

临床血清学研究

DOI: 10.11699/cyxb20130521

血浆高迁移率族蛋白 1 和肿瘤坏死因子- α 评估 严重胸部钝性伤患者并发症的比较

王小文¹, Avash Karki¹, 彭文莲², 都定元², 赵兴吉², 向小勇¹

(1. 重庆医科大学附属第一医院胸外科, 重庆 400016; 2. 重庆市急救医疗中心、重庆市急救医学研究所, 重庆 400014)

【摘要】目的:探讨高迁移率族蛋白 1(high-mobility group box 1, HMGB1)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α) 在严重胸部钝性伤(blunt chest trauma, BCT)患者血浆中的动态变化及其评估伤后严重程度和预测伤后并发症发生风险性的临床意义。**方法:**自 2011 年 3 月-2011 年 12 月共收集符合研究标准的严重 BCT(简明损伤评分 ≥ 3)患者共 57 例,分别在伤后第 1、3、5、7 天采集患者外周静脉血。待标本收集齐后应用 ELSIA 测定血浆中 HMGB1 和 TNF- α 含量,并分析其与损伤严重程度和伤后并发症发生的相关性。**结果:**患者的中位年龄为(44.5 $\pm$ 12.6)岁,中位损伤程度评分(injury severity score, ISS)评分为(18.4 $\pm$ 6.02)分。伤后患者血浆 HMGB1 和 TNF- α 含量与损伤严重程度相关(第 1 天分别为: $r=0.29, P=0.068$ 和 $r=0.507, P=0.016$; 第 3 天: $r=0.578, P<0.001$ 和 $r=0.411, P=0.021$; 第 5 天: $r=0.645, P<0.001$ 和 $r=0.365, P=0.07$; 第 7 天: $r=0.683, P<0.001$ 和 $r=0.321, P=0.019$)。ISS ≥ 20 的患者伤后第 3、5、7 天内血浆 HMGB1 水平要明显高于 ISS <20 者(P 均 <0.001)。通过受试者工作特征曲线分析结果显示,在伤后并发症预测方面,血浆 HMGB1 的敏感性要高于 TNF- α ,但特异性不及 TNF- α ($P<0.05$)。**结论:**血浆 HMGB1 能够较好的评估严重 BCT 患者的损伤严重程度和并发症发生情况。

【关键词】胸部创伤;高迁移率族蛋白 1;肿瘤坏死因子- α ;并发症

【中国图书分类法分类号】R641

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-11-20

Prediction of post-traumatic complications in severe blunt chest trauma by comparing plasma levels of high-mobility group box 1 and tumor necrosis factor- α

WANG Xiaowen¹, Avash Karki¹, PENG Wenlian², DU Dingyuan², ZHAO Xingji², XIANG Xiaoyong¹

(1. Department of Cardiothoracic Surgery, the First Affiliated Hospital, Chongqing Medical University;

2. Chongqing Institute of Accident and Emergency Medicine, Chongqing Emergency Medical Center)

【Abstract】Objective: To observe the dynamic changes of plasma high-mobility group box 1 (HMGB1) and tumor necrosis factor- α (TNF- α) in patients with severe blunt chest trauma, to assess the severity of injury and to predict its prognostic value. **Methods:** A total of 57 consecutive blunt chest trauma patients with an abbreviated injury scale ≥ 3 from March 2011 to December 2011 were included and blood samples were taken from patients every other day from d1 to d7 after admission. Plasma concentration of HMGB1 and TNF- α were measured by a quantitative ELISA. Development of post-traumatic complications was observed and their relations with plasma levels of HMGB1 and TNF- α were analyzed. **Results:** Patients' median age was (44.5 $\pm$ 12.6) years and the median injury severity score (ISS) was (18.4 $\pm$ 6.02). Both the plasma levels of HMGB1 and TNF- α had positive correlation with ISS (d1: $r=0.29, P=0.068$ vs. $r=0.507, P=0.016$; d3: $r=0.578, P<0.001$ vs. $r=0.411, P=0.021$; d5: $r=0.645, P<0.001$ vs. $r=0.365, P=0.07$; d7: $r=0.683, P<0.001$ vs. $r=0.321, P=0.019$). There were significantly increases in mean plasma HMGB1 levels on d3, 5, 7 in patients with ISS ≥ 20 compared with those with ISS <20 (all $P<0.05$). Plasma levels of HMGB1 showed a higher sensitivity but less specificity than TNF- α in prediction of complications occurrence ($P<0.05$). **Conclusions:** Plasma levels of HMGB1 seem to be most suitable for severity assessment and prediction of post-traumatic complications occurrence in patients with severe blunt chest trauma.

【Key words】 thoracic trauma; high-mobility group box 1; tumor necrosis factor- α ; complications

作者介绍: 王小文, Email: wangxiaowencardiac@163.com,

研究方向: 胸部创伤。

通信作者: 向小勇, Email: cqmusurgery@163.com。

基金项目: 重庆市科委自然科学基金重点资助项目(编号: CSCT2012jjB10021);

重庆市卫生局医学科学技术研究重点资助项目(编号: 2010-1-52)。

创伤已成为全球性健康问题,是 45 岁以下人群死亡的主要原因,而胸部创伤是严重威胁生命的急症,约占创伤相关入院率的 30%~40%,占创伤相关死亡的 25%^[1-4]。交通伤是现代社会创伤的最主要致伤原因,其中胸部钝性伤(blunt chest trauma, BCT)所致的死亡是仅次于颅脑损伤的第 2 位死亡原因^[5-6]。

机体在遭受严重创伤后,常诱发全身炎症反应综合征(systemic inflammatory response syndrome, SIRS),并继发脓毒症和多器官功能障碍综合征(multiple organ dysfunction syndrome, MODS),是严重创伤患者住院死亡的主要死亡原因^[7]。胸部创伤并发 MODS 时,病情复杂、变化快,救治难度大,如不即使有效的进行处理,可造成严重后果。而如何早期识别创伤后并发症和救治预后是临床一直以来期待解决的医学课题。

本研究通过动态测定严重 BCT 患者高迁移率族蛋白 1(high-mobility group box 1, HMGB1)和肿瘤坏死因子- α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)以对比评价两者在预测创伤后并发症发生风险性和临床救治预后中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 研究对象

收集 2011 年 3 月至 2011 年 12 月,重庆市急救中心和重庆医科大学附属第一医院胸外科符合研究标准的严重 BCT 住院患者 57 例。纳入标准:①患者年龄 ≥ 15 岁;②严重 BCT[简明损伤评分(abbreviated injury scale, AIS) ≥ 3],伴有多发伤的亦纳入本研究;③伤后 24 h 内入院;④患者病例资料完善且入院后未放弃治疗者。排除标准:①患者伤前存在感染者;②患者伴有心血管病、慢性肾炎、肝炎、恶性肿瘤及自身免疫性疾病病史者;③拒绝参与本研究者。本研究经医院伦理委员会批准,所有最终纳入本研究的患者均签署知情同意书。

1.2 研究方法

分别在患者伤后第 1、3、5、7 天采集外周静脉血 3 ml,分离血浆,冷冻保存,待标本收集齐后应用 ELSIA,试剂盒由上海巧伊生物科技公司提供,严格按照说明书操作,测定血浆中 HMGB1 和 TNF- α 含量。同时,收集患者临床资料、伤后并发症发生情况及救治结局。

1.3 统计学处理

使用 SPSS 17.0 统计软件进行分析,计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,计数资料以百分率表示。均数间的比较采用非参检验,血浆 HMGB1、TNF- α 水平与损伤程度评分(injury severity score, ISS)的相关性采用 Spearman 相关分析。预后判断的敏感性和特异性采用受试者工作特征(receiver

operator characteristic, ROC)曲线分析。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

本组最总纳入研究的共 57 例,男 41 例,女 16 例;平均年龄 44.5 岁(15~79)岁;AIS(3.5 ± 0.5)分,ISS(18.40 ± 6.02)分。致伤原因:交通伤 30 例(50.0%),高处坠落伤 17 例(28.3%),挤压/掩埋伤 8 例(13.3%),钝器损伤 5 例(8.3%)。其主要并发症包括休克、肺不张、肺部感染、急性呼吸窘迫症、呼吸衰竭、MODS、心脏大血管损伤。

2.2 损伤情况

胸部损伤:多发肋骨骨折 56 例,其多发肋骨骨折伴连枷胸 9 例;胸骨骨折 6 例;创伤性血和(或)气胸 54 例;肺挫伤 50 例,其中双侧肺挫伤 26;心脏大血管损伤 4 例。

合并损伤:胸部损伤合并颅脑损伤者 37 例,合并腹部损伤者 22 例;合并四肢/骨盆损伤者 23 例。

2.3 血浆 HMGB1、TNF- α 水平的动态变化

严重 BCT 患者血浆 HMGB1 水平在伤后第 1、3 天逐渐升高,第 5 天达高峰,第 7 天仍呈持续上升趋势,见图 1A。而创伤后第 1 天至第 7 天的 TNF- α 水平逐渐降低的趋势,见图 1B。

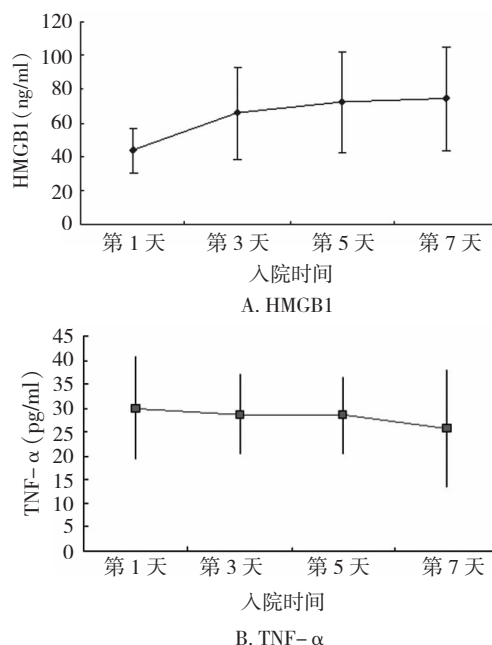


图 1 严重 BCT 患者血浆 HMGB1 和 TNF- α 水平的动态变化趋势分析

Fig.1 Trends in plasma levels of HMGB1 and TNF- α in patients with severe BCT

2.4 不同创伤严重程度的血浆 HMGB1 水平比较

根据 ISS,将患者分为不同损伤程度,即 ISS < 20 组和 ISS ≥ 20 组。2 组伤后第 1 天血浆 HMGB1 水平差异无统计学意义[(45.3 ± 10.7) ng/ml vs. (42.5 ± 15.1) ng/ml, $P=0.41$];但

ISS ≥ 20 组在伤后的第 3、5、7 天的血浆 HMGB1 活性要高于 ISS < 20 , 差异有统计学意义[第 3 天: (74.3 ± 29.8) ng/ml vs. (57.4 ± 22.9) ng/ml, $P=0.02$; 第 5 天: (82.1 ± 29.6) ng/ml vs. (63.4 ± 27.6) ng/ml, $P=0.018$; 第 7 天: (84.9 ± 31.4) ng/ml vs. (64.3 ± 27.6) ng/ml, $P=0.011$], 见图 2。

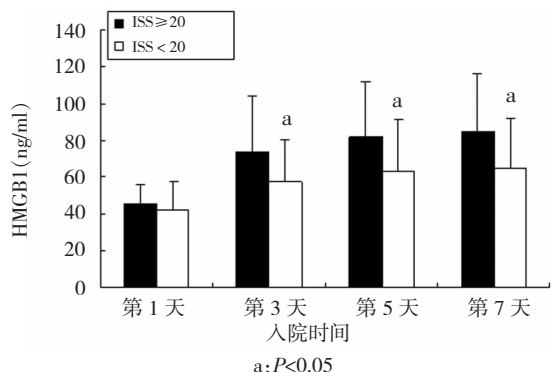


图 2 不同创伤严重程度两组 7 d 内的血浆 HMGB1 水平比较
Fig.2 Comparison on HMGB1 plasma levels between two groups

2.5 血浆 HMGB1、TNF- α 水平与 ISS 的相关性

如表 1 所示, 严重 BCT 患者伤后第 3、5、7 天血浆 HMGB1 与 ISS 呈正相关, 其中第 3、5 天及第 7 天相关性具有统计学意义 (P 均 < 0.01); TNF- α 水平与 ISS 也呈正相关 (P 均 < 0.05)。

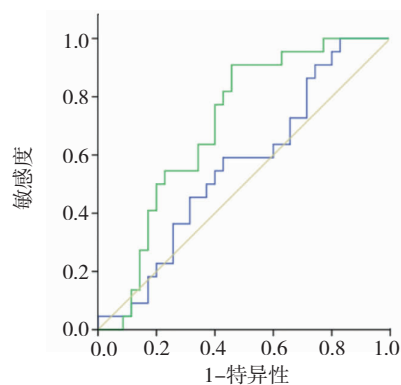
表 1 严重 BCT 后血浆 HMGB1、TNF- α 水平与 ISS 的相关性分析

Tab.1 Correlation between plasma levels of HMGB1, TNF- α and ISS score after sever BCT

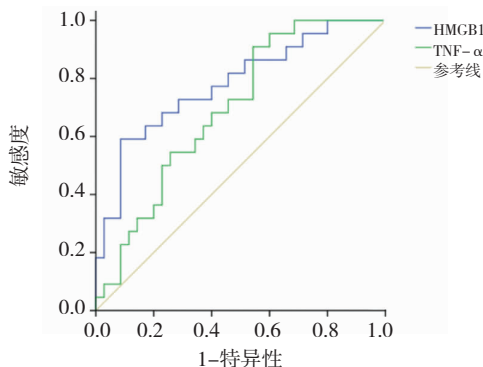
		ISS			
		第 1 天	第 3 天	第 5 天	第 7 天
HMGB1	r_s	0.190	0.511	0.545	0.483
	P 值	0.168	< 0.001	< 0.001	0.002
TNF- α	r_s	0.407	0.311	0.365	0.321
	P 值	0.016	0.023	0.007	0.019

2.6 不同时间点血浆 HMGB1、TNF- α 水平对并发症判断的 ROC 曲线分析

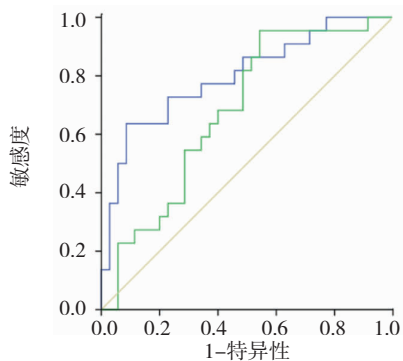
以患者是否发生并发症作为阳性指标, 绘制伤后第 1、3、5、7 天对并发症预测判断的 ROC 曲线。伤后第 1 天 ROC 曲线下面积, HMGB1 为 0.560, $P=0.45$; TNF- α 为 0.704, $P=0.01$; ROC 曲线下面积比较: $Z=1.41$, $P>0.05$ 。伤后第 3 天 ROC 曲线下面积, HMGB1 为 0.781, $P<0.001$; TNF- α 为 0.659, $P=0.014$; ROC 曲线下面积比较: $Z=2.42$, $P<0.05$ 。伤后第 5 天 ROC 曲线下面积, HMGB1 为 0.799, $P<0.001$; TNF- α 为 0.679, $P=0.023$; ROC 曲线下面积比较: $Z=2.03$, $P<0.05$ 。伤后第 7 天 ROC 曲线下面积, HMGB1 为 0.774, $P=0.001$; TNF- α 为 0.662, $P=0.017$; ROC 曲线下面积比较: $Z=1.98$, $P<0.05$ (图 3)。



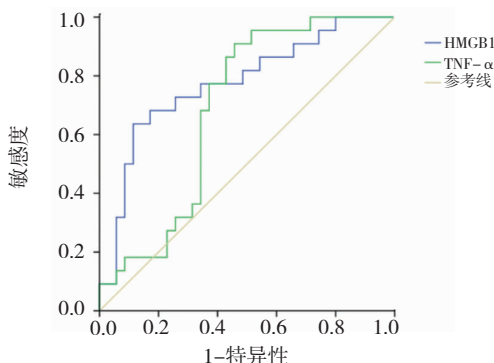
A. 伤后第 1 天 ROC 曲线下面积比较



B. 伤后第 3 天 ROC 曲线下面积比较



C. 伤后第 5 天 ROC 曲线下面积比较



D. 伤后第 7 天 ROC 曲线下面积比较

图 3 血浆 HMGB1 和 TNF- α 水平预测并发症的敏感性和特异性比较

Fig.3 Comparison on sensitivity and specificity between plasma levels of HMGB1 and TNF- α in predicting post-traumatic complications

3 讨 论

3.1 创伤后机体炎症反应的机制

创伤导致局部组织中免疫细胞的激活并释放多种促炎介质发挥防御反应,包括 TNF- α 、白细胞介素(interleukin, IL)-1、IL-2、IL-6 等^[8-9],并激活炎症细胞产生多种炎症因子,又可导致炎症细胞进一步活化,两者互为因果,形成炎症瀑布反应。但这一炎症反应亦受到多种抗炎细胞因子的调节,包括前列腺素 E₂、IL-4、IL-10、IL-11、转化生长因子- β (transforming growth factor- β , TGF- β)等^[10]。严重的创伤导致各种炎症介质以不同的先后次序和幅度溢出到血浆,激活免疫系统,引起 SIRS。

上述“早期”炎症介质被认为是引起创伤后 MODS 和死亡的关键因素;其中 TNF- α 是机体应激反应最早和最起核心作用的炎症因子,可促进炎症介质的生成,是导致炎性因子“瀑布效应”的关键因素^[11]。但临床的随机对照双盲试验的结果显示,应用 anti-TNF- α 治疗并不能改善脓毒症休克患者的预后^[12-13]。其原因主要因为这些细胞因子在脓毒症发病初期即迅速释放入血,使得拮抗细胞因子的时间窗很窄,临床干预效果欠佳^[14]。

3.2 HMGB1 在创伤性炎症反应中的意义

机体在遭受创伤时,组织细胞会主动分泌或被动释放损伤相关分子模式(damage-associated molecular patterns, DAMPs),引起炎症反应,促进坏死组织和细胞碎片的清除及损伤修复。DAMPs 主要包括 HMGB、S100 蛋白家族、热休克蛋白等。

HMGB 是存在真核细胞内的一种非组蛋白,分子量约 30 kD,因其在聚丙烯酰胺凝胶电泳中的高迁移性而得名。根据 HMGB 分子质量、序列相似性和 DNA 的结合比率分为 3 类:HMGB1、HMGB2、HMGB3。HMGB1 分布广泛,可存在于细胞核、细胞质和细胞外,是 HMGB 家族中唯一可分泌到细胞外并具有细胞因子活性的蛋白^[15]。

多项研究已证实 HMGB1 是一种重要的晚期炎症介质,可从细胞内释放至体内介导炎症反应,在感染和损伤引起的炎症性疾病中具有重要的作用^[16-19]。Cohen 等^[17]通过测定严重多发伤患者伤后 30 min 内的 HMGB1 含量表明,早期 HMGB1 水平与伤后病情严重程度、组织灌注不足及炎症反应等情况相关,且血浆高含量 HMGB1 与伤后器官功能损害相关。Au 等^[20]通过测定颅脑损伤患者脑脊液中

HMGB1 含量的研究显示, HMGB1 与患者不良预后相关,是机体伤后的“危险信号”。

本研究结果显示严重 BCT 患者血浆 HMGB1 水平在伤后进行性增高,且与创伤的严重程度呈正相关。而在创伤后并发症预测方面,伤后第 1 天, HMGB1 和 TNF- α 水平的 ROC 曲线下面积差异无统计学意义;而在第 3、5、7 天血浆 HMGB1 水平对预测伤后并发症的 ROC 曲线下面积均大于 TNF- α 的 ROC 曲线下面积。这表明 HMGB1 与创伤后并发症的相关性强于 TNF- α ,其预测并发症发生的风险性情况,敏感性要优于血浆中 TNF- α 的变化,尤其是在创伤后晚期,但整体特异性不及 TNF- α 。为此严重 BCT 患者血浆 HMGB1 水平对于病情的严重程度及预后评估上有一定的参考价值;同时,还可作为治疗炎症反应的干预靶点,为临床提高创伤救治的质量提供研究切入点。但 HMGB1 对伤后患者病情及预后的判断尚未达到理想程度,即敏感度和特异度均很高,且通过其 ROC 曲线下面积也可以看出 HMGB1 对预测伤后并发症情况的整体准确性也不是很高。为此,多指标的联合应用及新的更加理想的预测指标需待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] Soreide K. Epidemiology of major trauma[J]. Br J Surg, 2009, 96(7): 697-698.
- [2] Karmy-Jones R, Jurkovich G J. Blunt chest trauma[J]. Curr Probl Surg, 2004, 41(3): 211-380.
- [3] Richardson J D, Miller F B, Carrillo E H, et al. Complex thoracic injuries[J]. Surg Clin North Am, 1996, 76(4): 725-748.
- [4] Gaillard M, Herve C, Mandin L, et al. Mortality prognostic factors in chest injury[J]. J Trauma, 1990, 30(1): 93-96.
- [5] Cheitlin M D. Cardiovascular trauma, part II [J]. Circulation, 1982, 66(1): 244-247.
- [6] Mayfield W, Hurley E J. Blunt cardiac trauma[J]. Am J Surg, 1984, 148(1): 162-167.
- [7] Nast-Kolb D, Aufmkolk M, Rucholtz S, et al. Multiple organ failure still a major cause of morbidity but not mortality in blunt multiple trauma[J]. J Trauma, 2001, 51(5): 835-841; discussion 841-842.
- [8] Stahel P F, Smith W R, Moore E E. Role of biological modifiers regulating the immune response after trauma[J]. Injury, 2007, 38(12): 1409-1422.
- [9] Lenz A, Franklin G A, Cheadle W G. Systemic inflammation after trauma[J]. Injury, 2007, 38(12): 1336-1345.
- [10] Opal S M, DePalo V A. Anti-inflammatory cytokines[J]. Chest, 2000, 117(4): 1162-1172.

临床血清学研究

DOI: 10.11699/cyxb20130522

炎症标志物白细胞介素-13 在多囊卵巢综合征患者外周血的表达水平及临床意义

聂革联

(重庆市万州区中西医结合医院妇产科, 万州 404000)

【摘要】目的:观察白细胞介素-13(interleukin-13, IL-13)在多囊卵巢综合征(polycystic ovary syndrome, PCOS)患者外周血中的表达水平,并分析其与患者体质指数(body mass index, BMI)、生殖相关激素、血糖及血脂的相关性。**方法:**临床对照试验。研究对象分为 3 组:PCOS 肥胖组(40 例)、PCOS 非肥胖组(35 例)和对照组(39 例)。测量各组研究对象的体质量、身高、腰围及臀围,并计算 BMI 及腰臀比(waist/hip ratio, WHR)。分别用酶联免疫吸附试验测定血清 IL-13 水平;应用化学发光法检测空腹血糖(fasting blood glucose, FBG)、空腹胰岛素(fasting insulin, Ins)、胆固醇(cholesterol, TC)、甘油三酯(triglycerides, TG)、高密度脂蛋白(high-density lipoprotein, HDL)、低密度脂蛋白(low-density lipoprotein, LDL)水平;放射免疫测定:卵泡刺激素(follicle-stimulating hormone, FSH)、黄体生成素(luteum erythropoietin, LH)、雌二醇(estradiol, E2)、孕酮(progesterone, P)、催乳素(prolactin, PRL)、睾酮(testosterone, T)。**结果:**PCOS 肥胖组外周血 IL-13 的表达高于非肥胖组($P=0.000$),且二者均高于对照组($P=0.000$; $P=0.019$)。Ins、LDL、HDL、TG、TC、IR、E2、FSH、P 等指标的血清水平无统计学差异;而 WHR、BMI、FBG、LH、T 等指标血清值在 PCOS 肥胖组、非肥胖组均高于对照组。简单相关回归分析显示 IL-13 与 BMI ($R=0.527$, $P=0.000$)、FBG ($R=0.449$, $P=0.000$)及 T ($R=0.452$, $P=0.000$)、WHR ($R=0.272$, $P=0.021$)及 LH ($R=0.247$, $P=0.037$)有相关性,多元线性回归方程表示为 $IL-13=90.814+1.255BMI+0.755WHR+1.696FBG+0.146LH+0.738T$ 。**结论:**炎症标志物 IL-13 在 PCOS 患者外周血中表达明显升高,并与 BMI、WHR、FBG、LH 及 T 等指标存在线性依存关系。

【关键词】多囊卵巢综合征;慢性炎症;白细胞介素-13;酶联免疫吸附试验;临床试验

【中国图书分类法分类号】R711.75;R711.6

【文献标志码】A

【收稿日期】2011-03-23

作者介绍:聂革联, Email: mieyish@126.com,

研究方向:妇科肿瘤与内分泌。

[11] van Berge Henegouwen M I, van der Poll T, van Deventer S J, et al. Peritoneal cytokine release after elective gastrointestinal surgery and postoperative complications[J]. Am J Surg, 1998, 175(4): 311-316.

[12] Abraham E, Wunderink R, Silverman H, et al. Efficacy and safety of monoclonal antibody to human tumor necrosis factor alpha in patients with sepsis syndrome: a randomized, controlled, double-blind, multicenter clinical trial. TNF-alpha MAb Sepsis Study Group[J]. JAMA, 1995, 273(12): 934-941.

[13] Abraham E, Anzueto A, Gutierrez G, et al. Double-blind randomised controlled trial of monoclonal antibody to human tumour necrosis factor in treatment of septic shock. NORASEPT II Study Group[J]. Lancet, 1998, 351(9107): 929-933.

[14] 姚咏明. 创伤脓毒症发病机制新认识-“晚期”介质高迁移率族蛋白 B1 的作用[J]. 中国急救医学, 2009, 29(8): 3.

Yao Y M. High mobility group box nuclear protein 1 play a role in pathogenesis of sepsis after major trauma[J]. Chin J Crit Care Med, 2009, 29(8): 3.

[15] Scaffidi P, Misteli T, Bianchi M E. Release of chromatin protein HMGB1 by necrotic cells triggers inflammation[J]. Nature, 2002, 418

(6894): 191-195.

[16] Wang H, Bloom O, Zhang M, et al. HMG-1 as a late mediator of endotoxin lethality in mice[J]. Science, 1999, 285(5425): 248-251.

[17] Cohen M J, Brohi K, Calfee C S, et al. Early release of high mobility group box nuclear protein 1 after severe trauma in humans: role of injury severity and tissue hypoperfusion[J]. Crit Care, 2009, 13(6): R174.

[18] Tong H S, Tang Y Q, Chen Y, et al. Early elevated HMGB1 level predicting the outcome in exertional heatstroke[J]. J Trauma, 2011, 71(4): 808-814.

[19] Huang L F, Yao Y M, Dong N, et al. Association of high mobility group box-1 protein levels with sepsis and outcome of severely burned patients[J]. Cytokine, 2011, 53(1): 29-34.

[20] Au A K, Aneja R K, Bell M J, et al. Cerebrospinal fluid levels of high-mobility group box 1 and cytochrome C predict outcome after pediatric traumatic brain injury[J]. J Neurotrauma, 2012, 29(11): 2013-2021.

(责任编辑: 关蕴良)