

· 论著 ·

# 乌司他丁对重症脓毒症患者的疗效及其作用机制的研究

方 强, 陈 朴

**摘要:** **目的** 评价乌司他丁对重症脓毒症患者的疗效和安全性,并通过观察患者细胞因子的变化来探讨其作用机制。**方法** 56例重症脓毒症患者随机均分为乌司他丁组(U组)与对照组(C组),在相同的常规治疗基础上,U组给予乌司他丁针剂20万U静脉注射,2次/d,持续5d。C组则给予同等量的生理盐水作为安慰剂对照。在治疗前、治疗后24、48、120h进行APACHE II评分,同时抽取右侧桡动脉血测定肿瘤坏死因子 $\alpha$ (TNF- $\alpha$ )、白介素1 $\beta$ (IL-1 $\beta$ )、白介素4(IL-4)、白介素6(IL-6)和白介素10(IL-10)的浓度,并统计两组患者的28d病死率。**结果** 治疗前两组患者APACHE II病情严重度评分值相似( $P > 0.05$ ),治疗后两组患者APACHE II评分值均有下降,但U组患者的分值下降较C组快。U组患者28d的病死率为28.6%(8/28)低于C组的57.1%(16/28),差异有显著性( $P < 0.05$ )。细胞因子检测的结果显示,U组患者的TNF- $\alpha$ 的血清浓度在48h内即明显下降,与C组相比,差异有显著性( $P < 0.05$ );U组患者IL-6的浓度在治疗后也较C组下降明显,并在治疗后120h两组差异有显著性( $P < 0.05$ );U组患者IL-10浓度在治疗后明显上升,两组差异有非常显著性( $P < 0.01$ )。**结论** 乌司他丁能够改善脓毒症患者的病情,降低病死率,可能与其降低脓毒症患者血中促炎因子TNF- $\alpha$ 、IL-6的水平,升高抑炎因子IL-10的水平有关。

**关键词:** 乌司他丁; 重症脓毒症; 细胞因子; APACHE II评分

中图分类号:R515.3 文献标识码:A 文章编号:1009-7708(2005)01-0013-04

## A Study on clinical efficacy of ulinastatin in severe sepsis patients and its mechanism of action

FANG Qiang, CHEN Pu. (Department of ICU, The First Affiliated Hospital Zhejiang University, School of Medicine, Hangzhou 310003, China)

**Abstract:** **Objective** To evaluate the efficacy and safety of ulinastatin in patients with severe sepsis and investigate its mechanisms of action. **Methods** Fifty-six patients were randomly divided into ulinastatin treatment group (group U) and control group (group C). Patients in group U received ulinastatin 200 000 units intravenous twice a day for 5 days, while those in group C received equal quantity of normal saline as placebo. Before treatment and at 24 th, 48 th, 120 th hour after start of treatment, APACHE II scores were recorded. The blood concentration of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), interleukin-6 (IL-6), interleukin-4 (IL-4), interleukin-10 (IL-10) were determined. Mortality rate was compared at 28 days after treatment between the two groups. **Results** The APACHE II scores in both groups decreased during the treatment, and there was significant difference between the two groups on 5 th day of treatment. The APACHE II scores of group U was lower than that of group C. The 28-day mortality rate was 28.6% (8/28) in group U, while that of group C was 57.1% (16/28), there was a significant difference between the two groups. No severe adverse reaction in group U was observed. The concentration of TNF- $\alpha$  in group U patients decreased more markedly than that in group C of 24 to 48 hours after treatment as well as IL-6 at 48 hours. However, blood concentration of TNF- $\alpha$  and IL-10 increased more markedly in group U than that in group C, blood level of IL-4 between the two groups were not significantly different during treatment. **Conclusions** Ulinastatin improves patient's

作者单位:浙江大学医学院附属第一医院重症监护科,杭州 310003。

作者简介:方强(1956-),男,主任医师,硕士,主要从事危重病医学研究。

通讯作者:方强, E-mail:fangqicu@hzcnc.com。

condition and reducing 28-day mortality of severe sepsis patients. Ulinastatin can decrease the blood concentration of TNF- $\alpha$  and IL-6 and increase the blood level of IL-10 in patients with severe sepsis. It is a safe and affordable drug for the treatment of severe sepsis.

**Key words:** Ulinastatin; Severe sepsis; Cytokine; APACHE II score

脓毒症在临床上较为常见,是由感染引起的全身炎症反应综合征,当伴发器官功能障碍时则称为重症脓毒症<sup>[1]</sup>。研究发现,细胞因子在脓毒症的病理生理过程中起决定性作用<sup>[2]</sup>。本研究观察乌司他丁对重症脓毒症患者的疗效和安全性及其对细胞因子的影响,并探讨其作用机制。

## 对象与方法

### 一、病例及分组

根据 2001 年国际脓毒症会议讨论制定的脓毒症诊断标准<sup>[3]</sup>,收集自 2003 年 9 月 1 日至 2004 年 2 月 15 日本院重症监护中心收治的重症脓毒症血症患者 56 例,入选患者均签署知情同意书。随机平均分为乌司他丁试验组(简称 U 组)和对照组(简称 C 组),每组各 28 例。病例一般情况见表 1。

表 1 两组患者的一般资料及入院时 APACHE II 评分比较

Table 1. Demographic data and baseline APACHE II scores of patients

| Parameter | Group U(n=28)  | Group C(n=28)  | P value |
|-----------|----------------|----------------|---------|
| Sex(M/F)  | 18/10          | 21/7           | 0.352   |
| Age       | 57 $\pm$ 16    | 61 $\pm$ 16    | 0.401   |
| APACHE II | 19.4 $\pm$ 6.7 | 20.7 $\pm$ 6.9 | 0.458   |

### 二、研究方法

两组患者均给予针对原发病的治疗以及充分的抗感染、营养、对症支持治疗。U 组患者在入院时即给予乌司他丁针剂(广东天普生物化学制药有限公司生产批号 2003-01-01)20 万 U 溶于 50 ml 生理盐水,用微量注射泵静脉注射持续 1 h,2 次/d,连续应用 5 d。而 C 组则在相同的时间给予同等量的生理盐水作为安慰剂对照。并在用药前(0 时)、用药后 24、48、120 h 4 个时间点分别进行 APACHE II 评分,同时抽取右侧桡动脉血 5 ml,静置析出血清,然后离心,取上层血清 2 ml,置入 -20 $^{\circ}$ C 冰箱保存,待标本收集完毕,统一测定细胞因子 TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-4、IL-6、IL-10 的血清浓度。统计两组患者 28 d 病死率。

### 三、细胞因子的实验室测定

采用北京晶美生物工程有限公司的细胞因子

ELISA 测定试剂盒,并采用 Humareader 酶标仪测定标本 450 nm 处的吸光度。TNF- $\alpha$ 、IL-1 $\beta$ 、IL-4、IL-6 和 IL-10 的测定灵敏度分别为 20 pg/ml、10 pg/ml、8 pg/ml、10 pg/ml 和 32.5 pg/ml。

### 四、统计方法

采用 SPSS10.0 统计软件,将所有数据进行正态性检验,正态分布的计量资料均以均数 $\pm$ 标准差( $\bar{x}\pm s$ )表示,两组均数比较,采用 *t* 检验;非正态分布的计量资料的中位数(25 百分位数,75 百分位数)表示,采用 Wilcoxon 秩和检验;分类计数资料如 28 d 病死率以百分数表示,采用  $\chi^2$  检验。取  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有显著性, $P<0.01$  为差异有非常显著性。

## 结 果

### 一、两组患者 APACHE II 评分比较

U 组患者治疗前的评分为(19.4 $\pm$ 6.7)分,而 C 组患者为(20.7 $\pm$ 6.9)分,两组差异无显著性( $P>0.05$ )。在治疗期间,两组患者的评分值都逐渐下降。到第 5 天 U 组患者的分值为(14.6 $\pm$ 5.4)分,而 C 组患者的分值为(17.5 $\pm$ 5.5)分。U 组患者的分值较 C 组低,两组患者的病情评分差异有显著性( $P<0.05$ )。

### 二、两组患者 28 d 病死率比较

以 28 d 为界,U 组患者死亡 8 例,存活 20 例,病死率为 28.6%(8/28);而 C 组患者死亡 16 例,存活 12 例,病死率为 57.1%(16/28),两组差异有显著性( $P<0.05$ )。

### 三、药物不良反应

在整个治疗过程中,仅 1 例患者在给予乌司他丁后出现全身多处皮疹,抗过敏治疗后皮疹消退,其余患者未发生与乌司他丁有关的并发症或出现不良反应。

### 四、两组患者血中细胞因子的浓度变化比较

(一) TNF- $\alpha$  治疗前两组患者的细胞因子 TNF- $\alpha$  的血浓度差异无显著性。U 组患者的 TNF- $\alpha$  水平在治疗后 24 h 即出现明显下降,而同期 C 组的值则没有明显的变化,在治疗 48 h 后两组差

异有显著性( $P < 0.05$ ), 而到第 5 天, 两组差异更为显著, 见表 2。

(二)IL-1 $\beta$  两组患者 IL-1 $\beta$  的血清浓度在治疗过程中均呈下降趋势, U 组下降 22.49 pg/ml, 而 C 组下降 15.43 pg/ml, U 组的下降值大于 C 组, 但两组在治疗期间的血清浓度差异均无显著性( $P > 0.05$ ), 见表 2。

(三)IL-4 两组患者的 IL-4 水平呈上升趋势。对比治疗结束后, U 组的 IL-4 的浓度高于 C 组, 但两

组的 IL-4 浓度差异始终无显著性( $P > 0.05$ ), 见表 2。

(四)IL-6 U 组患者的 IL-6 值明显下降, 治疗第 5 天, U 组患者的 IL-6 浓度明显低于 C 组, 差异有显著性( $P < 0.05$ ), 见表 2。

(五)IL-10 U 组与 C 组的 IL-10 水平呈上升趋势, U 组患者在给予乌司他丁治疗 24 h 后, 血中 IL-10 的浓度上升, 与 C 组相比差异有显著性( $P < 0.05$ ); 48 h 后, U 组 IL-10 浓度明显升高, 与 C 组差异有显著性( $P < 0.01$ ), 见表 2。

表 2 两组患者血细胞因子测定结果比较

Table 2. Serum level of cytokines at different time in patients of the two groups (pg/ml)

| Cytokine      | Group | Sampling time point(hours after treatment) |                     |                      |                      |
|---------------|-------|--|---------------------|----------------------|----------------------|
|               |       | 0 h  | 24 h                | 48 h                 | 120 h                |
| TNF- $\alpha$ | C     | 296.08 $\pm$ 234.04                        | 300.69 $\pm$ 291.03 | 318.48 $\pm$ 337.01  | 179.61 $\pm$ 136.99  |
|               | U     | 286.75 $\pm$ 217.63                        | 188.05 $\pm$ 128.60 | 160.01 $\pm$ 138.47* | 82.35 $\pm$ 56.26*   |
| IL-1 $\beta$  | C     | 43.68 $\pm$ 32.87                          | 41.26 $\pm$ 38.65   | 40.82 $\pm$ 37.77    | 28.25 $\pm$ 26.08    |
|               | U     | 41.24 $\pm$ 35.52                          | 30.81 $\pm$ 12.64   | 29.88 $\pm$ 15.98    | 18.75 $\pm$ 6.44     |
| IL-4          | C     | 102.19 $\pm$ 50.69                         | 130.82 $\pm$ 77.86  | 118.37 $\pm$ 67.19   | 112.06 $\pm$ 62.95   |
|               | U     | 112.70 $\pm$ 99.57                         | 109.91 $\pm$ 64.06  | 129.41 $\pm$ 87.27   | 127.33 $\pm$ 46.83   |
| IL-6          | C     | 189.08 $\pm$ 113.66                        | 198.07 $\pm$ 73.22  | 137.94 $\pm$ 123.87  | 109.13 $\pm$ 70.60   |
|               | U     | 199.61 $\pm$ 149.30                        | 154.74 $\pm$ 90.87  | 120.49 $\pm$ 73.36   | 63.13 $\pm$ 29.08*   |
| IL-10         | C     | 56.00 $\pm$ 15.43                          | 68.43 $\pm$ 25.16   | 75.61 $\pm$ 26.70    | 67.90 $\pm$ 17.98    |
|               | U     | 65.14 $\pm$ 21.59                          | 91.01 $\pm$ 46.04*  | 126.03 $\pm$ 54.20** | 155.65 $\pm$ 65.60** |

\*  $P < 0.05$ , \*\*  $P < 0.01$

## 讨 论

乌司他丁是由肝脏分泌的一种具有广谱蛋白酶抑制作用的糖蛋白<sup>[8]</sup>, 属于人体内源性抑炎物质。乌司他丁的这些药理作用符合脓毒症的主要治疗原则: 抑制过度的炎症反应, 减少组织细胞的损伤, 改善循环和组织灌注, 因此适用于脓毒症的抢救治疗。多项动物试验研究也已证实乌司他丁能够减少脓毒性休克动物的病死率<sup>[5]</sup>。

从本次试验患者 28 d 病死率统计的结果来看, C 组患者经过常规治疗后, 28 d 病死率为 57.1%, 而 U 组患者加用乌司他丁治疗后, 28 d 病死率下降为 28.6%, 两者差异有显著性。说明乌司他丁能有效降低重症脓毒症患者的病死率。在应用乌司他丁治疗的过程中, 仅有 1 例患者出现过敏, 表现为皮疹, 其余患者并未出现与此药物有关的不良反应, 说明常规剂量(40 万 U/d)的乌司他丁治疗脓毒症患者是安全的。

TNF- $\alpha$  是脓毒症发生、发展中最重要促炎因子, 也是脓毒症的启动因子<sup>[6]</sup>。在重症脓毒症和脓

毒性休克时, 细菌内毒素刺激巨噬细胞及其他炎症细胞产生大量 TNF- $\alpha$ 。而 TNF- $\alpha$  又能刺激单核和巨噬细胞分泌 IL-1、IL-6 等炎症介质, 以及刺激中性粒细胞脱颗粒, 释放各种蛋白酶和其他水解酶及氧自由基损伤组织细胞, 引起发热, 心脏、肾上腺损害, 呼吸循环衰竭, 甚至导致死亡。从本次试验细胞因子的检测结果来看, 乌司他丁能够有效降低循环中 TNF- $\alpha$  的水平, 这可能由于一方面乌司他丁通过抑制蛋白酶的活性, 减轻了组织的损伤, 减少了组织细胞破坏产生的炎症刺激物对巨噬细胞的进一步激活, 打断了炎症激活的恶性循环, 减少 TNF- $\alpha$  的产生; 另一方面乌司他丁通过促进 IL-10 的释放抑制 TNF- $\alpha$  的合成和释放。Aosasa 等<sup>[6]</sup>的研究揭示了乌司他丁还可以通过抑制巨噬细胞内抑制细胞内蛋白激酶 C(PKC) 及核因子  $\kappa$ B(NF $\kappa$ B) 信号传导通路来直接抑制 TNF- $\alpha$  的翻译和分泌, 从而减少 TNF- $\alpha$  的产生。

同样可以观察到促炎因子 IL-1 $\beta$  与 IL-6 的浓度在应用乌司他丁后逐渐下降。IL-1 $\beta$  的主要功能是协同 TNF、IL-6 和 INF 等因子在炎症急性期发

挥免疫调节作用,促进炎症的发展<sup>[7]</sup>。Fong 等<sup>[8-9]</sup>的试验表明乌司他丁能够抑制内毒素刺激引起的 IL-1 $\beta$ 、IL-1 $\alpha$  和 TNF- $\alpha$  的浓度增高,并呈剂量依赖性。但本研究检测显示,两组患者的 IL-1 $\beta$  水平均呈下降趋势,U 组患者的水平低于 C 组患者,但两组差异无显著性,这可能与样本数量不足以显示两组 IL-1 $\beta$  的差异有关。IL-6 由多种细胞产生,主要有促进中性粒细胞分化并释放弹性蛋白酶,诱导 B 细胞分化和产生抗体,诱导多种急性期蛋白的合成和分泌等方面广泛地促进炎症进展。TNF、IL-1 都能刺激 IL-6 的产生,并与之协同产生炎症病理性损伤,而 IL-10 则降低 IL-6 的产生。在重症脓毒症患者中 IL-6 的水平往往显著升高,而这种升高预示脓毒症患者的病死率也随之增高。本试验中,U 组患者的 IL-6 水平随着治疗的进行而显著下降,预示病死率可能下降,而 28 d 患者病死率的统计也证实了这一点。研究发现<sup>[9]</sup>在腹部手术中应用乌司他丁也观察到循环中 IL-6 的水平下降,患者病死率也下降。这 2 种促炎因子浓度的降低可能与乌司他丁抑制各种蛋白水解酶对组织细胞的损伤,减少组织细胞分解后产生的炎症刺激物,以及降低促炎因子 TNF- $\alpha$  浓度和增加抑炎因子 IL-10 等浓度有关。

另一方面,抑制性的炎症因子 IL-10 的水平在应用乌司他丁后明显升高。IL-10 是很强的抑炎因子,主要也是由活化的巨噬细胞分泌的,能够抑制单核巨噬细胞和中性粒细胞合成和分泌 TNF- $\alpha$ 、IL-1、IL-2、趋化因子,抑制内皮细胞和白细胞活化后组织因子的表达<sup>[10-11]</sup>,从而降低体内炎症反应。徐康清等<sup>[12]</sup>将乌司他丁应用于体外循环心脏手术患者,同样也观察到 IL-10 的水平较对照组明显升高的现象<sup>[12]</sup>。但乌司他丁促使 IL-10 水平升高的分子机制尚不十分明确,可能也是通过影响细胞内信息传导通路酶活性来促进 IL-10 的合成与分泌。同样属于抑炎因子的 IL-4,主要是抑炎作用但也有促炎的作用,在治疗后两组患者的血中浓度大体上都略有增高,但两组间浓度的差异无显著性。因而可以推测,乌司他丁主要通过提高抑炎因子 IL-10 的水平而不是 IL-4 的浓度来抑制炎症反应。

然而,乌司他丁并没有抑制和杀灭病原微生物能力,因此不能单独应用乌司他丁治疗脓毒症,它只有在正确的抗感染和有利的支持治疗措施的基础上加以应用,才能发挥抑制机体过度炎症反应,保护与

改善机体脏器功能的作用。

综上所述,乌司他丁能够有效减轻脓毒症患者的病情,降低患者的病死率。可能是通过降低患者体内促炎因子 TNF- $\alpha$ 、IL-6 的水平,升高抑炎因子 IL-10 的水平实现的。同时乌司他丁还具有安全性,在治疗脓毒症方面值得进一步临床大样本对照研究和推广应用,具有良好的临床应用前景。

#### 参考文献:

- [1] Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine [J]. Chest, 1992, 101: 1644-1655.
- [2] Blackwell TS, Christman JW. Sepsis and cytokine: current status [J]. Br J Anaesth, 1996, 77: 110-117.
- [3] Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al. 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference [J]. Crit Care Med, 2003, 31: 1250-1256.
- [4] Watanabe T, Sato Y, Ichida T, et al. Comparison of urinary ulinastatin levels between donors and recipients immediately following adult living related donor liver transplantation [J]. Transplantation Proc, 2003, 35: 76-77.
- [5] Tani T, Aoki H, Yoshioka T, et al. Treatment of septic shock with a protease inhibitor in a canine model: a prospective, randomized, controlled trial [J]. Crit Care Med, 1993, 21: 925-930.
- [6] 刘健, 陈兵, 王洪霞, 等. 危重病患者 SIRS 期细胞因子水平与 APACHE II 评分相关性研究 [J]. 天津医药, 2002, 30: 339-340.
- [7] Aosasa S, Ono S, Mochizuki H, et al. Mechanism of the inhibitory effect of protease inhibitor on tumor necrosis factor alpha production of monocytes [J]. Shock, 2001, 15: 101-105.
- [8] Fong Y, Tracey KJ, Moldawer LL, et al. Antibodies to cachectin/TNF reduce IL-1 $\beta$  and IL-6 appearance during lethal bacteremia [J]. J Exp Med, 1989, 170: 1627-1633.
- [9] Endo S, Inada K, Taki K, et al. Inhibitory effects of ulinastatin on the production of cytokines: implications for the prevention of septicemic shock [J]. Clin Ther, 1990, 12: 323-326.
- [10] Ambiru S, Miyazaki M, Sasada K, et al. Effects of perioperative protease inhibitor on inflammatory cytokines and acute-phase proteins in patients with hepatic resection [J]. Dig Surg, 2000, 17: 337-343.
- [11] Rongione AJ, Kusske AM, Ashley SW, et al. Interleukin-10 prevents early cytokine release in severe intraabdominal infection and sepsis [J]. J Surg Res, 1997, 70: 107-112.
- [12] 徐康清, 陈秉学, 黄文起, 等. 乌司他丁对体外循环心脏手术患者肺炎性反应的影响 [J]. 中华麻醉学杂志, 2002, 22: 325-328.

收稿日期: 2004-08-04