

DOI:10.3724/SP.J.1008.2010.01146

• 短篇论著 •

外周血 CD4⁺T 细胞的 ATP 含量与肝移植后早期感染的相关性

Relationship of ATP contents in peripheral blood CD4⁺T lymphocytes with early infection after liver transplantation

董家勇¹, 李瑞东¹, 殷浩¹, 郭闻渊¹, 林峰¹, 邹游¹, 张晓军¹, 吴幼民², 丁国善¹, 傅志仁¹, 王正昕^{1*}

1. 第二军医大学长征医院器官移植科, 全军器官移植研究所, 上海 200003

2. University of Arkansas for Medical Sciences(UAMS), Fayetteville of Arkansas 72701, USA

[摘要] **目的** 探讨 CD4⁺T 细胞的 ATP 含量与肝移植术后早期(术后 1 个月内)感染的相关性。**方法** 采集 85 例肝移植患者、60 名健康志愿者(对照组)的全血标本, 术前、术后 1、2、4 周及感染当日和经治疗后体温正常 3 d 各 1 份; 用 ImmunoKnowTM 免疫细胞功能测定试剂盒检测 CD4⁺T 细胞的 ATP 值。**结果** 感染组 ATP 值在术前较低, 术后第 1 周达到低谷, 显著低于同期非感染组($P < 0.01$)。经 ROC 曲线分析, 术后第 1 周的低 ATP 值对诊断肝移植术后感染具有较好的敏感度和特异度; 当截断值为 161 $\mu\text{g/L}$ 时, 其诊断感染的敏感度为 85%, 特异度为 91%。感染当日的 ATP 含量降低与感染具有良好的相关性, 经抗感染治疗体温正常 3 d 后, 其 ATP 值较感染当日明显升高($P < 0.01$)。**结论** 肝移植术后早期 CD4⁺T 细胞的 ATP 值动态变化与肝移植术后感染具有良好的相关性, 监测肝移植术后患者该指标对评估其免疫状态、预防和诊治感染具有一定价值。

[关键词] 肝移植; 感染; CD4⁺T 淋巴细胞; 三磷酸腺苷

[中图分类号] R 657.3

[文献标志码] B

[文章编号] 0258-879X(2010)10-1146-03

肝移植是目前终末期肝病的唯一根治手段, 而术后感染(infection, INF)是肝移植术后的主要并发症之一。细胞介导的免疫反应(cell-mediated immunity, CMI)在移植术后 INF 和急性排斥反应的发生过程中起重要作用。临床上可通过应用经美国食品与药品管理局(FDA)认证的 ImmunoKnowTM 免疫细胞功能测定试剂盒检测患者外周血 CD4⁺T 细胞受刺激后所释放的三磷酸腺苷(ATP)含量, 来判断机体的 CMI 状态。美国多中心临床试验结果显示, 该试剂盒所测定的 CD4⁺T 细胞内 ATP 含量与移植术后的机体免疫状态具有良好的相关性, 可以作为监测器官移植术后免疫状态的参考指标^[1-3]。本研究采用 ImmunoKnowTM 免疫细胞功能测定试剂盒动态检测肝移植患者在术前及术后早期 CD4⁺T 细胞内 ATP 含量的变化, 研究其与术后 INF 的发生、发展及治疗后的关系, 探讨其在早期诊断和预防术后 INF 发生中的价值。

1 材料和方法

1.1 一般资料及试验分组 选取 2009 年 2 月至 2010 年 1 月在我院因终末期肝病行经典原位肝移植术的住院患者 85 例, 男 64 例, 女 21 例, 年龄 33~64 岁, 平均(42.5 ± 3.54)岁。受体原发疾病: 原发性肝癌 30 例, 乙肝后肝硬化 44 例, 原发性胆汁性肝硬化 6 例, 酒精性肝硬化 1 例, 急性重症肝

炎 4 例。供、受体 A、B、O 血型均相同。根据术后临床表现、体温升高及痰、中段尿、胸腹水及胆汁培养等病原学检查结果, 确定术后 1 个月内[(15 ± 7) d]发生感染 18 例为 INF 组, 非感染(non-infection, NINF)组 67 例(术后发生急性排斥反应 14 例患者未列入统计分析)。另选本院 60 例健康志愿者作为对照, 其中男 34 例, 女 26 例, 平均年龄(33 ± 11)岁。

1.2 免疫抑制剂治疗方案 所有患者术后均采用他克莫司(FK506) + 麦考酚吗乙酯(MMF) + 甲泼尼龙的三联疗法。FK506 剂量为 0.05~0.10 mg/kg, 每 12 h 口服 1 次; 术中无肝期予甲泼尼龙 500 mg 静脉滴注, 术后第 1 天甲泼尼龙 240 mg/d 静脉滴注, 第 2 天 200 mg/d, 以后每日减量 40 mg, 术后第 7 天开始口服泼尼松 20 mg/d, 术后 1 个月停用; MMF 0.5 g, 每 12 h 口服 1 次, 白细胞和(或)血小板降低(白细胞小于 $4 \times 10^9/L$, 血小板 $< 50 \times 10^9/L$)时停用 MMF。

1.3 CD4⁺T 细胞的 ATP 值检测 留取所有患者术前、术后 1、2、4 周的全血标本各 3 ml, 按照 ImmunoKnowTM 试剂盒(美国 Cylex 公司产品)说明书进行操作, 在全血样本收集后 6 h 内按 1:4 稀释全血液进行淋巴细胞刺激培养, 在 37℃、5%CO₂ 条件下孵化 15~18 h 后测定 CD4⁺T 细胞的 ATP 值。对照组于进入研究时间检测。INF 组患者加测 INF 当日和经治疗后

[收稿日期] 2010-06-06 **[接受日期]** 2010-07-10

[基金项目] 国家科技支撑计划课题(2008BAI60B03), 上海市科委科研项目(08410701100). Supported by Supporting Program of National Technological Foundation of China (2008BAI60B03) and Research Program of the Natural Science Foundation of Shanghai Municipal Government (08410701100).

[作者简介] 董家勇, 硕士. E-mail: jydong123@yahoo.cn

* 通讯作者(Corresponding author). Tel: 021-81885746, E-mail: wangzhxk@hotmail.com

体温正常3 d全血标本中的ATP值,方法同前。

1.4 移植后INF的诊断 记录肝移植术后患者的临床症状,定时测量体温,定期复查血、尿、便常规,对于存在不明原因发热的患者进行胸部X线和腹部超声检查,同时进行痰、中段尿、胸腹水及胆汁培养等病原学检查。术后INF的诊断均符合国家卫生部2001年制定的《医院感染诊断标准》^[4]。

1.5 统计学处理 采用SPSS 16.0软件对数据进行统计学处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示,ATP含量的组间比较采用方差分析,ATP含量与INF的相关性用Pearson检验,ROC曲线判断低ATP值诊断INF的敏感度与特异度,检验水平(α)为0.05。

2 结果

2.1 患者CD4⁺T细胞ATP值的变化 结果(图1)表明:INF组术前ATP值较低,术后第1周达到低谷,显著低于同期NINF组($P < 0.01$)。术后第2周ATP值升高,与同期NINF组无显著差异。术后第4周两组均降低到较低水平,与对照组相比显著降低($P < 0.01$)。

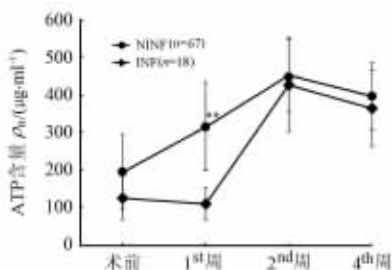


图1 术前、术后1、2和4周的INF组与NINF组的ATP值均数比较

** $P < 0.01$ 与INF组相比; $\bar{x} \pm s$

2.2 ATP值测定的诊断价值 结果(图2)表明:经ROC曲线分析,术后第1周的低ATP值对诊断肝移植术后早期INF具有较好的敏感度和特异度,其曲线下面积为92.5%;当截断值为161 $\mu\text{g/L}$ 时,其诊断INF的敏感度为85%,特异度为91%。

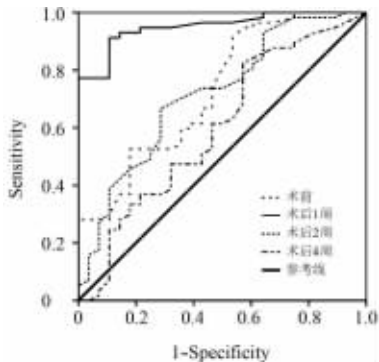


图2 术后4周ATP值诊断早期INF的ROC曲线

2.3 ATP值与感染发生的相关性分析 结果(图3)表明:INF组患者发生感染当日的ATP值为(115 \pm 87) $\mu\text{g/L}$,较对照组的(462 \pm 145) $\mu\text{g/L}$ 明显降低($P < 0.05$)。相关分析表明,INF组感染当日的ATP含量降低($< 115 \mu\text{g/L}$)时,感

染发生风险明显增加,比值比(OR)为11.5,95%可信区间为4.2~31.5($P < 0.01$)。经抗感染治疗体温正常3 d后,其ATP值为(408 \pm 92) $\mu\text{g/L}$,较INF当日明显升高($P < 0.01$)。

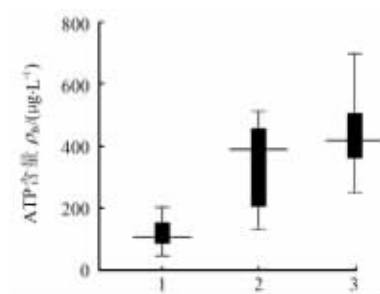


图3 INF当日、经治疗体温正常3 d后和对照组的ATP值均数比较

INF组($n=18$),对照组($n=60$); $\bar{x} \pm s$ 。1: INF当日;2: INF经治疗体温正常3 d后;3: 对照组

3 讨论

肝移植术后患者早期INF发生率为36%~80%^[5-6],由于患者移植术后处于免疫抑制状态,如感染得不到有效控制,病情发展迅速,病死率高。由于移植术后早期急性排斥反应与感染有类似的临床表现,以发热、肝功能异常为主,给诊断带来困难,而且抗感染治疗与免疫抑制治疗如何兼顾往往使临床医师面临两难的选择。所以评估移植术后免疫功能状态,及时调整免疫抑制剂用量,指导个体化用药,对预防和早期诊治INF尤为重要。临床上常通过检测免疫抑制剂(他克莫司、环孢霉素等)的血药浓度来监测移植受体的免疫功能状况。然而,患者的血药浓度会因为个体的代谢水平不同、是否联用其他免疫抑制药物、抗生素等而出现较大差异,与患者的服药剂量并不完全正相关^[7],而且免疫抑制药物的血药浓度与药物效力也没有必然关系^[8]。检测全血标本中CD4⁺T细胞的ATP值可以很好地反映受试者当时的CMI状态,当移植受体因INF导致CMI降低时,外周血CD4⁺T细胞的ATP值也明显降低^[9]。虽然不同个体间外周血免疫细胞的ATP值存在较大差异,但对于健康个体和移植后免疫状态稳定的个体,其值基本稳定。美国的多中心研究结果显示,健康人的ATP值为(433 \pm 148) $\mu\text{g/L}$,和本中心健康对照组(462 \pm 145) $\mu\text{g/L}$ 的结果基本相符^[10-11]。

目前国内、外对检测肝移植术后早期ATP值的动态变化与INF发生关系研究甚少。本研究结果显示:在肝移植术后早期,INF组术前、术后第1周的ATP值显著低于同期NINF组,第1周低ATP值可作为诊断肝移植术后早期INF发生的敏感指标。当术前ATP值较低,术后第1周ATP值继续降低,且低于161 $\mu\text{g/L}$ 时,患者发生INF的风险显著增加,应高度警惕INF的发生。通过进一步研究发现,INF当日低ATP值与感染有良好的相关性。以上结果表明,当术前ATP值较低,术后第1周ATP值继续降低($< 161 \mu\text{g/L}$)时,无论患者体温是否升高,最好及时适当调整免疫抑制剂的用量,延长抗生素的使用时间,可预防INF发生。对于术

后发生体温升高,肝功能轻度异常而难以判断 INF 和免疫排斥时,可通过检测 CD4⁺T 细胞 ATP 值指导个体化治疗。如 ATP 值较低(<115 μg/L),可适当降低免疫抑制剂的用量,同时积极采集血液、各种分泌物及引流液等标本进行病原菌的分离培养,尽早发现病原体、了解药敏情况,进而指导临床选择合适的抗生素进行有效的治疗,预防 INF 进一步加重;如患者伴有发热,甚至可考虑暂停免疫抑制剂的应用,应用丙种球蛋白或胸腺肽等提高免疫力,待感染控制、免疫力提高后再逐步恢复应用免疫抑制剂。因此,肝移植术后早期监测外周血 CD4⁺T 细胞 ATP 值的动态变化,对评估患者免疫功能状态、预防和诊治 INF 具有提示意义。

肝移植患者术前肝功能多处于衰竭状态,全身器官均有不同程度功能受损,手术时间长、创伤大、术中大量输血输液,加之术后免疫抑制剂的使用、各种引流管的放置、低蛋白血症、呼吸机的长时间使用、围手术期抗生素的使用情况等都可能成为术后发生感染的高危因素^[12],而移植术后免疫抑制剂的应用是一种可调节因素,对移植术后感染的控制具有重要意义。本中心对 6 例肝移植术后发生重症感染患者的治疗中,通过动态监测其外周血 T 细胞的免疫功能变化(ATP 值、CD4⁺计数、CD4⁺/CD8⁺比值),指导免疫抑制剂的合理应用和加强支持治疗,使感染达到有效控制,6 例重症感染患者均得到有效治疗,无 1 例发生免疫排斥反应^[13]。本中心目前仅通过小样本资料研究发现肝移植患者术后早期外周血 CD4⁺T 细胞 ATP 含量的动态变化与感染具有良好的相关性,结论仍有待大样本和更进一步的研究证实。

[参考文献]

[1] Tippner C, Nashan B, Hoshino K, Schmidt-Sandte E, Akimaru K, Böker K H, et al. Clinical and subclinical acute rejection early after liver transplantation; contributing factors and relevance for the long-term course[J]. *Transplantation*, 2001, 72: 1122-1128.

[2] Israeli M, Klein T, Sredni B, Avitzur Y, Mor E, Bar-Nathen N, et al. Immuknow; a new parameter in immune monitoring of pediatric liver transplantation recipients [J]. *Liver Transpl*, 2008, 14: 893-898.

[3] Israeli M, Yussim A, Mor E, Sredni B, Klein T. Preceding the rejection: in search for a comprehensive post-transplant immune monitoring platform[J]. *Transpl Immunol*, 2007, 18: 7-12.

[4] 中华人民共和国卫生部. 医院感染诊断标准(试行)[J]. *中华医学杂志*, 2001, 81: 314-320.

[5] Singh N. Infectious diseases in the liver transplant recipient[J]. *Semin Gastrointest Dis*, 1998, 9: 136-146.

[6] Wade J J, Rolando N, Hayllar K, Philpott-Howard J, Casewell M W, Williams R. Bacterial and fungal infections after liver transplantation; an analysis of 284 patients[J]. *Hepatology*, 1995, 21: 1328-1336.

[7] Venkataramanan R, Shaw L M, Sarkozi L, Mullins R, Pirsch J, MacFarlane G, et al. Clinical utility of monitoring tacrolimus blood concentrations in liver transplant patients[J]. *J Clin Pharmacol*, 2001, 41: 542-551.

[8] Rovira P, Mascarell L, Truffa-Bachi P. The impact of immunosuppressive drugs on the analysis of T cell activation[J]. *Curr Med Chem*, 2000, 7: 673-692.

[9] Hooper E, Hawkins D M, Kowalski R J, Post D R, Britz J A, Brooks K C, et al. Establishing pediatric immune response zones using the Cylex Immuknow assay[J]. *Clin Transplant*, 2005, 19: 834-839.

[10] Kowalski R, Post D, Schneider M C, Britz J, Thomas J, Deierhoi M, et al. Immune cell function testing: an adjunct to therapeutic drug monitoring in transplant patient management[J]. *Clin Transplant*, 2003, 17: 77-88.

[11] Kowalski R J, Post D R, Mannon R B, Sebastian A, Wright H I, Sigle G, et al. Assessing relative risks of infection and rejection: a meta-analysis using an immune function assay[J]. *Transplantation*, 2006, 82: 663-668.

[12] Fishman J A. Infection in solid-organ transplant recipients[J]. *N Engl J Med*, 2007, 357: 2601-2614.

[13] 李瑞东, 殷浩, 傅宏, 王正昕, 马钧. 细胞免疫功能测定在肝移植术后早期真菌感染防治中的应用[J]. *中华器官移植杂志*, 2010, 31: 287-291.

[本文编辑] 贾泽军