

• 临床检验研究论著 •

结核病患者 T 细胞亚群检测临床意义分析

栗群英¹, 吴丽娟^{1△}, 陈 莉¹, 杨 利^{1,2}

(1. 成都军区总医院检验科, 四川成都 610083; 2. 成都医学院检验系 2007 级, 四川成都 610083)

摘要:目的 探讨结核病患者外周血 T 细胞亚群检测的临床意义。方法 采用流式细胞术检测 196 例健康者、84 例结核病患者及 100 例呼吸系统非结核杆菌感染患者外周血 T 细胞亚群、CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 双阴性细胞(DNT)和 CD3⁺CD4⁺CD8⁺ 双阳性细胞(DPT)百分含量和绝对含量, 并进行比较分析。结果 与健康者相比, 结核病患者 DNT、DPT 百分含量减少($P<0.05$), 总 T 细胞、T₄ 细胞、T₈ 细胞、DNT、DPT 绝对含量均减少($P<0.05$)。结论 T 细胞亚群, 尤其是 DNT 和 DPT 可作为判断结核患者免疫状态、指导用药和疗效观察的指标。

关键词: 结核; T 细胞亚群; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2012.19.021 文献标识码: A 文章编号: 1673-4130(2012)19-2346-02

Clinical significance of T-cell subsets in peripheral blood of patients with tuberculosis

Li Qunying¹, Wu Lijuan^{1△}, Chen Li¹, Yang Li^{1,2}

(1. Department of Medical Laboratory, Chengdu Military General Hospital, Chengdu, Sichuan 610083, China;

2. Grade2007, Department of Medical Laboratory, Chengdu Medical College, Chengdu, Sichuan 610083)

Abstract: Objective To explore the clinical significance of T-cell subset in peripheral blood of patients with tuberculosis. **Methods** Three color flow cytometry was used to determine the peripheral blood T-cell subset, CD3⁺CD4⁻CD8⁻ double-negative cell (DNT) and CD3⁺CD4⁺CD8⁺ double-positive cell (DPT) in 196 healthy subjects, 84 patients with tuberculosis and 100 patients with respiratory apparatus non-tubercle bacillus infection. **Results** Compared with healthy subjects, the percentages of DNT and DPT in patients with tuberculosis decreased ($P<0.05$) and the absolute quantities of total T cell, T₄ cell, T₈ cell, DNT and DPT also reduce significantly ($P<0.01$). **Conclusion** T-cell subsets, especially DNT and DPT might be helpful indexes in immune state judgement, drug guidance and therapeutic effect observation for patients with tuberculosis.

Key words: tuberculosis; T-cell subset; flow cytometry

结核病是由结核分枝杆菌(简称结核杆菌)引起的传染性疾病, 发病率及患者病死率均较高^[1]。结核杆菌侵入机体后, 主要在宿主细胞内寄居、繁殖, 引起以细胞免疫为主的免疫应答。肺结核的发生、发展和转归与感染结核杆菌数量、毒力及宿主细胞免疫功能均密切相关。机体细胞免疫功能主要以 T 细胞为主。正常生理情况下, T 细胞及其亚群含量及分布相对稳定, 并处于平衡状态, 一旦失衡, 可造成机体免疫功能紊乱。结核病患者外周血多存在 T 细胞亚群的异常改变^[2-4], 但对 CD3⁺CD4⁻CD8⁻ 双阴性 T 细胞(DNT)和 CD3⁺CD4⁺CD8⁺ 双阳性 T 细胞(DPT)的研究尚无相关报道。本文回顾性分析结核病患者外周血 T 细胞亚群、DNT 和 DPT 检测结果及相应的临床资料, 探讨结核杆菌感染时机体外周血 T 细胞亚群, 尤其是 DNT 及 DPT 的变化特点及临床意义, 以期

1 资料与方法

1.1 一般资料 2011 年 5 月至 2012 年 1 月于成都军区总院住院治疗的结核病患者 84 例(结核病组), 男 57 例、女 27 例, 年龄 18~82 岁, 平均 39.3 岁; 均确诊为结核杆菌感染, 排除自身免疫性疾病、艾滋病、梅毒、恶性肿瘤、糖尿病、肝炎及其他感染性疾病。呼吸系统非结核杆菌感染组(呼吸系统对照组)为同期患者 100 例, 男 75 例、女 25 例, 年龄 18~96 岁, 平均 62.2 岁, 包括肺炎 33 例、支气管 16 例、慢性阻塞性肺病 45 例、支气管扩张 6 例。健康对照组为同期体检健康者 194 例, 男 96 例、女 98 例, 年龄 19~62 岁, 平均 37.4 岁。

1.2 仪器与试剂 美国 Beckman-Coulter XL4-MCL 型流式细胞仪及配套同型对照抗体 IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5、

测定抗体 CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PC5、标本预处理试剂、鞘液等。

1.3 方法 以 EDTA-K₂ 抗凝管采集患者晨起空腹静脉血 2~3 mL, 立即送检。采用双平台法三色流式细胞术、SSC/FSC 设门淋巴细胞, 分析总 T 细胞(CD3⁺)、T₄ 细胞(CD3⁺CD4⁺CD8⁻)、T₈ 细胞(CD3⁺CD4⁻CD8⁺)、DNT 及 DPT 百分含量和绝对含量, 计算 T₄/T₈ 细胞比值。具体检测方法见参考文献[5]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 软件进行数据统计学处理, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 验证资料符合正态分布, 组间比较百分含量采用方差分析, 绝对含量采用 t 检验, 显著性检验水准为 $\alpha=0.05$ 。

2 结 果

与健康对照组比较, 结核病患者 DNT、DPT 百分含量降低, 总 T 细胞、T₄ 细胞、T₈ 细胞、DNT、DPT 绝对含量均降低($P<0.05$)。见表 1。与呼吸系统对照组比较, 结核组仅 T₈ 细胞百分含量升高($P<0.05$)。

表 1 T 淋巴细胞亚群测定结果			
T 细胞亚群	结核病组 (n=84)	健康对照组 (n=194)	呼吸系统对照组 (n=100)
总 T 细胞(%)	66.29±12.07	69.98±5.79	64.12±12.65
T ₄ 细胞(%)	34.75±11.03	35.25±5.16	36.64±10.51
T ₈ 细胞(%)	25.70±10.11	25.08±4.34	22.84±7.56*
DNT(%)	5.96±4.94	6.17±3.09*	4.72±4.57
DPT(%)	0.18±0.24	0.71±0.36*	0.15±0.17
T ₄ /T ₈	1.58±0.82	1.45±0.56	1.83±1.02

△ 通讯作者, E-mail: wulijuan1638@126.com。

续表 1 T 淋巴细胞亚群测定结果

T 细胞亚群	结核病组 (n=84)	健康对照组 (n=194)	呼吸系统对照组 (n=100)
总 T 细胞($\times 10^9/L$)	0.75 $\pm$ 0.40	1.87 $\pm$ 0.70*	0.80 $\pm$ 0.50
T ₄ 细胞($\times 10^9/L$)	0.40 $\pm$ 0.24	1.01 $\pm$ 0.91*	0.45 $\pm$ 0.28
T ₈ 细胞($\times 10^9/L$)	0.29 $\pm$ 0.20	0.74 $\pm$ 0.31*	0.29 $\pm$ 0.24
DNT($\times 10^9/L$)	0.06 $\pm$ 0.06	0.66 $\pm$ 0.21*	0.06 $\pm$ 0.08
DPT($\times 10^9/L$)	0.00 $\pm$ 0.00	0.02 $\pm$ 0.01*	0.00 $\pm$ 0.01

*:与结核病组比较, $P<0.05$ 。

3 讨 论

结核杆菌侵入机体后,先被单核巨噬细胞吞噬并被加工处理,之后 T₈ 细胞经单核巨噬细胞递呈的抗原刺激而激活、增殖,产生细胞因子激活巨噬细胞使之抑制细胞内结核菌生长。T₈ 细胞能抑制各种免疫细胞的功能,被认为是抑制性 T 淋巴细胞,但可通过穿孔素等细胞毒性分子介导而发挥毒性杀伤作用以溶解靶细胞。T₄/T₈ 比值被可很好地反映宿主免疫调节平衡^[4-6]。本研究结果显示,结核病患者较健康人外周血总 T 细胞、T₄ 细胞、T₈ 细胞比例均无统计学差异($P>0.05$),但其绝对含量均有所下降,与既往文献报道不一致^[2-3],可能与结核病患者结核分期、病程不同有关;DNT、DPT 百分含量和绝对含量均减少($P<0.05$),但 T₄/T₈ 比值无明显改变($P>0.05$)。上述结果提示结核病患者 T 细胞免疫功能均不同程度降低,可能与 T 细胞各亚群生成减少直接相关。结核病患者与呼吸系统非结核杆菌感染患者相比,只有 T₈ 细胞亚群百分含量升高($P<0.05$),其他均无统计学差异($P>0.05$),进一步提示 T₈ 细胞亚群在清除结核杆菌感染靶细胞中的重要作用。

DPT 和 DNT 是 T 细胞在胸腺内发育的早期阶段^[6]。早期的胸腺细胞位于胸腺皮质,表达 CD2 和 CD3、不表达 CD4 和 CD8(即 DNT),向胸腺皮质深层迁移时发生 TCR $\alpha\beta$ 基因重排与表达,逐渐发育成为 DPT;DPT 再通过阳性选择和自身免疫阴性选择,最终发育为能识别外来抗原的成熟 T 细胞亚群,如 T₄ 细胞(辅助性 T 细胞)和 T₈ 细胞(杀伤性 T 细胞)。正常状态下,T₄ 和 T₈ 细胞相互诱导、相互制约,形成 T 细胞网络,以调节免疫功能和维持免疫稳态,任一细胞亚群的异常都可导致免疫功能紊乱^[7-8]。研究表明,DNT 具有免疫抑制功能,通过清除同种同源性 T₈ 细胞和产生白细胞介素(IL)-4 和 IL-10 等

途径对发挥抑制性免疫调节作用^[8]。早期 DNT 数量下降使机体免疫抑制功能降低,病毒清除能力增高,若发病早期不及时对患者进行治疗和免疫干预,可导致 T₈ 细胞不断下降,不能有效清除病毒感染细胞,从而引起病情加重或呈慢性感染。本研究证实结核病患者和呼吸系统非结核杆菌感染患者外周血 DPT 和 DNT 比例及绝对含量均减少($P<0.05$),但结核病患者下降幅度没有呼吸系统非结核杆菌感染患者那么明显,故可推测若病原体长期不能清除并持续存在,CD8 分子在成熟扩增中的表达可能会降低,导致 DPT 和 DNT 数量相应增加,进而抑制机体免疫功能和病毒清除能力,更不利于患者的康复,故 DPT 和 DNT 可作为判断结核病患者免疫状态、指导用药、疗效观察的指标。

综上所述,外周血 T 细胞亚群尤其是 DPT 和 DNT 亚群,是监测结核病患者免疫功能状态的理想指标,在患者免疫功能状态判断、病情评估、用药指导及疗效观察中都具有重要意义,值得推广应用。

参考文献

[1] Nadia C, Giuliana G, Serena M, et al. Analysis of mycobacterium tuberculosis specific CD8⁺ T cell in patients with active Tuberculosis and in individuals with latent infection[J]. Plos ONE, 2009, 5(4): 1-10.

[2] 李月翠, 黄小东, 唐神杰. 流式细胞术检测肺结核患者血清中 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 浙江临床医学, 2006, 8(5): 456-457.

[3] 王敏, 蒋强, 刘赛云, 等. 结核患者检测 T 淋巴细胞亚群的意义[J]. 海南医学, 2010, 21(14): 122-123.

[4] 曹志红, 王心静, 程小星. 结核病患者 T 淋巴细胞亚群变化的影响因素分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2011, 21(7): 1688-1690.

[5] 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: 116-119.

[6] Nalto T, Tanaka H, Naoe Y, et al. Transcription control of T-cell development[J]. Int Immunol, 2011, 23(11): 661-668.

[7] 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.

[8] 杜敏, 陈炯. CD4⁻CD8⁻ 双阴性 T 细胞在移植免疫耐受形成中的作用[J]. 国际外科学杂志, 2007, 34(9): 608-611.

(收稿日期: 2012-06-18)

(上接第 2345 页)

参考文献

[1] Hochberg MC. Updating the American college of Rheumatology revised criteria for the classification of systemic lupus erythematosus[J]. Arthritis Rheum, 1997, 40(9): 1725-1730.

[2] Bombardier C, Gland DD, Urowitz MB, et al. Derivation of the SLEDAI: a disease activity index for lupus patients[J]. Arthritis Rheum, 1992, 35(6): 630-640.

[3] Al Arfaj AS, Khalil N. Clinical and immunological manifestations in 642 SLE patients in sandi arabia[J]. Lupus, 2009, 18(5): 465-473.

[4] Agarwal S, Harper J, Kiely PD. Concentration of antibodies to extractable nuclear antigens and disease activity in systemic lupus erythematosus[J]. Lupus, 2009, 18(5): 407-412.

[5] 刘鸿林, 杜志勋. 抗核抗体和抗双链 DNA 检测在系统性红斑狼疮诊断中的意义[J]. 中国医药导报, 2008, 5(1): 163-164.

[6] 孙敏霞, 吴纯, 菅小红, 等. 抗核小体抗体、抗 Sm 抗体、抗双链 DNA 抗体在系统性红斑狼疮诊断中的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(5): 1067-1068.

[7] 张丁丁, 钟冬梅. 抗核小体抗体在系统性红斑狼疮中的应用[J].

中国现代医生, 2009, 47(23): 23-24.

[8] Pradhan VD, Patwardhan MM, Ghosh K. Anti-nucleosome antibodies as a disease marker in systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity and other autoantibodies[J]. Indian J Dermatol Venereol Leprol, 2010, 76(2): 145-149.

[9] 龚晓彬. SLE 患者免疫学指标联合检测的临床分析[J]. 中国现代医生, 2008, 46(28): 137-138.

[10] Femandez M, Alaron GS, Apte M, et al. Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US Cohort: XLIII, the significance of thrombolytopenia as a prognostic factor[J]. Arthritis Rheum, 2007, 56(2): 614-621.

[11] 刘成玉. 临床检验基础[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 64.

[12] Szalai AJ. C-reactive protein(CRP) and autoimmune disease: facts and conjectures[J]. Clin Dev Immuol, 2004, 11(3-4): 221-226.

[13] Du Clos TW. C-reactive protein as a regulator of autoimmunity and inflammation[J]. Arthritis Rheum, 2003, 48(6): 1475-1477.

[14] Kakati S, Doley B, Pradip KS, et al. C-reaction protein in systemic lupus erythematosus[J]. J Indian Rheumatol Assoc, 2003, 11(3): 66-70.

(收稿日期: 2012-08-09)