

麦滋林对重症急性胰腺炎患者细胞免疫功能的影响

夏国栋, 吕沐瀚, 刘翼, 邓明明

(泸州医学院第一附属医院消化内科, 四川 泸州 646000)

【摘要】 目的 观察麦滋林(L-谷氨酰胺呱仑酸钠)对重症急性胰腺炎(SAP)患者细胞免疫功能的影响。方法 采用前瞻性研究方法,将本院收治的80例SAP患者按随机数字表法分为试验组和对照组,每组40例;同时选取20例健康志愿者作为健康对照组。两组患者均给予等氮等热量的全肠外营养,试验组静脉滴注(静滴)麦滋林 $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (每日1次)共7d,对照组静滴等量生理盐水。于治疗前1d和治疗后7d取外周静脉血,用四甲基偶氮唑盐(MTT)比色法测定T淋巴细胞增殖活性,用酶联免疫吸附试验(ELISA)测定白细胞介素(IL-2、IL-6)分泌水平。结果 与健康对照组比较,两组治疗前外周血T淋巴细胞增殖活性[吸光度(A)值]、IL-2(ng/L)均显著降低,IL-6(ng/L)分泌量明显增加($P<0.05$ 或 $P<0.01$);治疗7d后,试验组SAP患者外周血T淋巴细胞增殖活性、IL-2均较本组治疗前显著增加(均 $P<0.05$),基本恢复至正常水平,而对照组则进行性下降(均 $P<0.05$);且试验组明显高于对照组(T淋巴细胞增殖活性: 1.08 ± 0.27 比 0.43 ± 0.25 , IL-2: 16.5 ± 1.4 比 9.4 ± 2.9 , 均 $P<0.05$)。两组IL-6均较治疗前显著降低(均 $P<0.05$),对照组基本恢复至健康对照组水平;且试验组明显低于对照组(18.8 ± 4.5 比 22.3 ± 3.1 , $P<0.05$)。结论 SAP患者存在细胞免疫功能障碍,表现为淋巴细胞增殖、IL-2降低、IL-6增高,早期应用麦滋林有助于改善SAP患者淋巴细胞免疫功能异常。

【关键词】 胰腺炎; L-谷氨酰胺呱仑酸钠; T淋巴细胞; 免疫功能

Effects of marzulene (L-glutamine and sodium gualenate) on the cellular immunity of patients with severe acute pancreatitis XIA Guo-dong, LÜ Mu-han, LIU Yi, DENG Ming-ming. Department of Gastroenterology, the First Affiliated Hospital of Luzhou Medical College, Luzhou 646000, Sichuan, China
Corresponding author: XIA Guo-dong, Email: 52721759@qq.com

【Abstract】 Objective To observe the effects of marzulene (L-glutamine and sodium gualenate) on cellular immune function in patients with severe acute pancreatitis (SAP). **Methods** A prospective study method was conducted in which 80 patients with SAP were divided into trial group and control group (each 40 cases) according to the table of random number methods, and in the mean time 20 healthy volunteers were enrolled in the healthy control group. Both SAP groups received standard total parenteral nutrition (TPN) with same quantities of heat and nitrogen, and the trial group additionally accepted intravenous drip of marzulene $0.4\text{ g}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ (once a day) for 7 days, while the control group received the same amount of normal saline intravenous drip for 7 days. One day before treatment and on the 7th day after treatment, the peripheral venous blood samples were collected. The T-lymphocyte proliferation activity was tested by methyl thiazolyl tetrazolium (MTT) assay, and the interleukin-2 (IL-2) and interleukin-6 (IL-6) secretion levels were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results** Compared to the healthy control group, the levels of T lymphocyte proliferation activity [absorbance (A) value] and IL-2 (ng/L) were markedly decreased and IL-6 (ng/L) secretion level was obviously increased before treatment in the two SAP groups ($P<0.05$ or $P<0.01$). Compared to prior treatment, the levels of T lymphocyte proliferation activity and IL-2 were significantly increased after 7 days of treatment in the trial group (both $P<0.05$), and basically restored to normal levels, while in the control group they were progressively decreased (both $P<0.05$), the levels in trial group being significantly higher than those of the control group (T lymphocyte proliferation activity: 1.08 ± 0.27 vs. 0.43 ± 0.25 , IL-2: 16.5 ± 1.4 vs. 9.4 ± 2.9 , both $P<0.05$), but compared to prior treatment, the level of IL-6 was significantly decreased in the two SAP groups (both $P<0.05$), the level of IL-6 in control group was recovered to the level of healthy control group, and the level in trial group being significantly lower than that of the control group (18.8 ± 4.5 vs. 22.3 ± 3.1 , $P<0.05$). **Conclusions** The patients with SAP have cellular immune dysfunction, the manifestations being the suppression of T lymphocyte proliferation and IL-2 and increase of IL-6 release. Early application of marzulene can help to improve the immune function of lymphocytes in patients with SAP.

【Key words】 Pancreatitis; Marzulene; T-lymphocyte; Immune function

重症急性胰腺炎(SAP)患者早期多器官功能衰竭(MOF)和晚期感染并发症是导致死亡的主要原因^[1], SAP继发胰腺和/或胰周感染,并发脓毒症

和MOF时病死率可达30%~50%,主要原因之一就是患者的细胞免疫功能受到影响。本研究以80例SAP患者为研究对象,采用麦滋林(L-谷氨酰胺呱仑酸钠)对SAP患者进行肠外营养(PN)治疗,旨在观察患者细胞免疫功能变化。

1 资料与方法

1.1 研究对象的选择及分组:采用前瞻性研究方法。选择 2009 年 4 月至 2010 年 10 月在本院住院治疗的 SAP 患者 80 例,诊断均符合中华医学会外科分会胰腺外科学组和中国中西医结合学会普通外科专业委员会关于 SAP 的临床诊断及分级标准^[2-3]。患者中男性 62 例,女性 18 例;年龄 24~70 岁,平均 45.7 岁。将患者按随机数字表法分为试验组和对照组,每组 40 例。两组患者性别、年龄、急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II) 评分比较差异均无统计学意义 (均 $P>0.05$; 表 1), 具有可比性。同期选取 20 例健康志愿者 (男女各 10 例) 作为健康对照组。

表 1 两组患者一般资料比较

组别	例数	性别 (例)		年龄 (岁, $\bar{x} \pm s$)	APACHE II 评分 (分, $\bar{x} \pm s$)
		男性	女性		
试验组	40	32	8	47.8 $\pm$ 18.6	13.1 $\pm$ 1.6
对照组	40	30	10	45.4 $\pm$ 12.5	12.7 $\pm$ 1.5

本研究符合医学伦理学标准,并得到医院伦理委员会批准,所有治疗和检测方法都取得患者或家属的知情同意。

1.2 治疗方法:所有患者除给予等氮等热量的全胃肠外营养 (TNP) 等常规治疗外,试验组静脉滴注 (静滴) 麦滋林 0.4 g $\cdot$ kg⁻¹ $\cdot$ d⁻¹, 每日 1 次,共 7 d; 对照组静滴等量生理盐水。

1.3 检测指标及方法

1.3.1 主要试剂和仪器:RPMI 1640 培养液及胎牛血清均购于美国 Gibco 公司,植物血凝素 (PHA)、四甲基偶氮唑盐 (MTT) 购于美国 Sigma 公司,白细胞介素 (IL-2、IL-6) 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 检测试剂盒购自北京中杉生物有限公司; MQX200 酶标仪为美国 Bio-TEK 公司产品。

1.3.2 外周血 T 淋巴细胞的分离:所有患者分别于治疗前 1 d 和治疗后 7 d 早晨采集外周血,健康志愿者于体检当日采集 1 次血标本,肝素抗凝,加入淋巴细胞分离液离心 20 min,分离单个核细胞,用含 10% 胎牛血清的 RPMI 1640 培养液调整细胞浓度为 2×10^5 /L,锥虫蓝染色检测细胞活性 $>95\%$ 。

1.3.3 T 淋巴细胞增殖活性测定:将 100 μ l 细胞悬液接种于 96 孔培养板内,加入 20 μ l PHA 进行刺激。置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 细胞培养箱中孵育 72 h,弃上清液,再加入 10 μ l MTT,继续培养 4 h。离心弃上清液,然后加入 100 μ l 二甲亚砜 (DMSO),待结晶完全溶

解后在 570 nm 波长下测定各孔吸光度 (A) 值。

1.3.4 IL-2、IL-6 分泌量测定:取 100 μ l 细胞悬液接种于 96 孔培养板内,加入 20 μ l PHA,37 $^{\circ}$ C、5% CO₂ 培养箱中孵育 24 h,轻轻吸取 100 μ l 上清液,采用 ELISA 检测 IL-2、IL-6 分泌量,操作严格按试剂盒说明书方法进行。

1.4 统计学处理:采用 SPSS 11.0 软件进行统计分析,计量资料数据以均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示,多组间比较采用单因素方差分析, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 3 组受试者外周血 T 淋巴细胞增殖活性比较 (表 2):两组患者治疗前外周血 T 淋巴细胞增殖活性较健康对照组显著降低 (均 $P<0.05$)。治疗 7 d 后,试验组外周血 T 淋巴细胞增殖活性较治疗前显著增加 ($P<0.05$),基本恢复至正常水平,而对照组外周血 T 淋巴细胞增殖活性则较治疗前进一步下降 ($P<0.05$);且试验组明显高于对照组 ($P<0.05$)。

表 2 3 组受试者 T 淋巴细胞增殖活性、IL-2、IL-6 分泌量的变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	例数	T 淋巴细胞 活性 (A 值)	IL-2 (ng/L)	IL-6 (ng/L)
健康对照组		20	1.11 $\pm$ 0.21	17.8 $\pm$ 2.4	23.5 $\pm$ 3.7
试验组	治疗前	40	0.64 $\pm$ 0.15 ^a	10.9 $\pm$ 1.5 ^a	33.4 $\pm$ 6.2 ^b
	治疗后	40	1.08 $\pm$ 0.27 ^{cd}	16.5 $\pm$ 1.4 ^{cd}	18.8 $\pm$ 4.5 ^{acd}
对照组	治疗前	40	0.61 $\pm$ 0.13 ^a	11.2 $\pm$ 2.6 ^a	34.6 $\pm$ 5.7 ^a
	治疗后	40	0.43 $\pm$ 0.25 ^{bc}	9.4 $\pm$ 2.9 ^{bc}	22.3 $\pm$ 3.1 ^c

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$,^b $P<0.01$;与本组治疗前比较,^c $P<0.05$;与对照组同期比较,^d $P<0.05$

2.2 3 组受试者 IL-2、IL-6 分泌量比较 (表 2):两组患者治疗前 IL-2 分泌量较健康对照组显著降低,IL-6 分泌量则显著增加 ($P<0.05$ 或 $P<0.01$)。治疗 7 d 后,试验组 IL-2 分泌量较治疗前明显升高并接近正常水平,但对照组 IL-2 分泌量进一步减少 (均 $P<0.05$);试验组和对照组 IL-6 分泌量均较治疗前显著降低 (均 $P<0.05$),对照组 IL-6 基本恢复至健康对照组水平。

3 讨论

早在 20 世纪 90 年代初就已发现,细胞炎症因子在急性胰腺炎 (AP) 导致的全身性炎症中起重要作用。在 AP 时,细胞炎症因子相互关联和累积,可导致低血容量、MOF 等危象的发生。研究表明 AP 时病变的胰腺组织作为抗原或炎症刺激物,激活巨噬细胞释放炎症介质,造成细胞因子网络和免

疫系统功能紊乱,可能是 AP 容易从局部病变迅速发展为全身炎症反应综合征(SIRS)及 MOF 的重要原因。1998 年, Pavlovsky^[4]报道了 SAP 合并脓毒症患者免疫功能及激素水平均发生变化,这些毒素使得血管渗透性增加,促进了细胞因子如肿瘤坏死因子(TNF)、IL-1、IL-6、IL-8 和血小板活化因子(PAF)等释放增多,因而认为检测血液中细胞因子浓度将有助于判断胰腺病变严重程度、病情发展和预后等。与此同时,外周血细胞因子如 IL-1、IL-6、IL-10、TNF- α 和 γ -干扰素(IFN- γ)等亦大量增加,并发生“瀑布”样级联反应,引发免疫过激。

IL-6 是一种前炎症因子,主要是由单核细胞在 TNF 和 IL-1 等因子诱导下产生,也可由激活的巨噬细胞、内皮细胞、成纤维细胞等产生。IL-6 是一种重要的炎症始动因子,参与急性期炎症反应^[5],是调节 SAP 炎症反应的重要细胞因子, SAP 时 IL-6 水平增高可提示较为凶险的预后。本研究结果显示, SAP 患者在治疗前 IL-6 水平明显高于健康者,证明了其在 SAP 炎症阶段中确实发挥了重要的启动和召集作用。相关研究表明,血清 IL-6 的水平可以间接反映机体免疫系统功能和判断预后,随着炎症面积的扩大,外周血淋巴细胞数量已明显不足,最终引起免疫系统的抑制^[6]。T 淋巴细胞主要参与细胞免疫,机体免疫抑制主要表现为 T 淋巴细胞增殖活性受到抑制, IL-2 分泌量减少,单核细胞功能下降等^[7]。本试验结果显示, SAP 患者较健康人群外周血 T 淋巴细胞增殖活性降低、IL-2 分泌量减少,这与以往研究结果^[8]相一致。

麦滋林的基本成分是谷氨酰胺(Gln),其有效成分可抑制多种致炎物质引起的炎症反应,还可抑制炎症细胞释放组胺,降低胃蛋白酶活性,是免疫细胞的主要能量代谢底物。有文献报道, Gln 具有保护和降低肠黏膜通透性、维持肠道微生物稳定的作用,对控制 SAP 感染很重要^[9]。Gln 可以被肠黏膜细胞、免疫细胞和其他分裂增殖的细胞所利用,麦滋林具有营养胃肠黏膜、参与促进组织修复的功能^[10]。以往研究表明, SAP 患者血液中 Gln 浓度降低,给予肠内外营养后,肠黏膜屏障功能明显改善^[11]。本研究结果显示,给予麦滋林治疗后, SAP 患者 T 淋巴细胞活性和 IL-2 分泌量增加,虽仍低于健康对照组,但与未使用麦滋林的对照组相比其分泌量增加更显著,提示在使用麦滋林后, SAP 患者免疫抑制状态得到改善。而给予麦滋林治疗后, SAP 患者 IL-6 分泌量明显下降,与未使用麦滋林组比较其分

泌量减少更显著。反映出 SAP 患者在经过麦滋林治疗后,由于总体免疫能力的改善,免疫抑制状态的部分解除,由 IL-6 介导的炎症反应得以减少和部分抑制。反映在临床表现上,由炎症反应而发展的严重并发症发生率得到有效控制和降低。

本研究显示,使用麦滋林可以改善 SAP 患者细胞免疫抑制状态,减少因炎症反应而产生的相关严重并发症,同时在改善营养状况、提高患者免疫能力方面有一定的积极作用。但因本研究临床病例较少,观察时间较短,所得结果可能受到影响或发生偏倚。有关麦滋林对 SAP 患者细胞免疫的影响和相关机制仍需进一步扩大样本量,延长临床观察时间,最终得出更为客观的结论。这也将是我们进一步研究的目的和方向。

参考文献

- [1] 齐洛生,杨宏富,孙荣青,等.影响重症急性胰腺炎预后的危险因素分析.中国危重病急救医学,2010,22(9):557-558.
- [2] 中华医学会外科分会胰腺外科学组.重症急性胰腺炎诊治草案.中国实用外科杂志,2001,21(9):513-514.
- [3] 中国中西医结合学会普通外科专业委员会.重症急性胰腺炎中西医结合诊治常规(草案).中国危重病急救医学,2007,19(8):448-451.
- [4] Pavlovsky M, Perejaslov A, Chooklin S, et al. Current management of pancreatic pseudocysts. Hepatogastroenterology, 1998,45(21):846-848.
- [5] 陈晓理,黄兴兰,吴浩,等.急性胰腺炎血中抗炎性细胞因子的变化和生长抑素的调节作用.中国危重病急救医学,2001,13(4):223-225.
- [6] 孙备,张太平.重症急性胰腺炎病人的免疫治疗.中国实用外科杂志,2011,31(8):737-738.
- [7] 王烜,邓明明,夏国栋,等.谷氨酰胺对重症胰腺炎患者细胞免疫功能的影响.中国现代医学杂志,2009,19(23):3644-3646,3649.
- [8] 陈小说,李书剑.麦滋林-S 颗粒对重型颅脑损伤患者胃肠功能的影响.实用医学杂志,2008,24(17):3048-3049.
- [9] 余杨梓,傅强,华鹏鹏.重症急性胰腺炎血行感染患者肠屏障功能障碍的研究.中国中西医结合急救杂志,2012,19(4):196-199.
- [10] Amagase K, Nakamura E, Endo T, et al. New frontiers in gut nutrient sensor research: prophylactic effect of glutamine against Helicobacter pylori-induced gastric diseases in Mongolian gerbils. J Pharmacol Sci, 2010, 112(1):25-32.
- [11] 庞庆丰,徐文莉,何俊,等.谷氨酰胺对内毒素血症大鼠肠道损伤的保护作用及对血红素加氧酶-1 表达的影响.中国危重病急救医学,2011,23(2):95-98.

(收稿日期:2013-06-25)

(本文编辑:李银平)

• 广告目次 •

- ① 广东天普药业:绿色方舟计划 封二
- ② 天津红日药业:血必净注射液 插页
- ③ 珠海健帆:血液灌流器 插页
- ④ 天津生化制药:琥珀氢可 封三
- ⑤ 江苏新晨:艾贝宁®盐酸右美托咪定注射液 封四