

• 临床检验研究论著 •

# T 淋巴细胞亚群和铁蛋白联合检测在强直性脊柱炎患者中的初步应用

郭 亮<sup>1</sup>, 侯 茜<sup>2</sup>, 寇 儒<sup>3</sup>

(1. 陕西省西安市中心医院血液科 710003; 2. 陕西省西安市儿童医院检验科 710003;

3. 陕西省西安市中心医院检验科 710003)

**摘 要:**目的 探讨 T 淋巴细胞亚群和铁蛋白联合检测在强直性脊柱炎(AS)中的临床价值。方法 用 CD4/CD8/CD3 三色抗体分别标记 AS 组、疾病对照组和健康对照组的外周抗凝血,分析 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 的百分率及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 的比值。再用免疫荧光法分别检测 AS 组、疾病对照组和健康对照组的外周抗凝血铁蛋白。结果 AS 组 CD4<sup>+</sup> 百分率和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值均明显低于健康对照组( $P<0.05$ ),CD8<sup>+</sup> 百分率明显高于健康对照组( $P<0.05$ );疾病对照组 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 百分率明显低于健康对照组( $P<0.05$ ),CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显高于健康对照组( $P<0.05$ )。AS 组的 CD8<sup>+</sup> 百分率明显高于疾病对照组( $P<0.05$ ),CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显低于疾病对照组( $P<0.05$ )。铁蛋白检测结果 AS 组明显高于疾病对照组和健康对照组( $P<0.05$ )。98 例 AS 患者的铁蛋白与 CD8<sup>+</sup> 检测值呈正相关( $r=0.846\ 9, P<0.05$ ),与 CD4<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值呈负相关( $r$  分别为  $-0.748\ 7$ 、 $-0.582\ 0, P<0.05$ )。结论 通过对 T 淋巴细胞亚群和铁蛋白联合检测缩短了检测时间,有助于 AS 的早期诊断、早期治疗。

**关键词:** 脊柱炎,强直性; T 淋巴细胞亚群; 铁蛋白质类

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.12.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2012)12-1436-02

## Application of combined detection of T lymphocyte subsets and ferritin in patients with ankylosing spondylitis

Guo Liang<sup>1</sup>, Hou Qian<sup>2</sup>, Kou Ru<sup>3</sup>

(1. Department of Hematology, Xi'an Central Hospital, Xi'an, Shanxi 710003, China; 2. Department of Clinical Laboratory,

Xi'an Children's Hospital, Xi'an, Shanxi 710003, China; 3. Department of Clinical Laboratory,

Xi'an Central Hospital, Xi'an, Shanxi 710003, China)

**Abstract:** **Objective** To investigate the clinical value of T-lymphocyte subsets and ferritin detected in patients with ankylosing spondylitis(AS). **Methods** Anti-coagulated peripheral blood samples of AS group, disease control group and healthy control group were labeled with CD4/CD8/CD3 three-color antibodies. The percentage of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio were analyzed. Enzyme-linked fluorescence were performed for the detection of ferritin in all groups. **Results** Percentage of CD4<sup>+</sup> and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio in AS group were lower, but percentage of CD8<sup>+</sup> was higher than in healthy control group( $P<0.05$ ). Percentages of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> in disease control group were lower, but CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio was higher than in healthy control groups( $P<0.05$ ). Percentage of CD8<sup>+</sup> in AS group was higher, but CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio was lower than in diseases control group ( $P<0.05$ ). Ferritin level in AS group was significantly higher than in disease control group and healthy control group( $P<0.05$ ). In 98 cases of patients with AS, the ferritin level was positively correlated with CD8<sup>+</sup> level( $r=0.846\ 9, P<0.05$ ), and negatively correlated with CD4<sup>+</sup> level and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio, with  $r$  of  $-0.748\ 7$  and  $-0.582\ 0$ , respectively( $P<0.05$ ). **Conclusion** Combined detection of T lymphocyte subsets and ferritin might be helpful for the early diagnosis and treatment of AS.

**Key words:** spondylitis, ankylosing; T-lymphocyte subsets; ferritins

强直性脊柱炎(AS)是一种病因未明、累及中轴关节和脊柱的慢性进行性炎性疾病,临床症状主要表现为腰腿背痛,其次是骶髂关节痛和髋关节痛,常伴有晨僵,严重者丧失劳动能力<sup>[1]</sup>。由于该病与其他一些疾病如类风湿关节炎、腰骶关节劳损等症相似,给诊断带来一定的困难。本研究联合检测了 98 例 AS 患者的 T 淋巴细胞亚群和铁蛋白,研究了二者的相关性,旨在探讨它们与 AS 的关系<sup>[2-3]</sup>。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选自西安市中心医院 2009 年 1 月至 2011 年 10 月门诊及住院 AS 患者 98 例(AS 组),其中男 43 例,女 55 例,年龄 20~54 岁,均符合 AS 诊断标准。疾病对照组 88 例,包括腰骶关节劳损 33 例、类风湿关节炎 27 例、反应性关节炎 17 例及其他关节病 11 例,男性 41 例,女性 47 例,年龄 18~64 岁。健康对照组 76 例,男性 44 例,女性 32 例,年龄 19~45 岁,为本院健康体检者。

**1.2 仪器与试剂** FACS Calibur 流式细胞仪(美国 Beckon Dickinson 公司); VIDAS 全自动免疫荧光酶标分析仪(法国 Biomerieux 公司)。BD Tritest (CD4/CD8/CD3 三色抗体)、BD FACS Lysing Solution(溶血素)和 BD Cailibrite 3 Beads(流式细胞仪校准试剂)等全部由 BD 公司提供。VIDAS 铁蛋白试剂盒为法国 Biomerieux 公司提供。

## 1.3 方法

**1.3.1 T 淋巴细胞亚群检测** 采集外周静脉血 1.8 mL,ED-TA 抗凝。进样管中加入 20  $\mu$ L 三色抗体试剂和 100  $\mu$ L 抗凝全血,充分混匀。室温避光 15 min。加入 2 mL 10 倍稀释的溶血素,充分混匀。室温避光 10 min,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清,用 PBS 洗涤 2 次后重悬,混匀后用流式细胞仪检测。

**1.3.2 铁蛋白检测** 采集外周静脉血 1.8 mL,枸橼酸钠抗凝,3 000 r/min 离心 15 min 分离血浆。于铁蛋白试剂样品孔中加入 200  $\mu$ L 血浆,放入 VIDAS 全自动免疫荧光酶标分析仪

检测。

**1.4 统计学处理** 用 SPSS13.0 统计软件进行统计学处理。所有计量资料均以  $\bar{x} \pm s$  表示, 各组间比较用  $t$  检验。T 淋巴细胞亚群和铁蛋白的相关关系采用直线相关分析, 以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

2 结 果

**2.1 AS 组 CD4<sup>+</sup> 和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 均明显低于健康对照组 ( $P < 0.05$ ), CD8<sup>+</sup> 明显高于健康对照组 ( $P < 0.05$ ), 铁蛋白明显高于健康对照组 ( $P < 0.05$ )。疾病对照组 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 均明显低于健康对照组 ( $P < 0.05$ ), CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 明显高于健康对照组 ( $P < 0.05$ ), 铁蛋白高于健康对照组 ( $P < 0.05$ )。AS 组 CD8<sup>+</sup> 明显高于疾病对照组 ( $P < 0.05$ ), CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 明显低于疾病对照组 ( $P < 0.05$ ), 铁蛋白明显高于疾病对照组 ( $P < 0.05$ )。见表 1。**

表 1 各组中 T 淋巴细胞亚群和铁蛋白水平比较				
组别	CD4 <sup>+</sup> (%)	CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>	铁蛋白(ng/mL)
AS 组	31.87±3.19	28.02±4.23	1.10±0.39	282.45±40.32
疾病对照组	32.26±4.21	16.54±2.77	2.12±0.42	187.05±54.98
健康对照组	38.45±5.26	22.30±4.65	1.72±0.52	152.34±26.63

**2.2 AS 组铁蛋白与 CD8<sup>+</sup> 呈正相关 ( $r = 0.846\ 9, P < 0.05$ ), 与 CD4<sup>+</sup> 及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值呈负相关 ( $r$  分别为  $-0.748\ 7$ 、 $-0.582\ 0, P < 0.05$ )。**

3 讨 论

CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD8<sup>+</sup> T 细胞通常指表达 T 细胞受体 (TCR) $\alpha$ 、 $\beta$  的 T 细胞。CD4<sup>+</sup> T 细胞可以帮助 CD8<sup>+</sup> T 细胞、B 细胞活化与产生抗体, 并能激活巨噬细胞, 增强其杀伤胞内菌和抗原呈递能力, 故 CD4<sup>+</sup> T 细胞又称为辅助性 T 细胞 (Th)。而 CD8<sup>+</sup> T 细胞识别由 8~10 个残基组成的外源性抗原肽<sup>[4]</sup>。CD8<sup>+</sup> T 细胞主要执行杀伤被病毒及其他胞内寄生微生物感染的靶细胞的功能, 故又被称为细胞毒性 T 细胞 (Tc), 其释放的肿瘤坏死因子- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) 和干扰素- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) 与靶细胞表面的受体结合, 可造成靶细胞的死亡<sup>[5]</sup>。本研究观察到 AS 患者 CD4<sup>+</sup> T 细胞和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值明显降低, 而 CD8<sup>+</sup> T 细胞明显升高, 与国内报道基本一致<sup>[6-7]</sup>, 说明细胞免疫功能受到抑制, 体液免疫功能相对亢进, 提示 AS 患者存在 T 淋巴细胞亚群功能紊乱, 进一步探讨 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> 的平衡关系将有助于理解其在 AS 发生、发展中的作用, 从而为临床评估病情以及治

疗提供新的思路<sup>[8-9]</sup>。

铁蛋白是一种急性时相反应蛋白, 在机体发生炎症反应时, 巨噬细胞活化并且铁蛋白合成增加。实验证明铁蛋白具有多种免疫活性, 可以结合 T 淋巴细胞并抑制玫瑰花环形成, 抑制迟发型超敏反应, 也可抑制 B 细胞产生抗体, 削弱中性粒细胞的吞噬功能。在 AS 中, 单核巨噬细胞产生多种炎症反应性细胞因子, 如 TNF- $\alpha$ 、白细胞介素 (IL)-1、IL-6、IFN- $\alpha$ 、IFN- $\beta$ 、IFN- $\gamma$ , 这些细胞因子可以减少转铁蛋白合成, 增加铁蛋白的合成, 提示铁蛋白可以作为 AS 诊断的客观指标, 其升高机制可能与炎症细胞因子导致的免疫功能紊乱有关<sup>[10]</sup>。

综上所述, T 淋巴细胞亚群和铁蛋白可能参与了 AS 的发生、发展的过程, 对 AS 患者的早期诊治有较大的帮助。

参考文献

[1] 赵丹, 杨小猛, 马文松, 等. HLA-B27 阳性类风湿关节炎和强直性脊柱炎患者外周血 T 细胞亚群分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 32(2): 150-153.

[2] You SA, Wang Q. Ferritin in atherosclerosis[J]. Clin Chim Acta, 2005, 357(1): 1-16.

[3] 朱宇芳. 流式细胞术检测人类白细胞抗原-B27 在诊断强直性脊柱炎中的价值[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(7): 735-736.

[4] 王德炳. 血液免疫学[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2009: 24-29.

[5] 张文兰, 胡同平, 王永福. 多种自身抗体检测对类风湿关节炎早期诊断的意义[J]. 中国药物与临床, 2011, 11(8): 965-967.

[6] 苏卓娃, 马文松, 赵丹, 等. 强直性脊柱炎患者外周血 T 细胞亚群极化状态的研究[J]. 中华免疫学杂志, 2007, 23(10): 947-949.

[7] 薛丽巾, 王秦, 罗静, 等. 类风湿关节炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群与临床相关性分析[J]. 中国医药, 2011, 6(6): 692-694.

[8] 杜秀敏, 胡成进. 强直性脊柱炎患者外周血 T 细胞亚群及其 CD3<sup>+</sup>CD69<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD54<sup>+</sup> 检测[J]. 标记免疫分析与临床, 2007, 14(1): 39-40.

[9] 孔瑞娜, 童强, 蔡青, 等. CD28<sup>-</sup> T 细胞亚群在类风湿关节炎患者外周血和关节液中的表达[J]. 中华风湿病学杂志, 2011, 15(9): 611-614.

[10] 任传永, 徐亮. 血清铁蛋白在风湿性疾病中的研究进展[J]. 安徽医学, 2009, 30(8): 980-981.

(收稿日期: 2011-12-09)

(上接第 1435 页)

121(1): 224-229.

[6] Michie AM, McCaig AM, Nakagawa R, et al. Death-associated protein kinase (DAPK) and signal transduction; regulation in cancer[J]. Febs J, 2010, 277(1): 74-80.

[7] 李培坤, 耿小平, 朱立新, 等. 肝癌细胞系中 SLIT2、DAPK、RIZ1、CHFR、EDNRB、3-OST-2 基因甲基化状态[J]. 安徽医科大学学报, 2011, 46(5): 412-415.

[8] 彭再梅, 山长婷, 王惠芳, 等. 诱导痰 RASSF1A、p16 和 DAPK 基因启动子区甲基化在肺癌诊断中的价值[J]. 中南大学学报: 医学版, 2010, 35(3): 247-253.

[9] 胡礼炳, 王国民, 张利能, 等. 膀胱癌细胞中 DAPK 基因启动子甲

基化状态分析[J]. 中华实验外科杂志, 2007, 24(4): 489-491.

[10] 沈建军, 胡世莲, 沈干, 等. RUNX3、DAPK 基因甲基化及其蛋白表达与胃癌病情的研究[J]. 安徽医科大学学报, 2010, 45(5): 613-617.

[11] 孔祥勇, 胡世莲, 孙玉蓓, 等. 胃癌中 DAPK 基因启动子区 CpG 岛高甲基化的研究[J]. 肿瘤, 2009, 29(11): 1065-1069.

[12] 王贺玲, 张健, 李岩, 等. 5-Aza-CdR 与低浓度 CDDP 联合用药对胃癌细胞系生长及 DAPK1 的影响[J]. 实用药物与临床, 2011, 14(1): 9-11.

(收稿日期: 2012-01-13)