

· 论 著 ·

促红细胞生成素对慢性肾衰竭患者免疫功能的影响

李 宓 邹和群

【摘要】目的 探讨重组人促红细胞生成素(rh-EPO)对慢性肾衰竭患者红细胞免疫、体液免疫、细胞免疫、红细胞膜流动性等方面的影响。**方法** 69例慢性肾衰竭患者被随机分成3组,每组各23例。A组:采用透析和EPO治疗;B组:单纯采用EPO治疗;C组:为对照组,不采用透析,不进行EPO治疗。采用改良郭氏法测定红细胞免疫功能;用荧光偏振法测定红细胞膜脂分子流动性;用放射免疫法测定血清免疫球蛋白;用APAAP酶联免疫分析法测定T淋巴细胞亚群。同时观察3组患者治疗期间的感染发生率。**结果** 主要免疫学检测指标在药物治疗前在A、B和C组间没有统计学差异。A、B两组患者治疗8周后,C3b、RFER、IgG、IgA、CD3亚群、CD4亚群及CD4/CD8比率显著升高,与对照组相比统计学差异有非常显著性,而RFIR%无明显变化,与对照组相比统计学差异无显著性。**结论** rh-EPO可以提高CRF患者的免疫功能,降低患者的感染率。

【关键词】促红细胞生成素;慢性肾衰竭;免疫功能。

中图分类号:R446.6 文献标识码:A

The effects of EPO on immunofunctions in patients with chronic renal failure Li Mi, ZOU Hequn. Department of Nephrology, The Fifth Affiliated Hospital of Sun Yat - Sen University, Zhuhai 519000, China.

【Abstract】Objective To investigate the effect of EPO on RBC immunity, humoral and cellular immunity and fluidity of RBC membrane in patients with chronic renal failure(CRF). **Methods** Sixty - nine patients with CRF were divided into three groups. Group A patients accepted hemodialysis and were treated with EPO. Group B patients were treated with EPO and didn't accept hemodialysis. Group C patients didn't accept EPO treatment and hemodialysis. After 8 weeks treatment, RBC immune functional parameters were detected by the modified Gao's methods; the subpopulations of T lymphocyte were analyzed with APAAP method; Immunoglobulins were measured with radio - immuno, assay (RIA) and RBC membrane fluidity was determined by fluorescence spectrophotometer method. In addition, the infection rate of patients with CRF in different group was compared. **Results** The parameters of immune functions of patients with CRF were comparable between groups before treatment. After treated with EPO for 8 weeks, RBC numbers and Hb level were significantly increased in patients of group A and Group B, but not in patients of group C. C3b, RFER, IgG and IgA were increased in patients of groups A and groups B and had statistic differences as compared with that in patients of group C ($P < 0.01$). The number of CD3 and CD4 subpopulations, but not CD8 subpopulation were also increased and CD4/CD8 ratio was raised in patients of group A and group B. These parameter changes between either group A or group B and group C have statistic differences. The infection rate was decreased in patients of group A and group B and the difference of infection rate between either group A or group B and group C has statistic significance. **Conclusion** These results indicated that EPO treatment in patient with CRF significantly modified patients' immune functions and decreased patients' infection rate.

【Key words】 Recombinant human erythropoietin; Chronic renal failure; Immune functions.

促红细胞生成素(EPO)于19世纪问世,并于80年代实现了基因重组促红细胞生成素(rh-EPO)的生产,目前已广泛应用于临床,其主要用途是纠正尿毒症和某些血液病引起的贫血。目前临床研究主要集

中在纠正贫血的用药方法和药物副作用的研究,而对rh-EPO对患者免疫系统的影响的研究,国内外都很少报道。

本研究对使用rh-EPO的尿毒症患者在治疗前

后的红细胞免疫、体液免疫、T 淋巴细胞亚群等指标进行比较分析,旨在评价 rh-EPO 对尿毒症患者免疫功能的影响。

1 材料与方法

1.1 临床资料

69 例慢性肾衰竭尿毒症患者分成 3 组。A 组:共 23 例,其中男性 16 例,女性 7 例,平均年龄(44.2 ± 9.21)岁。采用血液透析和 rh-EPO 治疗(HD + EPO)。血液透析频率是每周 2 次, rh-EPO 由麒麟公司提供,用药方法按每公斤体重 120U,每周 2 次皮下注射。B 组:共 23 例,其中男性 13 例,女性 10 例,平均年龄(47.2 ± 7.5)岁。采用非血液透析和 rh-EPO 治疗(EPO 组)。rh-EPO 用药方法同 A 组。C 组:共 23 例,其中男性 10 例,女性 13 例,平均年龄(38.54 ± 11.23)岁,该组患者不使用血液透析,也不采用 rh-EPO 治疗。以上 3 组患者在治疗的 8 周期间未输血,也未使用免疫抑制剂和其他影响免疫功能的药物。

1.2 检测方法

红细胞免疫指标的测定:红细胞 C3b 受体(RBC C3b)的测定,红细胞免疫抑制因子(RFIR)测定,红细胞免疫促进因子(RFER)测定均采用郭氏改良法^[8-10],检测试剂盒由上海长海医院免疫室提供。

T 细胞亚群测定采用 APAAP 酶联免疫分析法^[11],试剂盒由北京邦定公司提供。

红细胞膜脂分子流动性的测定采用 Micheal 等描述的方法,首先采用高速离心法制备红细胞膜,再使用 DPH 标记液标记后再以荧光分光光度计进行测定^[12]。

红细胞数、红细胞压积、血红蛋白、血清尿素氮(BUN)、肌酐(Scr)、免疫球蛋白(IgG、IgM、IgA)均由本院检验科测定。

1.3 统计学方法

各组内比较采用配对的 t 检验及率的 χ^2 检验;各组间比较采用 F 检验;各指标用($\bar{x} \pm s$)表示。

2 实验结果

3 组尿毒症患者在治疗前 BUN、RBC、Scr、Hb、HCT5 项指标在 3 组间都没有明显统计学差异。然而,3 组患者在治疗后 8 周 RBC 总数和 Hb 在 A 和 B 组较治疗前明显升高(A 组 $t = 3.378, P < 0.0025$; B 组 $t = 3.115, P < 0.005$),与对照组相比统计学存在显著性差异,而 BUN、Scr 和 HCT 在治疗后都没有明显变化,与治疗前和对照组相比没有统计学差异(见表 1),表明 A、B 两组患者在治疗后 RBC 计数和 Hb 浓度都明显增加。

3 组治疗前后红细胞免疫变化(见图 2)。

表 1 治疗前生化及贫血状况

组别	n	BUN(mmol/L)	Scr(μ mol/L)	RBC($\times 10^{12}/l$)	Hb(g/l)	HCT(%)
A	23	38.24 ± 9.018 ¹⁾	479.35 ± 56.10 ¹⁾	1.82 ± 0.32 ¹⁾	5.32 ± 1.03 ¹⁾	21.51 ± 4.24 ¹⁾
B	23	32.78 ± 7.18 ¹⁾	512.43 ± 94.32 ¹⁾	1.89 ± 0.41 ¹⁾	5.94 ± 1.02 ¹⁾	22.16 ± 3.50 ¹⁾
C	23	34.65 ± 6.58 ¹⁾	498.23 ± 95.45 ¹⁾	2.06 ± 0.58 ¹⁾	5.87 ± 0.67 ¹⁾	21.89 ± 2.98 ¹⁾
对照组	23	4.18 ± 0.18	59.01 ± 1.01	4.89 ± 0.78	12.94 ± 1.43	34.45 ± 2.78

注:¹⁾与对照组比较 $P < 0.01$

表 2 EPO 对尿毒症患者血清免疫球蛋白的影响

组别	n	IgG(ng/ml)		IgM(ng/ml)		IgA(ng/ml)	
		治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A 组	23	8.34 ± 2.46	12.56 ± 2.43 ¹⁾	1793.65 ± 565.52	1890.17 ± 560.96	1212.43 ± 402.87	5184.98 ± 132.66 ¹⁾
B 组	23	9.21 ± 2.65	11.08 ± 2.56 ¹⁾	1495.39 ± 784.42	1400.9 ± 686.16	1315.72 ± 443.45	1882.17 ± 575.75 ¹⁾
C 组	23	8.78 ± 2.29	8.98 ± 2.79	1302.28 ± 763.77	1281.00 ± 490.62	1306.13 ± 440.29	1296.63 ± 368.8

注:¹⁾与治疗前比较 $P < 0.01$

表 3 EPO 治疗对尿毒症患者 T 淋巴细胞亚群的影响

组别	CD3(%)		CD4(%)		CD8(%)		CD4/CD8	
	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后	治疗前	治疗后
A 组	38.27 ± 10.1	49.92 ± 10.63 ¹⁾	20.50 ± 7.27	30.52 ± 7.63 ¹⁾	21.31 ± 6.27	21.30 ± 5.66	1.05 ± 0.54	1.57 ± 0.53 ¹⁾
B 组	38.06 ± 11.20	45.84 ± 11.20 ¹⁾	22.6 ± 11.38	31.51 ± 9.05 ¹⁾	20.72 ± 6.65	19.23 ± 6.64	1.06 ± 0.48	1.70 ± 0.75 ¹⁾
C 组	38.34 ± 12.09	37.52 ± 12.12	19.42 ± 6.12	20.5 ± 7.63	20.98 ± 6.28	21.30 ± 5.66	1.01 ± 0.41	1.03 ± 0.53

注:¹⁾与治疗前比较 $P < 0.01$

万方数据

表 4 EPO 治疗对尿毒症患者感染发生率的影响

组别	例数	感染例数	感染率
A 组	23	3	13%
B 组	23	2	8.7%
C 组	23	6	26% ¹⁾

注:¹⁾ C 组感染率与 A、B 组比较 $P < 0.01$

3 组尿毒症患者在治疗前在血清 IgG、IgM 和 IgA 浓度在 A、B、C 三组间差异无显著性,在治疗 8 周后 IgG 和 IgA 在 A、B 两组明显升高 (A 组 $t = 2.890, P < 0.005$; B 组 $t = 2.789, P < 0.01$),与治疗前浓度或对照组浓度相比在统计学都存在差异显著性,表明 A、B 两组患者在治疗后 IgG 和 IgA 有明显升高(见表 2)。

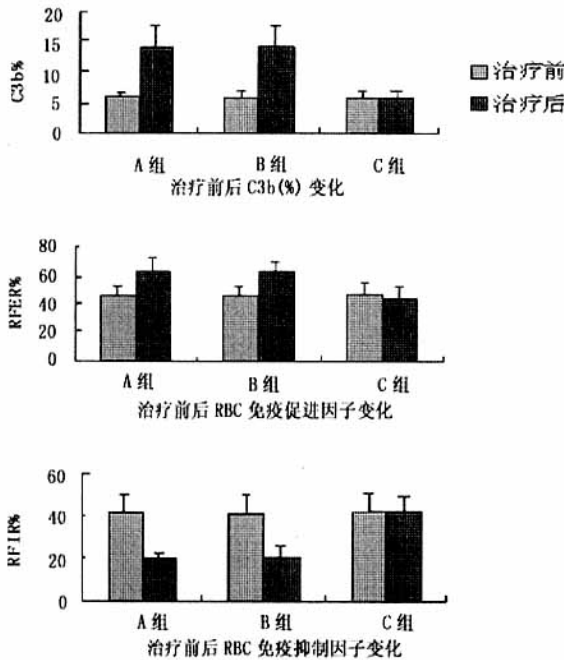


图 2 EPO 治疗对尿毒症患者红细胞免疫指标的影响

T 淋巴亚群的分析结果表明:3 组尿毒症患者在治疗前在 CD3、CD4、CD8 和 CD4/CD8 比例 4 项指标都没有明显差异。在 EPO 治疗后, A 和 B 两组的 CD3 (A 组 $t = 3.562, P < 0.001$, B 组 $t = 3.102, P < 0.005$) 和 CD4 (A 组 $t = 2.870, P < 0.005$; B 组 $t = 2.902, P < 0.005$) T 淋巴细胞亚群明显增加,而 CD8T 淋巴细胞亚群没有明显变化,因而导致 A、B 两组的 CD4/CD8 比例升高,表明 EPO 的治疗可以提高 CD3 和 CD4T 淋巴细胞的比例(见表 3)。

红细胞膜流动性的分析结果显示,3 组尿毒症

患者在治疗前红细胞流动性没有明显差别,但在治疗后 A、B 两组患者的红细胞流动性明显降低 (A 组 $t = 3.342, P < 0.0025$; B 组 $t = 3.179, P < 0.0025$),与对照组间差异有显著性。同时 A 组患者的降低更为明显,与 B 组患者间也存在统计学差异(见图 1)。

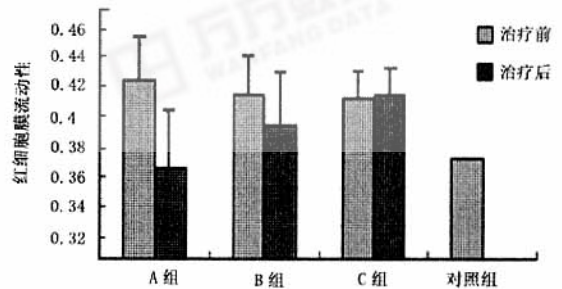


图 1 EPO 治疗对尿毒症患者红细胞膜流动性的影响

3 组尿毒症患者 8 周治疗期间的感染发生例数见表 4,可见 A、B 两组尿毒症患者 EPO 治疗期间的感染发生例数都低于对照组,并且统计学分析显示 A、B 两组于对照组间存在统计学差异 (AC 组比较 $\chi^2 = 87.98, P < 0.005$, BC 组比较 $\chi^2 = 67.33, P < 0.005$) 表明 EPO 治疗降低尿毒症患者的感染发生率。

3 讨论

在胚胎时期肝脏是 EPO 的主要产生器官^[1],而在出生后,肝合成 EPO 逐渐减少,肾脏成为 EPO 的主要产生部位。采用 DNA-RNA 原位杂交技术证实 EPO 的产生细胞主要位于肾皮质近曲小管周围的间质细胞或基底膜内^[2,3]。人类 EPO 分子量在 35KD 左右,由 166 个氨基酸组成^[4]。人基因重组促红细胞生成素 (rh-EPO) 由 Eachbach 等首先用于临床,并证实其对纠正肾性贫血具有肯定的疗效^[5]。近年来, rh-EPO 对人体免疫系统的影响开始受到重视。Scheafer 等报告在使用 EPO 8 周后血液透析患者的 IgG 和 IgA 明显升高;Vers 等人证实使用 EPO 能提高患者多核白细胞的吞噬能力^[6]。然而,相关的研究在中国尚未见报道。

现在已经认识到,红细胞具有许多免疫相关功能包括产生许多免疫相关物质,如 CR1、CR3、LFA2-I 等;通过红细胞表面的 I 型补体 (CR1) 与 C3b 形成免疫复合物,由肝脏的网状内皮系统清除,因此红细胞在清除循环免疫复合物中起着重要的作用^[7]。此外,红细胞膜表面还有一种免疫粘附抑制因子

(RFIR),降低红细胞携带 IC 的能力^[7]。血清中还存在一种耐热的红细胞免疫促进因子(RFER)^[9]。

在这项研究中我们发现 3 组尿毒症患者都存在贫血状况和免疫功能指标的低下,在使用重组促红细胞生成素(rh-EPO)治疗之前,这些指标在 3 组间差异无显著性。然而,在 EPO 治疗 8 周后,随着贫血的改善,A、B 组患者 RFIR 下降、RFER 升高、C3b 升高。这些变化没有出现在 C 组患者,表明这些变化于 EPO 的应用有关。由于这些指标在 A、B 2 组之间差异无显著性,说明血液透析对尿毒症患者贫血的改善及红细胞免疫指标没有明显的影响。

C3b 受体为红细胞膜上的蛋白受体,红细胞膜脂流动情况可以直接影响了 C3b 受体的活性^[4]。因此膜脂流动性的检测在反映红细胞寿命的同时,从另一个角度反应了红细胞的免疫粘附功能。本组研究表明:A、B 两组经 rh-EPO 治疗 8 周后红细胞膜流动性较治疗前显著提高($P < 0.01$),从而间接提高了 C3b 受体的活性及红细胞的免疫粘附功能,而 C 组因没有使用 rh-EPO 红细胞膜流动性无显著变化,进一步说明了 rh-EPO 通过提高红细胞膜流动性,间接提高了红细胞免疫功能。

Schaefer RM 的研究认为,EPO 可直接刺激 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白^[13]。本组研究发现;使用 rh-EPO 治疗的 A、B 2 组 IgG、IgM 较治疗前增高,而 C 组治疗前后无变化,这证明了 rh-EPO 可通过刺激 B 淋巴细胞产生免疫球蛋白,从而提高尿毒症患者的体液免疫功能。

我们的研究还发现,A、B 两组患者在 EPO 治疗后 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺ 较治疗前明显增高,而 CD8⁺ 没有明显变化因而导致 CD4⁺/CD8⁺ 也的比值明显升高,表明 rh-EPO 对尿毒症患者 T 淋巴细胞亚群的紊乱有调节作用。

另外,我们也观察了 A、B、C 3 组患者在治疗期间的感染发生率,结果发现,A、B 两组在使用 rh-EPO 治疗期间,感染的发生率明显低于 C 组,进一步

证实了 rh-EPO 在改善尿毒症患者贫血的同时可以提高患者的免疫力。

这些结果表明:rh-EPO 在改善尿毒症患者贫血的同时可以改善红细胞免疫指标,提高尿毒症患者的体液和细胞免疫功能,降低患者的感染率。

参 考 文 献

- Spivak JL. The mechanism of action of erythropoietin; Erythroid cell response. *Helv Exp Pharmacol*, 1992, 101:49-114
- Maxwell AP, Lappin TRJ, Johnston CF, et al. Erythropoietin production in kidney tubular cells. *Br J Haematol*, 1990, 74:535-539
- Beru N, Smith D, Godwasser E. Evidence Suggesting negative regulation of the erythropoietin gene by ribonucleo protein. *J Biol chem*, 1990, 265, 14100
- Mecalf D. The molecular control of cell division differentiation commitment and maturation in haemopoietic cell. *Nature*, 1989, 27:339
- Ganser A, Bergman M, Volker SD, et al. In vivo effects of recombinant human erythropoietin on circulating human hematopoietic progenitor cells. *Exp Hematol*, 1989, 17:433
- Kammer GM, Molecules CD3, CD4 and CD8 regulation by a CAMP dependent pathway. *Proc nat Acadsci USA*, 1988, 85:792
- NG. YC. Immune complexes and erythrocyte CR1; effect of CR1 numbers on binding and release reactions. *Clin Exp Immunol*, 1988, 71:481
- 郭峰,虞紫茜,赵中平. 红细胞免疫功能的初步研究. *中华医学杂志*, 1982, 62(12):715-716
- 郭峰,姚广金,孟祥英,等. 血清中红细胞免疫粘附促进因子的测定. *上海免疫学杂志*, 1988, 8(6):440-441
- 郭峰,张延东. 血清对红细胞免疫粘附抑制作用的测定. *上海免疫学杂志*, 1987, 7(3):133-134
- 崔玉芳. 酶标法测定 T 细胞亚群. *中国实验临床免疫学杂志*, 1991, 3(4):7
- Lukacovic MF, Feinstein MB, Sha'afi RI, et al. Purification of stabilized band 3 protein of the human erythrocyte membrane and its reconstitution into liposomes. *Biochemistry*, 1981, 20(11): 3145-51
- Schaefer RM, Paczek L, Berthold G. Improved immunoglobulin production in dialysis patients treated with recombinant erythropoietin. *Int J Artif organs*, 1992, 15(4):204-208

(收稿日期:2005-01-05)

(本文编辑:王丽萍)

· 消息 ·

《Blood Purification》征订启事

为了加强国际交流与接轨,《中国血液净化》杂志社与“Blood Purification”建立了合作关系:1. 由中国血液净化编辑部向“Blood Purification”推荐国内血液净化类相关文章,免收送稿费(Page Charges)。2. 以优惠价由中国血液净化编辑部代订“Blood Purification”杂志,刊号:631LD012(正常征订价 1449 瑞士法郎/年,优惠价为 130 瑞士法郎/年)。有意订阅者或投稿者,请直接与中国血液净化编辑部联系。

电话:(010)68317159,68792849

传真:(010)68792849

联系人:王洋

中国血液净化编辑部

万方数据

2005 年 3 月 25 日