

## · 临床论著 ·

## 安宫牛黄丸对小儿严重脓毒症体外膜肺氧合脑损伤的脑保护作用

邢 燕 程东良 史长松

**摘要** **目的** 探讨安宫牛黄丸对小儿肺炎合并严重脓毒症体外膜肺氧合 (ECMO) 支持下的生化指标、危重程度、免疫指标及脑部并发症的作用。**方法** 选择 2017 年 2 月 1 日—2020 年 4 月 30 日河南省人民医院儿童重症监护病房 (PICU) 收住 20 例肺炎合并严重脓毒症需 ECMO 支持并脑部并发症患儿, 通过信封编码法随机分为 II 组和 III 组, 每组 10 例。同时收住 10 例小儿肺炎合并一般脓毒症为 I 组, I 组给予常规治疗。II、III 组均给予重症常规干预, III 组患儿入组初始即同时给予鼻饲安宫牛黄丸 10 天。观察外周血生化指标及危重程度, 流式细胞法分析外周血中性粒细胞和巨噬细胞各种亚群、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞的变化; ELISA、RT-PCR 和 ELISPOT 检测外周血免疫因子和适应性免疫应答的变化。**结果** 与 I 组比较, II 组和 III 组 C 反应蛋白 (CRP)、降钙素原 (PCT)、碱剩余 (BE) 绝对值、乳酸 (Lac)、平均住院天数均升高 ( $P<0.01$ ), 氧分压/氧浓度 (PF 值) 降低 ( $P<0.01$ ), 危重评分降低 ( $P<0.01$ ); 外周血 CD63<sup>+</sup> 单核细胞比例、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞数目、CD8<sup>+</sup> 细胞毒性 T 细胞 (CTL) 功能、肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和趋化因子 CXCL9 蛋白和 mRNA、Toll 样受体 9 (TLR9)、趋化因子 CXCL10、IL-27 mRNA、内皮保护因子可溶性 TEK 酪氨酸激酶 2 (sTIE2) 蛋白降低 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), 弹性蛋白酶 (elastase)<sup>+</sup>、趋化因子受体 CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup>/CCR2<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup> 比例、IL-10 和血管内皮生长因子 (VEGF) 蛋白、高迁移率族蛋白 B1 (HMGB1) 和 IL-17 蛋白及 mRNA、晚期糖基化终末产物受体 (RAGE) 和 YTH 结构域蛋白家族分子 1 (YTHDF1) mRNA、毛细血管渗漏指标促血管生成素 2/1 (Ang2/Ang1) 蛋白及脑损伤分子神经烯醇化酶 (NSE) 蛋白表达均升高 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ )。与 II 组比较, III 组危重评分略有好转, BE 绝对值、Lac、平均住院天数均降低 ( $P<0.01$ ), PF 值升高 ( $P<0.01$ ); 外周血 CD63<sup>+</sup> 单核细胞比例, 脂多糖刺激后的 CD8<sup>+</sup>CTL 适应性免疫应答, CXCL9 蛋白和 mRNA 及 sTIE2 蛋白表达升高 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), elastase<sup>+</sup> 和 CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup>/CCR2<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup> 比例, HMGB1、IL-17 蛋白和 mRNA、NSE 蛋白及 RAGE、YTHDF1 基因表达有一定程度下降 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ )。**结论** 安宫牛黄丸干预肺炎合并严重脓毒症 ECMO 脑部并发症的免疫机制与下调 CD11b<sup>+</sup> 细胞的 HMGB1/RAGE/YTHDF1 通路、调节 CD11b<sup>+</sup> 细胞功能和极性, 改善 Th1/Th17 比例, 减少内皮细胞损伤, 抑制炎症细胞进入脑内的调节作用有关。

**关键词** 安宫牛黄丸; 小儿肺炎; 严重脓毒症; 体外膜肺氧合; 脑部并发症; CD11b<sup>+</sup> 单核细胞; 免疫应答; 内皮损伤; 中成药

**Cerebral Protective Effect of Angong Niu Huang Pill on the Brain Injury of Children Severe Sepsis with Extracorporeal Membrane Oxygenation** XING Yan, CHENG Dong-liang, and SHI Chang-song PICU of Henan Provincial People's Hospital, People's Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou (450003)

**ABSTRACT** **Objective** To explore the effect of Angong Niu Huang Pill (AGNHP) on biochemical indicators, criticality, immune mechanisms and brain complications in extracorporeal membrane oxygenation (ECMO) children with pneumonia and severe sepsis. **Methods** Totally 20 ECMO children patients with pneumonia and severe sepsis accompanied by brain complications admitted into Pediatric Intensive Care Unit of People's

基金项目: 河南省医学科技攻关项目 (No. 20180428)

作者单位: 河南省人民医院, 郑州大学人民医院 PICU (郑州 450003)

通讯作者: 邢 燕, Tel: 0371-65897581, E-mail: xxyzz2942@163.com

DOI: 10.7661/j.cjim.20221101.217

Hospital of Henan Province from February 1, 2017 to April 30, 2020 were randomly assigned to group II and group III by envelope coding method, with 10 cases in each group. Ten children patients with pneumonia and general sepsis were also enrolled as the group I. Group I was given conventional treatment. Group II and group III were given conventional intensive care intervention. AGNHP was given nasal feeding for 10 days at the beginning of pediatric patients enrollment in group III. The research work included biochemical parameters of peripheral blood and criticality, the subgroups of macrophages and neutrophils,  $CD4^+$  and  $CD8^+$  T-lymphocytes in peripheral blood analyzed by flow cytometry, changes of peripheral blood immune factors and adaptive immune responses by ELISA, RT-PCR and ELISPOT. **Results** Compared with group I, C-reactive protein (CRP), procalcitonin (PCT), the absolute value of base excess (BE), lactic acid (LAC) and average length of hospital stay increased ( $P<0.01$ ) in groups II and III, the value of oxygen partial pressure / oxygen concentration (PF) decreased ( $P<0.01$ ), and the critical score decreased ( $P<0.01$ ), while the ratio of peripheral blood  $CD63^+$  monocytes, the number of  $CD4^+$  and  $CD8^+$  T-lymphocytes, the function of  $CD8^+$  cytotoxic T-lymphocytes (CTL) stimulated by LPS, the protein and mRNA express level of tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) and chemokine CXCL9, toll-like receptor 9 (TLR9), chemokine CXCL10, interleukin-27 (IL-27) mRNA, endothelial protective factor soluble TEK tyrosine kinase 2 (sTIE2) protein in group II and group III decreased ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), while the ratio of elastase $^+$  and chemokine receptor  $CCR2^{high}CX3CR1^{low}/CCR2^{low}CX3CR1^{high}$  ( $P<0.01$ ), the levels of IL-10 and vascular endothelial growth factor (VEGF) protein, High mobility group protein B1 (HMGB1) and IL-17 protein and mRNA, receptor for advanced glycation end products (RAGE) and YTH domain family protein 1 (YTHDF1) mRNA, capillary leaking indexes Angiopoietin 2/1 (Ang 2/1) and brain injury factor Neuron enolase (NSE) protein increased ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ). Compared with group II, the critical score in group III improved slightly, the absolute value of BE, LAC and average length of hospital stay decreased ( $P<0.01$ ), and the value of PF increased ( $P<0.01$ ), while the ratio of  $CD63^+$  monocytes, the adaptive immune response of  $CD8^+$  CTL stimulated by LPS, and the expression levels of CXCL9 protein and mRNA and sTIE2 protein in group III increased ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), and the ratio of elastase $^+$  and  $CCR2^{high}CX3CR1^{low}/CCR2^{low}CX3CR1^{high}$ , HMGB1, IL-17 protein and mRNA, NSE protein, RAGE and YTHDF1 gene decreased to some extent ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ). **Conclusion** The interference immune mechanism of AGNHP on brain complication in pneumonia accompanied by severe sepsis with ECMO support was related to the down-regulation of HMGB1/RAGE/YTHDF1, the regulation of the function and the polarity of  $CD11b^+$  cells, bettering Th1/Th17 ratio, decreasing endothelial cell injury and inhibiting inflammatory cells entering brain.

**KEYWORDS** Angong Niu Huang Pill; pediatric pneumonia; severe sepsis; extracorporeal membrane oxygenation; brain complications;  $CD11b^+$  monocytes; immunological response; endothelial injury; Chinese patent medicine

肺炎合并严重脓毒症是儿童危重症最常见的疾病之一，其发病率为 22/10 万，病死率 9%~22%<sup>[1]</sup>，其中需要体外膜肺氧合（extracorporeal membrane oxygenation, ECMO）支持的占 1/25~1/100<sup>[2]</sup>。临床发现 ECMO 支持可引起中枢神经系统相关获得性免疫反应，进而加重 ECMO 相关脑损伤<sup>[3]</sup>，其中的固有及适应性免疫机制目前仍不清楚。本文通过安宫牛黄丸干预小儿肺炎合并严重脓毒症 ECMO 支持的临床及合并脑部并发症情况分析，并对其外周血免疫细胞和分子的变化研究，探讨安宫牛黄丸对小儿肺炎合并严重脓毒症 ECMO 支持并脑部并发症的干预作用。

## 资料与方法

1 诊断标准 肺炎诊断参考 2007 美国感染病学会 / 胸科学会 (IDSA/ATS) 肺炎诊断标准<sup>[4]</sup>，呼吸加快、咳嗽等临床表现合并肺部啰音，排除心脏因素、异物、哮喘、除细菌感染之外的其他感染、先天免疫缺陷、肺发育不良和含铁血黄素沉着症等诊断为肺炎。一般脓毒症为感染伴炎症反应的症状和体征，并且伴有发热或低体温（直肠温度  $>38.5^{\circ}\text{C}$  或  $<35^{\circ}\text{C}$ ）、心动过速（在低体温时可以缺乏）、白细胞升高或降低及感染炎症指标升高 4 项中的 2 项<sup>[5]</sup>。严重脓毒症是感染伴炎症反应的症状和体征，并且伴有发热或低

体温（直肠温度  $>38.5^{\circ}\text{C}$  或  $<35^{\circ}\text{C}$ ）、心动过速（在低体温时可以缺乏）、意识改变和需要依赖血管活性药物的现象，并且合并氧分压 / 氧浓度  $<200\text{ mmHg}$ 、乳酸（lactic acid, Lac） $>2\text{ mmol/L}$ 、尿量给予充分液体复苏后仍  $<0.5\text{ mL}/(\text{kg}\cdot\text{h})$ 、血肌酐  $>2.0\text{ mg/dL}$ （ $176.8\text{ }\mu\text{mol/L}$ ）、胆红素  $>2.0\text{ mg/dL}$ （ $34.2\text{ }\mu\text{mol/L}$ ）、血小板（platelet, PLT） $<100\times 10^9/\text{L}$ 、国际标准化比值（international normalized ratio, INR） $>1.5$  其中之一者为严重脓毒症<sup>[5]</sup>。ECMO 支持的指征<sup>[2]</sup>：严重呼吸衰竭，动脉血氧分压（partial pressure of arterial oxygen,  $\text{PaO}_2$ ）/ 吸入气中的氧浓度分数（fraction of inspiration  $\text{O}_2$ ,  $\text{FiO}_2$ ）（PF 值） $<60\sim 80$  或氧合指数（oxygen index, OI） $>40$ ；常规机械通气和其他呼吸支持治疗无反应（高频、一氧化氮吸入、俯卧位通气）；高机械通气压力（如常规通气平均气道压  $>20\sim 25$ 、高频通气  $>30$ ）或已出现气压伤；持续高碳酸血症呼吸衰竭（如： $\text{pH}<7.1$ ）。

2 纳入及排除标准 纳入标准：（1）肺炎合并一般脓毒症者（I 组）；（2）肺炎合并严重脓毒症 ECMO 支持并脑损伤者；（3）年龄  $2\sim 24$  个月；（4）患儿家长均签署知情同意书；（5）肺炎合并严重脓毒症应用 ECMO 支持的患儿进一步根据入院后是否出现脑部并发症包括各种弥漫脑功能障碍（注意力改变、记忆力改变、定向力改变、书写不能、肌张力增高、谵妄、昏迷、缺血性卒中、脑缺血、脑脓肿和癫痫等）<sup>[6]</sup>，纳入为并脑部并发症组。排除标准：排除入院时合并血管环、明确严重的心肌炎和心律失常、急腹症、惊厥持续状态、中枢神经系统感染、弥散性血管内凝血、大疱表皮松解症、先天代谢病、血液病、肾炎肾病、风湿结缔组织病、肺部肿瘤、肺结核、艾滋病、肿瘤放疗化疗、精神疾病、外伤、药物中毒、毒物中毒。

3 脱落标准 入院后 24 h 内死亡的患儿；肺炎严重脓毒症 ECMO 支持无脑部并发症者；肺炎严重脓毒症 ECMO 支持伴脑部并发症但喂养不耐受不能进行安宫牛黄丸口服者。

4 样本估算量及随机方法 本疾病属罕见病，发病概率本身非常低，样本量  $=1.962\times [1/100\text{ 万}\times (1\sim 1/100\text{ 万})]/0.032^{[7]}$ ，试验每组 10 例超过该值（0.004）。试验采用信封编码法：有接诊人员将符合肺炎严重脓毒症 ECMO 支持脑病纳入标准的患儿一个接一个分别随机分到信封 1、2 中，参与治疗人员不知道信封中的具体临床信息，在给予所有符合纳入标准患儿相同常规治疗的同时，随机抽取信封 2 中的患儿给予安宫牛黄丸治疗，并留取标本进行免疫

学实验。

5 一般资料 收集 2017 年 2 月 1 日—2020 年 4 月 30 日河南省人民医院儿童重症监护病房肺炎合并严重脓毒症者 57 例，有 31 例未经 ECMO 支持即好转，收住的肺炎合并严重脓毒症需 ECMO 支持患儿 26 例，其中符合脑部并发症患儿 22 例，通过信封编码法将 22 例患儿随机分为两组，仅给予重症常规干预的为 II 组（10 例），患儿入组后即给予安宫牛黄丸和重症常规干预的为 III 组（12 例），其中有 2 例因喂养不耐受不能进行安宫牛黄丸口服的而退出 III 组，最终纳入 II 组和 III 组为每组 10 例。同时收住的肺炎合并一般脓毒症患儿 10 例为 I 组，其中男性 6 例，女性 4 例，年龄  $2.5\sim 23.5$  个月，平均  $(12.58\pm 7.47)$  个月。II 组 10 例，其中男性 6 例，女性 4 例，年龄  $2.3\sim 24$  个月，平均  $(12.74\pm 8.32)$  个月；III 组 10 例，其中男性 5 例，女性 5 例，年龄  $2.0\sim 23$  个月，平均  $(12.15\pm 7.84)$  个月，各组性别和年龄比较，差异无统计学意义（ $P>0.05$ ）。本研究通过了河南省人民医院伦理委员会评审（No. 2019-01-006）。

6 治疗方法 I 组治疗按临床肺炎诊疗常规抗感染及对症支持均质化治疗<sup>[2]</sup>，疗程  $10\sim 14$  天。II 组给予 ECMO 支持（ $5\sim 10$  天），有创呼吸机支持氧疗（ $7\sim 14$  天），维持血压、凝血功能，保护心肺胃肠肝肾功能治疗，维持内环境稳定，适当抗感染<sup>[2]</sup> 等治疗（疗程 28 天）而无安宫牛黄丸治疗。III 组在上述 II 组治疗基础上，患儿入组后即给予安宫牛黄丸（3 g/ 丸，批号：16017024、17017006，北京同仁堂股份有限公司）干预，3 个月以下每日 1/4 丸鼻饲，3 个月  $\sim 3$  岁每日 1/3 丸鼻饲，3 岁以上每日 1/2 丸鼻饲，共 10 天。

## 7 观察指标及方法

7.1 临床生化指标的检测 患儿在第 10 天检测 C 反应蛋白（C reaction protein, CRP）、降钙素原（procalcitonin, PCT）、Lac、碱剩余（base excess, BE）、氧分压 / 氧浓度（PF 值）、平均住院天数及危重评分（分值  $>80$ ，非危重； $80\sim 71$ ，危重； $\leq 70$ ，极危重<sup>[8]</sup>）的临床资料。研究各组免疫细胞和分子指标及毛细血管渗漏指标促血管生成素 1（angiopoitin 1, Ang1）、促血管生成素 2（angiopoitin 2, Ang2）和内皮保护因子可溶性 TEK 酪氨酸激酶 2（endothelial protective factor soluble TEK tyrosine kinase 2, sTIE2）与结局指标 [ 严重程度和 Lac、BE、PF 值、平均住院日、脑部并发症临床及脑损伤指标脑损伤因

子神经元烯醇化酶 (neuron enolase, NSE)] 的变化。

7.2 流式细胞检测外周血 CD63<sup>+</sup> 亚群、弹性蛋白酶 (elastase)、CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup> 及 CCR2<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup> 亚群、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞 患儿取外周抗凝血 2 mL 行流式分析。应用流式细胞仪检测外周血的 CD3<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup>/ly6g<sup>+</sup>/CD63<sup>+</sup> (中性粒细胞 CD63<sup>+</sup> 亚群)、CD3<sup>+</sup>/CD11b<sup>+</sup>/ly6g<sup>+</sup>/CD63<sup>+</sup> (巨噬细胞 CD63<sup>+</sup> 亚群)、CD11b<sup>+</sup>/ly6g<sup>+</sup>/CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup> 亚群及 CCR2<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup> 亚群及 elastase 的表达, 以判断巨噬细胞和中性粒细胞各种亚群情况。取外周抗凝血 200  $\mu$ L, 加溶血素 (BD 公司, 批号: 349202) 1 mL 溶血, 1 $\times$  PBS 洗涤后, 取 20  $\mu$ L 细胞悬液, 加 2  $\mu$ L APC- 小鼠抗人 CD3 (1:10, cell signaling 公司, 批号: 19881), 2  $\mu$ L Pcy7- 小鼠抗人 CD11b (1:10, Abcam 公司, 批号: ab212505) 和 2  $\mu$ L FITC- 兔抗人 ly6g (1:10, Abcam 公司, 批号: ab261916) 及 2  $\mu$ L PE- 兔抗人 CD63 抗体 (1:10, cell signaling 公司, 批号: 52090), 或加 2  $\mu$ L Pcy7- 小鼠抗人 CD11b (1:10) 和 2  $\mu$ L FITC- 兔抗人 ly6g (1:10), 2  $\mu$ L APC- 小鼠抗人 CCR2 (1:10, cell signaling 公司, 批号: 12199) 及 2  $\mu$ L PE- 兔抗人 CX3CR1 抗体 (1:10, cell signaling 公司, 批号: ab267834), 室温 30 min, 1 $\times$  PBS 洗涤后, 震荡上机。

同样上述 20  $\mu$ L 细胞悬液, 固定透膜后, 加 8  $\mu$ L FITC- 兔抗人 elastase 抗体 (1:10, cell signaling 公司, 批号: JF0986), 室温 30 min, 1 $\times$  PBS 洗涤震荡上机。不加一抗, 用同型别藻青蛋白 (allophycocyanin, APC)、藻红蛋白花青染料 7 (phycoerythrin cyanine 7, Pcy7)、异硫氰基荧光素 (fluorescein iso thio cyanate, FITC) 及藻红蛋白 (phycoerythrin, PE) 标记的小鼠抗人和兔抗人阴性对照抗体重复上述步骤, 作为阴性对照。各组平均计数 1 万个细胞, Kaluza1.3 软件分析统计各种细胞比例, 进行比较。人 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞通过 T 细胞亚群检测试剂盒 (北京科瑞美科技有限公司) 进行流式检测。

7.3 ELISA 分析免疫分子的蛋白变化 人肿瘤坏死因子- $\alpha$  (tumor necrosis factor- $\alpha$ , TNF- $\alpha$ )、白细胞介素-10 (interleukin-10, IL-10)、血管内皮生长因子 (vascular endothelial growth factor, VEGF) 及损伤相关分子高迁移率族蛋白 B1 (high mobility group box 1, HMGB1)、辅助 T 细胞 1 (helper T cell-1, Th1) 类趋化因子 CXC 基元配体 9 [chemokine (C-X-C motif) ligand 9, CXCL9] 及 Ang1、Ang2、

sTIE2、NSE 检测通过 ELISA 检测试剂盒 [武汉伊艾博科技股份有限公司, 批号分别为: E0008h、E0009h、E0126h、E0010h、E0056h、E0143h、E0399h、E1928h; 上海青旗生物技术有限公司, 批号为 BFNE82729] 检测。

7.4 RT-PCR 检测外周血白细胞的 HMGB1 及受体 [晚期糖基化终末产物受体 (receptor for advanced glycation end products, RAGE)、Toll 样受体 9 (Toll-like receptor 9, TLR9)]、细胞因子及信号分子 [TNF- $\alpha$ 、IL-27、YTH 结构域家族分子 1 (YTH domain family protein 1, YTHDF1)、IL-17] 和趋化因子 (CXCL9、CXCL10) 基因表达 收集外周血白细胞放入 TRIzol 溶液中, -80  $^{\circ}$ C 保存。总 RNA 应用 TRIzol 结合人血液 RNA 提取 (Qiagen RNeasy) 试剂盒 (Qiagen Biochemical Company, 批号: 76544) 提取获得。通过 PUBMED gene bank 和 primer bank 设计引物。总 cDNA 应用 cDNA 第一链合成试剂盒 (RevertAid RT Reverse Transcription Kit, Thermo Company, 批号: K1691) 获得。应用 SYBR FAST qPCR MasterMix 试剂盒 (Sigma, 批号: KK4608) 进行 PCR 反应, 并用 Bio-Rad 荧光定量 PCR 仪检测 Ct 值, 2<sup>- $\Delta\Delta$ Ct</sup> 方法计算与管家基因甘油醛 3 磷酸脱氢酶 (glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, GAPDH) 比较后的相对 Ct 值。

7.5 ELISPOT 检测 CD8<sup>+</sup>CTL 分泌 IFN- $\gamma$  功能 通过酶联免疫斑点检测方法检测 CD8<sup>+</sup>CTL 分泌 IFN- $\gamma$  的功能, 详细步骤见参考文献 [9]。通过计数各组外周血单个核细胞脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 刺激后的 IFN- $\gamma$  斑点形成细胞, 以检测 CD8<sup>+</sup>CTL 适应性免疫应答情况。

8 统计学方法 采用 Graphpad Prism 5.0 软件进行统计学分析。计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 并对各组行正态性检验和方差齐性检验, 数据符合正态分布且具方差齐性, 则两组间比较采用  $t$  检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 结 果

1 受试者流程图 (图 1) 筛选各种肺炎脓毒症患儿共 67 例, 其中收集肺炎合并一般脓毒症患儿 (I 组) 10 例, 26 例需 ECMO 支持的肺炎严重脓毒症者, 其中合并脑部并发症患儿 22 例通过信封编码法随机分成安宫牛黄丸不干预 (II 组) 和安宫牛黄丸干预 (III 组), 其中有 2 例因喂养不耐受不能进行安宫牛黄丸干预而退出 III 组, 最后纳入分析每组 10 例。

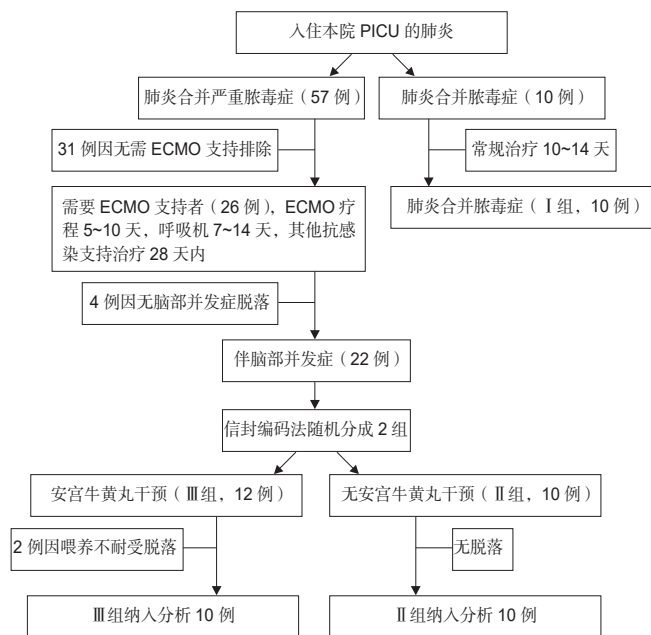


图 1 受试者流程图

2 各组第 10 天临床指标比较 (表 1) 多数患者入院第 1 天 (71%) 显示其 PCT 浓度  $>0.25$  ng/mL, 纳入研究所有患者均对抗生素治疗反应良好, 接收抗生素治疗后的第 5 天, 患儿平均 PCT 浓度均下降 I 组为  $(1.92 \pm 0.58)$  ng/dL, II 组为  $(42.25 \pm 8.51)$  ng/dL, III 组为  $(34.5 \pm 5.25)$  ng/dL, 第 10 天较第 5 天亦明显下降 ( $P < 0.01$ )。

与 I 组比较, II 和 III 组 CRP、PCT、BE 绝对值、Lac、平均住院天数均升高 ( $P < 0.01$ ), PF 值降低 ( $P < 0.01$ ), II 和 III 组危重评分降低 ( $P < 0.01$ ); 与 II 组比较, III 组危重评分略有好转, 但差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ ); BE 绝对值、Lac、平均住院天数均降低 ( $P < 0.01$ ), PF 值升高 ( $P < 0.01$ )。

3 各组流式细胞及常见细胞因子和内皮因子比较 (表 2、3) 与 I 组比较, II 组和 III 组  $CD63^+$  巨噬细胞和中性粒细胞亚群比例降低 ( $P < 0.01$ ),  $CCR2^{high}CX3CR1^{low}/CCR2^{low}CX3CR1^{high}$  比例和  $elastase^+$  升高 ( $P < 0.01$ ); 与 II 组比较, III 组  $CD63^+$  巨噬细胞和中性粒细胞亚群比例升高,  $elastase$ 、 $CCR2^{high}CX3CR1^{low}/CCR2^{low}CX3CR1^{high}$  比例降低 ( $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$ )。

与 I 组比较, II 组和 III 组  $CD4^+$  和  $TNF-\alpha$  降低 ( $P < 0.01$ ), IL-10 和 VEGF 升高 ( $P < 0.01$ ), II 组  $CD8^+$  T 细胞数目降低 ( $P < 0.05$ )。与 II 组比较, III 组  $CD4^+$ 、 $CD8^+$  T 细胞数目和  $TNF-\alpha$ 、IL-10 及 VEGF 差异无统计学意义 ( $P > 0.05$ )。

4 各组外周血白细胞免疫因子比较 (表 4) 与 I 组比较, II 组和 III 组外周血白细胞 HMGB1、RAGE、YTHDF1 和 IL-17 表达均升高 ( $P < 0.01$ ,  $P < 0.05$ ), TLR9、CXCL9、CXCL10、 $TNF-\alpha$ 、IL-27 减少 ( $P < 0.01$ )。与 II 组比较, III 组 HMGB1、RAGE、

表 1 各组临床指标比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 例数 | 危重评分 (分)            | CRP (mg/L)          | PCT (ng/dL)         | PF 值                  | BE (mmol/L)               | Lac (mmol/L)           | 平均住院天数 (天)          |
|-----|----|---------------------|---------------------|---------------------|-----------------------|---------------------------|------------------------|---------------------|
| I   | 10 | $86.78 \pm 4.71$    | $5.38 \pm 2.37$     | $0.55 \pm 0.23$     | $350 \pm 80$          | $-(2.3 \pm 1.1)$          | $0.9 \pm 0.4$          | $14 \pm 6$          |
| II  | 10 | $59.95 \pm 11.24^*$ | $52.73 \pm 20.27^*$ | $28.31 \pm 13.48^*$ | $160 \pm 75^*$        | $-(10.50 \pm 3.2)^*$      | $2.4 \pm 1.3^*$        | $37 \pm 13^*$       |
| III | 10 | $65.52 \pm 5.47^*$  | $44.33 \pm 17.68^*$ | $24.54 \pm 10.88^*$ | $250 \pm 65^{\Delta}$ | $-(6.2 \pm 2.2)^{\Delta}$ | $1.6 \pm 0.8^{\Delta}$ | $26 \pm 9^{\Delta}$ |

注: 与 I 组比较,  $*P < 0.01$ ; 与 II 组比较,  $\Delta P < 0.01$

表 2 各组外周血巨噬细胞 (M $\phi$ ) 和中性粒细胞 (Neu) 亚群及弹性蛋白酶的流式表达谱分析 ( $\%, \bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 例数 | CD3 <sup>+</sup> /CD11b <sup>+</sup> /ly6g <sup>+</sup> /CD63 <sup>+</sup> |                                  | CCR2 <sup>high</sup> CX3CR1 <sup>low</sup> /CCR2 <sup>low</sup> CX3CR1 <sup>high</sup> |                                 | elastase                 |
|-----|----|----------------------------------------------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------|--------------------------|
|     |    | M $\phi$                                                                   | Neu                              | M $\phi$                                                                               | Neu                             |                          |
| I   | 10 | $31.76 \pm 10.36$                                                          | $97.99 \pm 22.27$                | $1.20 \pm 0.22$                                                                        | $2.94 \pm 0.53$                 | $2.55 \pm 0.22$          |
| II  | 10 | $4.82 \pm 1.59^*$                                                          | $24.15 \pm 6.47^*$               | $45.31 \pm 8.46^*$                                                                     | $60.13 \pm 11.01^*$             | $5.38 \pm 0.82^*$        |
| III | 10 | $16.56 \pm 6.78^{\Delta}$                                                  | $45.84 \pm 11.73^{\Delta\Delta}$ | $20.27 \pm 5.68^{\Delta\Delta}$                                                        | $23.82 \pm 6.42^{\Delta\Delta}$ | $3.78 \pm 0.87^{\Delta}$ |

注: 与 I 组比较,  $*P < 0.01$ ; 与 II 组比较,  $\Delta P < 0.05$ ,  $\Delta\Delta P < 0.01$

表 3 各组外周血  $CD4^+$   $CD8^+$  T 细胞数目流式检测和细胞因子比较 ( $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 例数 | T 细胞 (个/ $\mu$ L)     |                    | $TNF-\alpha$ (pg/mL) | IL-10 (pg/mL)         | VEGF (pg/mL)             |
|-----|----|-----------------------|--------------------|----------------------|-----------------------|--------------------------|
|     |    | $CD4^+$               | $CD8^+$            |                      |                       |                          |
| I   | 10 | $592.6 \pm 37.4$      | $429.8 \pm 38.7$   | $9.50 \pm 1.95$      | $1.55 \pm 0.44$       | $76.23 \pm 31.23$        |
| II  | 10 | $371.2 \pm 28.7^{**}$ | $369.3 \pm 48.3^*$ | $1.79 \pm 0.68^{**}$ | $15.15 \pm 5.87^{**}$ | $398.21 \pm 167.20^{**}$ |
| III | 10 | $421.7 \pm 79.2^{**}$ | $399.3 \pm 59.6$   | $2.23 \pm 0.87^{**}$ | $16.67 \pm 5.47^{**}$ | $562.05 \pm 156.43^{**}$ |

注: 与 I 组比较,  $*P < 0.05$ ,  $**P < 0.01$

表 4 各组外周血白细胞免疫因子比较 (相对 CT 值,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 例数 | HMGB1                     | RAGE                             | TLR9              | CXCL9                            | CXCL10            | TNF- $\alpha$     | IL-27             | YTHDF1                     | IL-17                            |
|-----|----|---------------------------|----------------------------------|-------------------|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------------------------|----------------------------------|
| I   | 10 | 0.86 $\pm$ 0.46           | 0.97 $\pm$ 0.33                  | 2.05 $\pm$ 0.43   | 1.67 $\pm$ 0.68                  | 6.96 $\pm$ 1.54   | 2.45 $\pm$ 0.30   | 2.53 $\pm$ 0.24   | 2.08 $\pm$ 0.40            | 1.06 $\pm$ 0.26                  |
| II  | 10 | 2.29 $\pm$ 0.88**         | 10.49 $\pm$ 1.84**               | 0.06 $\pm$ 0.02** | 0.50 $\pm$ 0.10**                | 0.48 $\pm$ 0.22** | 0.12 $\pm$ 0.08** | 0.20 $\pm$ 0.10** | 9.43 $\pm$ 2.52**          | 6.97 $\pm$ 2.04**                |
| III | 10 | 1.55 $\pm$ 0.52* $\Delta$ | 5.34 $\pm$ 2.20** $\Delta\Delta$ | 0.05 $\pm$ 0.02** | 1.06 $\pm$ 0.36** $\Delta\Delta$ | 0.44 $\pm$ 0.14** | 0.09 $\pm$ 0.07** | 0.21 $\pm$ 0.10** | 7.23 $\pm$ 1.01** $\Delta$ | 3.02 $\pm$ 1.10** $\Delta\Delta$ |

注:与 I 组比较, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; 与 II 组比较,  $\Delta P<0.05$ ,  $\Delta\Delta P<0.01$

表 5 各组血浆 HMGB1、IL-17、CXCL9、血管内皮分子和 NSE 蛋白水平比较 (pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

| 组别  | 例数 | HMGB1                            | CXCL9                        | IL-17                         | Ang2/Ang1          | sTIE2                               | NSE                           |
|-----|----|----------------------------------|------------------------------|-------------------------------|--------------------|-------------------------------------|-------------------------------|
| I   | 10 | 0.90 $\pm$ 0.29                  | 173.80 $\pm$ 34.65           | 116.40 $\pm$ 45.05            | 5.37 $\pm$ 2.84    | 1 353.00 $\pm$ 233.80               | 275.00 $\pm$ 145.30           |
| II  | 10 | 2.22 $\pm$ 0.87*                 | 70.05 $\pm$ 26.46*           | 1 034.00 $\pm$ 390.00*        | 21.01 $\pm$ 10.62* | 449.70 $\pm$ 183.50*                | 1 149.00 $\pm$ 553.10*        |
| III | 10 | 1.42 $\pm$ 0.26** $\Delta\Delta$ | 106.70 $\pm$ 30.09* $\Delta$ | 634.30 $\pm$ 190.70* $\Delta$ | 21.27 $\pm$ 11.00* | 906.90 $\pm$ 332.40* $\Delta\Delta$ | 654.90 $\pm$ 284.10* $\Delta$ |

注:与 I 组比较, \* $P<0.01$ ; 与 II 组比较,  $\Delta P<0.05$ ,  $\Delta\Delta P<0.01$

YTHDF1 和 IL-17 表达降低 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), CXCL9 表达升高 ( $P<0.01$ ), TLR9、CXCL10、TNF- $\alpha$  和 IL-27 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

5 各组血浆 HMGB1、IL-17、CXCL9、内皮相关因子和 NSE 蛋白水平比较 (表 5) 与 I 组比较, II 组和 III 组外周血 HMGB1、IL-17、Ang2/Ang1 和 NSE 升高 ( $P<0.01$ ), CXCL9、sTIE2 降低 ( $P<0.01$ ); 与 II 组比较, III 组外周血 HMGB1、IL-17、NSE 蛋白降低 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), CXCL9 和 sTIE2 蛋白升高 ( $P<0.01$ ,  $P<0.05$ ), Ang2/Ang1 差异无统计学意义 ( $P>0.05$ )。

6 各组 LPS 刺激后 CD8<sup>+</sup>CTL 适应性免疫应答比较 (表 6) 与 I 组比较, II、III 组 IFN- $\gamma$  斑点形成细胞明显降低 ( $P<0.05$ ,  $P<0.01$ ); 与 II 组比较, III 组 IFN- $\gamma$  斑点形成细胞升高 ( $P<0.01$ )。

表 6 各组 LPS 刺激后 CD8<sup>+</sup>CTL 功能比较  
(斑点形成细胞, SFC/2x10<sup>5</sup>cells)

| 组别  | 例数 | LPS 刺激后 CD8 <sup>+</sup> CTL 的功能 |
|-----|----|----------------------------------|
| I   | 10 | 178.30 $\pm$ 29.56               |
| II  | 10 | 46.32 $\pm$ 22.42*               |
| III | 10 | 84.57 $\pm$ 27.60** $\Delta$     |

注:与 I 组比较, \* $P<0.05$ , \*\* $P<0.01$ ; 与 II 组比较,  $\Delta P<0.01$

讨 论

临床上肺炎合并严重脓毒症 ECMO 支持的患儿常合并脑部并发症,严重的可有脑梗死、出血、脑脓肿等,诊治棘手,预后差。初步研究表明,免疫细胞和炎症因子 (IL-8、IL-6、IFN- $\gamma$ 、IL-17) 可能对大脑具有神经毒性<sup>[3]</sup>。但是各种细胞亚群及上下游免疫机制尚不清楚。

有文献报道 YTHDF1 通过促进 JAK2/STAT3 基因甲基化信号和蛋白翻译,而 JAK2/STAT3 又可以

促进 IL-17 表达,导致严重脓毒症过度免疫和后期的免疫麻痹<sup>[10, 11]</sup>,而 IL-17 上升可能与炎症细胞迁移入脑内导致脑内炎症反应有关<sup>[3, 12]</sup>。本研究发现 II 组外周血白细胞 HMGB1 及其受体 RAGE 持续过度表达, YTHDF1 基因上调,使得中性粒和巨噬细胞进一步消耗,呈现一种持续性 TLR9、CXCL9、CXCL10、TNF- $\alpha$ 、IL-27 明显下降的免疫麻痹的状态,而 IL-17 却上调使得正常 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞减少和 LPS 特异的 CD8<sup>+</sup>CTL 细胞毒性杀伤功能减弱,并且继发性变性和极化的单核细胞进入受损的内皮血脑屏障造成脑损伤指标 NSE 上调,以上与上述文献报道一致<sup>[3, 12]</sup>,因此 IL-17 可能是严重脓毒症 ECMO 支持脑部并发症更多、BE 绝对值和 Lac 更严重和平均住院天数更长的早期预警指标。安宫牛黄丸干预组较 II 组 ECMO 10 天的 BE 绝对值、Lac 及平均住院日下降, PF 值上升,与其抑制上游 HMGB1 蛋白和 RAGE 及 YTHDF1 基因的过度表达,上调趋化 Th1 细胞的 CXCL9 趋化因子蛋白表达,抑制 Th17 相关蛋白 IL-17 从而改善 Th1/Th17 比例;而抑制巨噬和中性粒细胞进入脑内产生异常过度免疫有关。

在此基础上,本研究流式分析选择 CD11b<sup>+</sup>CD63<sup>+</sup> 标记有正常脱颗粒活化功能的单核细胞<sup>[13, 14]</sup>,用弹性蛋白酶标记变性中性粒细胞形成的 NET 相关分子<sup>[15]</sup>。CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup> 单核细胞与炎症进入脑组织造成脓毒症脑病有关<sup>[12]</sup>。研究发现,与 I 组比较, II 组外周血的 CD63<sup>+</sup> 型单核细胞脱颗粒功能下调,而 elastase、CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup>/CCR2<sup>low</sup>CX3CR1<sup>high</sup> 比例上升。提示 HMGB1 在脓毒症后期持续上升,可驱动 CD11b<sup>+</sup>Gr-1<sup>+</sup> 骨髓来源抑制细胞 (myeloid-derived suppressor cells, MDSCs) 过度消耗后出现骨髓无法代偿<sup>[15, 16]</sup>,造成本实验中的外周血 CD63<sup>+</sup> 单核细胞正常脱颗粒功能减低,而

异常过度免疫使弹性蛋白酶异常增多,造成组织损伤加重,NET 形成增多,进一步加重 CD11b<sup>+</sup> 单核细胞免疫麻痹<sup>[17-20]</sup>,以及 CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup>M1 型极化的单核细胞进入脑组织<sup>[12]</sup>,可能是导致上述 II 组并发脑损伤和预后差的重要因素。安宫牛黄丸组较 II 组减少 CD63<sup>+</sup> 单核细胞的免疫消耗,下调 elastase,从而改善 Th1 (CXCL9) /Th17 (IL-17) 比例及 CD8<sup>+</sup>CTL 细胞功能,抑制 CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup> 单核细胞进入脑内产生过度免疫,这与其较 II 组的临床转归稍好转及脑损伤减轻相一致。

对下游内皮效应细胞作用的研究发现,上述固有和适应性免疫麻痹状态,并发血 VEGF、Ang2/Ang1 上升、sTIE2 下降的内皮损伤机制 ( $P<0.05$ ),与脑部严重的临床转归相一致。有文献报道,严重肺部感染时 VEGF、TIE2/Ang2 比例失调与肺部血管渗漏机制相关<sup>[21]</sup>,LPS 增加 Ang2 而抑制 Ang1 和 Tie2 表达,与内皮损伤相关<sup>[22]</sup>,引起紧密连接蛋白 OCCLUDIN 减少,这与本研究血 VEGF、Ang2/Ang1 上升、sTIE2 下降的内皮损伤研究结果一致,可能参与了下一步紧密连接蛋白的损伤致毛细血管渗漏机制的发生,与脑部并发症临床的危重转归相一致。而安宫牛黄丸组最终上调血脑屏障内皮细胞保护性蛋白 sTIE2 表达而减少毛细血管渗漏,与临床脑损伤减轻一致。

因此,安宫牛黄丸保护小儿肺炎严重脓毒症 ECMO 脑部并发症,与抑制 HMGB1/RAGE 和 YTHDF1 分子过表达,使得 Th1 (CXCL9) /Th17 (IL-17) 比例趋于平衡,改善 CD11b<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CTL 细胞功能,减轻血脑屏障内皮损伤,减少 CCR2<sup>high</sup>CX3CR1<sup>low</sup>CD11b<sup>+</sup> 细胞进入脑内,改善脑部炎症有关。

**利益冲突:** 所有作者声明无利益冲突。

#### 参 考 文 献

- [1] Fleischmann-Struzek C, Goldfarb DM, Schlattmann P, et al. The global burden of paediatric and neonatal sepsis: a systematic review[J]. Lancet Respir Med, 2018, 6 (3): 223-230.
- [2] 闫钢风, 陆国平. 体外膜肺氧合在儿童脓毒性休克的應用[J]. 中国小儿急救医学, 2018, 25 (7): 503-506.
- [3] Sterling BO, Poornima P, Jana W, et al. A pilot study identifying brain-targeting adaptive immunity in pediatric extracorporeal membrane oxygenation patients with acquired brain injury[J]. Crit Care Med, 2019, 47 (3): e206-e213.
- [4] Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, et al. Infectious Diseases Society of America/American Thoracic Society consensus guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults[J]. Clin Infect Dis, 2007, 44 (Suppl 2): S27-S72.
- [5] Singer M, Deutschman CS, Seymour CW, et al. The third international consensus definitions for sepsis and septic shock (Sepsis-3) [J]. JAMA, 2016, 315 (8): 801-810.
- [6] 庄婉莉, 林广裕, 郑红, 等. 小儿脓毒症相关性脑病的临床诊断与治疗探讨[J]. 中国小儿急救医学, 2007, 14 (4): 38-41.
- [7] 蔡思雨, 聂晓璐, 彭晓霞. 罕见病临床试验设计的方法学进展[J]. 中国科学: 生命科学, 2018, 48 (9): 937-942.
- [8] 宋国维. 小儿危重病例评分[J]. 中华急诊医学杂志, 2003, 12 (5): 359-360.
- [9] Xing Y, Song HM, Wei M, et al. Clinical significance of variations in levels of Epstein-Barr virus (EBV) antigen and adaptive immune response in chronic active EBV infection in children[J]. J Immunotoxicol, 2013, 10 (4): 387-392.
- [10] Wu RF, Liu YH, Zhao YL, et al. m6A methylation controls pluripotency of porcine induced pluripotent stem cells by targeting SOCS3/JAK2/STAT3 pathway in a YTHDF1/YTHDF2-orchestrated manner[J]. Cell Death Dis, 2019, 10 (3): 171-186.
- [11] Marianne B, Marine G, Sebastian A. Translate less, prime better, to improve anti-tumor responses[J]. Nat Immunol, 2019, 20 (5): 518-526.
- [12] 费翔, 张庆红, 姚咏明. 脓毒症脑病免疫障碍机制研究进展[J]. 中华烧伤杂志, 2011, 27 (2): 128-130.
- [13] Nigorikawa K, Hazeki K, Guo Y, et al. Involvement of class II phosphoinositide 3-kinase  $\alpha$ -isoform in antigen-induced degranulation in RBL-2H3 cells[J]. PLoS One, 2014, 9 (10): e111698.
- [14] Droemann D, Hansen F, Aries SP, et al. Neutrophil apoptosis, activation and anti-inflammatory cytokine response in granulocyte colony-stimulating factor-treated patients with community-acquired pneumonia[J]. Respiration, 2006, 73 (3): 340-346.
- [15] Grégoire M, Tadié JM, Uhel F, et al. Frontline science: HMGB1 induces neutrophil dysfunction in experimental sepsis and in patients who survive septic shock[J]. J Leukoc Biol, 2017, 101 (6): 1011-1021.

- 1281–1287.
- [ 16 ] Ruan X, Darwiche SS, Cai C, et al. Anti-HMGB1 monoclonal antibody ameliorates immunosuppression after peripheral tissue trauma: attenuated T-lymphocyte response and increased splenic CD11b<sup>+</sup> Gr-1<sup>+</sup> myeloid-derived suppressor cells require HMGB1[J]. Mediators Inflamm, 2015, 2015: 458626.
- [ 17 ] Ishikawa M, Yamashita H, Oka N, et al. Antithrombin III improved neutrophil extracellular traps in lung after the onset of endotoxemia[J]. Scand J Immunol, 2016, 84 ( 6 ): 338–343.
- [ 18 ] Huebener P, Pradere JP, Huebene C, et al. The HMGB1/RAGE axis triggers neutrophil-mediated injury amplification following necrosis[J]. J Clin Invest, 2015, 125 ( 2 ): 539–550.
- [ 19 ] Gil M, Lim KK, Hong SB, et al. Naringin decreases TNF- $\alpha$  and HMGB1 Release from LPS-Stimulated macrophages and improves survival in a CLP-induced sepsis mice[J]. PLoS One, 2016, 11 ( 10 ): e0164186.
- [ 20 ] Leliefeld PHCL, Wessels CM, Luke PHL, et al. The role of neutrophils in immune dysfunction during severe inflammation[J]. Critical Care, 2016, 20 ( 3 ): 73–82.
- [ 21 ] Kumpers P, Lukasz A. The curse of angiopoietin-2 in ARDS: on stranger TI ( E ) des[J]. Critical Care, 2018, 22 ( 1 ): 44–54.
- [ 22 ] Zeng H, He XC, Tuo QH, et al. LPS causes pericyte loss and microvascular dysfunction via disruption of Sirt3/angiopoietins/ Tie-2 and HIF-2 $\alpha$  / Notch3 pathways[J]. Sci Rep, 2016, 6: 20931.
- ( 收稿: 2020–04–27 在线: 2022–12–20 )
- 责任编辑: 白 霞

## 《中国中西医结合杂志》第九届编委会名单

总 编 辑 陈可冀

副总编辑 王文健 史大卓 吕爱平 肖培根 吴伟康 雷 燕

顾 问 王永炎 吴咸中 辛育龄 张伯礼 陈香美 陈凯先 陈维养 唐由之 黄璐琦

曹洪欣 屠呦呦 韩济生

编辑委员

于德泉 王一涛 王卫霞 王 伟 王 阶 王拥军 ( 上海 ) 王拥军 ( 北京 ) 王 舒 毛 威  
卞兆祥 方邦江 方敬爱 邓跃毅 叶文才 田金洲 史载祥 白彦萍 吕志平 朱立国 朱 兵  
朱明军 危北海 刘瓦利 刘龙涛 刘 平 刘 良 刘建平 刘建勋 刘保廷 刘鲁明 齐清会  
安冬青 阮新民 孙汉董 孙 燕 阳 晓 花宝金 苏 励 李大金 李军祥 李国栋 李国勤  
李 恩 李焕荣 杨任民 杨宇飞 连 方 吴大嵘 吴万垠 吴正治 吴泰相 吴根诚 吴 烈  
张大钊 张卫东 张允岭 张永贤 张永祥 张荣华 张俊华 张亭栋 张敏州 张敏建 陆付耳  
陈士林 陈士奎 陈小野 陈立典 林志彬 林 谦 林瑞超 郁仁存 果德安 季 光 郑国庆  
赵一鸣 赵伟康 赵芳芳 胡义扬 胡晓梅 胡镜清 段金康 侯凡凡 饶向荣 洪传岳 夏城东  
栗原博 ( 日本 ) 徐凤芹 徐 浩 凌昌全 高瑞兰 郭 军 郭 姣 郭 艳 郭赛珊 唐旭东  
黄光英 梅之南 崔 红 麻 柔 梁 春 梁挺雄 梁晓春 梁繁荣 董竞成 董福慧 谢竹藩  
谢明村 谢 恬 蔡定芳 蔡 晶 裴正学 廖福龙 衡先培 魏 玮 Ye-meng CHEN ( 意大利 )  
Yung-chi CHENG ( 美国 ) Jia-lang HE ( 美国 ) Yong-ming LI ( 美国 ) Sheng-xing MA ( 美国 )  
Qun-hao ZHANG ( 美国 ) Joseph ZHOU ( 美国 ) Mian-sheng ZHU ( 法国 )

( 以上名单按姓氏笔画为序, 编委工作单位信息在本刊网站首页“下载专区”公布, 网址: <http://www.cjim.cn/zxyjhc/zxyjhc/ch/index.aspx> )