

· 临床研究 ·

七氟烷吸入与丙泊酚静脉麻醉对结肠癌患者外周血 CD₄₅ RA⁺ / CD₄₅ RO⁺ 表达的影响

牛宣耀

菏泽市立医院麻醉科, 山东 菏泽 274000

摘要: **目的** 比较结肠癌手术中使用七氟烷吸入麻醉与丙泊酚静脉麻醉对患者外周血 T 淋巴细胞亚群 CD₄₅ RA⁺ / CD₄₅ RO⁺ 表达的影响。**方法** 选择 2010 年 1 月至 2014 年 6 月根治性结肠癌切除术患者 50 例, 随机分为七氟烷吸入麻醉组 (A 组, $n=25$) 与丙泊酚静脉麻醉组 (B 组, $n=25$)。分别于入手术室吸氧后的基础值 (T₁)、手术结束时 (T₂)、术后 2 h (T₃)、术后 24 h (T₄) 和术后 72 h (T₅) 这 5 个时点抽取患者外周静脉血 2 ml, 采用流式细胞术直接免疫荧光标记技术测定 CD₄₅ RA⁺ T 淋巴细胞、CD₄₅ RO⁺ T 淋巴细胞, 计算 CD₄₅ RA⁺ / CD₄₅ RO⁺ 比值。用 Western blot 法检测 PD-1 蛋白的表达。**结果** 与基础值相比, 两组 T₂ 至 T₃ 时 CD₄₅ RA⁺ 和 CD₄₅ RO⁺ 逐渐降低, A 组 T₄ 至 T₅ 时 CD₄₅ RA⁺ 开始恢复, 而 CD₄₅ RO⁺ 活性仍降低, 导致 CD₄₅ RA⁺ / CD₄₅ RO⁺ 比值升高。B 组 T₄ 至 T₅ 时 CD₄₅ RA⁺ 和 CD₄₅ RO⁺ 均开始恢复, CD₄₅ RA⁺ / CD₄₅ RO⁺ 比值于 T₅ 时恢复至基础值水平, 与 A 组相比差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。两组术后 72 h T 淋巴细胞内 PD-1 表达与术前比较均明显降低 (P 均 < 0.01)。**结论** 七氟烷吸入与丙泊酚静脉麻醉均可用于结肠癌患者的手术治疗, 但七氟烷对 T 淋巴细胞亚群 CD₄₅ RO⁺ 有轻度抑制作用, 丙泊酚静脉麻醉优势更明显。

关键词: 七氟烷; 丙泊酚; T 淋巴细胞亚群; 结肠癌; CD₄₅ RA⁺; CD₄₅ RO⁺

中图分类号: R 735.3 R 614.2 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674-8182(2015)07-0917-04

结肠癌是临床上常见的消化道恶性肿瘤, 早期发现可以手术治愈^[1]。但由于结肠癌等肿瘤患者存在生理功能低下, 机体免疫能力降低, 对手术和麻醉的耐受能力差。在经腹或者腹腔镜手术中, 如果采用具有明显免疫抑制作用的麻醉药物, 可能会导致结肠癌患者术后结肠癌细胞迅速扩散, 并诱发广泛而严重的并发症, 加重病情, 影响预后^[2]。因此, 探寻更适合结肠癌患者, 能够促使其机体免疫功能恢复更迅速且更有效的麻醉方法, 提高整个手术过程中的麻醉质量, 保证麻醉过程及术中、术后的安全是麻醉医生高度重视和关注的问题。本文旨在探讨七氟烷吸入麻醉与丙泊酚静脉麻醉对结肠癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群 CD₄₅ RA⁺ / CD₄₅ RO⁺ 表达的影响, 以为临床麻醉用药提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 1 月至 2014 年 6 月根治性结肠癌切除术患者 50 例, 男性 30 例, 女性 20 例, 平均年龄 48.34 岁, 平均体质指数 (BMI) 17.23 ~ 25.18, ASA 为 II ~ III 级, 术前检查提示心肺功能均

正常, 未发现其他系统病变和免疫方面疾病, 未接受过免疫抑制剂等治疗。将患者随机分为两组, A 组为七氟烷吸入麻醉组, B 组为丙泊酚静脉麻醉组, 每组各 25 例。两组患者年龄、性别、BMI 等一般资料比较无统计学差异 (P 均 > 0.05)。见表 1。

1.2 麻醉方法 麻醉前 30 min, 两组患者均常规给予肌肉注射苯巴比妥钠 0.1 g, 东莨菪碱 0.3 mg, 入室后常规监测血压、心率、脉搏、血氧饱和度等指标。麻醉诱导依次给予静脉注射咪达唑仑 5 mg, 芬太尼 0.2 mg, 维库溴铵 6 mg, 利多卡因 50 mg, 异丙酚 100 mg, 注射完毕充分表麻后, 行气管插管机械通气。A 组吸入七氟烷, B 组靶控输注丙泊酚维持麻醉, 持续时间超过 2 h, 至关腹时停止吸入或输注, 术中间断静脉滴注芬太尼持续靶控输注, 维持麻醉平稳, 术中根据患者血流动力学变化及麻醉深度使用血管活性药物, 尽可能维持足够的麻醉深度, 术毕患者自主呼吸完全恢复, 清醒后即可拔管。

1.3 观察指标 两组患者分别于入手术室吸氧后的基础值 (T₁)、手术结束时 (T₂)、术后 2 h (T₃)、术后 24 h (T₄) 和术后 72 h (T₅) 这 5 个时点抽取患者外周静脉血 2 ml, 置入肝素处理的抗凝试管中, 采用美国库尔特公司的流式细胞术直接免疫荧光标记技术测定 CD₄₅ RA⁺ T 淋巴细胞和 CD₄₅ RO⁺ T 淋巴细胞, 并

计算出 $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 比值。

1.4 蛋白免疫印迹法 (Western blot) 检测程序性死亡分子 (programmed cell death 1, PD-1) 的表达 分别提取术前、术后 72 h 的 A、B 两组 T 淋巴细胞的总蛋白, 上样、凝胶电泳分离、转膜后, 加一抗室温孵育 2 h, 二抗室温孵育 1 h, 采用美国 Pierce 公司 Super Signal West Pico Chemiluminescent Substrate 试剂盒, 按照说明用凝胶成像仪自动曝光记录成像。以 β -actin 为内参, 计算比值, 得出 PD-1 蛋白的相对表达量。

1.5 统计学方法 采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较采用成组 t 检验, 组内多个时间点的比较采用方差分析及两两比较的 q 检验; 计数资料采用 χ^2 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患者手术情况比较 两组患者失血量、术中输液量、手术持续时间和术后血红蛋白含量比较均无统计学差异 (P 均 > 0.05)。见表 1。

2.2 两组患者各时间点外周血 T 淋巴细胞亚群 $CD_{45}RA^+$ 、 $CD_{45}RO^+$ 及 $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 比值检测结果的比较 麻醉前 T_1 时, 两组患者的外周血 T 淋巴细胞亚群 $CD_{45}RA^+$ 、 $CD_{45}RO^+$ 及 $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 比值之间无统计学差异 (P 均 > 0.05)。A 组 T 淋巴细胞亚群 $CD_{45}RA^+$ 从 T_2 开始下降, T_4 时降至最低, T_5 开始有所回升, 逐渐恢复到麻醉前水平; $CD_{45}RO^+$ 从 T_2 时开始下降, T_3 时显著下降, T_4 时下降至最低, T_5 时仍处于较低水平, 未恢复至麻醉前水平; $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 比值在 T_3 时开始升高, 至 T_5 时仍处于较高水平未恢复。B 组 T 淋巴细胞亚群 $CD_{45}RA^+$ 也是从 T_2 开始下降, T_3 时降至最低, T_4 时开始有所回升, 到 T_5 已逐渐恢复到麻醉前水平; $CD_{45}RO^+$

从 T_2 时开始下降, T_2 时显著下降, T_3 时下降至最低, T_4 时开始回升, T_5 时已逐渐恢复至麻醉前水平; $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 比值在 T_2 时稍有升高, T_4 时逐渐恢复正常, T_5 时已恢复麻醉前水平。两组的外周血 T 淋巴细胞亚群 $CD_{45}RA^+$ 在 5 个时间点差异均无统计学意义 (P 均 > 0.05)。 T_1 、 T_2 和 T_3 时, 两组 $CD_{45}RO^+$ 、 $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 比较无统计学差异 (P 均 > 0.05), 在 T_4 和 T_5 时, A 组 $CD_{45}RO^+$ 指标明显低于 B 组, A 组 $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 明显高于 B 组 (P 均 < 0.05)。见表 2。

2.3 两组患者 T 淋巴细胞中 PD-1 的表达 通过 Western Blot 检测, A 组术前 (0 h) PD-1 蛋白的表达为 $(0.96 \pm 0.12)\%$, 术后 72 h 为 $(0.41 \pm 0.09)\%$, B 组术前 PD-1 蛋白的表达为 $(1.17 \pm 0.38)\%$, 术后 72 h 为 $(0.5 \pm 0.07)\%$ 。两组术后 72 h T 淋巴细胞内 PD-1 表达与术前比较均明显降低 (P 均 < 0.01)。见图 1。

表 1 两组患者的一般资料及手术情况比较 ($n = 25, \bar{x} \pm s$)

项目	A 组	B 组	P 值
男/女 (例)	14/11	16/9	0.168
年龄 (岁)	48.45 \pm 0.31	49.03 \pm 0.45	0.932
BMI (kg/m ²)	22.65 \pm 0.63	21.48 \pm 0.97	0.531
失血量 (ml)	421.88 \pm 0.27	403.97 \pm 0.45	0.327
术中输液量 (ml)	1891.50 \pm 0.78	1900.03 \pm 0.85	0.762
手术持续时间 (h)	2.67 \pm 0.57	2.91 \pm 0.38	0.566
术后血红蛋白 (g/L)	110.33 \pm 0.20	108.28 \pm 0.67	0.378

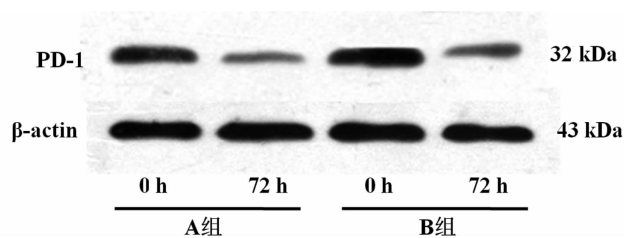


图 1 蛋白免疫印迹法检测 A、B 两组 T 淋巴细胞 PD-1 蛋白的表达

表 2 两组患者各时间点 $CD_{45}RA^+$ 、 $CD_{45}RO^+$ 、 $CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$ 的检测结果 ($n = 25, \bar{x} \pm s$)

项目	T_1	T_2	T_3	T_4	T_5
$CD_{45}RA^+$					
A 组	41.6 \pm 4.8	39.7 \pm 6.5	36.9 \pm 5.7	36.8 \pm 5.2	40.3 \pm 5.4
B 组	43.4 \pm 5.6	40.3 \pm 6.3	36.2 \pm 5.8	37.6 \pm 5.4	42.1 \pm 6.5
$CD_{45}RO^+$					
A 组	39.7 \pm 5.2	36.3 \pm 5.6	22.4 \pm 6.5	20.1 \pm 4.9	22.8 \pm 6.9
B 组	40.9 \pm 5.5	34.9 \pm 5.2	30.6 \pm 6.7	32.9 \pm 5.2*	39.9 \pm 5.8*
$CD_{45}RA^+/CD_{45}RO^+$					
A 组	1.1 \pm 0.2	1.1 \pm 0.2	1.6 \pm 0.3	1.8 \pm 0.3	1.8 \pm 0.7
B 组	1.1 \pm 0.7	1.2 \pm 0.8	1.2 \pm 0.9	1.1 \pm 0.6*	1.1 \pm 0.4*

注: 与 A 组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

在过去的 30 年里,结肠癌全国发病率显著上升,总病死率增加了近 20 个百分点,其中城市居民占绝大多数,上升幅度高达 30% 以上^[3]。结肠癌的发生和发展主要是家族、种群的遗传和外界环境因素长期相互作用的结果,是由结肠黏膜从非典型增长或腺瘤等病理改变演变而来的。研究表明,结肠癌的产生和形成可能需要 10 年时间,如果单一由内镜检查来辨认从腺瘤发展成侵袭性癌的过程就需要 5 年左右的时间^[4]。早期结肠癌可无任何临床症状,不易被患者及其家属发觉,因此早期治疗的最佳时间往往被错过。但如果一旦发现,早期的结肠癌经过正规的治疗,一般都可以治愈,而进展期的结肠癌则预后较差。随着分子技术和基因技术的高速发展,国内外已研发出许多用于诊断早期结肠癌的新方法和仪器,能够及时发现可治愈的癌前病变或早期癌。

手术是治疗结肠癌最有效也是最彻底的方法,但是结肠癌等肿瘤患者由于体内癌细胞增殖繁殖,影响正常细胞和组织发挥自身的功能,导致全身生理功能低下,机体免疫能力也逐渐降低,因此对手术和麻醉的耐受能力差^[5]。尽管不少研究显示,麻醉药对免疫功能的影响是暂时的且具有可逆性,停药后可很快恢复,但麻醉对机体免疫功能的影响也不容低估^[6]。在经腹或者腹腔镜手术过程中,如果对患者使用具有明显免疫抑制作用的麻醉药物,术后可能无法迅速恢复免疫功能,从而导致结肠癌细胞迅速扩散繁殖,并诱发更加严重的并发症,病情未得到缓解反而会加速恶化,影响患者术后预后^[7]。因此,使用能迅速恢复免疫功能又更有效的麻醉药物,不仅能提高手术中的麻醉质量,还能保障麻醉过程及手术前后的安全。

T 淋巴细胞是重要的免疫调节细胞,其中 CD₄₅RA⁺ 和 CD₄₅RO⁺ 对机体的细胞免疫和体液免疫都发挥着重要的调节作用。CD₄₅RA⁺ 细胞代表没有受到刺激的原始 T 细胞,其表面粘附分子表达低,缺乏定向移动能力,对再次抗原刺激无反应^[8]。CD₄₅RA⁺ 细胞是已经受到抗原刺激而产生分化的功能细胞,又称记忆 T 细胞,不仅表面粘附分子表达高,能直接向抗原部位移行,寿命也长,当抗原再次刺激时,可立即发生强烈的免疫应答^[9]。CD₄₅RA⁺/CD₄₅RO⁺ 比值的升高是疾病严重程度及预后不良的重要标志^[10-11]。因此,本研究就通过探讨检测外周血 T 淋巴细胞亚群 CD₄₅RA⁺/CD₄₅RO⁺ 的表达来比较七氟烷吸入麻醉与丙泊酚静脉麻醉对结肠癌患者术后免疫功能的影响。

PD-1 是新近发现的 B7 家族的协同分子,可协同

刺激促进 T 细胞增殖、分化和细胞因子的产生,以及为防止 T 细胞发生凋亡提供生存信号^[12]。丙泊酚和七氟烷给药后均显著降低 PD-1 的表达,提示两者对于免疫反应均有一定的抑制作用。

丙泊酚是一种镇静镇痛起效快、苏醒快且安全的新型短效静脉麻醉药,受术者在术中处于较为稳定的安静状态,腹肌保持松弛,提取病变结肠时牵拉疼痛消失,系膜撕裂或术中出血等并发症明显减少,提高了手术成功率,缩短了手术时间^[13]。七氟烷是一种新型的卤族吸入麻醉药,诱导作用快,苏醒也较快,麻醉深度容易调节,可控性良好,对循环的抑制作用轻,对心血管影响小,对呼吸道刺激也较小,并有一定的肌松作用^[14]。七氟烷诱导无兴奋期,入睡快,易被患者接受。目前较广泛的应用于临床麻醉^[15]。

本研究比较结肠癌患者手术麻醉维持使用七氟烷吸入或靶控输注丙泊酚的术后外周血 T 淋巴细胞亚型 CD₄₅RA⁺ 和 CD₄₅RO⁺ 的变化,结果表明靶控输注丙泊酚静脉麻醉和七氟烷吸入麻醉均可维持患者镇静和催眠深度的稳定状态,但术后发现七氟烷对患者 T 淋巴细胞 CD₄₅RO⁺ 抑制作用较持久,术后 72 h 仍处于抑制状态,且 CD₄₅RA⁺/CD₄₅RO⁺ 比值仍处于升高的状态,提示七氟烷吸入麻醉对 T 淋巴细胞亚群活性有一定的抑制作用,且作用持续时间较长,这样可能会导致术后免疫紊乱,免疫力下降,影响肿瘤患者的康复和预后。而丙泊酚静脉麻醉维持时,患者 CD₄₅RA⁺/CD₄₅RO⁺ 比值几乎未发生较大的波动,说明丙泊酚对患者免疫能力无明显影响,有研究甚至认为丙泊酚对患者免疫能力有保护作用。综上所述,丙泊酚静脉维持麻醉对结肠癌患者手术治疗中免疫功能的影响较小,比七氟烷吸入麻醉更有优势。

参考文献

- [1] Terzić J, Grivennikov S, Karin E, et al. Inflammation and colon cancer[J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(6): 2101-2114, e5.
- [2] West NP, Sutton K M, Ingeholm P, et al. Improving the quality of colon cancer surgery through a surgical education program[J]. *Dis Colon Rectum*, 2010, 53(12): 1594-1603.
- [3] West N, Morris E, Finan P, et al. Study to identify the optimum surgical technique in colon cancer[J]. *Lancet*, 2014, 383: S107.
- [4] Hung A, Mullins CD. Relative effectiveness and safety of chemotherapy in elderly and nonelderly patients with stage III colon cancer: a systematic review[J]. *Oncologist*, 2013, 18(1): 54-63.
- [5] Panis Y, Maggiori L, Caranhac G, et al. Mortality after colorectal cancer surgery: a French survey of more than 84,000 patients[J]. *Ann Surg*, 2011, 254(5): 738-744.
- [6] 季蒙,陶军,王庆利,等. 不同麻醉方式对直肠癌根治术患者免疫功能的影响[J]. *重庆医学*, 2013, 42(4): 385-387.

- [7] 王有恒. 不同麻醉方式对恶性肿瘤患者围麻醉期 T 淋巴细胞亚群的影响分析[J]. 中国医药导刊, 2011, 13(11): 1991 - 1992.
- [8] Di Mitri D, Azevedo RI, Henson SM, et al. Reversible senescence in human CD4 + CD₄₅RA⁺ CD27 - memory T cells[J]. J Immunol, 2011, 187(5): 2093 - 2100.
- [9] Wakatsuki K, Sho M, Yamato I, et al. Clinical impact of tumor - infiltrating CD₄₅RO⁺ memory T cells on human gastric cancer[J]. Oncol Rep, 2013, 29(5): 1756 - 1762.
- [10] Gurkan S, Luan Y, Dhillion N, et al. Immune reconstitution following rabbit antithymocyte globulin[J]. Am J Transplant, 2010, 10(9): 2132 - 2141.
- [11] Pujari R, Eligar SM, Kumar N, et al. CD45-mediated signaling pathway is involved in Rhizoctonia bataticola lectin (RBL)-induced pro-

liferation and Th1/Th2 cytokine secretion in human PBMC[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2012, 419(4): 708 - 714.

- [12] 汪龚泽, 刘朝奇. 干扰程序性死亡分子 1 及其配体信号通路的免疫治疗[J]. 生命科学, 2011, 23(1): 86 - 89.
- [13] 杨征波, 艾宇航, 刘志勇. 靶控输注丙泊酚在 ICU 患者镇静中的价值[J]. 中国医师杂志, 2013, 15(3): 363 - 365.
- [14] 颜景佳, 李扬亿, 柯国辉, 等. 七氟烷或丙泊酚联合瑞芬太尼用于全身麻醉的效果比较[J]. 中国基层医药, 2011, 18(20): 2741 - 2743.
- [15] Flouda L, Pandazi A, Papageorgiou C, et al. Comparative effects of sevoflurane and propofol based general anaesthesia for elective surgery on memory[J]. Arch Med Sci, 2013, 9(1): 105 - 111.

收稿日期: 2015 - 02 - 20 修回日期: 2015 - 03 - 11 编辑: 王宇

· 临床研究 ·

定量检测外周血白细胞 sTREM-1 mRNA 在不同程度肺挫伤中的表达及意义

陆志斌¹, 周存荣¹, 占根生¹, 吴卫兵², 徐晓晗², 吴延虎²

1. 南京市浦口区中心医院胸心外科, 江苏 南京 211800; 2. 江苏省人民医院胸心外科, 江苏 南京 210029

摘要: **目的** 探讨不同程度肺挫伤患者外周血白细胞可溶性髓样细胞触发受体-1 (soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1, sTREM-1) mRNA 的动态表达变化及其临床意义。**方法** 30 例健康体检者(A 组)为对照组。用反转录聚合酶链反应(RT-PCR)检测不同程度肺挫伤患者外周血白细胞 sTREM-1 mRNA 的表达水平, 包括轻度肺挫伤(B 组, 20 例)、中度肺挫伤(C 组, 16 例)、重度肺挫伤(D 组, 9 例), 并检测患者入院时及入院后第 1、3、7 天 sTREM-1 mRNA 表达的动态变化。**结果** 在同一时点, B→C→D 组 sTREM-1 mRNA 表达逐渐增高, 差异有统计学意义(P 均 < 0.01), 即随肺挫伤的加重 sTREM-1 mRNA 表达水平增高。同一组中, 从入院时到入院第 3 天, sTREM-1 mRNA 表达水平逐渐增高, 差异有统计学意义(P 均 < 0.05); 至入院第 7 天其表达水平下降至入院时水平, 但中、重度肺挫伤仍高于对照组(A 组), 差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。**结论** 外周血白细胞 sTREM-1 的表达变化与肺挫伤严重程度密切相关, 并随着病情好转而降低。

关键词: 可溶性髓样细胞触发受体-1; 外周血; 白细胞; mRNA; 肺挫伤

中图分类号: R 655.3 **文献标识码:** B **文章编号:** 1674 - 8182(2015)07 - 0920 - 03

肺挫伤是临床常见胸部外伤, 其病理机制主要有创伤组织的损伤、炎症反应、肺微血管通透性增加、肺水肿、表面活性物质功能障碍, 导致肺通气及换气功能障碍, 严重者可出现急性肺损伤(ALI)或急性呼吸窘迫综合征(ARDS)^[1-2]。不同程度肺挫伤患者血清可溶性髓样细胞触发受体-1 (soluble triggering receptor expressed on myeloid cell-1, sTREM-1) 表达变化与病情有关。本研究进一步探讨定量检测外周血白细胞 sTREM-1 mRNA 在不同程度肺挫伤中的表达变

化及意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择我院 2013 年 8 月至 2014 年 12 月收治的肋骨骨折合并肺挫伤 45 例, 男 30 例, 女 15 例; 年龄 23 ~ 76 岁, 平均(48.3 ± 11.3) 岁。按照简明损伤定级标准 2005 版(AIS2005)对患者入院情况进行评分。研究对象入选标准: (1) 年龄 ≥ 18 周岁; (2) 非妊娠期女性; (3) 有明确外伤史, 肺挫伤者简明创伤分级标法(AIS) ≥ 2, 胸部以外损伤 AIS ≤ 3; (4) 受伤前无急、慢性感染性疾病; (5) 无慢性系统性疾病或恶性肿瘤病史。所有患者伤后至送达医院就