

• 论 著 •

初诊乙型肝炎患者外周血淋巴细胞散点图参数变化的研究

徐 阳, 张彦平, 张 磊, 王香玲, 王金华

(西安交通大学第二附属医院检验科, 陕西西安 710004)

摘要:目的 探讨全自动血细胞分析仪 Sysmex XE-2100 检测外周血所得白细胞研究性参数对初诊乙型肝炎患者的临床意义。方法 选取感染科门诊 96 例初诊乙型肝炎患者(观察组)和 100 例同期健康体检人群(对照组)作为研究对象。对上述人群进行相关指标的检测, 如乙型肝炎病毒 DNA(HBV-DNA)、乙型肝炎表面抗原(HBsAg)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、丙氨酸氨基转移酶(ALT), 淋巴细胞参数 Lymph-Y、Lymph-X, 中性粒细胞参数 Neut-Y、Neut-X, 记录检测结果并通过统计学软件 SPSS19.0 进行统计学数据处理、分析。结果 观察组与对照组比较, Lymph-X、Neut-Y、Neut-X 差异无统计学意义($P > 0.05$), 而 HBV-DNA、HBsAg、AST、ALT、Lymph-Y 各检测指标两组间比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$), 并且参数 Lymph-Y 与 HBV-DNA($r = 0.160, P = 0.026$) 和 HBsAg($r = 0.149, P = 0.037$) 均呈正相关。结论 初诊乙型肝炎患者外周血淋巴细胞参数 Lymph-Y 高于健康人群, 可能是一个潜在的用于鉴别诊断的指标。

关键词:乙型肝炎; 病毒感染; 淋巴细胞; 散点图

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.029

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2015)17-2524-03

Study on the changes of peripheral blood lymphocyte scatter diagram in patients newly diagnosed with hepatitis B

Xu Yang, Zhang Yanping, Zhang Lei, Wang Xiangling, Wang Jinhua

(Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710004, China)

Abstract: Objective To study the clinical significance of leukocyte parameters measured by using automatic blood cell analyzer Sysmex XE-2100 in patients newly diagnosed with hepatitis B. **Methods** 96 patients newly diagnosed with hepatitis B(observation group) and 100 people who underwent healthy examination during the same period(control group) were recruited in the study. Relative indicators were measured for the people mentioned above, such as the DNA of Hepatitis B virus(HBV-DNA), Hepatitis B surface antigen(HBsAg), aspartate aminotransferase(AST), alanine aminotransferase(ALT), lymphocytes parameters Lymph-Y and Lymph-X, neutrophils parameters Neut-X and Neut-Y. The test results were recorded and statistically analyzed by using software SPSS19.0. **Results** The differences of Lymph-X, Neut-Y and Neut-X were not statistically significant compared between observation group and control group($P > 0.05$), while the differences of HBV-DNA, HBsAg, AST, ALT and Lymph-Y were statistically significant compared between the two groups($P < 0.05$). In addition to that, the parameter Lymph-Y was positively correlated with HBV-DNA($r = 0.160, P = 0.026$) and HBsAg($r = 0.149, P = 0.037$). **Conclusion** The peripheral blood lymphocytes parameter Lymph-Y of patients newly diagnosed with hepatitis B is higher than healthy people, which makes it possible to become an indicator for differential diagnosis.

Key words: hepatitis B; virus infection; lymphocytes; scatter diagram

乙型病毒性肝炎是由乙型肝炎病毒引起的, 在各种类型的病毒性肝炎中, 乙型肝炎对人类健康的危害最为严重。乙型肝炎病毒感染在成年后通常是自限性的, 慢性持续性感染的病毒都是围产期时获得的。控制感染和肝细胞的损伤都是严格依赖于保护性免疫反应, 因为机体内肝细胞最主要的作用之一就是消除细胞内的病毒^[1]。慢性乙型肝炎病毒感染者的疾病进展和远期预后取决于其体内的病毒水平, 慢性乙型肝炎患者肝硬化、肝硬化失代偿及原发性肝癌的发生率和血清病毒载量呈正相关^[2]。Sysmex XE-2100 血细胞分析仪, 其采用专用检测通道, 加入特殊的白细胞计数分类溶血剂和聚次甲基荧光染色液(SFL)。DIFF 通道中纵坐标表示侧向荧光强度, 反映每个细胞核酸含量; 横坐标表示侧向散射光, 反映每个细胞内容物复杂程度。根据每个细胞的上述两项数值, 可得到中性粒细胞参数 Neut-Y、Neut-X 和淋巴细胞参数 Lymph-Y、Lymph-X。本研究旨在探讨乙型肝炎病毒感染患者 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪 DIFF 通道白细胞散点图研究性参数的变化, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 随机选取 2014 年 7~10 月于西安交通大学医学院第二附属医院感染科门诊初诊为乙型肝炎病毒感染的 96 例患者作为观察组, 以乙型肝炎表面抗原(HBsAg)阳性且乙型肝炎病毒 DNA(HBV-DNA) $>1.0 \times 10^2$ IU/mL 为诊断标准, 其中男 56 例(58.7%), 女 40 例(41.3%)。同时随机选取同期于本院体检的健康同龄人 100 例作为对照组, HBsAg、乙型肝炎 e 抗原(HBeAg)、乙型肝炎 e 抗体(HBeAb)等乙型肝炎血清学指标均为阴性且 HBV-DNA $<1.0 \times 10^2$ IU/mL, 其中男 43 例(43.0%)、女 57 例(57.0%)。两组在性别、年龄方面比较, 差异均无统计学意义($P > 0.05$), 见表 1。

1.2 仪器与试剂 主要仪器包括 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪、罗氏 Cobas8000 全自动生化分析仪、PE-5700 核酸扩增仪、雅培西门子 i-2000(Architect i2000SR)。使用的试剂及试验过程中所需要的标准液均为原装配套。

1.3 方法 对所有乙型肝炎病毒感染患者和对照组人群进行血液采样, 用乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝管采集外周血

2 mL, 在 2 h 之内采用 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪进行检测; 本次研究的检测方法均严格按照 Sysmex XE-2100 血细胞分析仪、罗氏全自动生化分析仪、PE-5700 核酸扩增仪、雅培西门子 i-2000 的标准化操作规程(SOP)文件操作步骤严格操作。

1.4 统计学处理 采用统计学软件 SPSS19.0 对研究数据进行统计分析。计量资料以中位数及四分位数间距(P_{25}, P_{75})表示, 对观察组和对照组间各项指标的比较采用非参数秩和检验(Mann-Whitney U 检验); 指标间相关性分析采用 Spearman 的 rho 非参数性相关分析; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 乙型肝炎患者组与健康对照组一般资料

分组	n	性别	例数(n)	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)
观察组	96	男	56	38.5 ± 11.9
		女	40	37.3 ± 12.9
对照组	100	男	43	41.6 ± 22.8
		女	57	39.0 ± 18.8

2 结 果

2.1 两组间各项指标的比较 观察组与对照组间的差异性分析表明, 观察组与对照组间参数 Lymph-Y 比较, 差异有统计学意义($P=0.030$); 观察组与对照组间 HBV-DNA、丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST) 比较差异有统计学意义($P < 0.001$), 见表 2。

表 2 两组间各项指标的比较

检测指标	分组	中位数	百分位数(P_{25}, P_{75})	P
HBV-DNA(IU/mL)	观察组	11 500.0	(1 785.0, 185 000.0)	<0.001
	对照组	—	—	
Neut-X(channel)	观察组	1 279.0	(1 248.0, 1 317.0)	0.189
	对照组	1 289.0	(1 232.0, 1 327.0)	
Neut-Y(channel)	观察组	410.0	(397.0, 426.0)	0.112
	对照组	410.0	(368.5, 435.0)	
Lymph-X(channel)	观察组	805.5	(784.5, 850.0)	0.067
	对照组	806.0	(791.0, 849.0)	
Lymph-Y(channel)	观察组	599.5	(582.5, 626.0)	0.030
	对照组	601.0	(543.0, 632.0)	
ALT(U/L)	观察组	30.0	(22.0, 45.0)	<0.001
	对照组	17.0	(12.0, 30.0)	
AST(U/L)	观察组	28.5	(24.0, 44.0)	<0.001
	对照组	20.0	(17.0, 25.0)	

—: $<1.0 \times 10^2$ IU/mL。

2.2 Lymph-Y 各项指标的相关性分析 乙型肝炎病毒感染患者淋巴细胞参数 Lymph-Y 的变化与 HBV-DNA、HBsAg 的变化存在一定程度的相关性, 淋巴细胞参数 Lymph-Y 与 HBV-DNA 呈正相关($r=0.160, P=0.026$); 淋巴细胞参数 Lymph-Y 与 HBsAg 呈正相关($r=0.149, P=0.037$)。见表 3。

表 3 Lymph-Y 与 4 项血清学指标的相关性

相关性指标	HBsAg*	HBV-DNA*	ALT	AST
r	0.149	0.160	0.074	-0.056
P	0.037	0.026	0.303	0.435

*: 呈正相关。

3 讨 论

一般认为乙型肝炎病毒感染者外周血中淋巴细胞百分率相对增高。健康人群中, 异型淋巴细胞是极为少见的, 但异型淋巴细胞在病毒感染中却比较常见^[3]。异型淋巴细胞的形态分析与比值对病毒感染的鉴别诊断有很大的指导意义。

已有的研究表明, 异型淋巴细胞的增多与病毒感染有着很大的关系^[4]。乙型肝炎病毒的感染及发病主要与患者的细胞免疫功能有关。在机体的免疫防御机制中, 乙型肝炎病毒特异性细胞毒 T 淋巴细胞(CTL)对清除肝细胞内感染的乙型肝炎病毒可能具有重要作用。在 Sysmex XE-2100 血液分析仪的检测结果中如果有淋巴细胞百分率的增高及出现异性淋巴细胞增多的提示可以对病毒性肝炎临床的诊断提供参考。

Sysmex XE-2100 全自动血液分析仪是通过半导体激光流式细胞仪原理结合细胞化学荧光染色技术对血细胞进行检测。DIFF 通道根据不同类型及不同成熟度的白细胞对荧光染料着色能力的差异, 检测散射光信号可以区分出淋巴细胞、单核细胞、中性粒细胞、嗜酸性粒细胞。横坐标是侧向散射光, 反映细胞内容物复杂程度, 如核和颗粒等; 纵坐标是侧向荧光强度, 反映细胞内 DNA 和 RNA 的含量^[5]。本次研究发现淋巴细胞参数 Lymph-Y 与异型淋巴细胞的成熟度有一定的关系, 即异型淋巴细胞中的幼稚型淋巴细胞数增多时淋巴细胞参数 Lymph-Y 会有明显的增高。

感染乙型肝炎病毒后, 患者外周血淋巴细胞中 T 细胞约占 75%, B 细胞占 10%~15%。T 细胞受抗原刺激后, 转化为体积较大的母细胞, 形态不整齐, 胞浆增多变宽, 常出现胞浆空泡, 核增大, 染色质疏松。B 细胞受抗原刺激后, 在 T 细胞的辅助下增殖分化为浆细胞, 产生抗体参与体液免疫。在这过程中可表现为细胞体积增大、大小不一, 胞浆变宽而多, 胞浆颗粒增多, 核增大染色质疏松等一系列变化^[6]。乙型肝炎病毒感染者淋巴细胞主要变化就是向着细胞变大、浆内颗粒增多变粗的方向发展^[7]。异型淋巴细胞的增多在 Sysmex XE-2100 全血细胞分析仪中的 Lymph-Y 参数会有一些相应体现, 所以对照组和观察组 Lymph-Y 参数比较差异具有统计学意义($P=0.030$)。

淋巴细胞是一种免疫细胞, 当异常淋巴细胞绝对值增高时, 人体的免疫力就会相对减弱, 这个时期很容易感染一些疾病, 早期发现淋巴细胞形态学的变化对乙型肝炎的治疗可以提供一种参考, 而且淋巴细胞散点图对乙型肝炎患者体内病毒复制及疾病进程判断及药物治疗转归也是一种方便的监测指标。

本研究基于 Lymph-Y 参数在初诊乙型肝炎患者与健康人群中的横断面进行分析, 展现出乙型肝炎病毒感染对机体外周血白细胞参数的影响。初步显示出乙型肝炎病毒会引起反映淋巴细胞荧光强度的 Lymph-Y 参数的增高。以往的观点认为, 病毒与细菌感染机体, 外周血细胞分析的主要区别在于淋巴细胞百分率和中性粒细胞百分率的变化。然而, 新型的全自动血细胞分析仪运用流式细胞仪和核酸染色原理进行白细胞分类检测时, 可提供其量化形式的研究性参数(如: Neut-X、Neut-Y、Lymph-X、Lymph-Y 等), 但这些参数在临床运用中缺乏实际的证据支持。本研究着眼于常见且易于确诊的病毒种类(乙型肝炎病毒)进行了相关探讨。发现 Lymph-Y 指标比传统细胞分类百分率, 如淋巴细胞百分率, 变化更为敏感。这与病毒侵袭机体而引发的免疫反应有一定的关系。另则, Lymph-Y 增高提示外周血异型淋巴细胞增多, 这已经量化地提示出淋巴细胞形态学方面的改变, 而且功能上提示机体免疫系统针对乙型肝炎病毒产生免疫反应。诚然, 本研究存在一定的局限性, 缺乏纵断面乙型肝炎病毒感染患者(下转第 2528 页)

局限型SSc,20%是弥漫型^[9],女性多于男性且主要是白种人。有研究证实,在67例非白种人SSc患者中,仅5例PM-Scl抗体阳性^[10]。对大样本的肌炎或重叠综合征的日本患者分析,未检测到PM-Scl抗体^[7],本试验PM-Scl抗体阳性患者较多,可能与针对性选取样本有关。

PM-Scl抗体少见于儿童患者,有文献报道在23例PM-Scl抗体阳性患者中仅5例为儿童,其中3例为SSc^[11]。14例PM-Scl阳性的儿童患者,10岁以前多数以关节症状为主,伴有SSc的一些特征,如手指末端结痂、反复溃疡、指骨溶解等,但手及指关节皮肤硬化不明显。易出现肌无力及皮肌炎的皮肤病变。与典型的SSc或皮肌炎相比,这14例儿童的疗效差,有慢性化发展趋势。在几年随访过程中,该14例患者血清中PM-Scl抗体始终阳性,且滴度不随病情变化,甚至在临床缓解期仍阳性。

有资料显示PM-Scl抗体可见于任何年龄段患者^[12]。在临床表现方面,肌炎及肌酸肌酶升高者占82%、关节炎者占89%,但有关节症状者多为单纯性肌炎或SSc患者。关节病变一般累及手、指小关节,可出现侵蚀性病变,雷诺现象也比较常见^[13]。此外该抗体阳性者还可出现食管病变、轻度间质性肺炎^[13],这在本研究中均有体现,但心脏、肾脏受损少见与本研究不符,这可能与一些干扰因素的存在有关,如药物、感染因素等。一般情况下,PM-Scl抗体一旦出现,将持续阳性,滴度不随病情变化^[14],而PM-Scl抗体通常单独出现,极少伴有ds-DNA及其他可溶性核抗原抗体^[15]。

通过以上分析,不难发现,当PM-Scl抗体单独出现时,没有特异性,也不代表疾病活动性,但其临床表现往往是一些自身免疫性疾病的表现。因此,一旦患者血清出现PM-Scl抗体阳性但还没有演化为某一种自身免疫性疾病时,给予一定干预治疗,则可能会阻止或延缓疾病的发生、发展。反之,当PM-Scl抗体和其他抗体合存在时,其临床意义还有待进一步研究。

参考文献

- [1] 叶任高.内科学[M].6版.北京:人民卫生出版社,2004:933-933.
- [2] Masi AT, Rodnan GP, Medsger TA. Preliminary criteria for the classification of systemic sclerosis (scleroderma). Subcommittee for scleroderma criteria of the American Rheumatism Association Diagnostic and Therapeutic Criteria Committee [J]. Arthritis

(上接第2525页)

不同病情临床分期,以及治疗前后的分析;缺乏其他肝炎病毒(如丙型肝炎)的比较研究。这些将在日后的观察研究中进行补充。

综上所述,现代检验技术的发展为临床疾病的诊疗提供大量准确的信息,血细胞分析(血常规)报告已经不单单是一种细胞数量检测的项目,更应该提供给临床医生关于血细胞形态学方面的信息,往往这些形态改变的信息与疾病的发生、变化,以及疾病的治疗预后有非常重要、紧密的关联,需要检验工作者更多地去发掘这些良好的指标、参数。

参考文献

- [1] Ferrari C. HBV and the immune response[J]. Liver Int, 2015, 35 (Suppl 1):S121-128.

Rheum, 1980, 23(5):581-590.

- [3] Steen VD, Medsger TA, Rodnan GP. D-Penicillamine therapy in progressive systemic sclerosis(scleroderma): a retrospective analysis[J]. Ann Intern Med, 1982, 97(5):652-659.
- [4] 白伊娜,王迁,胡朝军,等.中国系统性硬化症患者硬皮病相关自身抗体检测及其临床意义[J].中华微生物学和免疫学杂志,2011,31(5):452-455.
- [5] Krzyszczak ME, Li Y, Ross SJ, et al. Gender and ethnicity differences in the prevalence of scleroderma-related autoantibodies[J]. Clin Rheumatol, 2011, 30(10):1333-1339.
- [6] Brouwer R, Pruijn GJ, van Venrooij WJ. The human exosome: an autoantigenic complex of exoribonucleases in myositis and scleroderma[J]. Arthritis Res, 2001, 3(2):102-106.
- [7] 高崎芳成.抗PM-Scl抗体[J].日本临床,2010,68(6增刊TN. 980):548-550.
- [8] 袁凯,王国春,卢昕.炎性肌病特异性自身抗体研究进展[J].中华风湿病学杂志,2013,17(4):274-277.
- [9] Koschik RW, Fertig N, Lucas MR, et al. Anti-PM-Scl antibody in patients with systemic sclerosis[J]. Clin Exp Rheumatol, 2012, 30 (2 Suppl 71):S12-16.
- [10] 刘萍.ANA谱检测对自身免疫性疾病诊断的临床意义[J].哈尔滨医药,2012,32(2):135-136.
- [11] 陈星,张源潮.儿童混合性结缔组织病[J].中国实用儿科杂志,2007,22(6):470-473.
- [12] Török L, Dankó K, Csérsni G, et al. PM-SCL autoantibody positive scleroderma with polymyositis(mechanic's hand: clinical aid in the diagnosis)[J]. J Eur Acad Dermatol Venereol, 2004, 18(3):356-359.
- [13] Vanderghenst F, Ocmant A, Sordet C, et al. Anti-pm/scl antibodies in connective tissue disease: Clinical and biological assessment of 14 patients[J]. Clin Exp Rheumatol, 2006, 24(2):129-133.
- [14] 吴冬梅,朱桂华,陈景华.抗核抗体谱检测结果的临床评价[J].中国医药指南,2011,9(31):96-98.
- [15] 张道强,隋秀梅,宫峰岩,等.87例抗核抗体斑点型阳性患者血清特异性抗核抗体谱分析[J].国际免疫学杂志,2009,32(1):82-84.

(收稿日期:2015-04-14)

-
- [2] 史鸣树,闵建荣.乙型病毒性肝炎[M].北京:人民军医出版社,2009.
 - [3] 黄黎.病毒感染患者的淋巴细胞及单核细胞VCS参数与异型淋巴细胞的临床特点研究[J].检验医学与临床,2014,11(1):81-83.
 - [4] 丁宁,黄丽利,刘妍,等.乙肝患者HBV特异性细胞毒T淋巴细胞的分析[J].解放军医学杂志,2011,36(4):361-364.
 - [5] 王晓欧,陈小剑,舒旷怡,等.Sysmex XE2100血液分析仪散点图对检测异型淋巴细胞的价值[J].检验医学,2012,27(5):379-381.
 - [6] 胡忠圣,朱易华,曹兴建,等.乙肝病毒感染患者血液淋巴细胞和单核细胞VCS参数变化研究[J].交通医学,2012,26(6):558-561.
 - [7] 李广明.慢性HBV病毒感染者T淋巴细胞亚群变化的临床研究[J].中国实用医药,2013,8(29):87-88.

(收稿日期:2015-04-20)