

- [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 + CD<sub>45</sub>RA<sup>+</sup> 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 CD<sub>45</sub>RO<sup>+</sup> 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<sup>1</sup>, 周存荣<sup>1</sup>, 占根生<sup>1</sup>, 吴卫兵<sup>2</sup>, 徐晓晗<sup>2</sup>, 吴延虎<sup>2</sup>

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)<sup>[1-2]</sup>。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

诊时间为 30 min ~ 4 h, 入院时均行胸部三维 CT 扫描确诊肋骨骨折合并肺挫伤。肺挫伤的严重程度分级标准: (1) 轻度: AIS = 2 分, 肺挫伤局限于一叶, 无低氧血症或 ALL/ARDS; (2) 中度: AIS = 3 分, 肺挫伤一叶以上, 无低氧血症或 ALL/ARDS; (3) 重度: AIS > 3 分, 肺挫伤一叶或以上, 伴低氧血症或 ALL/ARDS。低氧血症的诊断标准: 不吸氧时血气分析 PaO<sub>2</sub> < 60 mm Hg (1 mm Hg = 0.133 kPa)。ALL/ARDS 的诊断标准<sup>[3]</sup>: (1) 呼吸频数 ≥ 20 次/min 和 (或) 呼吸窘迫; (2) 血气分析: PaO<sub>2</sub>/FiO<sub>2</sub> ≤ 200 mm Hg; (3) 胸部 X 线或 CT 检查肺内浸润阴影。45 例患者中 20 例为轻度肺挫伤 (B 组), 16 例为中度肺挫伤 (C 组), 9 例为重度肺挫伤 (D 组)。选择同期 30 例健康体检者为对照组 (A 组), 其中男 17 例, 女 13 例; 年龄 (49.8 ± 11.0) 岁。入院后主要予吸氧、止血、祛痰、止痛、抑酸等对症治疗; 监测动脉血气变化。并发血气胸行胸腔闭式引流者 20 例, 8 例行呼吸机辅助呼吸, 手术干预 9 例。所有患者均成功治愈出院, 均未使用抗生素常规治疗; 无继发肺部感染, 无死亡病例。此项研究获得医院伦理委员会通过, 所有患者及家属均充分知情同意。

1.2 标本采集与检测

1.2.1 标本采集与保存 对照组及肺挫伤患者在受伤入院时、入院后 1、3、7 天取外周静脉血 3 ml 并肝素抗凝处理, 使用红细胞裂解液 10 ml 处理 5 min, 1 500 rpm/min 离心 5 min, 取细胞沉淀, 加入 Hank's 液离心洗 2 ~ 3 次, 置 -80 °C 冰箱保存待测。

1.2.2 RNA 提取和定量反转录聚合酶链反应 (RT-PCR) 检测 收集的外周血白细胞用 Trizol (美国 Invitrogen 公司) 法提取总 RNA, 将 mRNA 使用 Prime-Script™ RT-PCR Kit (日本 Takara 公司) 反转录为 cD-

NA 后 ABI-7500 荧光定量 PCR 仪检测 (美国 ABI 公司)。TREM-1 荧光定量 PCR 引物: 正向引物为正向引物为 5'-GCCGCTGTAAACATCCTACACT-3', 反向引物为 5'-GTGCAGGGTCCGAGGT-3'; β-actin 荧光定量 PCR 引物: 正向引物为 5'-CTTGGCAGATAATAAGG-GACGG-3', 反向引物为 5'-CGGACGCGCAGTAAAC-CAT-3'。引物由上海生工公司合成, PCR 总反应体系为 20 μl, 包括 2 × SYBR Greenmi × 10 μl, 10 pmol/L 上下游引物 0.4 μl, cDNA 样本 1 μl, 双蒸水 (ddH<sub>2</sub>O) 补足至 20 μl。荧光定量 PCR 反应条件: 第 1 步, 95 °C 预变形 5 min; 第 2 步, 95 °C 15 s、60 °C 15 s、72 °C 30 s, 共 40 个循环。熔解曲线的反应条件: 95 °C 15 s, 60 °C 1 min, 95 °C 15 s。在 ABI Prism7500 Sequence Detector System (美国 ABI 公司产品) 中进行实时荧光定量 PCR 检测。用相对定量公式计算, 公式: 目的基因表达水平 = 目的基因拷贝数/β-actin 拷贝数。所有实验均独立重复 3 次。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计学软件进行数据处理。计量数据均以  $\bar{x} \pm s$  表示。多组间计量资料的比较采用多变量重复测量方差分析, 两两比较采用 LSD-*t* 检验。P < 0.05 为差异有统计学意义

2 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)。见表 1。

表 1 不同程度肺挫伤外周血白细胞 sTREM-1 mRNA 表达变化 (2<sup>-ΔCt</sup> × 10<sup>3</sup>,  $\bar{x} \pm s$ )

分组	例数	入院时	入院后第 1 天	入院后第 3 天	入院后第 7 天	P 值
B 组	20	0.35 ± 0.12	0.42 ± 0.14*	0.53 ± 0.08*	0.25 ± 0.06	<0.05
C 组	16	1.23 ± 0.13 <sup>Δ</sup>	1.95 ± 0.16 <sup>Δ</sup>	2.18 ± 0.18 <sup>Δ</sup>	0.45 ± 0.07*	<0.05
D 组	9	2.23 ± 0.18 <sup>Δ</sup>	3.57 ± 0.21 <sup>Δ</sup>	4.46 ± 0.26 <sup>Δ</sup>	2.16 ± 0.32 <sup>Δ</sup>	<0.05
A 组	30	-	0.26 ± 0.12	-	-	-
P 值		<0.01	<0.01	<0.01	<0.01	

注: 与对照组比较, \*P < 0.05, <sup>Δ</sup>P < 0.01。

3 讨论

sTREM-1 是 2000 年由瑞士 Bouchon 等发现的与炎症相关的免疫球蛋白超家族成员, 主要表达于中性粒细胞、单核细胞及巨噬细胞等<sup>[1,4]</sup>。其信号传导通路及发挥的生物学效应主要有以下几种<sup>[1,4-6]</sup>:

(1) 通过 ZEBRA 蛋白 70 与酪氨酸激酶 (SyK) 参与介导的信号通路, TREM-1/DAP12 能激活磷脂酰肌醇-3 激酶 (PI3K) 和细胞外信号调节激酶 (ERK), 引起胞外 Ca<sup>2+</sup> 向细胞内转移<sup>[7]</sup>; (2) 通过 TREM-1/MAPK 途径, 使得 NF-κB 等转录因子激活, 促进多种炎症介质的分泌, 如白介素-6、肿瘤坏死因子 (TNF)-α、白介

素-1 等; (3) 通过 TREM-1/TOLL 样受体途径, 激发炎症因子释放, 抑制抗炎因子白介素-10 分泌。肺挫伤即是肺实质的炎症反应应答。这种炎症反应是由直接或间接的肺部损伤触发, 包括一系列的细胞因子、趋化因子、氧自由基、花生四烯酸代谢物等<sup>[6,8]</sup>。在各种形式的肺挫伤中, 中性粒细胞的重要性是被广泛认可的, 气道和肺泡的上皮细胞也受到损伤<sup>[8]</sup>, 这些都会促进 ALI 或 ARDS 的发生。中性粒细胞假说认为: 中性粒细胞凋亡是炎症反应的关键, 持续的中性粒细胞凋亡会加重炎症的损害作用<sup>[1,9]</sup>。通过对 TREM-1/3 缺陷小鼠模型的研究发现<sup>[10]</sup>, 在基因敲除 TREM-1/3 后, 小鼠由铜绿假单胞菌诱发的肺炎发病率明显增高。TREM-1/3 的缺失反而增加了局部和全身炎症因子的产生, 使得中性粒细胞表现出了完美的趋化和吞噬作用。提出在肺部炎症中, TREM-1 有助于中性粒细胞迁移到气道上皮而发挥作用。

本研究旨在通过对外周血白细胞(中性粒细胞、淋巴细胞、巨噬细胞等) sTREM-1 mRNA 进行定量检测, 以探讨 sTREM-1 mRNA 的表达变化与肺挫伤之间的关系。结果显示, sTREM-1 mRNA 表达的变化在疾病早期与肺挫伤的严重程度成正相关, 入院第 3 天后达到高峰值, 随着病情好转在入院后第 7 天时明显降低<sup>[11]</sup>。Qian 等<sup>[12]</sup>对外周血白细胞 TREM-1 mRNA 及血清 sTREM-1 的检测显示, 新生儿阶段中性粒细胞已表达 TREM-1, 与成人健康对照组水平相当; 新生儿败血症时表达明显增加, 与 TNF- $\alpha$  的增加呈正相关<sup>[11,13]</sup>。作者前期的研究显示, 肺挫伤时血清 sTREM-1 的峰值出现更早(伤后入院时); 而外周血白细胞 sTREM-1 mRNA 的峰值出现较晚(入院第 3 天)。其内在关系, 可能与上述提到的信号通路有关, 仍需进一步深入研究。

综上所述, 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, 随着病情好转而降低。因缺失病情加重或死亡病例的研究, 使得对 sTREM-1 在肺挫伤中的认识仍不全面。但通过其他疾病和基础研究表明<sup>[11-13]</sup>, 阻断 TREM-1 信号转导通路可降低白细胞炎症反应, 有望成为炎症治疗的新策略。

## 参考文献

- [1] Raghavendran K, Notter RH, Davidson BA, et al. Lung contusion: inflammatory mechanisms and interaction with other injuries [J]. Shock, 2009, 32(2): 122-130.
- [2] 胡盛寿. 胸心外科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2014: 13.
- [3] 中华医学会重症医学分会. 急性肺损伤/急性呼吸窘迫综合征诊断与治疗指南(2006) [J]. 中华内科杂志, 2007, 46(5): 430-435.
- [4] 姚瀚鑫, 续薇, 许建成. 髓样细胞触发受体-1 的研究进展 [J]. 临床检验杂志, 2011, 29(5): 368-370.
- [5] Pelham CJ, Agrawal DK. Emerging roles for triggering receptor expressed on myeloid cells receptor family signaling in inflammatory diseases [J]. Expert Rev Clin Immunol, 2014, 10(2): 243-256.
- [6] Genua M, Rutella S, Correale C, et al. The triggering receptor expressed on myeloid cells (TREM) in inflammatory bowel disease pathogenesis [J]. J Transl Med, 2014, 12(1): 293.
- [7] Hamerman JA, Ni M, Killebrew JR, et al. The expanding roles of ITAM adapters FcRgamma and DAP12 in myeloid cells [J]. Immunol Rev, 2009, 232(1): 42-58.
- [8] Boufenzar A, Sennoun N, Bouazza Y, et al. Role of TREM-1 in endothelial dysfunction during experimental sepsis [J]. Crit Care, 2012, 16(3): 49.
- [9] Klesney-Tait J, Keck K, Li X, et al. Trans epithelial migration of neutrophils into the lung requires TREM-1 [J]. J Clin Invest, 2013, 123(1): 138-149.
- [10] Saurer L, Rihs S, Birrer M, et al. Elevated levels of serum-soluble triggering receptor expressed on myeloid cells-1 in patients with IBD do not correlate with intestinal TREM-1 mRNA expression and endoscopic disease activity [J]. J Crohns Colitis, 2012, 6(9): 913-923.
- [11] Bingold TM, Pullmann B, Sartorius S, et al. Soluble triggering receptor on myeloid cells-1 is expressed in the course of non-infectious inflammation after traumatic lung contusion: a prospective cohort study [J]. Crit Care, 2011, 15(2): R115.
- [12] Qian L, Weng XW, Chen W, et al. TREM-1 as a potential therapeutic target in neonatal sepsis [J]. Int J Clin Exp Med, 2014, 7(7): 1650-1658.
- [13] Mihailidou I, Pelekanou A, Pistiki A, et al. Dexamethasone Down-Regulates Expression of Triggering Receptor Expressed on Myeloid Cells-1: Evidence for a TNF $\alpha$ -Related Effect [J]. Front Public Health, 2013, 1: 50.

收稿日期: 2015-02-27 编辑: 王国品