

脓毒症时髓源性抑制细胞亚群及其比值的变化

王慧 赵擎宇 黄朝峰 赵梅 徐小谢

510060 广东广州,中山大学肿瘤防治中心感染管理科(王慧、赵擎宇),重症医学科(王慧、赵擎宇);510080 广东广州,中山大学中山医学院(黄朝峰、赵梅、徐小谢)

通讯作者:赵擎宇, Email: zhaoqy@sysucc.org.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.02.012

【摘要】目的 分析髓源性抑制细胞(MDSC)亚群及其比值在脓毒症小鼠体内的动态变化,初步探讨其在脓毒症发展中的作用。**方法** 将180只雄性C57BL/6小鼠按随机数字表法分为脓毒症模型组和假手术(Sham)组,采用盲肠结扎穿孔术(CLP)建立小鼠脓毒症模型;Sham组只开腹、关腹,不进行结扎和穿刺。两组先各取30只小鼠,观察术后存活情况,并计算20d存活率。两组再各另取60只小鼠,分别于术后0、3、7、12、20d取12只小鼠,采用流式细胞仪检测外周血、脾脏和骨髓中MDSC亚群的比例;于术后7d取小鼠脾脏,测定脾脏质量,并制备成单细胞悬液,进行脾细胞计数;取脾脏和肝脏组织进行苏木素-伊红(HE)染色,镜下观察病理形态学改变。**结果** ① Sham组小鼠术后20d内无死亡,模型组小鼠术后20d死亡10只,两组小鼠20d存活率比较差异有统计学意义(100.0%比66.7%, $\chi^2=11.861$, $P=0.001$)。② 模型组小鼠术后7d脾脏明显增大,脾脏质量明显大于Sham组($\text{mg}: 413.33 \pm 41.63$ 比 111.67 ± 17.56 , $t=11.564$, $P=0.000$),且脾细胞计数明显高于Sham组($\times 10^9/\text{L}: 21.20 \pm 2.43$ 比 1.87 ± 0.06 , $t=13.578$, $P=0.005$)。③ HE染色显示:Sham组小鼠肝脏和脾脏组织基本正常。而模型组术后7d小鼠肝组织结构紊乱,毛细血管充血,中性粒细胞渗出,肝细胞水肿明显,部分肝细胞发生灶性坏死,呈急性炎性改变;脾组织红髓和白髓结构紊乱,脾窦显著扩张充血,被膜增厚,被膜下及血管周围组织可见局灶性呈环状核的非成熟髓系细胞增殖,脾索及脾窦内见大量造血细胞灶状聚集。④ Sham组术后各时间点外周血、脾脏和骨髓中巨噬细胞型MDSC(M-MDSC)和粒细胞型MDSC(G-MDSC)的比例及其比值均无明显变化。模型组随时间延长,外周血、脾脏和骨髓中M-MDSC逐渐升高,于术后20d稍有下降;G-MDSC持续升高;而M-MDSC/G-MDSC比值则呈先升后降的趋势。术后3d起外周血M-MDSC/G-MDSC比值均 >1 ,且于12d达峰值(与0d比较: 4.16 ± 0.53 比 0.79 ± 0.11 , $P<0.05$);术后各时间点脾脏和骨髓M-MDSC/G-MDSC比值均 <1 ,且于7d达峰值(与0d比较:脾脏为 0.70 ± 0.06 比 0.25 ± 0.02 , 骨髓为 0.39 ± 0.06 比 0.11 ± 0.01 , 均 $P<0.05$),之后均逐渐下降。**结论** 随着脓毒症病程的延长,MDSC两个亚群在外周血、脾脏和骨髓中均不断聚集,而M-MDSC/G-MDSC比值则呈先升后降的趋势,可能反映脓毒症不同阶段的免疫状态。

【关键词】 脓毒症; 髓源性抑制细胞; 巨噬细胞亚型; 粒细胞亚型

基金项目: 卫生部医药卫生科技发展研究项目(WH2011-01-02)

Variation of subsets of myeloid derived suppressor cells and their ratio in septic mice Wang Hui, Zhao Qingyu, Huang Zhao Feng, Zhao Mei, Xu Xiaoxie

Department of Infection Control, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, Guangdong, China (Wang H, Zhao QY); Department of Critical Care Medicine, Sun Yat-sen University Cancer Center, Guangzhou 510060, Guangdong, China (Wang H, Zhao QY); Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, Guangdong, China (Huang ZF, Zhao M, Xu XX)

Corresponding author: Zhao Qingyu, Email: zhaoqy@sysucc.org.cn

【Abstract】Objective To investigate the dynamic variation of subsets of myeloid derived suppressor cells (MDSC) and their ratio in septic mice, and to discuss their role in the development of sepsis. **Methods** Male C57BL/6 mice were randomly divided into sepsis model group and sham group according to random number table. Polymicrobial sepsis was induced by using cecal ligation and puncture (CLP), while mice in sham group only underwent laparotomy and laparorrhaphy without CLP. Thirty mice in each group were used to observe living condition, and the 20-day survival rate was compared between the two groups. In addition, subsets of MDSC in peripheral blood, spleen and bone marrow were analyzed with flow cytometry for other 60 mice (12 mice at each time point, as 0, 3, 7, 12 and 20 days). Splens were harvested at 7 days for weighing, and single cell suspension of spleen tissue was prepared for splenocyte counting. Histopathologic changes in spleen tissue and liver tissue were observed under light microscope after hematoxylin and

eosin (HE) stain. **Results** ① No mice died in sham group within 20 days after the operation. On the other hand, 10 mice in model group died within 20 days, and the difference in survival rate between the two groups was statistically significant (100.0% vs. 66.7%, $\chi^2 = 11.861$, $P = 0.001$). ② The spleens in model group showed obvious enlargement and significantly outweighed as compared with those in sham group (mg: 413.33 ± 41.63 vs. 111.67 ± 17.56 , $t = 11.564$, $P = 0.000$), and the total count of splenocytes was significantly higher than that in sham group ($\times 10^9/L$: 21.20 ± 2.43 vs. 1.87 ± 0.06 , $t = 13.578$, $P = 0.005$). ③ Pathological sections with HE staining showed that the liver tissue and spleen tissue remained normal in sham group. In model group, the hepatic tissue showed acute inflammatory reaction, including tissue disruption, capillary congestion, infiltration of neutrophils, marked edema of hepatocytes and focal hepatocellular necrosis. Abnormalities were also found in the spleen tissue: the red pulp and white pulp were disordered, splenic sinus was congested with numerous red cells, the splenic capsule thickened, immature myeloid cells with circular nuclei proliferated in the subcapsular region and perivascular region, splenic cord and splenic sinus were infiltrated with a large number of hematopoietic cells. ④ No significant changes in the monocytic MDSC (M-MDSC) and granulocytic MDSC (G-MDSC), and their ratio were found in peripheral blood, spleen and bone marrow at every time point in sham group. On the other hand, in model group, the ratio of M-MDSC and G-MDSC was continuously increased in peripheral blood, spleen and bone marrow, and M-MDSC only slightly decreased at 20 days. On the other hand, the ratio of M-MDSC/G-MDSC rose at first followed by a decrease. The ratio of M-MDSC/G-MDSC in peripheral blood was higher than 1 from 3 days after the operation, reaching the peak at 12 days (compared with 0 day: 4.16 ± 0.53 vs. 0.79 ± 0.11 , $P < 0.05$), while the ratio of M-MDSC/G-MDSC in spleen and bone marrow after CLP were lower than 1 at all time points, reaching the peak on 7 days after the operation (compared with 0 day: 0.70 ± 0.06 vs. 0.25 ± 0.02 in spleen, 0.39 ± 0.06 vs. 0.11 ± 0.01 in bone marrow, both $P < 0.05$), and then gradually decreased afterwards. **Conclusion** Subgroups of MDSCs were continuously aggregated in the peripheral blood, spleen and bone marrow, and their ratio rose first and decreased afterwards along with the development of sepsis, and the changes may reflect the change of immune status at different stages of sepsis.

【Key words】 Sepsis; Myeloid-derived suppressor cell; Monocytic subsets; Granulocytic subsets

Fund program: Medical and Health Technology Development Research Program of the Ministry of Health (WH2011-01-02)

脓毒症是由感染引起的全身炎症反应综合征 (SIRS), 其发生发展与免疫功能紊乱密切相关, 宿主的免疫功能状态在很大程度上决定着炎症反应的结局^[1]。脓毒症早期机体免疫系统被过度激活, 引起“细胞因子风暴”, 以促炎反应为主; 而晚期则出现淋巴细胞凋亡, 以抗炎反应和免疫抑制为主^[2-3]。髓源性抑制细胞 (MDSC) 是一类具有免疫抑制功能的细胞群体, 最早见于肿瘤免疫研究^[4]。MDSC 在小鼠体内表达髓系分化抗原 Gr-1 和 CD11b, 其中 Gr-1 有 Ly6G 和 Ly6C 两个抗原表位, 分别是巨噬细胞和粒细胞抗原标志物, 而 CD11b 是巨噬细胞的抗原标志物。根据细胞表面 Ly6C 和 Ly6G 表达情况及核形状, 可将 MDSC 分为 CD11b 阳性 Ly6G 阴性 Ly6C 高表达的 CD11b⁺Ly6G⁻Ly6C^{high} 单核细胞型 (M-MDSC), 以及 CD11b 阳性 Ly6G 阳性 Ly6C 低中度表达的 CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C^{int} 粒细胞型 (G-MDSC), 二者在形态和功能上存在较大差异^[5-7]。研究发现, 在脓毒症早期和晚期分离得到的 MDSC 具有不同的功能, 对脓毒症的进展和预后也产生不同的影响^[8-9]。然而这些研究均采用 MDSC 作为混杂的细

胞群体来进行分析, 而未考虑到 MDSC 亚群之间的差异。本研究通过盲肠结扎穿孔术 (CLP) 建立小鼠脓毒症模型, 采用流式细胞仪分析 MDSC 亚群及其比值在脓毒症发展中的动态变化, 探讨 MDSC 对脓毒症预后的影响, 为脓毒症免疫调节机制的研究拓展新思路。

1 材料与方法

1.1 实验动物分组及模型制备: 11~12 周龄雄性 SPF 级 C57BL/6 小鼠, 体质量 (26.0 ± 1.9)g, 由中山大学实验动物中心提供, 动物合格证号: SCXK (粤) 2010-0102。按随机数字表法将 180 只小鼠分为假手术 (Sham) 组和脓毒症模型组, 每组 90 只, 其中两组各 30 只用于生存情况观察, 另外各 60 只按术后 0、3、7、12、20 d 又分为 5 个亚组, 每个亚组 12 只。采用 CLP 法制备脓毒症模型; Sham 组只开腹、关腹, 不进行结扎和穿刺。

1.2 伦理学: 本实验动物处置方法符合动物伦理学标准。

1.3 生存情况观察: 两组分别取 30 只小鼠观察术后 20 d 生存情况, 并绘制生存曲线。

1.4 组织病理形态学观察及 MDSC 亚群分析

1.4.1 脾脏大体观察及细胞计数: 术后 7 d 取脾脏, 观察脾脏形态变化并测定脾脏质量; 取部分脾组织制备单细胞悬液, 用磷酸盐缓冲液 (PBS) 定容至 50 mL 后进行细胞计数。

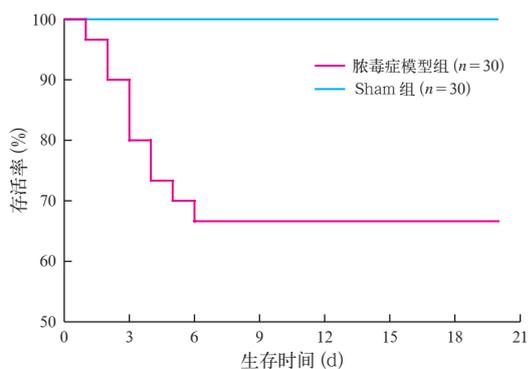
1.4.2 病理学观察: 术后 7 d 取部分肝脏和脾脏组织, 4% 多聚甲醛固定 24 h, 进行常规石蜡切片及苏木素 - 伊红 (HE) 染色, 光镜下观察病理学改变。

1.4.3 MDSC 亚群分析: 分别于术后各时间点取小鼠外周血、骨髓和部分脾组织, 分别采用抗小鼠藻青蛋白 (APC) 标记 CD11b⁺、藻红蛋白 (PE) 标记 Ly6G⁺、异硫氰酸荧光素 (FITC) 标记 Ly6C⁺ 的直接法染色, 应用流式细胞仪获取细胞, Flowjo 7.6 软件处理数据, 分析 CD11b⁺Ly6G⁻Ly6C^{high} (M-MDSC) 及 CD11b⁺Ly6G⁺Ly6C^{int} (G-MDSC) 在外周血、脾脏和骨髓中的比例, 并计算 M-MDSC/G-MDSC 比值。

1.5 统计学分析: 所有数据以均数 ± 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用 SPSS 13.0 软件分析, 两组间比较采用 *t* 检验, 多组间比较采用单因素方差分析, 方差齐用 LSD 方法进行多重比较, 方差不齐用 Dunnett T3 方法进行多重比较; *P* < 0.05 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 小鼠存活率变化 (图 1): Sham 组小鼠均存活; 而模型组小鼠术后 3~4 d 为死亡高峰期, 7 d 时病死率为 33.3%, 之后无死亡; 两组存活率比较差异有统计学意义 ($\chi^2 = 11.861, P = 0.001$)。



注: Sham 为假手术; 两组存活率比较, $\chi^2 = 11.861, P = 0.001$

图 1 两组小鼠术后 20 d 生存曲线

2.2 脾脏大体观察及细胞计数 (表 1): 术后 7 d Sham 组小鼠脾脏无明显变化; 模型组小鼠脾脏明显增大, 脾脏质量和细胞计数均明显高于 Sham 组 (均 *P* < 0.01)。说明 CLP 后小鼠继发脾肿大, 可能与脓毒症致脾组织非成熟髓系细胞增殖和脾髓外造血相关。

表 1 两组小鼠术后 7 d 脾脏质量和细胞数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	动物数 (只)	脾脏质量 (mg)	脾脏细胞数 ($\times 10^9/L$)
Sham 组	12	111.67 ± 17.56	1.87 ± 0.06
脓毒症模型组	12	413.33 ± 41.63	21.20 ± 2.43
<i>t</i> 值		11.564	13.578
<i>P</i> 值		0.000	0.005

注: Sham 为假手术

2.3 病理学观察

2.3.1 肝脏: HE 染色显示, Sham 组小鼠肝组织结构正常 (图 2A); 模型组肝组织结构失去正常, 细胞浑浊肿胀、空泡变性、核深染, 局部肝细胞坏死, 汇管区有炎性细胞浸润 (图 2B)。

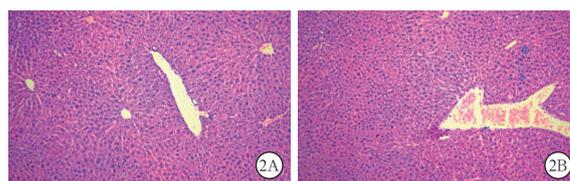


图 2 光镜下观察两组小鼠术后 7 d 肝组织病理学变化 假手术 (Sham) 组 (A) 肝组织结构大致正常; 脓毒症模型组 (B) 肝组织结构紊乱, 毛细血管充血, 中性粒细胞渗出, 肝细胞水肿明显, 部分肝细胞发生灶性坏死 HE 染色 低倍放大

2.3.2 脾脏: HE 染色显示, Sham 组小鼠脾组织无异常改变 (图 3A~3B); 模型组小鼠脾组织红髓和白髓结构紊乱, 脾窦显著扩张充血, 被膜增厚, 被膜下组织及血管周围组织可见局灶性呈环状核的非成熟髓系细胞增殖, 脾索及脾窦内见大量造血细胞灶状聚集 (图 3C~3D)。

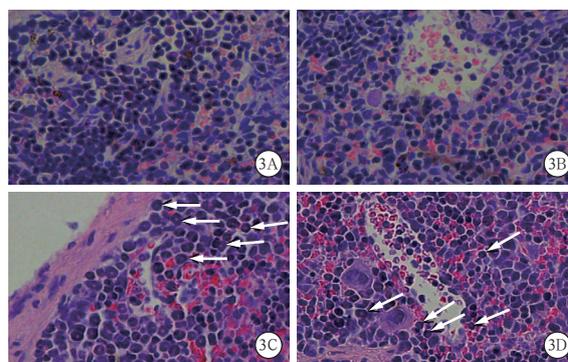
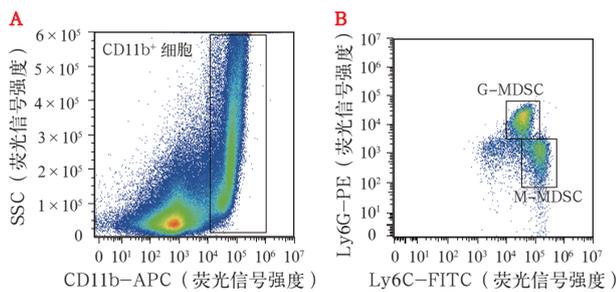


图 3 光镜下观察两组小鼠术后 7 d 脾脏被膜下组织及血管周围组织病理学变化 假手术 (Sham) 组脾脏被膜下组织 (A) 和血管周围组织 (B) 均未见明显异常; 脓毒症模型组被膜下组织 (C) 及血管周围组织 (D) 可见局灶性呈环状核的非成熟髓系细胞增殖, 脾红髓内大量造血细胞浸润。箭头所示为环状核细胞 HE 染色 高倍放大

2.4 MDSC 亚群的动态变化(图 4; 表 3):Sham 组外周血 M-MDSC 在 0.58 左右, G-MDSC 在 0.72 左右, M-MDSC/G-MDSC 在 0.81 左右; 脾脏 M-MDSC 在 0.62 左右, G-MDSC 在 1.81 左右, M-MDSC/G-MDSC 在 0.25 左右; 骨髓 M-MDSC 在 7.20 左右, G-MDSC 在 39.21 左右, M-MDSC/G-MDSC 在 0.12 左右; 各时间点间差异无统计学意义(均 $P > 0.05$)。模型组除术后 3 d 骨髓中 G-MDSC 低于 0 d 外, 外周血、脾脏和骨髓中 G-MDSC 均随术后时间延长持续升高; 而 M-MDSC 于术后 3 d 起显著升高, 在脓毒症晚期(术后 20 d)有所下降; M-MDSC/G-MDSC 则呈先升高后降低趋势。在外周血中, M-MDSC/G-MDSC 于术后 3 d 起均 > 1 , 12 d 时达峰值, 之后开始下降; 在脾脏和骨髓中, 术后各时间点 M-MDSC/G-MDSC 均 < 1 , 且均于 7 d 达峰值, 之后开始下降。各时间点 MDSC 亚群比例及其比值均明显高于 0 d, 差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。



注: A 为外周血单个核细胞的 CD11b-SSC 散点图, 方框中为 CD11b⁺ 细胞群; B 为 CD11b⁺ 细胞群的 Ly6G-Ly6G 散点图, 方框中分别为巨噬细胞型 MDSC (M-MDSC) 和粒细胞型 MDSC (G-MDSC); SSC 为侧向角散射光, APC 为藻青蛋白, PE 为藻红蛋白, FITC 为异硫氰酸荧光素

图 4 脓毒症模型小鼠术后 7 d 外周骨髓源性抑制细胞 (MDSC) 的流式图

3 讨论

CLP 为动物实验脓毒症模型的“金标准”^[10], CLP 法可以通过改变穿刺孔的数目和盲肠结扎长度来制作不同严重程度的脓毒症模型^[11]。本研究建立的模型用于模拟轻度脓毒症的发展过程。

脓毒症发生后, 机体促炎和抗炎反应启动并逐渐进展, 其相互关系由病原菌毒性、细菌负荷、宿主遗传因素等多种因素决定^[12]。Cauvi 等^[13]的研究显示, 尽管脓毒症治疗后病情有所改善, 但不可忽视的是腹腔坏死肠管仍然存在, 体内炎症仍未消除, 错过最佳时机后, 即使切除坏死肠管也无法逆转脓毒症的病情。研究表明, 脓毒症致脾组织损伤后出现髓外造血及非成熟髓系细胞增殖, 包括 MDSC 增殖, 与脓毒症的免疫功能紊乱密切相关^[14]。在本研究中, 随着脓毒症病程的延长, 小鼠均出现明显的脾肿大, 脾组织结构紊乱。

MDSC 是来源于骨髓祖细胞和幼稚髓细胞的一群异质性细胞, 在肿瘤、创伤、自身免疫性疾病及炎症时均可观察到 MDSC 在体内大量扩增^[15-17]。本研究中也发现在脓毒症小鼠外周血、脾脏和骨髓中均有 M-MDSC 和 G-MDSC 的聚集。不管在来源、形态还是功能上, M-MDSC 和 G-MDSC 都存在较大区别^[5-7]。本研究发现, 随着感染时间的延长, 术后 3 d MDSC 各亚群即显著升高, 其中 G-MDSC 在外周血、脾脏和骨髓中均持续升高, 而 M-MDSC 在脓毒症晚期(术后 20 d)有所下降, M-MDSC/G-MDSC 比值呈先升后降的趋势。结合 M-MDSC 和 G-MDSC 的动态变化可以推测, 早期 M-MDSC 比 G-MDSC 升高迅速且幅度大, 而晚期则反之。尤其在外周血中, 虽然两个 MDSC 亚群均呈上升趋势, 但从晚期(术后 20 d)降低的比值可以推测, 在脓毒症晚期有

表 3 脓毒症模型小鼠术后各时间点外周血、脾脏、骨髓中 MDSC 亚群比例的变化 ($\bar{x} \pm s$)

术后 时间(d)	动物数 (只)	M-MDSC			G-MDSC			M-MDSC/G-MDSC 比值		
		外周血	脾脏	骨髓	外周血	脾脏	骨髓	外周血	脾脏	骨髓
0	12	0.54 ± 0.08	0.56 ± 0.17	4.21 ± 0.27	0.73 ± 0.08	1.78 ± 0.25	40.03 ± 1.14	0.79 ± 0.11	0.25 ± 0.02	0.11 ± 0.01
3	12	4.21 ± 0.70 ^a	1.60 ± 0.16 ^a	11.13 ± 1.59 ^a	2.61 ± 0.27 ^a	5.86 ± 0.32 ^a	39.88 ± 1.39 ^b	1.46 ± 0.15 ^b	0.27 ± 0.01	0.25 ± 0.02 ^b
7	12	16.15 ± 1.12 ^a	5.42 ± 0.72 ^a	21.68 ± 2.65 ^a	4.57 ± 0.94 ^a	8.22 ± 1.16 ^a	57.05 ± 5.58 ^b	3.71 ± 0.79 ^b	0.70 ± 0.06 ^b	0.39 ± 0.06 ^b
12	12	25.41 ± 1.19 ^a	9.00 ± 0.43 ^a	19.13 ± 1.00 ^a	5.83 ± 0.70 ^a	16.05 ± 0.49 ^a	56.90 ± 3.93 ^b	4.16 ± 0.53 ^b	0.57 ± 0.04	0.36 ± 0.02 ^b
20	12	27.62 ± 1.72 ^a	4.79 ± 0.53 ^a	14.92 ± 1.41 ^a	9.51 ± 1.60 ^a	16.90 ± 1.00 ^a	59.22 ± 1.72 ^a	3.07 ± 0.53 ^{bd}	0.27 ± 0.03 ^{bc}	0.24 ± 0.02 ^{bc}
F 值		484.273	217.310	230.835	55.535	313.618	22.044	34.917	128.906	52.870
P 值		0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000	0.000

注: MDSC 为髓源性抑制细胞, M-MDSC 和 G-MDSC 分别为巨噬细胞型和粒细胞型 MDSC; 与术后 0 d 比较, ^a $P < 0.01$, ^b $P < 0.05$; 与术后 7 d 比较, ^c $P < 0.01$; 与术后 12 d 比较, ^d $P < 0.01$

更多 G-MDSC 释放入血。研究发现, M-MDSC 有单核细胞样形态和较强的免疫抑制作用, 而 G-MDSC 具有粒细胞样形态, 免疫抑制作用较弱^[18-19]。可以推测, M-MDSC/G-MDSC 比值发生改变势必会影响到 MDSC 的整体功能。

MDSC 的功能状态与其环境密切相关, 可塑性很强^[20]。Brudecki 等^[9]研究发现, 脓毒症早期和晚期 MDSC 在炎症表型和功能上不同; Derive 等^[8]也发现, 脓毒症晚期 MDSC 主要通过调节局部炎症反应和细胞对细菌的吞噬能力来改善脓毒症的预后, 而早期的 MDSC 并未表现出明显的保护作用。这在一定程度上解释了本研究中脓毒症小鼠晚期存活率未再降低的现象。但是这些研究均停滞在混合细胞水平, 将 MDSC 作为混杂细胞群体来研究, 而未考虑到 MDSC 不同的功能状态可能是因为 MDSC 亚群比例的差异引起的。本研究发现, M-MDSC 和 G-MDSC 在外周血、脾脏和骨髓均显著上升, 但二者的比值却呈现先升后降的趋势, 可以推测早期 M-MDSC 升高幅度大于 G-MDSC, 而晚期则反之。由此可以推测, 脓毒症 MDSC 亚群比例的差异可能影响早期和晚期 MDSC 的整体功能, 进而可能对脓毒症的发展和预后产生影响。

目前各种抗炎措施在脓毒症治疗中并未取得明显效果, 其原因在于未能准确判断脓毒症患者的免疫状态。因此, 正确判断患者的免疫状态, 进而实施适宜的免疫调理显得尤为重要。众多研究发现, 脓毒症免疫状态和预后的评估可通过监测机体的炎性介质水平和免疫细胞功能等来实现^[21-22]。本研究发现, 脓毒症早期和晚期 MDSC 亚群比例的差异可能对判断机体免疫状态有一定帮助。但对于两个亚群的趋化因子、功能表型等差异尚未深入探讨, 其具体机制有待进一步研究。

综上所述, 随着脓毒症病程的延长, M-MDSC 和 G-MDSC 亚群在外周血、脾脏和骨髓中不断聚集, 且 M-MDSC/G-MDSC 比值呈先升后降的趋势。鉴于脓毒症不同阶段 MDSC 亚群比例及其比值存在差异, 利用流式细胞仪对静脉血 MDSC 及其亚群进行检测, 同时结合其他细胞免疫指标和临床资料, 可能了解脓毒症患者的免疫状态有一定参考价值。

参考文献

[1] 李成荣. 脓毒症免疫功能紊乱机制研究概况 [J]. 中国实用儿科杂志, 2011, 26 (12): 885-887.
Li CR. Research progress of immune dysfunction of sepsis [J]. Chin J Pract Pediatr, 2011, 26 (12): 885-887.

[2] 于冰浩, 崔乃强, 傅强, 等. 脓毒症患者促炎/抗炎反应和下丘脑-垂体-肾上腺轴变化与脓毒性休克预后的关系 [J]. 中华急诊医学杂志, 2003, 12 (7): 470-473. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2003.07.015.
Yu YH, Cui NQ, Fu Q, et al. The relationship of prognosis of septic shock with pro-/anti-inflammatory response and HPA axis profile in patients with severe sepsis [J]. Chin J Emerg Med, 2003, 12 (7): 470-473. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1671-0282.2003.07.015.

[3] 刘慧琳, 刘桂花, 田兆兴. 脓症患者血中淋巴细胞水平的变化 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (3): 148-152. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.005.
Liu HL, Liu GH, Tian ZX. Changes in blood lymphocytes in sepsis patients [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (3): 148-152. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.005.

[4] Gabrilovich DI, Nagaraj S. Myeloid-derived suppressor cells as regulators of the immune system [J]. Nat Rev Immunol, 2009, 9 (3): 162-174. DOI: 10.1038/nri2506.

[5] Peranzoni E, Zilio S, Marigo I, et al. Myeloid-derived suppressor cell heterogeneity and subset definition [J]. Curr Opin Immunol, 2010, 22 (2): 238-244. DOI: 10.1016/j.coi.2010.01.021.

[6] Zhu B, Bando Y, Xiao S, et al. CD11b⁺Ly-6C^{hi} suppressive monocytes in experimental autoimmune encephalomyelitis [J]. J Immunol, 2007, 179 (8): 5228-5237. DOI: 10.4049/jimmunol.179.8.5228.

[7] Morales JK, Kmiecik M, Knutson KL, et al. GM-CSF is one of the main breast tumor-derived soluble factors involved in the differentiation of CD11b-Gr1-bone marrow progenitor cells into myeloid-derived suppressor cells [J]. Breast Cancer Res Treat, 2010, 123 (1): 39-49. DOI: 10.1007/s10549-009-0622-8.

[8] Derive M, Bouazza Y, Alauzet C, et al. Myeloid-derived suppressor cells control microbial sepsis [J]. Intensive Care Med, 2012, 38 (6): 1040-1049. DOI: 10.1007/s00134-012-2574-4.

[9] Brudecki L, Ferguson DA, McCall CE, et al. Myeloid-derived suppressor cells evolve during sepsis and can enhance or attenuate the systemic inflammatory response [J]. Infect Immun, 2012, 80 (6): 2026-2034. DOI: 10.1128/IAI.00239-12.

[10] Rittirsch D, Huber-Lang MS, Flierl MA, et al. Immunodesign of experimental sepsis by cecal ligation and puncture [J]. Nat Protoc, 2009, 4 (1): 31-36. DOI: 10.1038/nprot.2008.214.

[11] Buras JA, Holzmann B, Sitkovsky M. Animal models of sepsis: setting the stage [J]. Nat Rev Drug Discov, 2005, 4 (10): 854-865. DOI: 10.1038/nrd1854.

[12] Dellinger RP, Levy MM, Rhodes A, et al. Surviving sepsis campaign: international guidelines for management of severe sepsis and septic shock: 2012 [J]. Crit Care Med, 2013, 41 (2): 580-637. DOI: 10.1097/CCM.0b013e31827e83af.

[13] Cauvi DM, Song D, Vazquez DE, et al. Period of irreversible therapeutic intervention during sepsis correlates with phase of innate immune dysfunction [J]. J Biol Chem, 2012, 287 (24): 19804-19815. DOI: 10.1074/jbc.M112.359562.

[14] Delano MJ, Scumpia PO, Weinstein JS, et al. MyD88-dependent expansion of an immature GR-1⁺CD11b⁺ population induces T cell suppression and Th2 polarization in sepsis [J]. J Exp Med, 2007, 204 (6): 1463-1474. DOI: 10.1084/jem.20062602.

[15] 徐晓琴, 赵素莲, 卫琴. 髓系抑制性细胞在小鼠肝癌免疫逃逸中的作用 [J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26 (6): 507-509, 513. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2010.06.006.
Xu XQ, Zhao SL, Wei Q. Immune escape mediated by myeloid-derived suppressor cells in hepatocarcinoma mice [J]. Chin J Immunol, 2010, 26 (6): 507-509, 513. DOI: 10.3969/j.issn.1000-484X.2010.06.006.

[16] 常雪皎, 张晶, 陈颖, 等. 自身免疫性胰腺炎与免疫抑制细胞的关系 [J]. 临床与实验病理学杂志, 2013, 29 (12): 1279-1282, 1287. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2013.12.009.

- Chang XJ, Zhang J, Chen Y, et al. Relationship between autoimmune pancreatitis and immune suppressor cells [J]. Chin J Clin Exp Pathol, 2013, 29 (12): 1279-1282, 1287. DOI: 10.13315/j.cnki.cjcep.2013.12.009.
- [17] Cuenca AG, Delano MJ, Kelly-Scumpia KM, et al. A paradoxical role for myeloid-derived suppressor cells in sepsis and trauma [J]. Mol Med, 2011, 17 (3-4): 281-292. DOI: 10.2119/molmed.2010.00178.
- [18] Dolcetti L, Peranzoni E, Ugel S, et al. Hierarchy of immunosuppressive strength among myeloid-derived suppressor cell subsets is determined by GM-CSF [J]. Eur J Immunol, 2010, 40 (1): 22-35. DOI: 10.1002/eji.200939903.
- [19] Movahedi K, Williams M, Van den Bossche J, et al. Identification of discrete tumor-induced myeloid-derived suppressor cell subpopulations with distinct T cell-suppressive activity [J]. Blood, 2008, 111 (8): 4233-4244. DOI: 10.1182/blood-2007-07-099226.
- [20] 胡晓光, 刘恩贺, 蔡常洁. 髓源性抑制细胞在脓毒症中的研究进展 [J]. 中华危重病急救医学, 2013, 25 (4): 251-253. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.04.021.
- [21] Hu XG, Liu EH, Cai CJ. Advances in the study of myeloid-derived suppressor cells in sepsis [J]. Chin Crit Care Med, 2013, 25 (4): 251-253. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2013.04.021.
- [22] Monneret G, Lepape A, Voirin N, et al. Persisting low monocyte human leukocyte antigen-DR expression predicts mortality in septic shock [J]. Intensive Care Med, 2006, 32 (8): 1175-1183. DOI: 10.1007/s00134-006-0204-8.
- [22] 陈炜, 赵磊, 牛素平, 等. 不同炎症因子对细菌性血流感染所致脓毒症患者的早期诊断价值 [J]. 中华危重病急救医学, 2014, 26 (3): 165-170. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.008.
- Chen W, Zhao L, Niu SP, et al. The diagnostic value of different pro-inflammatory factor in early diagnosis of sepsis in patients with bloodstream infection [J]. Chin Crit Care Med, 2014, 26 (3): 165-170. DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2014.03.008.

(收稿日期: 2015-12-28)

(本文编辑: 孙茜, 李银平)

• 科研新闻速递 •

对中度乳酸升高的脓症患者实施集束化治疗: 一项多中心研究

目前临床上对于存在中度乳酸升高 (≥ 2 mmol/L 且 < 4 mmol/L) 的脓毒症患者的治疗尚无统一规范。为此, 有学者进行了一项多中心临床研究, 评价采用集束化治疗方案 (包括固定时间间隔给予抗菌药物、重复测量乳酸水平和静脉液体复苏) 对急诊科血流动力学稳定且血乳酸处于中等水平的脓毒症患者的治疗效果。该研究以 2013 年 3 月为界, 比较实施集束化治疗方案前后患者对集束化治疗的依从性, 并采用多变量回归分析方法对相关结果进行评价; 同时该研究还对有心力衰竭和 (或) 慢性肾脏病史的患者进行了评价, 以排除存在医源性液体超负荷的风险。结果显示: 共纳入 18 122 例中等乳酸水平的脓症患者, 其中 36.1% 为集束化方案实施后 (2013 年 3 月以后) 的患者。集束化治疗方案实施前后患者对集束化治疗的依从性分别为 32.2% 和 44.9% ($P < 0.01$); 住院病死率 2011 年为 8.8%, 2012 年为 9.3%, 2013 年为 7.9% ($P = 0.02$)。集束化治疗方案实施后, 调整的住院病死率的比值比 (OR 值) 为 0.81 [95% 可信区间 (95% CI) = 0.66 ~ 0.99, $P = 0.04$], 且病死率下降多见于有心力衰竭和 (或) 慢性肾脏病史者 ($P < 0.01$), 其他患者的住院病死率并无差异 ($P > 0.40$)。研究者得出结论: 对中等乳酸升高的脓症患者, 采用多中心集束化治疗方案能改善患者对治疗的依从性, 降低患者住院病死率。这可能主要是由于该方案能改善心力衰竭和 (或) 慢性肾脏病史患者的液体管理水平, 从而降低病死率。

喻文, 罗红敏, 编译自《Am J Respir Crit Care Med》, 2015-12-22 (电子版)

肝素结合蛋白检测可提高急诊对严重脓毒症导致器官功能障碍的预测水平

目前, 早期识别感染和可能发展为器官功能障碍的高风险患者, 仍然是对临床医生的一个巨大挑战。近期有研究者进行了一项前瞻性国际多中心临床试验以评估和验证中性粒细胞源性介导血管渗漏的一种生物标志物——肝素结合蛋白 (HBP) 是否可以作为严重感染进展和循环衰竭的风险预测因子。该研究纳入 759 例来自瑞典、加拿大和美国 7 个不同急诊科、符合一项全身炎症反应综合征 (SIRS) 诊断标准 [白细胞计数 (WBC) 除外]、怀疑感染的患者。所有患者均在入急诊时和入急诊后 12 ~ 24 h 分别测定了血浆 HBP、血清降钙素原 (PCT)、C-反应蛋白 (CRP)、乳酸水平和 WBC 等指标。统计所有患者发生感染和器官功能障碍数; 采用一个独立急诊中心收集的 104 例患者的血浆样本来验证结果。结果显示, 有 674 例患者确诊为感染 (88.8%); 其中 487 例在入院时未发生器官功能障碍, 在这 487 例患者中, 141 例 (28.9%) 在入院后 72 h 内发生了器官功能障碍, 78% 的患者在发展器官功能障碍前 (中位数 10.5 h), 血浆 HBP 水平升高 (30 μ g/L)。与其他生物标志物相比, HBP 是最好的预测器官功能障碍进展的指标 [受试者工作特征 (ROC) 曲线下面积 (AUC) = 0.80]。在验证队列中, HBP 的性能得到了进一步验证。研究者由此得出结论: 在急诊科患者中, HBP 是脓毒症相关器官功能障碍的早期预测指标, 并可作为 72 h 内疾病进展至严重脓毒症的一个强大预测因子。

喻文, 罗红敏, 编译自《Crit Care Med》, 2015, 43 (11): 2378-2386