

• 临床检验研究 •

反复呼吸道感染儿童 T 淋巴细胞亚群的变化

赵文利¹, 吴柏杨², 吴丽娟³

(中国人民解放军成都军区总医院:1. 儿科;3. 检验科, 成都 610083;2. 成都医学院 610083)

摘要:目的 研究儿童反复呼吸道感染(RRTI)时 T 淋巴细胞亚群的变化。方法 采用流式细胞术检测 RRTI 患儿(观察组)和健康儿童(对照组)外周血 T 淋巴细胞亚群的表达水平。结果 观察组 CD3⁺、CD4⁺ 与 CD8⁺ T 细胞百分率分别为(61.82±7.25)%、(32.87±6.73)%及(20.39±3.72)%，均明显低于对照组(P<0.01)；CD4⁺/CD8⁺ 比值(1.65±0.42)显著高于对照组，差异有统计学意义(P<0.05)。结论 RRTI 患儿存在细胞免疫功能紊乱，表现为 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺ T 细胞比例下降和 CD4⁺、CD8⁺ 上升。流式细胞术检测 T 淋巴细胞亚群可用于快速、简便、准确评估患儿的免疫功能状况。

关键词:呼吸道感染；淋巴细胞亚群；流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.009

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1678-01

Changes of T-lymphocyte subsets in children with recurrent respiratory tract infections

Zhao Wenli¹, Wu Boyang², Wu Lijuan³

(1. Department of Paediatrics; 3. Department of Medical Laboratory, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China; 2. Chengdu Medical College, Chengdu 610083, China)

Abstract: Objective To investigate the alterations of T-lymphocyte subsets in children with recurrent respiratory tract infections(RRTI). **Methods** Children with RRTI(observed group) and healthy children(control group) were detected for T-lymphocyte subsets by using flow cytometry(FCM). **Results** The percentages of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T cells in observed group were (61.82±7.25)%, (32.87±6.73)% and (20.39±3.72)% and all significantly lower than those in control group (P<0.01). The ratio of CD4⁺/CD8⁺ in observed group was 1.65±0.42 and significantly higher than that in control group (P<0.01). **Conclusion** There could be disorder of cellular immunity function in children with RRTI. Detection of T-lymphocyte subsets by using FCM could be utilized for the evaluation of the immunity function and for the improvement of therapy plan in children with RRTI.

Key words: respiratory tract infections; lymphocyte subsets; flow cytometry

反复呼吸道感染(RRTI)是儿科门诊常见疾病,其病因和发病机制复杂,普通治疗效果欠佳。近年来发现 T 淋巴细胞功能紊乱和低下与 RRTI 的发生关系密切。本研究采用流式细胞术考察了 35 例 RRTI 患儿的 T 淋巴细胞亚群的状况,并与 30 例健康儿童做比较,结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 观察组 35 例 RRTI 患儿为 2009 年 11 月至 2011 年 5 月本院儿科门诊患儿,全部符合 1987 年 4 月全国反复呼吸道感染会议制订的诊断条件^[1],男 21 例,女 14 例,年龄 3~12 岁,平均(6.34±2.56)岁,3~5 岁 13 例,6~12 岁 22 例;反复上呼吸道感染 23 例,反复下呼吸道感染 12 例。对照组 30 例,男 20 例,女 10 例,年龄 3~12 岁,平均(6.18±2.36)岁,3~5 岁 11 例,6~12 岁 19 例。

1.2 方法 2 组均于清晨空腹采血,乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)真空采血管采集静脉血 2 mL。采用三色流式细胞术检测 T 淋巴细胞亚群(包括 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞)。同型对照抗体 IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5、测定抗体 CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PC5、标本预处理试剂(包括溶液 A、溶液 B 和溶液 C)、鞘液等均为美国 Beckman Coulter 公司产品。流式细胞仪为美国 Beckman Coulter 公司 XL4 型流式细胞仪。具体检测方法参见文献^[2]执行。

1.3 统计学处理 采用 SPSS11.0 统计软件进行处理,实验数据用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用方差分析进行显著性差异的检验。

2 结果

检测结果见表 1。

表 1 2 组 T 淋巴细胞亚群比例比较

组别	n	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
观察组	35	61.82±7.25	32.87±6.73	20.39±3.72	1.65±0.42
对照组	30	71.47±7.08*	39.26±4.55*	28.43±3.50*	1.39±0.16#

*: P<0.01; #: P<0.05, 与观察组比较。

3 讨论

T 淋巴细胞是参与机体免疫反应的主要免疫活性细胞之一。T 淋巴细胞亚群 CD4⁺ 和 CD8⁺ 通过直接作用和分泌细胞因子相互诱导、相互抑制形成 T 细胞网络,在机体免疫应答的调控和维持免疫稳定方面具有重要作用。RRTI 占儿科门诊呼吸道疾病的 10%~20%。该病患者存在细胞免疫及体液免疫的紊乱已被众多研究所证实^[3-4]。许多资料显示:RRTI 患儿存在外周血 T 淋巴细胞亚群的变化^[5-8],但 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞比例的变化各家报道不一致。本研究结果显示,RRTI 患儿 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞比例下降和 CD4⁺/CD8⁺ 上升,与健康儿童相比差异有统计学意义(P<0.01),提示 RRTI 患儿免疫功能异常和紊乱,免疫能力处于低下状态,与大多数文献报道结果基本一致^[5-8]。本研究中患儿 CD8⁺ T 淋巴细胞比例明显下降,这与国内外多家报道的结果不同。

笔者认为 T 细胞亚群比例的广泛低下和失衡是 RRTI 发病原因之一。由于细胞免疫失调,T 淋巴细胞不能有效地辅助或抑制免疫效应细胞,造成了 T 杀伤细胞(Tc 细胞)不能发挥其细胞介导的细胞毒作用,并且 T 淋巴细胞(下转第 1681 页)

感染微生物的靶细胞的功能^[7]。因此, T8 细胞增多说明体内清除被病原微生物感染的细胞的细胞免疫功能增强。另外, T4 细胞上的 CD4 分子和 T8 细胞上的 CD8 分子, 都是细胞识别外来抗原的关键分子, 在人类白细胞抗原(HLA)限制和 T 淋巴细胞活化信号传递中起重要作用。正常情况下, T4/T8 比值维持在一定范围之内。双阴性 T 淋巴细胞和双阳性 T 淋巴细胞都是 T 淋巴细胞分化发育的相对幼稚阶段。双阴性 T 淋巴细胞表面有 CD3 表达, 但是尚未表达 CD4 和 CD8 分子, 其在抗原刺激时不能被正常活化^[8]。双阳性 T 淋巴细胞表面不仅含有 CD3 分子, 同时还含有 CD4 和 CD8 分子, 是没有完成阳性筛选的 T 淋巴细胞, 同样在遭遇抗原刺激时不能被正常活化发挥免疫效应。正常情况下, 双阴性 T 淋巴细胞和双阳性 T 淋巴细胞存在于胸腺, 待其表面 CD4 和 CD8 分子完成表达、阳性筛选和阴性筛选后才释放进入外周血。因此, 正常情况下, 外周血双阴性 T 淋巴细胞和双阳性 T 淋巴细胞的含量是稀少的。B 淋巴细胞是体内专职产生抗体、执行体液免疫功能以清除游离感染病原微生物的淋巴细胞。NK 细胞则是体内的非特异性免疫细胞, 病原微生物感染机体, 主要是 NK 细胞在第一时间参与感染免疫应答, 清除外来病原体^[9]。

本研究结果显示, 胞外菌和需氧菌感染时, 外周血以 T4 细胞相对升高和 T4/T8 比值升高为特征; 胞内菌、真菌及厌氧菌感染时, 则是以 T8 细胞相对升高和 T4/T8 比值下降为特点。革兰阴性杆菌感染尤其是克雷伯菌属引起的感染, 外周血淋巴细胞亚群改变的幅度较革兰阳性球菌感染引起的变化大, 全身性感染又较局部感染引起的淋巴细胞亚群改变更为明显。可见, 不同类型的 MI 引起机体的免疫应答存在差异性, 胞外菌和需氧菌感染以 T4 细胞效应的体液免疫为主要特征, 同时 B 淋巴细胞亚群增高; 胞内菌、真菌及厌氧菌感染则以 T8 细胞效应的细胞免疫功能为主要特征^[10]。不同 MI 引起机体免疫

功能的上述不同变化, 其机制目前仍不清楚, 但是观察到该现象有利于临床对 MI 作出快速分类诊断, 有利于临床针对不同类型感染的药物选择。

参考文献

- [1] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 1, 78-88, 119-122, 124-127.
- [2] World Health Organization. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide[M]. 2nd ed. Geneva: World Health Organization, 2002.
- [3] Lazarevic V, Nolt D, Flynn JL. Long-term control of Mycobacterium tuberculosis infection is mediated by dynamic immune responses[J]. J Immunol, 2005, 175(2): 1107-1117.
- [4] 许晓军, 邱大发, 郭子文, 等. 急性白血病患者侵袭性真菌感染后的免疫功能改变[J]. 中华传染病杂志, 2010, 28(12): 762-765.
- [5] Skendros P, Boura P, Chrisagis D, et al. Diminished percentage of CD4⁺ lymphocytes expressing interleukine-2 receptor alpha in chronic brucellosis[J]. J Infect, 2007, 54(2): 192-197.
- [6] 陈采凤, 刘彦信, 郑德先. TCR/CD3 介导 T 细胞活化的信号途径[J]. 中国免疫学杂志, 2006, 22(10): 970-975.
- [7] 李红平, 赵遼, 毛万姮, 等. 胃黏膜 TGF- β_1 在幽门螺杆菌感染中的表达及与外周血 T 细胞亚群变化的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 18(5): 506-511.
- [8] 黄立锋, 姚咏明. 双阴性调节性 T 细胞在免疫抑制中的作用及其机制[J]. 国际病理科学与临床杂志, 2007, 27(2): 93-99.
- [9] 罗源, 刘朝晖. 自然杀伤细胞在细菌性肺炎中的免疫效应作用[J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30(2): 94-98.
- [10] 刘建强, 李秀武, 杨志英, 等. 肺结核并呼吸衰竭患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 河北医药, 2010, 32(15): 2075-2076.

(收稿日期: 2011-06-10)

(上接第 1678 页)

对 B 淋巴细胞发育和免疫球蛋白合成的调节功能降低, 引起了 B 淋巴细胞抗体产生不足及免疫球蛋白的转换不良而易感染发病^[9]。因此, 对 RRTI 患儿除应常规抗感染治疗外, 还应加强免疫功能调节治疗, 以改善机体细胞免疫功能。当然, 影响免疫功能的因素众多, 机体的营养状况、维生素和微量元素水平、体质等因素可能均需要评估^[9-12], 才能提供更好的个体化免疫功能调节方案。本研究采用了流式细胞术检测 RRTI 患儿的 T 淋巴细胞亚群, 与国内外类似报道中采用的红细胞花环直接法^[6]、T 淋巴细胞亚群 McAb 联合 S-P 药盒法^[7]、ELISA 法^[8]比较, 更加快捷、方便和准确, 更易于在临床上应用推广, 并能及时评估 RRTI 患儿的免疫状况, 为治疗方案的优化提供准确的依据。由于利用流式细胞仪检测淋巴细胞亚群对 RRTI 患儿研究时间较短, 未能评估 T 淋巴细胞的功能状态, 且本研究的样本量比较小, 是本研究的不足之处, 这有待在后续进一步的研究中改进提高。

参考文献

- [1] 胡仪吉. 反复呼吸道感染的诊断标准[J]. 中华儿科杂志, 1988, 26(1): 41.
- [2] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京: 人民军医出版社, 2010: 78-88.
- [3] Herrnry G, Bluiss S, Valenski R, et al. Cell-mediated immune status of children with recurrent infection[J]. J Pediatr, 1995, 126

(4): 530-536.

- [4] Dacel J, Zoot AF. Humoral immunodeficiency in recurrent upper respiratory tract infections. Some basic, clinical and therapeutic features[J]. Acta Otorhinolaryngol Belg, 2000, 54(3): 373-390.
- [5] 陈爱萍, 杨蕴华, 王松玲. 测定 T 淋巴细胞亚群观察小儿细胞免疫功能[J]. 山西职工医学院学报, 1995, 5(1): 9-10.
- [6] 周小燕, 余华, 邓朝霓. 反复呼吸道感染儿童外周血 T 淋巴细胞亚群检测的临床意义[J]. 医学检验, 2008, 28(10): 77, 105.
- [7] 陈尚德, 卢芳萍, 张盛洪. 小儿反复呼吸道感染 T 淋巴细胞亚群的变化: 附 31 例报告[J]. 临床儿科杂志, 1996, 14(3): 203, 205.
- [8] 李建平. 哮喘及反复呼吸道感染患儿 T 淋巴细胞亚群和 IgE 的测定与分析[J]. 中国厂矿医学, 2005, 18(6): 505-506.
- [9] 蒋利平, 杨锡强, 李成荣, 等. 儿童血清免疫球蛋白 G 亚类缺陷及其与反复呼吸道感染的关系[J]. 中华儿科杂志, 1990, 28(2): 79-81.
- [10] Singh M. Recurrent lower respiratory tract infections in children[J]. Indian J Pediatr, 1999, 66(6): 887-893.
- [11] 赵黎光, 马凯. 反复呼吸道感染与微量元素的关系[J]. 中国医药导报, 2006, 3(18): 62.
- [12] Brook I, Shah K. Bacteriology of adenoids and tonsils in children with recurrent adenotonsillitis[J]. Ann Otol Rhinol Laryngol, 2001, 110(9): 844-848.

(收稿日期: 2011-06-10)