程,包括基于指南推荐进行适当的经验性抗生素治疗、气道管理、机械通气、血糖控制、体液复苏及血流动力学支持、必要时给予镇静镇痛、给予充足营养。术前可经验性给予预防剂量抗生素,手术过程超过4 h可再次给予同剂量抗生素,术后无明显感染征象不应使用抗生素。患者浅昏迷至中度昏迷,急诊入院行气管插管。术后3~4 d尽早行气管切开术,每日行支气管镜下吸痰。不间断雾化,翻身拍背机械辅助排痰4 h/次。按需吸痰。

1.7 观察指标与数据收集 主要指标为感染发生率,统计时段为患者在接受治疗至搬离监护室时间,超出28 d的以28 d为终点。次要指标为反应免疫状态的一系列指标,参考Wu等^[1]报道,我们筛选部分特异性高指标作为参考,包括治疗前及治疗后7 d外周血白细胞介素(interleukininter, IL)-2、IL-4、IL-6、IL-12、 γ -干扰素(interferon- γ , IFN- γ)、儿茶酚胺(catecholamine, CA)浓度,及全血CD14/mHLA-DR检测。所有检测数据均由第四军医大学附属唐都医院血液科实验室完成。细胞因子由双抗夹心ELISA检测(上海泛柯生物)获得数据为样本浓度稀释五倍的结果。CD14/mHLA-DR为100 000细胞相对计数由流式细胞仪检测(美国BD公司)。患者入选实验被随机分组后,即开始收集数据,包括患者一般统计

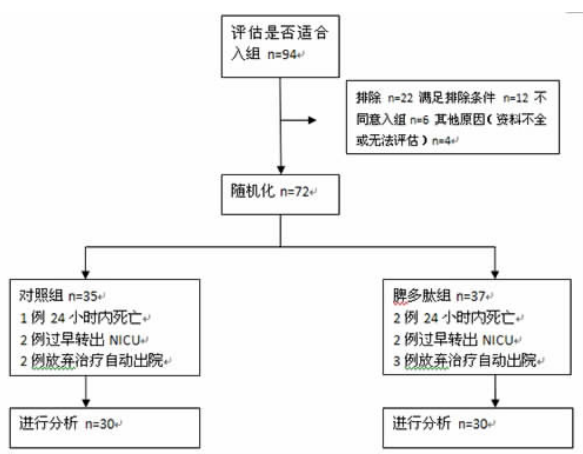


图1 本研究纳入患者流程图

表1 两组患者基线资料

| 基线资料 | 对照组 | 脾多肽组 |
|---------------|----------|-----------|
| 年龄(岁) | 49.9±9.7 | 49.2±10.9 |
| 45~55岁(例) | 11 | 11 |
| 55~65岁(例) | 10 | 9 |
| <45或>65岁(例) | 9 | 10 |
| 性别(例,男/女) | 19/11 | 18/12 |
| 入院GCS评分(分) | 6.4±1.4 | 5.6±1.3 |
| APACHE评分(分) | 13.7±3.3 | 15.1±3.4 |
| 存在误吸及创伤性湿肺(例) | 13 | 17 |
| 急诊建立气道(例) | 14 | 16 |
| 行去骨瓣减压术(例) | 25 | 26 |
| 单纯脑室外引流(例) | 5 | 4 |

学特征、基础血液及生化检查结果,入院GCS评分。

1.8 统计学分析 使用SPSS 19.0进行分析,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用t检验,计数资料用 χ^2 ,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 主要结局 脾多肽组发生感染6例,其中颅内感染1例,肺部感染4例,泌尿系感染1例;革兰氏阳性菌4例,革兰氏阴性菌2例;敏感菌株4例,耐药菌株2例。对照组发生感染14例,其中颅内感染3例,肺部感染9例,泌尿系感染2例;革兰氏阳性菌8例,革兰氏阴性菌4例;真菌1例,敏感菌株5例,耐药菌株8例。脾多肽组感染发生率(20.0%,6/30)明显低于对照组(46.7%,14/30; $P<0.05$);而且,脾多肽组耐药菌株比例(33.3%,2/6)明显低于对照组(57.1%,8/14; $P<0.05$)。脾多肽组最长监护室住院时间为24 d,对照组截止28 d仍有7例未转出监护室;但是Kaplan-Meier生存分析显示两组监护室住院时间无统计学差异($P>0.05$),见图2。脾多肽组28 d GOS评分[(2.6±0.5)分]与对照组[(2.9±0.5)分]无统计学差异($P>0.05$)。

2.2 次要结局 脾多肽干预前,两组m-HLA DR、白细胞、中性粒细胞百分比、淋巴细胞计数没有统计学差异($P>0.05$),但两组单核细胞计数有显著差异($P<0.05$)。两组活化单核细胞存在统计学差异($P<0.05$)。脾多肽组CA浓度较对照组明显降低($P<0.05$),脾多肽组IL-12表达水平明显高于对照组($P<0.05$),IL-2明显低于对照组($P<0.05$)。见表2。

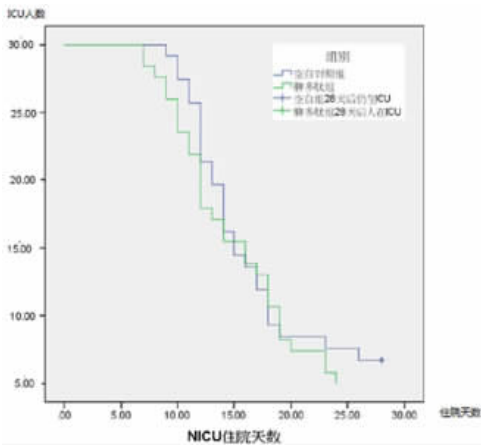


图2 两组监护室住院时间Kaplan-Meier生存分析比较 脾多肽组最长监护室住院时间为24 d,对照组截止28 d仍有7例未转出监护室;Kaplan-Meier生存分析两组监护室住院时间无统计学差异, $P>0.05$

表2 脾多肽对颅脑损伤术后外周血免疫指标的影响($\bar{x}\pm s$)

| 组别 | 检测时间 | 血常规指标 | | | | 炎症因子水平(ng/L) | | | | | | |
|------|--------|------------------------|------------|-------------------------|-------------------------|---------------|-------------|---------------|------------|----------|------------|----------|
| | | 白细胞计数($\times 10^9$) | 中性粒细胞比例(%) | 淋巴细胞计数($\times 10^9$) | 单核细胞计数($\times 10^9$) | CD14阳性细胞比例(%) | CA | INF- γ | IL-4 | IL-12 | IL-6 | IL-2 |
| 脾多肽组 | 治疗前 | 17.0±6.1 | 87.2±5.1 | 0.9±0.6 | 0.5±0.4 | 86.7±5.4 | 106.5±35.3 | 91.1±22.5 | 97.4±32.2 | 3.1±4.2 | 116.1±50.5 | 1.7±0.6 |
| | 治疗后7 d | 11.4±6.1 | 84.8±3.5 | 1.3±0.4 | 0.8±0.4* | 99.7±3.7* | 115.5±41.3* | 98.4±21.1 | 87.9±34.0 | 4.2±1.1* | 149.0±40.6 | 1.2±0.6* |
| 对照组 | 治疗前 | 14.6±5.1 | 87.1±6.0 | 0.8±0.5 | 0.4±0.2 | 86.4±8.9 | 111.7±30.1 | 98.3±17.5 | 103.8±29.8 | 5.7±4.1 | 136.7±42.2 | 1.7±0.6 |
| | 治疗后7 d | 15.6±5.2 | 85.2±6.2 | 0.7±0.3 | 0.7±0.2 | 89.5±7.6 | 137.8±49.3 | 97.3±28.1 | 83.0±31.1 | 3.3±1.5 | 169.2±40.6 | 2.7±1.1 |

注:与对照组相应值比,* $P<0.05$;INF- γ : γ -干扰素;CA:儿茶酚胺;IL:白细胞介素

3 讨论

本研究发现,颅脑损伤术后外周血各项炎症因子并不呈统一的下降趋势。由T细胞及NK细胞分泌并促进T细胞分化的IL-12在对照组中呈下降趋势,但在脾多肽组反而升高;而IL-2广泛作用于各种免疫细胞,可以促进T细胞生长、诱导细胞毒性作用、促B细胞繁殖及增强抗原提呈能力,在脾多肽组却表现为下降趋势;并且在其他促炎因子IL-4、IL-6、由Th1产生的INF- γ 的表达与对照组相比并没有统计学差异。从流式细胞分析结果中可以看出,颅脑损伤术后1周淋巴细胞及单核细胞呈轻度下降趋势,而施加脾多肽干预后,活化的单核细胞明显上升,这点与脾多肽在肿瘤、肝炎及其他免疫调节的相关研究结果一致,脾多肽可以改变术后呈下降趋势的免疫状态^[8]。活化的单核细胞作为吞噬细胞及抗原提呈细胞保护重型颅脑损伤昏迷患者免于微生物攻击。这一点从感染发生率及住院时间也可以佐证。脾多肽的运用稳定自身免疫系统,减少感染发生,减少监护室住院时间。虽然没有明显改善患者短期预后,但从疾病总体治疗过程及医学经济学角度上对患者有益。

颅脑损伤术后以感染为主的并发症是影响患者病死率、住院时间及总体预后的重要因素^[2]。重型颅脑损伤病人长期昏迷、人工气道生理屏障破坏、镇静药物、浅反射丧失等因素使肺部感染最常见的院内感染类型。随着细菌耐药性增强,这类病人往往培养出多耐药甚至泛耐药菌株,而患者自身免疫水平反应较差呈免疫抑制的状态。Mrakovcic-Sutic等^[3]发现颅脑损伤后细胞毒性T细胞及NK细胞的减少可能与颅脑损伤术后易感性有关。也学者观察到颅脑损伤患者粒细胞吞噬能力及酶活性降低,而有学者在小鼠脑损伤模型中发现,颅脑损伤造模后小鼠出现骨髓抑制使红细胞及血小板减少,胸腺萎缩及胸腺双峰细胞数量减少,脾脏巨噬细胞损耗,及单核细胞计数减少、抗炎M2型单核细胞极化^[4]。Meisel等^[5]将这类免疫状态的改变归类为颅脑损伤诱发性免疫抑制综合征。颅脑损伤术后免疫抑制的机制尚不明确。有学者在小鼠创伤模型中发现内源性糖皮质激素和CA可以促进髓源性抑制细胞的扩增和积累^[6]。这可能是创伤后淋巴细胞下降的一个原因。虽然其具体的分子机制尚不明确,目前的主流假说也有待证明,但在对症治疗方面我们可以借鉴免疫调节剂在脓毒症治疗中的成功经验^[1,7,8]。

炎症反应本身为机体对外界刺激的应答反应,其目的在于清除坏死组织并修复受损组织。虽然我们拥有许多先进的手段去检测各种生物标记物,但检测单个甚至数个生物标记物只是盲人摸象,并不能完整的理清复杂的炎症偶联反应。近年来,我们越来越认识到,重型颅脑损伤病人管理的重点并不是单纯的手术救治,而是合适的手术时机、正确的手术方式,及围手术期的管理,其中围手术期的管理尤为重要。有学者提出尽快地从应激状态恢复致生理状态对患者更有益。这提示纠正免疫失衡,尽早恢复免疫系统稳态可能是今后努力的方向。

总之,脾多肽作为免疫调节剂可用于重型颅脑损伤的治疗;但治疗的有效性、治疗应该选择的时间窗、剂量以及潜在的风险仍需要大规模多中心的研究来证实。

【参考文献】

- [1] Wu J, Zhou L, Liu J, *et al*. The efficacy of thymosin alpha 1 for severe sepsis (ETASS): a multicenter, single-blind, randomized and controlled trial [J]. *Crit Care*, 2013, 17(1): R8.
- [2] Hazeldine J, Lord JM, Belli A. Traumatic brain injury and peripheral immune suppression: primer and prospectus [J]. *Front Neurol*, 2015, 6: 235.
- [3] Mrakovcic-Sutic I, Tokmadzic VS, Laskarin G, *et al*. Early changes in frequency of peripheral blood lymphocyte subpopulations in severe traumatic brain-injured patients [J]. *Scand J Immunol*, 2010, 72(1): 57-65.
- [4] Schwulst SJ, Trahanas DM, Saber R, *et al*. Traumatic brain injury-induced alterations in peripheral immunity [J]. *Traum Acute Care Surg*, 2013, 75(5): 780-788.
- [5] Meisel C, Schwab JM, Prass K, *et al*. Central nervous system injury-induced immune deficiency syndrome [J]. *Nat Rev Neurosci*, 2005, 6(10): 775-786.
- [6] Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system [J]? *Nat Rev Immunol*, 2009, 9(3): 162-174.
- [7] 武春涛,刘亮,徐永峰,等.脾多肽对胰腺癌根治术后化疗患者细胞免疫功能的影响[J]. *中国癌症杂志*, 2014, 906-913.
- [8] 谢小卫,李卫玲,赵金,等.脾多肽联合放疗治疗中晚期食管癌近期疗效观察及其对免疫功能影响[J]. *中国癌症杂志*, 2014, 326-328.

(2016-01-04收稿,2016-03-14修回)