

- 验医学杂志, 2011, 32(7): 796-797.
- [3] 刘长水, 李婕, 崔雯. 全自动生化分析仪纯水机分析[J]. 中国医疗设备, 2010, 25(10): 140.
- [4] 李婧, 黄孝菊, 高功刚. 水质对电解质钙、镁、磷检测结果的影响[J]. 医学检验, 2013, 20(15): 80-81.
- [5] 宋玉平. 纯水水质对全自动生化分析仪钙离子测定的影响[J]. 实验与检验医学, 2008, 26(6): 693.
- (收稿日期: 2014-11-08)
- 经验交流 •

标本放置温度和时间对 T 淋巴细胞活化标志检测结果的影响

沈天行¹, 宋建新^{2△}

(1. 云县人们医院检验科, 云南临沧 675800; 2. 云南省第一人民医院检验科, 云南昆明 650032)

摘要:目的 探讨标本放置温度和时间对流式细胞术检测 T 淋巴细胞活化标志结果的影响。方法 采集健康体检者血液, EDTA-K₂-抗凝, 室温及 4 ℃ 保存, 在不同时间进行 CD3⁺ T 淋巴细胞 CD69、CD25、HLA-DR 检测。结果 EDTA-K₂-抗凝室温保存标本与新鲜标本相比, CD3⁺ CD69⁺、CD3⁺ CD25⁺ 细胞百分率在 12 h 开始减低, CD3⁺ CD69⁺ 到 16 h 明显减低 ($P<0.05$), CD3⁺ CD25 放置到 20 h 时明显减低 ($P<0.05$), CD3⁺ HLA-DR⁺ 细胞表达逐渐增高, 到 20 h 时明显增高 ($P<0.05$); 4 ℃ 放置的标本 CD3⁺ CD69⁺、CD3⁺ CD25⁺ 到 24 h 时明显减低 ($P<0.05$), CD3⁺ HLA-DR⁺ 细胞表达达到 24 h 变化差异无统计学意义 ($P>0.05$)。结论 作为 T 淋巴细胞的活化标志, 室温放置标本检测 CD3⁺ CD69⁺ 应在 12 h 内完成, CD3⁺ CD25⁺ 应在 16 h 内检测, CD3⁺ HLA-DR⁺ 可在 20 h 内检测, 最好放置 4 ℃ 保存标本。

关键词: T 淋巴细胞; 活化标志; 温度; 时间

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2015. 03. 063 文献标识码: B 文章编号: 1673-4130(2015)03-0420-02

CD3⁺ CD69⁺、CD3⁺ CD25⁺、CD3⁺ HLA-DA⁺ T 淋巴细胞是一类已活化的免疫细胞, 在免疫应答中起着重要的作用^[1]。目前应用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞活化水平已广泛应用于许多疾病特别是自身免疫性疾病发病机制的研究及疗效观察^[2-3], 其准确性直接影响临床诊断及疗效观察。目前对外周血本放置时间对 T 细胞亚群检测结果的影响已有报道^[4], 而对其活化标志的影响研究鲜见报道。本文对这一影响因素进行分析, 报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 4 月本院健康体检者 10 例的标本, 其中男 5 例, 女 5 例, 平均年龄 34 岁。

1.2 仪器于试剂 Beckman Coulter 公司 FC500 型流式细胞仪, 荧光标准微球 Flow-Check、CD45-FITC、CD3- PE-Cy5、CD69-PE、CD25-PE、HLA-DR-PE 及同型对照均购自 Immuno-tech 公司。

1.3 方法 空腹采集健康体检者静脉血于 EDTA-K₂-抗凝管各 2.0 mL, 充分混匀, 室温 (20±5) ℃ 及 4 ℃ 冰箱保存。分别于采血后 0、2、4、8、12、16、20、24 h 按常规方法用 CD45-FITC/CD3-PE-Cy5/CD69-PE 或 CD25-PE、HLA-DR-PE 标记并设同型对照; 用荧光标准微球 Flow-Check 校准流式细胞仪的光路和流路, 用同型对照设定阳性域值后检测, 每份样本均检测并分析 10 000 个细胞, 记录各抗原表达的百分率。

1.4 统计学处理 使用 SPSS12.0 统计软件包进行统计学分析, 各抗原表达的百分率以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较常用 t 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

EDTA-K₂-抗凝室温保存不同时间 CD69、CD25、HLA-DR 表达见表 1。与 0 h 相比, CD3⁺ CD69⁺ 细胞表达百分率在 12 h 开始减低, 到 16 h 明显减低 ($t=2.57, P<0.05$), CD3⁺ CD25⁺ 到 20 h 明显减低 ($t=3.18, P<0.05$), CD3⁺ HLA-DR⁺ 细胞表

达逐渐增高, 到 20 h 时明显增高 ($t=2.87, P<0.05$)。4 ℃ 保存不同时间 CD69、CD25、HLA-DR 表达见表 2。与 0 h 相比, 4 ℃ 放置的标本 CD3⁺ CD69⁺、CD3⁺ CD25⁺ 表达达到 24 h 时明显减低 ($t=3.47, t=3.25, P<0.05$), CD3⁺ HLA-DR⁺ 细胞表达达到 24 h 的变化无统计学意义 ($t=0.27, P>0.05$)。

表 1 室温保存不同时间 CD69、CD25、HLA-DR 表达 ($\bar{x} \pm s, \%$)

保存时间	CD3 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD25 ⁺	CD3 ⁺ HLA-DR ⁺
0 h	0.74±0.27	3.42±0.53	4.82±0.95
2 h	0.75±0.26	3.39±0.58	4.88±0.94
4 h	0.79±0.25	3.46±0.52	4.86±0.94
8 h	0.79±0.24	3.47±0.54	4.87±0.95
12 h	0.63±0.21	3.32±0.52	4.94±0.94
16 h	0.47±0.17*	3.05±0.53	5.31±0.98
20 h	0.31±0.16	2.68±0.51*	6.04±0.94*
24 h	0.21±0.05	2.04±0.39	5.23±0.51

* $P<0.05$, 与 0 h 比较。

表 2 4 ℃ 保存不同时间 CD69、CD25、HLA-DR 表达 ($\bar{x} \pm s, \%$)

保存时间	CD3 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD25 ⁺	CD3 ⁺ HLA-DA ⁺
0 h	0.74±0.27	3.42±0.53	4.82±0.95
2 h	0.76±0.27	3.41±0.55	4.83±0.96
4 h	0.77±0.26	3.43±0.56	4.85±0.93
8 h	0.79±0.26	3.45±0.55	4.84±0.94
12 h	0.73±0.25	3.45±0.56	4.89±0.97
16 h	0.69±0.26	3.40±0.57	4.88±0.96

△ 通讯作者, E-mail: songjianxin8@126.com。

续表 2 4 ℃ 保存不同时间 CD69、CD25、HLA-DR 表达 ($\bar{x} \pm s, \%$)

保存时间	CD3 ⁺ CD69 ⁺	CD3 ⁺ CD25 ⁺	CD3 ⁺ HLA-DA ⁺
20 h	0.62±0.21	3.21±0.48	4.91±0.93
24 h	0.48±0.17*	2.92±0.31*	4.95±0.98

*: $P<0.05$, 与 0 h 比较。

3 讨 论

CD69 被称为活化诱导分子(AIM),早期活化抗原-1(EA-1)等,是 C-型凝集素受体家族的成员。CD69 是 T 淋巴细胞活化后最早表达的 表面抗原,当其表达后,可作为共刺激信号促进 T 细胞进一步活化和增殖^[5]。

CD25 是 IL-2R 的 α 链,又称 IL-2R α 分子或 Tac 抗原,为细胞因子受体。它是 T 淋巴细胞表面表达相对较早的标记,是活化细胞具有的抗原,在与 β 、 γ 亚基结合后形成具有高亲和力的 IL-2R,IL-2R 与 IL-2 结合后 T 细胞进入 S 期,完成克隆增殖。

HLA-DR 是 MHC-1 I 类分子,具有高度多肽性,在调控抗原递呈细胞激活 T 细胞活化程度和特异性中起重要作用,是 T 细胞活化晚期表达抗原^[1]。

CD3 是 T 淋巴细胞的特异性表面标记分子,分析 CD3⁺T 淋巴细胞中 CD69、CD25、HLA-DA 表达率目前已广泛应用于许多疾病特别是自身免疫性疾病(如系统性红斑狼疮、类风湿性关节炎、Graves 病)发病机制的研究、疾病的活动情况及疗效的观察等^[6-8]。目前检测 CD3⁺CD69⁺、CD3⁺CD25⁺、CD3⁺HLA-DR⁺常用流式细胞仪进行检测,对标本处理要求严格,因此本文探讨标本放置温度和时间对检测结果是否会有影响。

本组测定结果显示,EDTA-K₂-抗凝的外周血在室温放置的情况下,CD3⁺CD69⁺细胞表达百分率在 12 h 开始减低,到 16 h 时明显减低($P<0.05$);CD3⁺CD25⁺到 20 h 时明显减低($P<0.05$);CD3⁺HLA-DR⁺细胞表达逐渐增高,到 20 h 时明显增高($P<0.05$)。故建议,室温放置的标本,对于 CD3⁺CD69⁺的检测应在 12 h 内检测,CD3⁺CD25⁺及 CD3⁺HLA-DR⁺应在 16 h 内检测。

• 经验交流 •

4 ℃ 保存放置的标本 CD3⁺CD69⁺、CD3⁺CD25⁺ 达到 24 h 时明显减低($P<0.05$),CD3⁺HLA-DR⁺细胞达到 24 h 变化无统计学意义($P>0.05$)。故建议,4 ℃ 保存放置的标本 CD3⁺CD69⁺、CD3⁺CD25⁺ 应在 20 h 内检测,CD3⁺HLA-DR⁺可在 24 h 内检测。

综上所述,为了减少 EDTA-K₂-抗凝标本放置温度和时间对 CD3⁺CD69⁺、CD3⁺CD25⁺、CD3⁺HLA-DR⁺测定的影响,标本最好放置 4 ℃ 保存,并在相应的时间内测定,以消除由此引起的实验前误差,为临床提供更准确可靠的实验数据。

参考文献

[1] Rea IM,McNerlan SE,Alexander HD. CD69, CD25, and HLA-DR activation antigen expression on CD3⁺ lymphocytes and relationship to serum TNF-alpha, IFN-gamma, and sIL-2R levels in aging[J]. Exp Gerontol,1999,34(1):79-93.

[2] 赵永强,董中升,刘占举. 类风湿关节炎外周血和关节滑液中 T 细胞 CD25 CD69 表达及意义[J]. 医药论坛杂志,2007,28(3):9-10.

[3] 郭义龙,蔡翁义,蔡小丹,等. 复发性生殖器疱疹患者外周血 T 细胞 CD69 和 HLA-DR 的表达[J]. 中国麻风皮肤病杂志,2007,8(8):667-669.

[4] 汪鑑漪,宋建新. 不同抗凝剂及标本放置时间对 T 淋巴细胞亚群检测结果的影响[J]. 医学信息,2014,28(3):138.

[5] 汪慧英,James JL, Nancy AL. CD69 的表达在小鼠嗜酸细胞的活化与凋亡中的作用[J]. 中国病理生理杂志,2009,26(1):1-6.

[6] 章毅英,黄先玫,康曼丽,等. CD69 和 CD25 及 HLA-DR 在川崎病患 儿外周血 T 淋巴细胞中表达的研究[J]. 中华儿科杂志,2006,44(5):329-332.

[7] 马晶波,李锋,冯树芳,等. 系统性红斑狼疮患者外周血 CD4⁺CD8⁺和 CD22⁺淋巴细胞活化分子 CD69 的表达[J]. 中华风湿病学杂志,2003,7(2):71-74.

[8] 赵永强,董中升,刘占举,等. 类风湿关节炎外周血和关节滑液中 T 细胞 CD25 CD69 表达及意义[J]. 医药论坛杂志,2007,28(3):9-10.

(收稿日期:2014-10-26)

心理治疗对甲状腺功能亢进患者的心理特征的影响

李永明,朱海燕,王 琦
(青岛市精神卫生中心检验科,山东 266034)

摘 要:目的 探讨心理治疗对甲状腺功能亢进患者的影响。方法 选取 120 例甲状腺功能亢进患者,随机分为实验组(60 例)和对照组(60 例),给予实验组常规心理治疗,两组均使用艾森克人格问卷(EPQ)和症状自评量表 SCL-90 进行调查。结果 症状自评量表 SCL-90 统计结果显示:实验组患者的强迫性、精神病性、躯体化、敌对、人际关系敏感、抑郁、焦虑、恐怖等项目与对照组患者比较,差异均有统计学意义($P<0.05$);EPQ 统计分析显示,实验组患者的精神质稳定性、气质稳定性、掩饰性、内向性四个方面与对照组患者比较,差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 甲状腺功能亢进患者的心理特征在心理治疗下可以得到明显的改善。应加强甲状腺功能亢进患者的心理治疗,并及时进行甲状腺功能的检测,提高甲状腺功能亢进患者的疗效。

关键词:心理治疗; 甲状腺功能亢进; 艾森克人格问卷; 症状自评量表

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.03.064 **文献标识码:**B **文章编号:**1673-4130(2015)03-0421-02

甲状腺功能亢进症以年轻女性多见。甲状腺功能的实验室检测对此病的诊断和治疗有着重要的作用。甲状腺功能亢进症可以引起多器官的损害,表现为突眼、情绪易激动、性情急躁、失眠、思想不集中,严重的可能出现甲状腺功能亢进危相,昏迷甚至危及生命。同时很多患者会产生紧张、焦虑、抑郁、恐惧等心理问题^[1]。因此,对甲状腺功能亢进症患者的心理治疗