

• 论 著 •

空洞型肺结核患者化学治疗过程中白细胞的动态分析^{*}林东子¹, 罗勇强¹, 向文玉², 孔彬², 曾今诚², 徐军发^{2,3△}

(1. 东莞市慢性病防治院, 广东东莞 523008; 2. 广东医学院检验医学研究所/广东省分子诊断重点实验室, 广东东莞 523808 广东医学院医学检验研究所, 广东东莞 523808)

摘要:目的 分析空洞型肺结核(CPTB)患者化学治疗过程中白细胞的动态变化, 监视患者在治疗过程中的细胞免疫状态, 为寻找可评估疗效和预后的免疫学指标提供理论依据。方法 选取 85 例 CPTB 患者(CPTB 组)和 100 例体检健康者(对照组), 检测 CPTB 组治疗前和对照组各项白细胞指标比较差异, 并分析 CPTB 患者各项指标在治疗过程中的动态变化。结果 治疗前 CPTB 患者淋巴细胞绝对值及百分比低于对照组, 而白细胞总数, 中性粒细胞绝对值及百分比、单核细胞绝对值及百分比均高于对照组, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。治疗 1~3 个月, 除淋巴细胞绝对值维持在较低水平外, 其他各项指标在治疗后均有不同程度的升高或降低。结论 化学治疗后, 淋巴细胞介导的免疫处于抑制状态; 白细胞的动态变化可反映 CPTB 患者治疗过程中的细胞免疫状态, 对疗效和预后的评估具有一定的指导意义。

关键词:空洞型肺结核; 白细胞; 动态分析**DOI:**10.3969/j.issn.1673-4130.2015.08.002**文献标识码:**A**文章编号:**1673-4130(2015)08-1012-03**Dynamic analysis of white blood cells in patients with cavitary pulmonary tuberculosis during chemotherapy procedure^{*}**Lin Dongzi¹, Luo Yongqiang¹, Xiang Wenyu², Kong Bin², Zeng Jincheng², Xu Junfa^{2,3△}

(1. Dongguan Hospital for Prophylaxis and Treatment of Chronic Disease, Dongguan, Guangdong 523008, China;

2. Key Laboratory for Medical Molecular Diagnostics of Guangdong Province,

Institute of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China;

3. Institute of Laboratory Medicine, Guangdong Medical College, Dongguan, Guangdong 523808, China)

Abstract: Objective To analyze the dynamic changes of white blood cells in patients with cavitary pulmonary tuberculosis (CPTB) during chemotherapy procedure, and explore immunological indexes which could evaluate the curative effect and prognosis.

Methods 85 cases of patients with CPTB (CPTB group) and 100 healthy people conducted physical examination (control group) were enrolled in this study. The immunological indexes of white blood cells were detected and compared between CPTB group and control group, and dynamic changes of white blood cells were analyzed in patients with CPTB. **Results** Compared with the control group, absolute lymphocyte count and percentage of lymphocyte were decreased in the CPTB group before chemotherapy, while the total white blood cells count, absolute neutrophil count and percentage of neutrophil, absolute monocyte count and percentage of monocyte were increased in the CPTB group before chemotherapy, there were statistically significant differences between the two groups ($P < 0.05$). Except the absolute lymphocyte count, other indexes were statistically increased or decreased during chemotherapy procedure. **Conclusion** After chemotherapy, the immunological reactions induced by lymphocyte are under inhibitory state. The dynamic changes of white blood cells could reflect the state of cellular immunity in patients with CPTB during chemotherapy, which could be helpful for the evaluation of curative effect and prognosis.

Key words: cavitary pulmonary tuberculosis; white blood cells; dynamic analysis

肺结核病是由单一结核分枝杆菌感染引起的慢性呼吸系统疾病。空洞型肺结核(CPTB)患者由于病情较重且迁延反复, 是结核病重要的传染源之一。因此, 其早期诊断和治疗 CPTB 对结核病的防控具有重要意义。结核病同时是一种免疫性疾病, 其发生、发展与患者的免疫功能, 特别是细胞免疫功能密切相关。本研究通过观察和分析 CPTB 患者在抗结核短程化疗过程中白细胞分类计数和百分比的动态变化, 进一步阐明肺结核治疗过程中免疫学特征的变化, 并为寻找可评估疗效和预后的免疫学指标提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1~6 月东莞市慢性病防治院呼吸内科诊断为 CPTB 的初诊患者 85 例 (CPTB 组), 其中男 51 例, 女 34 例, 年龄 16~68 岁。所有患者均参照中华人民共和国卫生行业标准《WS 288-2008 肺结核诊断标准》诊断, 均接受卫生部推荐的高初始耐药地区化疗方案 (2HRZE/4HR) 治疗, 且治疗后明显好转 (症状明显减轻, 痰灶范围缩小或痰涂片阳性转为阴性)。所有患者均无心、肝或肾等脏器合并症及其他感染, 无糖尿病、肿瘤等免疫相关性或免疫性疾病, 2 个月内未使用

* 基金项目: 国家自然科学基金项目(81273237, 30972779); 广东省科技计划项目(2011B061300098); 广东省医学科研基金(B2013427); 东莞市医疗卫生科技计划(20131051010139)。 作者简介: 林东子, 男, 主管技师, 主要从事结核病免疫机制研究。 △ 通讯作者, E-mail: imxu-junfa@163.com。

过激素及免疫抑制剂。对照组为同期该院体检健康者 100 例,其中男 54 例,女 46 例,年龄 18~54 岁,均排除心、肝、肾等疾病。

1.2 方法 分别采集体检健康者及患者抗结核治疗前、治疗 1、2、3 个月时的静脉血,以乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝。采用 Sysmex XT-1800i 全自动血细胞分析仪(日本 Sysmex 公司)检测各标本白细胞总数及中性粒细胞、淋巴细胞和单核细胞的绝对值与百分比,比较 CPTB 患者与体检者健康的差异,并分析患者各个指标在治疗过程中的动态变化。

1.3 统计学处理 SPSS 19.0 软件进行数据处理与统计分

析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用独立样本 *t* 检验,CPTB 组不同时间点间比较采用配对 *t* 检验;*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 治疗前两组各项白细胞指标检测结果比较 治疗前 CPTB 患者淋巴细胞绝对值(Lymp)和淋巴细胞百分比(Lymp%)低于对照组,而白细胞(WBC)总数,中性粒细胞绝对值(Neut)、中性粒细胞百分比(Neut%)、单核细胞绝对值(Mono)和单核细胞百分比(Mono%)均高于对照组,差异均有统计学意义(均 *P*<0.05)。见表 1。

表 1 治疗前两组各项白细胞检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9/L$)	Lymp($\times 10^9/L$)	Lymp%	Neut($\times 10^9/L$)	Neut%	Mono($\times 10^9/L$)	Mono%
CPTB 组	85	8.586±2.417	1.842±0.529	22.266±6.141	5.880±2.030	67.587±7.852	0.680±0.338	7.816±2.683
对照组	100	7.583±1.910	2.238±0.591	30.746±8.757	4.695±1.768	60.610±9.728	0.470±0.163	6.250±1.544
<i>t</i>		3.150	4.764	7.496	4.243	5.304	5.506	4.955
<i>P</i>		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 治疗后不同时期 CPTB 患者的各项白细胞指标检测分析 CPTB 患者经抗结核药物治疗后,患者外周血 WBC、Neut 和 Neut% 均随治疗时间的延长逐渐降低,外周血 WBC 由治疗前的(8.586±2.417)×10⁹/L 降低到治疗 3 个月后的(6.360±1.655)×10⁹/L(*P*<0.05);Neut 由治疗前的(5.880±2.030)×10⁹/L 降低到治疗 3 个月后的(3.887±1.414)×10⁹/L(*P*<0.05);Neut% 由治疗前的(67.587±7.852)% 降低到治疗 3 个月后的(60.081±9.325)%(*P*<0.05);患者外周血 Mono 和 Mono% 在治疗 1 个月后均降低至最低值,Mono 由治疗前的(0.680±0.338)×10⁹/L 降低到治疗 1 个月后的(0.503±0.225)×10⁹/L(*P*<0.05),而在治疗后的 1、2、3 个月之间比较差异均无统计学意义(*P*>0.05);Mono% 由治疗前的(7.816±2.683)% 降低到治疗 1 个月后的(6.878±2.269)%(*P*<0.05),而在治疗后的 1、2、3 个月之间比较差异均无统计学意义(*P*>0.05);CPTB 患者 Lymp 在治疗前、治疗后的 1、2、3 个月之间比较差异均无统计学意义(*P*>0.05);但 Lymp% 随治疗时间延长增加,由治疗前的(22.266±6.141)% 增加到治疗 3 个月后的(28.886±9.100)%(*P*<0.05)。

3 讨 论

从 20 世纪 80 年代中期开始,由于对结核病的控制效果存在过于乐观的认识偏差,人口的频繁流动与迁移,获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的流行,耐药性结核分枝杆菌(MDR)的出现和流行,以及许多国家结核病控制措施的不完善等原因,全球结核病疫情急剧恶化,形成第 3 次回升高峰,严重威胁人类健康。中国属于全球结核病高负担国家之一,发病率位居世界第 2,年确诊的新增结核病例为 800 万。

结核分枝杆菌侵入机体后是否引起发病取决于结核菌与机体免疫系统的相互作用,机体的免疫功能状态与结核病的发展、转归关系十分密切。淋巴细胞作为抗结核免疫的主要效应细胞,目前发现有多种淋巴细胞亚群,如辅助性 T 淋巴细胞 1(Th1)、Th17、Th22 等在抗结核免疫中起重要作用,而调节性 T 淋巴细胞(Treg)起负调节作用;CD8⁺ T 淋巴细胞可通过产

生干扰素-γ(IFN-γ)等细胞因子及细胞毒作用参与抗结核免疫^[1-2]。本研究显示,虽然 CPTB 患者 WBC 高于体检健康者,但 Lymp 和 Lymp% 均低于体检健康者,且在治疗过程中 Lymp 并没有明显升高,说明由淋巴细胞介导的抗结核免疫处于抑制状态,且在治疗过程中没有得到明显改善,病情的好转主要依赖于抗结核药物的作用。因此,淋巴细胞计数的连续监测虽无法反映患者的疗效变化,但可用于监测结核病患者的抗结核免疫功能。由于现今抗结核药物的研发明显滞后,且 MDR 不断增多,提高机体特异性抗结核细胞免疫功能可能是抗结核治疗的一个新方向。

中性粒细胞即多形核细胞,是机体最重要的炎性细胞,当外来病原菌进入机体时,中性粒细胞就会向病原菌处集结,进行吞噬活动,继而消化和降解病原体,发挥天然免疫清除病原体的效应。以往的研究表明,机体感染结核分枝杆菌后,主要发挥抗结核免疫的是淋巴细胞的细胞免疫作用,而且结核分枝杆菌通过补体受体进入巨噬细胞,并通过干扰巨噬细胞吞噬和溶酶体成熟而长期存活于体内造成潜伏感染。但最近的研究显示,在急性结核病发病早期,中性粒细胞首先吞噬结核分枝杆菌,并且中性粒细胞是活动性肺结核患者感染过程中占主导地位的吞噬细胞,而其发挥的生物学效应却绝不仅仅是简单的吞噬作用,其所发挥的作用较以往研究发现的作用更为复杂^[3-4]。本研究结果显示,治疗前结核病患者 WBC 明显高于体检健康者,其中以 Neut 增高为主,说明在发病早期,Neut 在抗结核免疫方面发挥了重要作用。随着治疗的进行和病情的好转,Neut 和 Neut% 在治疗 1 个月和治疗 3 个月时明显降低,提示中性粒细胞在疾病早期快速聚集并吞噬病原菌,防止其扩散。在治疗过程中,中性粒细胞开始凋亡或坏死,被巨噬细胞识别和清除,这一过程对消除炎性反应起着重要作用^[5]。

单核-巨噬细胞是机体防御系统的第一道屏障,一方面发挥着抵抗结核分枝杆菌的作用,另一方面又是结核分枝杆菌在体内滞留、造成潜伏感染的主要场所。巨噬细胞与结核分枝杆菌的相互作用非常复杂,巨噬细胞通过多种机制抑制及杀灭结

核分枝杆菌,结核分枝杆菌也以多种方式逃避巨噬细胞的杀伤,尤其重要的是结核分枝杆菌可调控巨噬细胞的凋亡。作为结核分枝杆菌在体内存活的宿主细胞,巨噬细胞的凋亡情况从一定程度上决定了结核分枝杆菌的命运,对结核病的发生、发展及预后都具有重要影响^[6]。本研究结果显示,在治疗前结核病患者的 Mono 与 Mono% 均明显高于体检健康者,治疗 1 个月时明显降低,但在治疗 2、3 个月时 Mono 与治疗 1 个月时比较无明显变化,提示在疾病初期,单核细胞在单核细胞趋化蛋白-1(MCP-1)作用下快速到达炎症区域,使 Mono 明显增加^[7]。在吞噬病原体后,巨噬细胞可以通过自身凋亡来消除结核分枝杆菌赖以生存的环境,抑制其在宿主体内的进一步生长和繁殖^[8-9],使得单核细胞在治疗早期明显降低。随着治疗的进行,在抗结核药物的作用下,感染受到控制,Mono 不再增加,而结核分枝杆菌对单核细胞凋亡的抑制作用使得 Mono 保持在一个相对稳定的水平。

此外,值得注意的是,本研究结核病患者在治疗 1 个月和 2 个月时,上述 7 项指标比较差异均无统计学意义($P > 0.05$),表明结核病患者治疗 1~2 个月期间外周血中 WBC、淋巴细胞、中性粒细胞和单核细胞均保持在稳定的水平。该定期出现的原因,以及其是否与结核病的病情或抗结核治疗方案有关(处于第 2 个强化治疗期),将有待进一步探讨。

参考文献

- [1] Urdahl KB, Shafiani S, Ernst JD. Initiation and regulation of T-cell responses in tuberculosis[J]. *Mucosal Immunol*, 2011, 4(3): 288-293.

(上接第 1011 页)

们所针对的靶序列的位置有关。LT mRNA 表达量的检测结果显示,2 对特异性 siRNA 在 B 时间点抑制效果均比 A 和 C 时间点差,这可能与细菌的繁殖周期有关,在 B 时间点细菌处于对数生长期,活菌数量较多,导致加入 siRNA 的量与活菌数的比值相对较低。但在该实验中 siRNA-LT1 对 LT 蛋白表达的抑制效果是 C 点最差,由于目前可参考的相关文献和实验条件较少,该问题还需进一步研究。

参考文献

- [1] Yavzori M, Porath N, Ochana O, et al. Detection of enterotoxigenic *Escherichia coli* in stool specimens by polymerase chain reaction [J]. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 1998, 31(4): 503-509.
- [2] Tamura K, Sakazaki R, Murase M, et al. Serotyping and categorisation of *Escherichia coli* strains isolated between 1958 and 1992 from diarrhoeal diseases in Asia[J]. *J Med Microbiol*, 1996, 45(5): 353-358.
- [3] Pecot CV, Calin GA, Coleman RL, et al. RNA interference in the clinic: challenges and future directions[J]. *Nat Rev Cancer*, 2011, 11(1): 59-67.
- [4] Zhe Ren, Shen Li, Qiao-li Wang, et al. Effect of siRNA on HSV-1 plaque formation and relation and relative expression levels of RR Mrna[J]. *Virologica Sinica*, 2011, 26(1): 40-46.
- [5] Merritt WM, Bar-Eli M, Sood AK. The dicey role of Dicer: implications for RNAi therapy[J]. *Cancer Res*, 2010, 70(7): 2571-

- [2] Torrado E, Cooper AM. What do we really know about how CD4 T cells control *Mycobacterium tuberculosis*[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2011, 7(7): e1002196[2011-07-28]. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21829359>.
- [3] Eum SY, Kong JH, Hong MS, et al. Neutrophils are the predominant infected phagocytic cells in the airways of patients with active pulmonary TB[J]. *Chest*, 2010, 137(1): 122-128.
- [4] 姜丽娜, 姚春艳, 金齐力, 等. 结核病患者中性粒细胞表面 Toll 样受体 2 和 Toll 样受体 4 的表达及意义[J]. 蚌埠医学院学报, 2012, 37(6): 624-626.
- [5] 龙敏, 罗军, 龙北国, 等. 结核杆菌诱导的凋亡中性粒细胞对人巨噬细胞活性的影响[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21(9): 748-750.
- [6] 刘云霞, 张万江. 结核分枝杆菌与巨噬细胞相互作用的研究进展[J]. 中国细胞生物学学报, 2012, 34(6): 617-622.
- [7] 何非. C 反应蛋白和脂蛋白对人外周血单核细胞趋化蛋白-1 及其受体表达的影响[D]. 南方医科大学, 2009.
- [8] 韦莉, 金齐力, 刘勇, 等. 结核分枝杆菌 P19 对巨噬细胞 TLR-2 表达及分布的影响[J]. 中国人兽共患病学报, 2009, 25(12): 1158-1161.
- [9] Clay H, Volkman HE, Ramakrishnan L. Tumor necrosis factor signaling mediates resistance to mycobacteria by inhibiting bacterial growth and macrophage death [J]. *Immunity*, 2008, 29(2): 283-294.

(收稿日期:2015-01-08)

2574.

- [6] Soper T, Mandin P, Majdalani N, et al. Positive regulation by small RNAs and the role of Hfq[J]. *Proc Natl Sci USA*, 2010, 107(21): 9602-9607.
- [7] De Lay N, Gottesman S. A complex network of small non-coding RNAs regulate[J]. *Mol Microbiol*, 2012, 86(3): 524-538.
- [8] Takeuchi N, Wolf YI, Makarova KS, et al. Nature and intensity of selection pressure on CRISPR-associated genes[J]. *J Bacteriol*, 2012, 194(5): 1216-1225.
- [9] Makarova KS, Grishin NV, Shabalina SA, et al. A putative RNA interference-based immune system in prokaryotes: computational analysis of the predicted enzymatic m-achinery, functional analogies with eukaryotic RNAi, and hypothetical mechanisms of acti-on [J]. *Bio Direct*, 2006, 1(7): 1-26.
- [10] 严燕国, 詹文华, 赵刚, 等. CagA 对幽门螺杆菌诱导胃黏膜上皮细胞分泌 IL-8 水平的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(4): 801-805.
- [11] 汤谨, 蒋燕群. KPC 酶在肺炎克雷伯菌碳青霉烯类耐药中的研究[J]. 检验医学, 2010, 25(12): 940-944.
- [12] 龚凤云, 王丽丽, 宋莹, 等. siRNA 干扰铜绿假单胞菌 MexA-MexB-OprM 外排泵 mexB 基因表达的研究[J]. 中华微生物和免疫学杂志, 2011, 31(9): 796-800.

(收稿日期:2015-01-28)