

• 经验交流 •

乳腺癌患者外周血 T 淋巴细胞及调节性 T 细胞的检测意义

莫 扬

(湖北省襄樊市中心医院 441021)

摘要:目的 探讨乳腺癌患者外周血中 T 淋巴细胞亚群及调节性 T 细胞的变化和临床意义。方法 采用流式细胞术检测 30 例乳腺癌患者外周血中 T 淋巴细胞亚群及调节性 T 细胞的变化,并与健康对照组进行比较。结果 乳腺癌患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 及 CD4⁺CD25^{high} 调节性 T 细胞占 CD3⁺CD4⁺T 细胞的比率为 (15.52±1.54)% 及 (3.49±0.54)%, 高于健康对照组 (6.11±0.72)% 及 (1.42±0.61)%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$); 乳腺癌患者 CD3⁺T 淋巴细胞比率为 (50.98±6.79)%、CD4⁺Th 细胞比率为 (28.37±7.58)% 和 Th/Ts 比值为 (1.05±0.38), 显著低于健康对照组 (67.55±5.98)%、(40.12±5.27)% 和 (1.59±0.65), 差异有统计学意义 (均 $P<0.05$), 而 CD8⁺Ts 细胞比率为 (30.05±7.79)%, 与健康对照组 (29.97±7.14)% 比较, 差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 乳腺癌患者外周血调节性 T 细胞水平升高, T 淋巴细胞及 Th 细胞降低可能是乳腺癌患者细胞免疫功能受损的重要原因之一。

关键词: 乳腺肿瘤; 淋巴细胞亚群; 调节性 T 细胞; 流式细胞术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.053

文献标识码: B

文章编号: 1673-4130(2012)07-0875-02

近年来随着肿瘤免疫学研究的不断深入,已经明确细胞免疫是机体抗肿瘤免疫的主要方式,而 T 淋巴细胞是细胞免疫中的主要效应细胞,肿瘤患者以 T 细胞介导的细胞免疫存在不同程度的缺陷和紊乱,调节性 T 细胞不仅能抑制自身免疫性疾病的发生,还可能参与肿瘤免疫的调节。现采用流式细胞术检测乳腺癌患者外周血中调节性 T 细胞及 T 淋巴细胞亚群,以探讨乳腺癌患者的免疫功能变化、调节性 T 细胞与肿瘤发生、发展的关系及临床意义。报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 全部对象均为女性。乳腺癌患者 30 例,年龄 23~70 岁,平均年龄 46.5 岁;健康对照者 15 例,年龄 35~60 岁,平均年龄 45 岁。均抽取静脉血 2 mL, EDTA-K₂ 抗凝。

1.2 仪器与试剂 流式细胞仪 FACSCalibur, 单克隆抗体 CD8-FITC、CD25-PE、CD3 Percp 和 CD4-APC, 均为美国 Becton Dickinson 公司产品。

1.3 方法 采用四色直接标记,每个检测管取细胞数 1×10^6 /mL, 加 CD8/CD25/CD3/CD4 各 20 μ L, 室温暗处孵育 15 min, 加入溶血剂溶血 10 min, 1 500 r/min 离心 5 min, 加 PBS 洗涤后上机分析, 每个检测管获取 10 000 个细胞。测定结果采用 cellquestpro 软件分析, 首先从 FSC/SSC 图中圈出淋巴细胞群为 R1, 然后从 SSC/CD3 图中圈出 CD3⁺ 细胞群为 R2, 分别以 CD3/CD4(R1)、CD3/CD8(R1)、CD4⁺CD25⁺(R2)、CD4⁺CD25^{high}(R2) 的二维散点图确定抗体的表达率。

1.4 统计学处理 数据以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 采用 SPSS 13.0 软件进行统计分析, 组间均数比较采用 *t* 检验。 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 CD4⁺CD25⁺ 及 CD4⁺CD25^{high} 的比率 乳腺癌患者 CD4⁺CD25⁺ 及 CD4⁺CD25^{high} 的比率分别为 (15.52±1.54)% 及 (3.49±0.54)%, 均高于健康对照组 (6.11±0.72)% 及 (1.42±0.61)%, 差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 1。

2.2 两组 T 淋巴细胞亚群比率 乳腺癌患者及健康对照者 CD3⁺T 淋巴细胞分别为 (50.98±6.79)% 和 (67.55±5.98)%、CD4⁺Th 细胞分别为 (28.37±7.58)% 和 (40.12±5.27)%、CD8⁺Ts 细胞分别为 (30.05±7.79)% 和 (29.97±7.14)%、Th/Ts 比值分别为 (1.05±0.38) 和 (1.59±0.65)。

乳腺癌患者 CD3⁺T 细胞、Th 细胞及 Th/Ts 比值显著低于健康对照者, 差异有统计学意义 (均 $P<0.05$), 两者 Ts 细胞未见明显差异。见表 2。

表 1 两组 CD4⁺CD25⁺ 及 CD4⁺CD25^{high} 比率结果比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ^{high}
乳腺癌组	15.52±1.54*	3.49±0.54*
健康对照组	6.11±0.72	1.42±0.61

* : $P<0.05$, 与健康对照组比较。

表 2 两组 T 淋巴细胞亚群比率的结果比较 (% , $\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺ T	CD4 ⁺ Th	CD8 ⁺ Ts	Th/Ts
乳腺癌组	50.98±6.79*	28.37±7.58	30.05±7.79#	1.05±0.38*
健康对照组	67.55±5.98	40.12±5.27	29.97±7.14	1.59±0.65

* : $P<0.05$, 与健康对照组比较; # : $P>0.05$, 与健康对照组比较。

2.3 乳腺癌患者 CD3⁺T 细胞及调节性 T 细胞比率与患者年龄的关系 乳腺癌患者 CD3⁺T 细胞及调节性 T 细胞比率与患者年龄无相关性, 未见随年龄增长而发生趋势性变化。见表 3。

表 3 乳腺癌患者 CD3⁺T 细胞及调节性 T 细胞比率与患者年龄的关系 (%)

年龄(岁)	例数(n)	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ^{high}	CD3 ⁺ T
23~45	13	15.84±1.71	3.65±0.55	50.6±6.56
46~55	7	15.21±1.24	3.44±0.78	49.55±8.81
56~70	10	15.32±1.59	3.31±0.24	52.47±5.91

3 讨论

调节性 T 细胞作为一组具有免疫调节功能的 T 细胞亚群, 在免疫抑制机制和维持自身免疫耐受中具有重要的作用^[1]。在抗肿瘤免疫中发挥抑制效应, 主要表现在肿瘤患者 T 细胞的比例上升、与 CD8⁺T 细胞相互接触作用后抑制了 CD8⁺T 细胞的杀伤效应^[2]。

研究发现具有免疫调节活性的细胞主要是高表达 CD25⁺ 的 CD4⁺ T 细胞即 CD4⁺ CD25⁺ high T^[3-4]。因此本组对 CD4⁺ CD25⁺ T 及 CD4⁺ CD25⁺ high T 均进行了检测,发现各年龄段乳腺癌患者 CD4⁺ CD25⁺ T 及 CD4⁺ CD25⁺ high T 占 T 淋巴细胞的比率均高于健康对照组,说明患者肿瘤免疫处于抑制状态,有利于肿瘤耐受的形成,降低免疫系统对肿瘤的免疫应答,并且这种变化与年龄因素无关。而乳腺癌患者 CD3⁺ T 淋巴细胞及 Th 细胞比率减低,Th/Ts 比值下降,提示乳腺癌患者 T 细胞免疫功能减弱可能与其外周血 T 细胞比例增加有关。陈中等^[5]也报道原发性肝癌肿瘤局部 T 细胞数量增多,并与 CD4⁺ T 细胞数量以及 CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值呈显著负相关,与本研究结果一致。引起这种变化的原因可能是肿瘤细胞通过某种机制使体内 T 细胞的数量增高,抑制 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞的活化和增殖,达到免疫的负调节作用,抑制抗肿瘤免疫。同时,调节性 T 细胞可增加抑制性细胞因子的分泌。已有的研究表明,在非小细胞肺癌、卵巢癌、胃癌、食管癌、直肠癌等患者的外周血中及霍奇金病患者淋巴结肿瘤浸润淋巴细胞中 T 细胞比例明显增加^[6]。这些细胞通过分泌 IL-10、TGF-β 抑制患者的免疫功能,不利于肿瘤细胞的清除,抑制肿瘤免疫,导致病情的进展^[7]。

参考文献

[1] Jason D, Marc A, Alexander Y, et al. Foxp3 programs the develop-

• 经验交流 •

血液分析仪联合血细胞形态观察在临床诊断中的应用

李 霞¹, 曾文洁¹, 郭建华^{2△}

(1. 湖北省十堰市竹山县妇幼保健院 442400; 2. 湖北医药学院附属太和医院检验部, 湖北十堰 442000)

摘要:目的 探讨血液分析仪联合血细胞形态观察在临床诊断中的应用价值。方法 收集外周血标本 1 404 例,抽取患者静脉血 0.5 mL 置于含 EDTA-K₂ 抗凝剂 10 μL 的试管中,血液分析仪作血液分析,同时推血片 2 张,自然干燥后瑞-姬氏染色作外周血细胞形态观察。结果 成熟红细胞体积大小,其形态学观察与血液分析仪测定相一致;而红细胞形态异常改变,血液分析仪只提示影红细胞,而对其他异形红细胞形态无法显示,差异有统计学意义(P<0.05);对幼稚红细胞的提示,两者差异无统计学意义(P>0.05);对血液寄生虫(疟原虫)无法检测;血液分析仪对粒细胞形态无法准确判别,其对幼稚粒细胞及核左移现象提示结果与显微镜观察比较,两者差异无统计学意义(P>0.05);对粒细胞内的中毒颗粒、空泡、变性则无法显示。对各类幼稚粒细胞形态的分类则完全依靠血细胞形态学检查;血液分析仪对淋巴细胞形态无法准确判断;只对异形淋巴细胞有提示,其与外周血细胞形态比较,两者差异无统计学意义(P>0.05);无法鉴别幼稚淋巴细胞及对异形淋巴细胞分型。结论 血液细胞分析仪检查结合外周血细胞形态学检查可为临床各类疾病的诊断、治疗提供非常重要的科学依据。

关键词:血液分析仪; 显微镜检查; 红细胞; 粒细胞; 淋巴细胞

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.07.054

文献标识码:B

文章编号:1673-4130(2012)07-0876-03

由于血细胞分析仪尚不具备识别红细胞、白细胞、血小板形态的能力,如果完全依靠仪器的检测结果,不加以分析和复查,会发出一定数量的错误报告,造成误诊或导致不合理治疗^[1]。所以,外周血细胞形态学检查是血液细胞分析仪所不可替代的观察各类血细胞形态学改变的“金标准”,其对不明原因的发热、出血、黄疸、贫血及某些不易控制症状的各种疾病的诊断、鉴别诊断,有非常重要的参考价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集该院 2011 年 2~8 月各科门诊及住院患者外周血标本 1 404 例。其中儿科患者标本 1 336 例,占

ment and function of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells[J]. Nature Immuno, 2003, 4(6): 330-336.

[2] Nakamura K, Kitani A, Strober W, et al. Cell contact dependent immune suppression by CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells is mediated by cell surface bound transforming growth factor beta[J]. J Exp Med, 2001, 194(23): 629-644.

[3] Maul J, Loddenkemper C, Mundt P, et al. Peripheral and intestinal regulatory CD4⁺ CD25⁺ (high) T cells in inflammatory bowel disease[J]. Gastroenterology, 2005, 128(7): 1868-1878.

[4] Wing K, Suri-Prayer E, Rudin A. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells from mouse to man[J]. Scand J Immunol, 2005, 62(1): 1-15.

[5] 陈中, 晏建军, 黄亮, 等. 肝癌微环境中 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞与 T 细胞免疫的关系[J]. 中国肿瘤生物治疗杂志, 2007, 14(6): 582-584.

[6] Wolf AM, Wolf D, Steur M, et al. Increase of regulatory T cells in the peripheral blood of cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(3): 606-612.

[7] Marshall NA, Christie LE, Munro LR, et al. Immunosuppressive regulatory T cells are abundant in the reactive lymphocytes of Hodgkin lymphoma[J]. Blood, 2004, 103(16): 1755-1762.

(收稿日期:2012-01-26)

95.16%, 年龄 11 d 至 13 岁, 内外科患者 68 例, 占 4.84%, 年龄 19~92 岁。

1.2 方法 抽取患者静脉血 0.5 mL 置于含乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂) 10 μL 的试管中混匀送检验,血液分析仪作血液分析,同时推血片 2 张,自然干燥后瑞-姬氏染色作外周血细胞形态观察^[2]。其检查程序为在片尾部以低或高倍镜观察血片各类有核细胞的数量及比例,油镜下观察成熟红细胞形态(正常红细胞、疟原虫(MP)及畸形红细胞;包括球形、棘形、泪滴形、靶形及豪-周小体)、粒系各类细胞形态(正常及中毒颗粒、空泡、变性、幼粒)、淋巴细胞形态(正常、异淋及幼淋)、血小板

△ 通讯作者, E-mail: guojh1234@sina.com.