

参附注射液对严重创伤患者T细胞亚群和天然杀伤细胞的影响

雷李美 蓝翔 郑浩

[摘要] **目的** 探讨参附注射液对外周血T细胞亚群和天然杀伤细胞(NK细胞)变化,从而观察其对严重创伤患者的重症监护室(ICU)治疗时间、多器官功能障碍综合征(MODS)发生率及病死率的影响。**方法** 将60例严重创伤患者随机分为参附治疗组(30例)和常规治疗组(30例),同期选取30例健康体检者为对照组。常规治疗组患者给予常规诊治,参附治疗组患者则在常规诊治的基础上早期加用参附注射液治疗。采用流式细胞技术测定对照组患者体检时和另两组患者治疗前、治疗后第3天和第7天的外周血T细胞亚群的CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺和NK细胞的数量。并观察两组ICU治疗时间、MODS发生率及病死率。**结果** 参附组治疗前、对照组治疗前、对照组三组CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK比较,差异均有统计学意义(F 分别=5.16、6.11、6.13、3.43、7.21, P 均<0.05),进一步比较发现,参附组治疗前和常规治疗组治疗前CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK均明显低于对照组(q 分别=5.01、7.12、6.11、3.03、8.33、6.71、6.95、5.76、4.93、9.07, P 均<0.05)。参附组治疗后第3天、治疗后第7天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、NK与治疗前比较,差异均有统计学意义(q 分别=4.21、6.17、5.31、3.73、6.71、5.98、7.30、7.92, P 均<0.05);常规治疗组治疗后第7天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK均明显高于治疗前(q 分别=9.71、8.92、7.91、2.99、8.63, P 均<0.05),而治疗后第3天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK与治疗前比较,差异无统计学意义(q 分别=0.71、0.94、0.37、0.03、0.33, P 均>0.05)。与常规治疗组治疗后第7天比较,参附组患者治疗后第7天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、NK明显升高(t 分别=2.33、2.17、2.01、2.73, P 均<0.05)。参附组ICU治疗时间、MODS发生率、病死率均明显低于常规治疗组($t=7.73$, χ^2 分别=11.21、1.53, P 均<0.05)。**结论** 严重创伤患者早期使用参附注射液,能明显改善T细胞亚群和NK细胞的免疫障碍,从而缩短ICU住院时间,降低MODS的发生率及病死率。

[关键词] 参附注射液; 严重创伤; 免疫障碍; 多器官功能障碍综合征

Effect of Shenfu injection on T-lymphocyte subset and natural killer cell in severe trauma patients LEI Limei, LAN Xiang, ZHENG Hao. Department of Emergency and General Practice, Lishui People's Hospital (The sixth Affiliated Hospital of Wenzhou Medical University), Lishui 323000, China

[Abstract] **Objective** To investigate the effect of Shenfu injection on T-lymphocyte subset and natural killer (NK) cell in severe trauma patients, thus to observe the influence on ICU treatment time, multiple organ dysfunction syndrome (MODS) incidence rate and mortality. **Methods** A total of 60 patients with severe trauma were divided into the Shenfu group ($n=30$) and conventional treatment group ($n=30$). Other 30 healthy cases were chosen as control group at the same phase. The conventional treatment group was received conventional treatments, the Shenfu group patients were additionally received the Shenfu injection treatment in the early stage based on conventional treatment. The T-lymphocyte subset (CD³⁺, CD⁴⁺, CD⁸⁺) and NK cell were detected on 3rd and 7th day by flow cytometry. The ICU treatment time, MODS incidence rate and mortality were observed. **Results** The CD³⁺, CD⁴⁺, CD⁸⁺, CD⁴⁺/CD⁸⁺ and NK were significantly different before treatment

DOI: 10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2016.02.005

基金项目:2012年度丽水市公益性技术应用项目(2012ZC037)

作者单位:323000 浙江丽水,温州医科大学附属第六医院、丽水市人民医院全科医学科

通讯作者:蓝翔, Email: cash259@hotmail.com

in Shenfu group, conventional treatment group and control groups ($F=5.16, 6.11, 6.13, 3.43, 7.21, P<0.05$). The CD³⁺, CD⁴⁺, CD⁸⁺, CD⁴⁺/CD⁸⁺ and NK cells counts were significantly low in Shenfu group and conventional treatment group before received treatment than control group ($q=5.01, 7.12, 6.11,$

3.03, 8.33, 6.71, 6.95, 5.76, 4.93, 9.07, $P < 0.05$). On 3rd and 7th day after treatment, the CD³⁺, CD⁴⁺, CD⁸⁺ and NK in Shenfu group were significantly raised ($q=4.21, 6.17, 5.31, 3.73, 6.71, 5.98, 7.30, 7.92, P < 0.05$). On 7th day after treatment, the CD³⁺, CD⁴⁺, CD⁸⁺, CD⁴⁺/CD⁸⁺ and NK in conventional treatment group were significantly raised ($q=9.71, 8.92, 7.91, 2.99, 8.63, P < 0.05$), and it was no significantly different between the 3rd day after treatment and before treatment ($q=0.71, 0.94, 0.37, 0.03, 0.33, P > 0.05$). On 7th day after treatment, the CD³⁺, CD⁴⁺, CD⁸⁺ and NK of Shenfu group were significantly higher than conventional treatment group ($t=2.33, 2.17, 2.01, 2.73, 1.53, P < 0.05$). Compare to conventional treatment group, the ICU treatment time, MODS incidence rate and mortality of Shenfu group were significantly lower ($t=7.73, \chi^2=11.21, 1.53, P < 0.05$). **Conclusion** Base on conventional therapy, the Shenfu injection treatment in the early stage can significantly improve immune dysfunction of the T-lymphocyte subset and NK cell in severe trauma patients, so that the ICU treatment time, MODS incidence rate and mortality are reduced.

[Key words] Shenfu injection; severe trauma; immune dysfunction; multiple organ dysfunction syndromes

当机体受到严重创伤时,会产生炎症反应,而引起免疫功能障碍^[1-4],如何调节严重创伤患者免疫功能紊乱,是预防多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS)、提高治愈率、减少病死率的关键所在^[5,6]。近年来,国内外越来越多的研究把重心放在改善严重创伤患者的免疫功能障碍中^[7-11],其中中医药的应用也越来越受到关注。本次研究旨在通过动态观察早期使用参附注射液对严重创伤患者外周血T细胞亚群和自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)变化,从而观察其对ICU治疗时间、MODS发生率及病死率的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择2012年3月至2014年12月入住丽水市人民医院急诊外科的严重创伤患者60例纳入本次研究,其中男性42例、女性18例;年龄20~62岁,平均(32.20 ± 7.65)岁;损伤严重程度评分(injury severity score, ISS)评分16~22分,平均(18.50 ± 1.61)分;均符合以下纳入标准:①创伤患者ISS评分>16分^[12];②年龄≥18岁。排除伤后入院时间超过24 h者且预计生存时间<7 d患者;有内分泌代谢疾病如糖尿病、甲亢、甲减等,以及脂质代谢障碍或对肠外营养物质过敏的病例;有严重的脏器慢性疾病以及长期使用皮质激素的病例;妊娠期或哺乳期妇女。本次研究经医院伦理委员会批准,均取得患者或家属知情同意。按随机原则将60例创伤患者分为参附注射液治疗组(参附组)和常规治疗组。同期选择本院健康体检者30例作为对照组。三组患者性别、年龄比较见表1,三组比较,差异无统计学意义(P 均>0.05)。参附组和常规治疗组ISS评分比较,差异无统计学意义(P 均>0.05)。

1.2 方法 常规治疗组采用创伤诊治指南常规治疗,包括:抗休克、维护器官功能、原发伤处理等。参

表1 三组患者基本资料比较

组别	n	性别(男/女)	平均年龄/岁	ISS评分/分
参附组	30	22/8	31.70 ± 7.20	19.00 ± 0.21
常规治疗组	30	20/10	32.70 ± 8.10	18.00 ± 3.01
对照组	30	20/10	33.42 ± 5.23	—

附组在对照组治疗基础上加用参附注射液100 ml(每瓶50 ml,由四川雅安三九药业有限公司生产)加入5%葡萄糖200 ml中静脉滴注,每日一次,连续7 d。参附组和常规治疗组患者在治疗前、治疗后第3天和第7天各抽取2 ml外周静脉血,用乙二胺四乙酸二钾抗凝,试剂盒由美国BD公司生产,采用双抗体标记流式细胞分析技术测定外周血T细胞亚群及NK细胞计数。同时记录两组ICU治疗时间及住院期间MODS发生率和病死率。而对照组在体检时抽取2 ml外周静脉血,测定外周血T细胞亚群及NK细胞计数。

1.3 统计学方法 采用SPSS 12.0软件包进行统计分析。计量资料中正态分布资料以均数 ± 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 q 检验;两组间比较采用 t 检验;计数资料采用 χ^2 检验。设 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组外周血T细胞亚群和NK细胞计数的变化 见表2

由表2可见,治疗前,参附组、常规治疗组和对照组三组CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK比较,差异均有统计学意义(F 分别=5.16、6.11、6.13、3.43、7.21, P 均<0.05),进一步比较发现,参附组治疗前和常规治疗组治疗前CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK均明显低于对照组(q 分别=5.01、7.12、6.11、3.03、8.33、6.71、6.95、5.76、4.93、9.07, P 均<0.05)。参附组治疗后第3天、治疗后第7天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、NK与治疗前比较,差

表2 三组患者治疗前后T细胞亚群和NK细胞计数

组别	时间点	CD ³⁺ /%	CD ⁴⁺ /%	CD ⁸⁺ /%	CD ⁴⁺ /CD ⁸⁺	NK/%
参附组	治疗前	322.13 ± 115.10*	241.31 ± 103.21*	175.73 ± 106.21*	1.76 ± 0.61*	178.32 ± 64.03*
	治疗后第3天	563.56 ± 122.11 [#]	428.12 ± 105.31 [#]	328.28 ± 106.17 [#]	1.97 ± 0.83 [#]	315.12 ± 75.77 [#]
	治疗后第7天	765.92 ± 130.37 ^{#▲}	539.57 ± 120.03 ^{#▲}	438.63 ± 101.21 ^{#▲}	1.79 ± 0.73	396.63 ± 53.25 ^{#▲}
常规治疗组	治疗前	313.45 ± 217.86 *	275.55 ± 183.13*	217.01 ± 107.99*	1.71 ± 0.68*	173.18 ± 82.39 *
	治疗后第3天	418.03 ± 172.99	366.31 ± 174.31	315.73 ± 106.82	1.78 ± 0.71	301.59 ± 80.09
	治疗后第7天	473.70 ± 193.23 [#]	362.26 ± 114.41 [#]	241.36 ± 124.90 [#]	1.85 ± 0.80 [#]	267.96 ± 73.08 [#]
对照组	体检时	1574.34 ± 313.42	1436.34 ± 264.46	617.71 ± 215.52	2.39 ± 0.61	521.40 ± 117.67

注: *: 与对照组比较, $P < 0.05$; #: 与同组治疗前比较, $P < 0.05$; ▲: 与常规治疗组同期比较, $P < 0.05$ 。

异均有统计学意义 (q 分别=4.21、6.17、5.31、3.73、6.71、5.98、7.30、7.92, P 均 <0.05); 常规治疗组治疗后第7天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK均明显高于治疗前 (q 分别=9.71、8.92、7.91、2.99、8.63, P 均 <0.05), 而治疗后第3天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK与治疗前比较, 差异无统计学意义 (q 分别=0.71、0.94、0.37、0.03、0.33, P 均 >0.05)。与常规治疗组治疗后第7天比较, 参附组患者治疗后第7天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、NK明显升高 (t 分别=2.33、2.17、2.01、2.73, P 均 <0.05)。

2.2 两组患者的ICU治疗时间及MODS发生率和病死率比较见表3

表3 两组患者ICU治疗时间、MODS发生率及病死率比较

组别	n	ICU 治疗时间/d	MODS 发生率 /例(%)	病死率/例 (%)
参附组	30	8.16 ± 1.63*	5(16.66)*	4(13.33)*
常规治疗组	30	12.23 ± 1.77	12(40.00)	10(33.33)

注: *: 与常规治疗组比较, $P < 0.05$ 。

由表3可见, 参附组ICU治疗时间、MODS发生率、病死率均明显低于常规治疗组 ($t=7.73$, χ^2 分别=11.21、1.53, P 均 <0.05)。

3 讨论

T淋巴细胞数量和比例是衡量机体免疫功能的重要指标^[13,14]。CD³⁺代表外周血成熟T细胞总数, 包括了CD⁴⁺和CD⁸⁺两群, 其减少表示T细胞免疫功能减弱或存在免疫功能障碍。①CD⁴⁺亚群, 称辅助性T细胞。其减少表示B细胞产生的免疫球蛋白减少及细胞免疫功能减弱; ②CD⁸⁺亚群: 主要包括TS、TC/TK。具有抑制体液免疫与细胞免疫的功能; ③CD⁴⁺/CD⁸⁺细胞比值是人体免疫系统内环境稳定最重要指标^[15-17]。NK细胞是一种不同于T、B细胞的淋巴细胞, 其具有天然直接杀伤靶细胞能力, 具有抗感染、抗肿瘤、免

疫调节等功能^[18,19]。国内外很多研究发现严重创伤造成的严重感染引起机体免疫功能障碍, 主要表现为CD⁴⁺细胞百分比和CD⁴⁺/CD⁸⁺比值显著下降, 进而使机体防御感染的免疫功能明显减弱或出现障碍, 使机体易发生器官功能衰竭^[20,21]。参附注射液是红参、黑附片的提取物, 具有减毒增效, 回阳救逆, 益气固脱之功效, 其主要成分为人参皂甙和乌头碱^[22,23]。

本次研究发现严重创伤患者治疗前CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK均明显低于对照组 (P 均 <0.05), 这是因为严重创伤患者存在免疫功能障碍造成CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、NK细胞及CD⁴⁺/CD⁸⁺比值下降。同时本次研究发现参附组治疗后第3天、治疗后第7天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、NK与治疗前比较明显升高 (P 均 <0.05), 而常规治疗组治疗后第3天CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、CD⁴⁺/CD⁸⁺、NK仍无明显变化, 到治疗后第7天各项免疫指标才均明显高于治疗前 (P 均 <0.05)。而且, 治疗后第7天, 参附组的CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺、NK比常规治疗组患者的有明显升高 (P 均 <0.05), 可能是参附注射液可以通过提高单核细胞人类白细胞抗原DR位点及T淋巴细胞计数水平调节细胞免疫功能障碍状态^[24], 促使CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺和NK细胞明显回升。而且, 患者加用参附后ICU治疗时间、MODS发生率、病死率均明显降低 (P 均 <0.05), 这可能是因为参附注射液能够调整患者细胞免疫功能, 阻断了全身性炎症反应的进程, 减轻炎症程度, 从而减少住院时间, 降低MODS的发生率^[25-28]。

综上所述, 对严重创伤患者, 在积极的常规救治基础上早期即给予参附注射液治疗, 能促使CD³⁺、CD⁴⁺、CD⁸⁺细胞明显回升, 明显改善T细胞亚群和NK细胞的免疫障碍, 从而缩短ICU住院时间, 降低MODS发生率及病死率。

参考文献

- 1 成亮,柴益民.严重创伤的系统炎症反应表征[J].国际骨科学杂志,2014,6(7):355-356.
- 2 Manson J, Thiemermann C, Brohi K. Trauma alarms as activators of damage-induced inflammation [J]. *Brit J Surg*, 2012, 99(S1): 12-20.
- 3 Uddin M, Aiello A E, Wildman D E, et al. Epigenetic and immune function profiles associated with posttraumatic stress disorder[J]. *Nat Acad Sci*, 2010, 107 (20): 9470-9475.
- 4 Kawamura N, Kim Y, Asukai N. Suppression of cellular immunity in men with a past history of posttraumatic stress disorder[J]. 2014, 23(12): 32-43.
- 5 刀敏,高静波,赵弼武.重度创伤后全身炎症反应综合征和多器官功能障碍综合征的临床分析[J].中国社区医师,2015,2(10):66-68.
- 6 Shen Y F, Cui N Q, Miao B, et al. Immune dysregulation in patients with severe acute pancreatitis[J]. *Inflammation*, 2011, 34(1): 36-42.
- 7 白冰心,吴言为,张路瑶,等.脓毒症的免疫治疗进展[J].中国新药与临床杂志,2015,3(11):161-166.
- 8 耿延青.脓毒症患者血中CD⁴⁺、CD²⁵⁺调节性T细胞水平与机体细胞免疫状态的相关性研究[J].中国医药导报,2015,3(2):7-10.
- 9 赵旭明,秦陈浩,刘励军,等.严重创伤患者免疫功能抑制的影响因素[J].江苏医药,2014,7(3):785-788.
- 10 Marik P E, Flemmer M. The immune response to surgery and trauma: Implications for treatment[J]. *J Trau Acu Car Surg*, 2012, 73(4): 801-808.
- 11 Kimura F, Shimizu H, Yoshidome H, et al. Immunosuppression following surgical and traumatic injury[J]. *Surg Today*, 2010, 40(9): 793-808.
- 12 Baker SP, O'Neill B, Haddon W J, et al. The injury severity score: a method for describing patients with multiple injuries and evaluating emergency care[J]. *J Trauma*, 1974, 14(3): 187-196.
- 13 刘慧琳,刘桂花,田兆兴.脓毒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.
- 14 Focosi D, Bestagno M, Burrone O, et al. CD57+ T lymphocytes and functional immune deficiency[J]. *J Leukoc Biol*, 2010, 87(1): 107-116.
- 15 Wang P, Kan Q C, Yu Z J, et al. Effects of cefodizime on chemokines of liver tissues in mice with immunological hepatic injury[J]. *China Med J*, 2011, 124(5): 746-750.
- 16 D'Acquisto F, Crompton T. CD3+ CD4 CD8(double negative) T cells: saviours or villains of the immune response[J]. *Biochem Pharmacol*, 2011, 82(4): 333-340.
- 17 王滨,边瑞民,魏传梅,等.头孢地嗪增加老年细菌性肺炎患者外周血CD4/CD8和Th1/Th2细胞比例[J].细胞与分子免疫学杂志,2015,4(13):528-531.
- 18 Vacca P, Martini S, Garelli V, et al. NK cells from malignant pleural effusions are not anergic but produce cytokines and display strong antitumor activity on short-term IL-2 activation[J]. *Eur J Immunol*, 2013, 43(2): 550-561.
- 19 Kumar P, Thakar M S, Ouyang W, et al. IL-22 from conventional NK cells is epithelial regenerative and inflammation protective during influenza infection [J]. *Mucosal Immunology*, 2013, 6(1): 69-82.
- 20 王宇.多发伤或严重创伤后淋巴细胞亚群的变化[D].上海:第二军医大学,2011.
- 21 Tian H, Zhang M, Du C, et al. Effects of Rhubarb combined with ulinastatin on T-cell subsets in sepsis rats[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(1): 1234.
- 22 张伟军.参附注射液对感染性休克患者早期乳酸清除率的影响[J].甘肃医药,2015,1(6):56-57.
- 23 徐丹,范颖.参附汤方源考证及其配伍内涵探析[J].中华中医药学刊,2010,28(5):1062-1063.
- 24 王文龙.参附注射液治疗脓毒性休克作用机理分析[J].新中医,2015,47(3):3-5.
- 25 刘学政,李桂伟.参附注射液治疗休克的临床研究[J].天津中医药大学学报,2012,31(1):12-13.
- 26 张宁,邱泽亮,叶一萍,等.参附注射液对严重脓毒症患者炎症细胞因子和预后的影响[J].中华中医药学刊,2011,29(3):525-527.
- 27 邱泽亮,叶一萍,张宁,等.参附注射液对严重脓毒症免疫调节的前瞻性研究[J].中华中医药学刊,2012,30(2):363-366.
- 28 宁易平,邱泽亮,牟莉,等.参附注射液对严重脓毒症病人T细胞亚群及天然杀伤细胞的影响[J].中华中医药学刊,2013,31(10):2270-2272.

(收稿日期 2015-11-23)

(本文编辑 蔡华波)