

• 经验交流 •

流式细胞术检测 T 细胞亚群在 2 型糖尿病及糖尿病肾病患者中的应用

陈 烨

(南通大学附属海安人民医院检验科, 江苏海安 226600)

摘 要:目的 观察 2 型糖尿病及糖尿病肾病患者外周血中 T 细胞亚群变化,探讨其在 2 型糖尿病、糖尿病肾病发病中的致病作用。方法 采用流式细胞技术测定 30 例 2 型糖尿病无肾病(DM 组)患者,30 例糖尿病肾病(DN 组)患者,20 例健康对照者(NC 组)外周血 T 淋巴细胞上 CD3、CD4、CD8 的表达。结果 DM 组和 DN 组外周血 CD3+T 细胞数量(58.5±7.5)%、(54.8±5.1)% 低于 NC 组(65.1±8.6)% ($P<0.05$);CD4+T 细胞数量(39.5±2.1)%、(42.1±1.6)% 均明显高于 NC 组(34.3±5.1)% ($P<0.01$);CD8+T 细胞数量(19.6±2.2)%、(17.1±2.6)% 低于 NC 组(21.1±3.2)% ($P<0.01$);CD4+/CD8+ 比值(2.01±0.5、2.65±0.21)高于 NC(1.79±0.72) ($P<0.01$);DN 组外周血 CD4+T 细胞数量高于 DM 组($P<0.05$);DN 组外周血 CD3+T、CD8+T 细胞数量低于 DM 组,但差异无统计学意义 ($P>0.05$);DN 组外周血 CD4+/CD8+ 比值高于 DM 组($P<0.05$)。结论 2 型糖尿病患者存在 T 细胞亚群失衡,合并糖尿病肾病患者较糖尿病无肾病患者表达失衡更为严重,提示自身免疫调节异常可能参与 2 型糖尿病、糖尿病肾病的发生与发展。

关键词:糖尿病,2 型; 糖尿病肾病; 流式细胞术; T 淋巴细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.055

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)04-0491-02

糖尿病(diabetes,DM)是一组以慢性血葡萄糖水平升高为特征的代谢性疾病,高血糖是其基本的表现,同时也引发和参与了一系列的代谢紊乱,导致各种糖尿病并发症的发生^[1]。糖尿病肾病(diabetic nephropathy,DN)是糖尿病最常见、最严重的慢性并发症,其可致肾小球基底膜增厚,系膜细胞增生,系膜基质增多,最终致肾小球,肾小管纤维化,肾功能衰竭。糖尿病肾病其发病机制与肾小球血液动力学改变、生化代谢紊乱、血液流变学变化、氧化应激、细胞因子与遗传易感性等多种因素有关,其中高血糖参与糖尿病肾病的主要代谢紊乱^[2-5]。本文通过对 T2DM、DN 患者及健康人外周血 T 细胞亚群中 CD3、CD4、CD8 进行检测对比,旨在探讨流式细胞术检测 T 细胞亚群在 2 型糖尿病及糖尿病肾病患者中的临床应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 糖尿病组:30 例 2 型糖尿病患者均为本院糖尿病专科确诊的门诊和住院患者,空腹血糖在 10~16 mmol/L 之间的男性患者 15 例,女性患者 15 例,年龄 38~70 岁,平均 52 岁。30 例糖尿病肾病患者均为本院糖尿病专科确诊的门诊和住院患者,空腹血糖在 12~18 mmol/L 之间的男性患者 20 例,女性患者 10 例,年龄 40~75 岁,平均 58 岁。对照组:20 例无糖尿病史和肝、肾疾病史的健康体检者,男 15 例,女 15 例,年龄 35~65 岁,平均 45 岁。

1.2 测定方法 受试者在试验前 1 d 晚餐后禁食,试验日上午停用一切药物,清晨空腹取静脉血,EDTA 抗凝,待测。T 细胞亚群 CD3+、CD4+、CD4+/CD8+ 使用 BECKMAN-COULTER XL 流式细胞仪及相应配套进口试剂检测。

1.3 统计学处理 用 SPSS 统计软件进行均数($\bar{x}$)、标准差(s)的分析,所测数据均以 $\bar{x}\pm s$ 表示。组间差异的显著性用因素方差分析。

2 结 果

DM 组和 DN 组外周血 CD3+T 细胞数量(58.5±7.5)%、(54.8±5.9)% 低于 NC 组(65.1±8.6)% ($P<0.05$);CD4+T 细胞数量(39.5±2.1)%、(42.1±1.6)% 均明显高于 NC 组(34.3±5.1)% ($P<0.01$);CD8+T 细胞数量(19.6±2.2)%、(17.1±2.6)% 低于 NC 组(21.1±3.2)% ($P<0.01$);CD4+/CD8+ 比值(2.01±0.5、2.65±0.21)高于 NC(1.79±

0.72) ($P<0.01$);DN 组外周血 CD4+T 细胞数量高于 DM 组 ($P<0.05$);DN 组外周血 CD3+T、CD8+T 细胞数量低于 DM 组,但差异无统计学意义 ($P>0.05$);DN 组外周血 CD4+/CD8+ 比值高于 DM 组($P<0.05$),结果见表 1。

表 1 各组 T 细胞亚群结果比较($\bar{x}\pm s$)				
组别	CD3+(%)	CD4+(%)	CD8+(%)	CD4+/CD8+
对照组	65.1±8.6	34.3±5.1	21.1±3.2	1.79±0.72
DM 组	58.5±7.5	39.5±2.1	19.6±2.2	2.01±0.55
DN 组	54.8±5.9	42.1±1.6	17.1±2.6	2.65±0.21

3 讨 论

T 淋巴细胞是人体重要的免疫细胞群,外周血成熟 T 细胞主要有 CD4+ 和 CD8+2 个亚群,它们在体内进行免疫应答时互相协同,又相互拮抗,以维持免疫应答的相对平衡,平衡失调会导致免疫功能紊乱,产生一系列的免疫病理变化,也影响机体的免疫保护机制^[6-8]。CD4+T 细胞通过自身或调节其他免疫细胞分泌细胞因子而发挥作用,各种细胞因子可直接导致胰岛 β 细胞损伤并参与胰岛素抵抗。其中分泌的各种相关因子可通过各种途径造成组织损伤和肾脏纤维化,导致糖尿病肾病的发生。CD8+T 细胞具有抑制免疫细胞毒性效应的一种 T 细胞,其降低使对 CD4+T 细胞功能的抑制作用减低,从而促进 CD4+T 细胞对胰岛 β 细胞的损伤,加速糖尿病的发生发展^[9-12]。

本研究结果中,CD4+T 细胞亚群较对照组升高,而 CD8+ 亚群值明显低于对照组,提示 2 型糖尿病患者自身免疫调节功能异常,即具有抑制免疫细胞毒性效应的 T 细胞减少,CD4+T 细胞功能的抑制作用减弱,使辅助抗体产生的功能增强,自身抗体生成增多,免疫调节紊乱,促进糖尿病的发生、发展。CD4+/CD8+ 比值是临床上常用作了解机体细胞免疫功能的敏感指标。本研究中,CD4+/CD8+ 比值明显升高,提示 2 型糖尿病患者存在明显的细胞免疫功能异常,这可能与 CD8+T 细胞减少关系较大,故 CD8+T 细胞减少在此细胞免疫缺陷中居主导地位。这种由 T 淋巴细胞介导的免疫异常可造成对胰岛 B 细胞的损伤,可能在 2 型糖尿病的发生、发展中起重要作用。

用。糖尿病肾病患者外周血 CD4+T 淋巴细胞较 2 型糖尿病组升高且差异有统计学意义,提示 CD4+T 淋巴细胞可能参与糖尿病肾病的发生。

参考文献

[1] Wong CK, Ho AWY, Tong PCY, et al. Aberrant activation profile of cytokines and mitogen-activated protein kinases in type 2 diabetic patients with diabetic nephropathy[J]. Clin Exp Immunol, 2007, 149(1):123-131.

[2] 渠利利,徐勇飞,朱婵,等. 2 型糖尿病相关基因多态性及其研究进展[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(8):836-838.

[3] Mora C, Navarro JF. Inflammation and diabetic nephropathy[J]. Curr Diab Rep, 2006, 6(4):463-468.

[4] Mukherjee R, Wagar D, Stephens TA, et al. Identification of CD4 + T-cell-specific epitopes of islet-specific glucose-6-phosphatase catalytic subunit-related protein; a novel β cell autoantigen in type 1 Diabetes[J]. Immunology, 2005, 174(9):5306-5315.

[5] 张宏,于德民,陈樱. 2 型糖尿病患者免疫功能变化与血糖和胰岛素水平相关性的研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2002, 9(2):90-

93.

[6] 李蓉,刘青. 2 型糖尿病和细胞免疫[J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26(5):475-477.

[7] 冯秀艳,刘国良. 肥胖与非肥胖 2 型糖尿病患者外周血 T 淋巴细胞亚群研究[J]. 中华内分泌代谢杂志, 2003, 19(1):43.

[8] 王彩宁,史丽萍,李秋云. 2 型糖尿病患者淋巴细胞亚群变化及临床意义[J]. 山东医药, 2010, 50(1):111-112.

[9] 罗儒超,钟代平. 2 型糖尿病患者血清免疫球蛋白及补体变化[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7):741-742.

[10] Parthav J, Jill W, Sanja G, et al. Apoptosis of CD4+ CD25high T cells in type 1 diabetes may be partially mediated by IL-2 deprivation[J]. Plosone, 2009, 4(8):1213.

[11] 王卫,全胜麟,屈晓雯. 2 型糖尿病并发微血管病变淋巴细胞亚群的变化[J]. 中国老年学杂志, 2010, 30(23):3585-3586.

[12] 孙明谨,曾玉琴. 糖尿病患者 T、B 细胞亚群的研究[J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(22):3455-3457.

(收稿日期:2011-10-07)

• 经验交流 •

122 例妇产科患者输注血小板的疗效分析

杨利华,张伟英,康九娣,卓 凌
(福建省南平市第一医院输血科 353000)

摘 要:**目的** 通过对妇产科疾病患者输注血小板前后相应指标的测定,观察其输注效果。**方法** 对患者输注前、后 1 h 和 24 h 用细胞计数仪计数血小板,计算血小板的计数增值(CCI)和血小板回收率(PPR),并结合临床观察 122 例患者 197 次输注血小板后的疗效。**结果** 血小板计数大于 $50\times 10^9/L$ 输注血小板的患者 54 次(27.41%),可见临床治疗中存在血小板滥用现象;输注血小板次数为 1 次、2~3 次、4~5 次、>5 次的 4 组患者其临床有效率分别为:76.71%、70.37%、37.50%、31.58%,结果还显示血小板输注有效率随着输血次数的增多而降低。**结论** 临床输注血小板存在不合理现象;输注血小板的治疗效果可能与输注次数呈正相关;要提高治疗效果应选择 HLA 配合的机采血小板,以提高血小板输注的效果。

关键词:血液成分输血; 妇产科; 血小板

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.04.056 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2012)04-0492-02

原发性或继发性血小板减少是妇产科疾病常见的合并症,轻者伴有皮肤黏膜出血,重者可导致重要脏器出血甚至危及生命。国内外文献报道,血小板输注是治疗各种血小板减少引起出血性疾病的有效治疗措施^[1]。然而随着临床血小板需求量增加以及大剂量反复输注,患者体内可产生血小板同种免疫,致使血小板输注无效。本研究观察了 122 例妇产科手术患者血小板应用情况,以期分析探讨手术患者血小板应用指征和影响疗效的因素。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2009 年 1 月至 2010 年 12 月在本院妇产科住院手术伴有血小板减少的患者 122 例,年龄 24~45 岁,平均 32.5 岁。122 例患者中妇科肿瘤手术 18 例,产科剖宫产 104 例。血小板输注指征:(1)血小板小于或等于 $50\times 10^9/L$;(2)临床可见患者皮肤黏膜有出血、凝血机制不好或伴严重合并症者可适当放宽。

1.2 血小板来源 单采血小板全部由福建省南平市中心血站提供,符合质量标准。每袋血小板 10 个单位,容量约 250 mL,含血小板数大于或等于 $2.5\times 10^{11}/L$,血小板从中心血站至医院保存温度(22 ± 2)℃,输血科立即发至临床输注,均在临床输

注前由机器单采后在规定时间内输注^[2]。

1.3 血小板计数 每位患者在输注血小板前及输注后 1 和 24 h 采血,采用 COULTER 五分类血细胞分析仪(美国)进行血小板计数,试剂均为厂家提供配套试剂,并严格按照标准操作规程操作。

1.4 判断血小板输注效果的标准 计算血小板计数增值(corrected count increment,CCI)和血小板回收率(percentage platelet recovery,PPR)。计算公式为:CCI=[输注后血小板计数-输注前血小板计数($10^9/L$)] $\times$ 体表面积(m^2) $\div$ 输入血小板总数(0.111),其中体表面积= $0.0061\times$ 身高(cm)+ $0.0128\times$ 体质量(kg)- 0.1529 ;PPR=(输注后血小板计数-输注前血小板计数) $\times$ 全血容量(L) $\times 100\%\div$ 输注血小板数 $\div 2/3$,其中全血容量=体表面积(m^2) $\times 2.5$ =体质量(kg) $\times 0.075$ 。同时,观察患者出血情况有无改善。当输注后 1 h CCI $>10\times 10^9/L$ 、PPR $>60\%$,输注后 24 h CCI $>7.5\times 10^9/L$ 、PPR $>40\%$,出血情况缓解,认为血小板输注有效,否则视为无效^[3]。

1.5 统计学处理 有效率比较采用卡方 χ^2 检验。

2 结 果

2.1 122 例单采血小板输注患者的输注类型及输前 PLT 计