

## • 论 著 •

阴道局部 T 淋巴细胞的免疫指标变化与宫颈病变关系研究<sup>\*</sup>

雷永革, 曹巧林, 谭秋梅

(广东省深圳市大鹏新区妇幼保健院检验科 518100)

**摘要:**目的 分析阴道局部 T 淋巴细胞的免疫指标变化与宫颈病变关系。方法 选取 2015 年 9 月至 2016 年 6 月该院门诊、住院部收治的宫颈病变患者 60 例作为研究对象。人乳头瘤病毒(HPV)感染阳性患者为观察组, HPV 感染阴性患者为对照组, 分别检测两组患者阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值。结果 观察组阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值低于对照组, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 慢性宫颈炎患者阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值低于宫颈病变患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ ); 慢性宫颈炎患者随访 3~6 个月, 非转阴患者阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值低于转阴患者, 差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。结论 阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值可成为预防 HPV 感染引起宫颈病变的潜在指标, 有助于诊疗和判断患者疾病愈后的情况, 值得推广应用。

**关键词:**T 淋巴细胞; 免疫; 宫颈病变

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.03.015

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)03-0329-03

Research on relationship between changes of vaginal local T lymphocytes immune indexes and cervical lesions<sup>\*</sup>

LEI Yongge, CAO Qiaolin, TAN Qiumei

(Department of Clinical Laboratory, Dapeng New District Women and Children Health Care Hospital, Shenzhen, Guangdong 518100, China)

**Abstract: Objective** To analyze the relationship between the changes of vaginal local T lymphocytes immune indexes and the cervical lesions. **Methods** Sixty outpatients and inpatients with cervical lesions in our hospital from September 2015 to June 2016 were selected as the research subjects. The patients with human papilloma virus(HPV) infection positive were taken as the observation group and whose with HPV infection negative as the control group. The values of vaginal local CD4<sup>+</sup> T lymphocytes and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes were detected, and the ratio of CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> was calculated. **Results** The values of vaginal local CD4<sup>+</sup> T lymphocytes and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> in the observation group were significantly lower than those in the control group, the difference was statistically significant( $P < 0.05$ ); the values of vaginal local CD4<sup>+</sup> T lymphocytes and CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in the patients with chronic cervicitis were significantly lower than those in the patients with cervical lesions, the difference was statistically significant( $P < 0.05$ ); the values of vaginal local CD4<sup>+</sup> T lymphocytes, CD8<sup>+</sup> T lymphocytes and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio in the patients with non-negative conversion after 3~6 months were lower than those in the negative conversion patients, the difference was statistically significant( $P < 0.05$ ). **Conclusion** The values of vaginal local CD4<sup>+</sup> T lymphocytes and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio can be expected to be the potential indexes for preventing HPV infection caused cervical lesions, which is helpful to its diagnosis and treatment and to judge the condition after healing and is worth popularization and application.

**Key words:**T lymphocyte; immunity; cervical lesion

宫颈癌是最常见的女性生殖道恶性肿瘤之一, 人乳头瘤病毒(HPV)感染是宫颈上皮内瘤变及宫颈癌发生的必要因素<sup>[1-3]</sup>。近几年来, 逐渐呈上升趋势, 严重威胁着女性患者生命。本研究选取 2015 年 9 月至 2016 年 6 月该院门诊和住院部收治宫颈病变患者 60 例作为研究对象, 研究阴道局部 T 淋巴细胞的免疫指标变化与宫颈病变关系。

## 1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 9 月至 2016 年 6 月该院门诊和住院部收治宫颈病变患者 60 例作为研究对象, 其中 30 例患者行液基薄层细胞学(TCT)及反向杂交法 HPV 检查, 确诊为单种 HPV 感染阳性(观察组)。观察组最小年龄 25.5 岁, 最大年龄 56.2 岁, 慢性宫颈炎 16 例, 宫颈病变 14 例。所有患者其他内脏功能无异常、无精神疾病及恶性肿瘤病史, 剔除两种或

多重 HPV 感染的患者。另选取 HPV 检查结果阴性且行电子阴道镜宫颈检查术患者 30 例作为对照组。本研究经过院伦理委员会的批准, 患者家属均为自愿参与。两组患者生活习惯、年龄等一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ), 具有可比性。

## 1.2 方法

1.2.1 宫颈病变检测 先用窥阴器暴露宫颈, 用棉签擦去宫颈分泌物, 将宫颈刷置于宫颈管内, 旋转 3 圈, 刮出宫颈口和宫颈管内的上皮细胞, 放入含液基细胞学保存液的瓶中, 后制成细胞涂片, 巴氏染色后行细胞学诊断。对可疑病灶行取材活检或宫颈管刮取, 经专科病理医师诊断, 最终分为正常、炎症或宫颈尖锐湿疣、不典型鳞状细胞(ASCUS)、宫颈上皮内瘤变(CIN) I 级、CIN II、CIN III、子宫颈癌。

\* 基金项目: 广东省深圳市龙华新区科技创新资金项目(20150924A1030086)。

作者简介: 雷永革, 男, 主管技师, 主要从事临床检验及血液细胞形态学研究。

**1.2.2 HPV 检测** 采用核酸分子快速导流杂交基因芯片技术对宫颈脱落细胞进行 HPV 分型检测,选择临床最常见的 HPV 类型进行检测,高危型 HPV16、18、31、33、39、52、58、68;中危型 HPV53、66 和低危型 HPV6、11、42、43。采用 HPV-DNA 提取,PCR 扩增,HPV 杂交及酶标显色。

**1.2.3 阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞检测** 采用流式细胞学方法测定阴道局部 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞,以 15 mL 生理盐水冲洗宫颈管(于宫颈外口通过注射器注入生理盐水后回抽)、阴道上段,于后穹窿吸取灌洗液约 14~15 mL 经尼龙布过滤除去杂质,所得灌洗液用以 1 500 r/min 离心 5 min,弃上清后用磷酸盐缓冲液(PBS)洗涤,细胞成分再用密度梯度离心法分离淋巴细胞和上皮细胞,于-80℃ 冰箱冻存。流式细胞仪分析之前取淋巴细胞制成悬液,计数并调节细胞为每管  $2 \times 10^4$  /mL,加入 CD4 FITC/CD8 PE 荧光抗体 20 μL,室温孵育 20 min,加入红细胞裂解液后,避光 10 min 后,再 1 500 r/min 离心 10 min,接着弃去上清液,PBS 离心冲洗,最后用 0.5 mL PBS 缓冲细胞悬液。行流式细胞仪检测,排除巨噬细胞及其他碎片的干扰,测定阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值并计算 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值。对于 HPV 阳性宫颈活检为不同宫颈病变的患者分别给予个性化的治疗,慢性宫颈炎的患者给予随诊观察。

**1.3 观察指标** 观察两组患者阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值,对于慢性宫颈炎患者,对其进行随诊,检测其治疗后转阴和非转阴患者的阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值。CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值采用流式细胞学方法测定。

**1.4 统计学处理** 采用 SPSS11.5 软件包进行统计学分析,计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,对计量资料进行 *t* 检验,采用秩和检验进行等级资料比较,  $P < 0.05$  表示差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 两组患者阴道局部指标的检测结果比较** 观察组阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值显著低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 1。

表 1 两组患者阴道局部指标的检测结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	CD4 <sup>+</sup> T 淋巴细胞 (/mL)	CD8 <sup>+</sup> T 淋巴细胞 (/mL)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
对照组	30	235.05 $\pm$ 88.26	202.14 $\pm$ 79.11	1.22 $\pm$ 0.59
观察组	30	157.64 $\pm$ 97.38	186.76 $\pm$ 92.43	0.83 $\pm$ 0.36
<i>t</i>		3.226 1	0.692 4	3.090 6
<i>P</i>		0.002 1	0.491 4	0.003 1

**2.2 两组阴道局部 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值的比较** 见表 2。

表 2 两组患者阴道局部 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值的比较(*n*)

组别	<i>n</i>	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> > 1	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> ≤ 1
对照组	30	25	5
观察组	30	4	26

**2.3 宫颈病变的阴道局部组织检测结果比较** 慢性宫颈炎患者阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值高于宫颈病变患者,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),见表 3。

**2.4 慢性宫颈炎患者随访情况比较** 宫颈活检为慢性宫颈炎患者随访 3~6 个月,非转阴患者阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞的值、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值显著低于转阴患者,差异有统计学意

义( $P < 0.05$ ),见表 4。

表 3 宫颈病变的阴道局部组织检测结果比较( $\bar{x} \pm s$ )

分型	<i>n</i>	CD4 <sup>+</sup> T 淋巴 细胞(/mL)	CD8 <sup>+</sup> T 淋巴 细胞(/mL)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
慢性宫颈炎	16	205.79 $\pm$ 70.21	234.65 $\pm$ 63.58	0.85 $\pm$ 0.15
宫颈病变	14	125.67 $\pm$ 103.26	155.76 $\pm$ 96.64	0.81 $\pm$ 0.43
<i>t</i>		3.514 4	3.735 3	0.481 1
<i>P</i>		0.000 9	0.000 4	0.632 3

表 4 宫颈活检为慢性炎症组转阴情况比较( $\bar{x} \pm s$ )

项目	CD4 <sup>+</sup> T 淋巴细胞(/mL)	CD8 <sup>+</sup> T 淋巴细胞(/mL)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
转阴	245.11 $\pm$ 50.68	255.24 $\pm$ 52.28	0.98 $\pm$ 0.01
非转阴	139.22 $\pm$ 67.25	182.27 $\pm$ 72.08	0.74 $\pm$ 0.15
<i>t</i>	6.887 5	4.488 5	8.744 2
<i>P</i>	0.000 0	0.000 0	0.000 0

## 3 讨 论

宫颈癌的发病率仅次于乳腺癌,威胁着女性患者生命<sup>[4]</sup>。HPV 的持续感染与宫颈病变有着密切相关,HPV 感染是宫颈癌及其癌前病变的主要因素,然而并不是所有被 HPV 感染的最终都会成为宫颈癌,部分 HPV 感染具有一定的自限性,当机体免疫力低下或同时又有其他高危感染因素存在时,HPV 的感染持续就会引发宫颈癌<sup>[5-6]</sup>。有研究显示,宫颈癌与 HPV 感染、首次性生活年龄、分娩次数、口服避孕药、吸烟及经济状况和受教育的程度等有关<sup>[7-8]</sup>。如何减少 HPV 感染患者宫颈癌发病率,防止宫颈癌的持续恶化及对宫颈癌的风险评估是目前亟待解决的问题。由于宫颈是暴露在阴道中,因而宫颈病变的演变与阴道局部的免疫失调是否存在一定的关系,成为近几年来人们所关注的重点。

目前,HPV 疫苗、细胞免疫等免疫治疗是宫颈癌的一种新型预防和治疗模式,相关的 HPV 免疫研究成为了当今的研究热点。T 淋巴细胞是人体免疫系统的重要组成部分,有研究发现,CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞的 Th、T<sub>reg</sub> 细胞亚群及相关的细胞因子与 Th1/Th2、T<sub>reg</sub>/Th17 两个稳态的平衡在机体抗肿瘤免疫、免疫逃避耐受机制和机体免疫稳态中有着重要作用,其中对于恶性肿瘤的发生及防预起着重要作用<sup>[9-10]</sup>。成熟 T 淋巴细胞只表达 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞和 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞,然而能反映宫颈局部细胞免疫状态最常用的指标是 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞与 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞及 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值<sup>[11-12]</sup>。阴道免疫包括了细胞免疫与体液免疫,两者形成免疫应答网络。而 T 淋巴细胞是细胞免疫主要的效应细胞,其在机体对抗肿瘤免疫的效应中起着重要的作用<sup>[13-14]</sup>。当机体感染 HPV 后,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比例失衡,从而导致了宫颈病变的发展。在宫颈病变发生的过程中,阴道局部的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值降低,CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞增加,组织局部免疫微环境发生了改变,逐渐加重免疫抑制,对肿瘤细胞增殖比较有利。有研究显示,在肿瘤的微环境中,CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞减少,从而其介导的抗肿瘤效应也明显减低,机体的免疫作用受到一定的影响,然而 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞增多,一定程度上抑制了抗肿瘤的免疫,进而使得宿主不能有效并及时清除肿瘤细胞,故加重了肿瘤逃避免疫的监视<sup>[15]</sup>。本研究通过研究宫颈病变患者阴道局(下转第 333 页)

数、WCST 的总应答数、持续错误数、错误应答数呈正相关,与完成分类数呈负相关,这与相关研究结果一致。其中女性患者的 Hcy 水平要低于同组男性患者,这可能与雌性激素对 Hcy 代谢调节有关,通过调节甜菜碱-同型半胱氨酸甲基转移酶活性,降低 Hcy 水平。研究显示, Hcy 对神经具有毒性作用,通过调节 Bcl-2/Bax 水平,激活 caspase-3 活性,诱导神经元细胞凋亡。同时血清 Hcy 对机体的前额叶、基底结等区域多巴胺、5-羟色胺等神经递质的传递存在一定的影响,并影响患者的认知功能,导致患者认知功能障碍加重。

本研究结果显示,患者组血清 Hcy、IL-6 水平明显高于对照组,而 BDNF 水平明显低于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),通过相关性分析显示, Hcy、IL-6、BDNF 细胞因子之间呈现明显的相关性,这可能与精神分裂症的发生和进展有关,早期脑组织出现异常时, BDNF 水平明显下降,加重神经系统损伤,神经系统受到一定程度的损伤,机体的免疫功能发生明显改变, IL-6 水平明显升高,并通过生理、生化反应导致 Hcy 异常升高,由此形成一条完整的网络系统,任何一个环节的改变都会导致其他因素的改变。本研究采用常用的 PANSS 和 WCST 作为评价患者精神状态和认知功能的手段,结果表明证实精神分裂症患者在早期就伴有抽象能力、概念形成、认知的转移、思维灵活性和处理速度等执行功能障碍。同时通过对早期精神分裂症患者血清 Hcy、IL-6、BDNF 水平与 PANSS 和 WCST 进行相关性分析,结果提示 BDNF、IL-6、Hcy 水平对阴性症状及认知功能症状诊断具有一定的价值。

总之,首发精神分裂症患者血清 Hcy、IL-6 水平的表达升高, BDNF 水平降低,与患者的精神症状及认知功能存在一定的联系,在一定程度上证明了患者网络调节机制的存在,也显示 Hcy、IL-6、BDNF 在该病的发生、发展中的协同作用,提示 BDNF、IL-6、Hcy 水平的变化可以作为对该病预防、治疗的考察指标。

(上接第 330 页)

部的 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值,发现 HPV 感染与宫颈局部的免疫密切相关,特别是与阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞相关,联合阴道局部 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值可有望成为预测和预防 HPV 感染引起的宫颈病变的潜在指标,为以后宫颈病变临床治疗及如何判断疾病的转归情况奠定基础。

## 参考文献

- [1] 张洁. 3.0T MRI 功能成像对宫颈癌病理学特征及术前分期的应用研究[D]. 北京: 协和医学院, 2014.
- [2] 鲁蓉. 超声弹性成像及综合评分、液基薄层细胞学对宫颈病变诊断价值[D]. 长沙: 中南大学, 2014.
- [3] 铁晓玲, 马蔚霞. 改良型保留盆腔自主神经的子宫颈癌根治性手术对患者膀胱功能的影响探讨[J]. 转化医学电子杂志, 2015, 20(9): 41.
- [4] 朱建, 张源明, 郁洁, 等. NLRP3 炎症小体信号通路相关分子在新疆哈萨克族高血压患者外周血 T 淋巴细胞中的表达[J]. 中华高血压杂志, 2015, 12(1): 67-72.
- [5] Dedushi K, Kabashi S, Mucaj S, et al. Imaging characteristics and prevalence of pancreatic carcinoma in kosovo during 2011-2015-diagnostic method as choice[J]. Acta Inform Med, 2016, 24(3): 162-167.
- [6] 王季青, 周春慧. 宫颈癌危险因素的流行病学调查分析

## 参考文献

- [1] 金凤仙, 赵建利. 心理护理干预对改善精神分裂症患者抑郁症状的效果观察[J]. 广东医学, 2013, 34(20): 3217-3219.
- [2] 王勋, 马宁, 张五芳, 等. 精神分裂症患者服药依从性的评价方法(综述)[J]. 中国心理卫生杂志, 2014, 28(1): 45-50.
- [3] 段艳平, 司天梅, 苏允爱, 等. 奥氮平换用齐拉西酮治疗精神分裂症的安全性和有效性研究[J]. 精神医学杂志, 2013, 26(1): 5-8.
- [4] 牛莉莉, 温科奇, 熊鹏, 等. 首发精神分裂症治疗前后血清 NGF、BDNF、GFAP 与临床症状的相关性研究[J]. 精神医学杂志, 2015, 28(1): 10-12.
- [5] 段惠峰, 甘景梨, 连亚军, 等. 首发精神分裂症患者治疗前后血清脑源性神经营养因子的变化[J]. 西安交通大学学报(医学版), 2015, 22(6): 806-809.
- [6] 赵燕, 王刚, 陈大方, 等. 首发未治精神分裂症患者利培酮治疗前后血浆 IL-6、IL-10、IL-12 水平变化[J]. 山东医药, 2013, 53(48): 68-69.
- [7] 黄伟, 秦丽颖, 范锐斌. 精神分裂症发生相关免疫细胞因子的影响分析[J]. 河北医药, 2013, 35(5): 703-704.
- [8] 袁文丹, 陈金荣, 石增立, 等. 雌激素对免疫系统调节作用的研究进展[J]. 医学综述, 2005, 11(5): 422-423.
- [9] 陈旭梅, 朱琪玥, 张伟, 等. 首发精神分裂症患者血清叶酸、同型半胱氨酸水平及其与认知功能的关系[J]. 中华医学杂志, 2014, 94(13): 990-993.

(收稿日期: 2016-08-30 修回日期: 2016-10-20)

- [10] 高阳. 利普刀手术治疗宫颈上皮内瘤样变患者术后的护理[J]. 转化医学电子杂志, 2015, 2(10): 148.
- [11] 姜霞. 高危型人乳头瘤病毒感染对宫颈癌前病变筛查的临床价值[D]. 石家庄: 河北医科大学, 2014.
- [12] Ali RA, Mohamed KE. Metastatic clear cell renal cell carcinoma presenting with a gingival[J]. Metastasis, 2016, 6(2): 847.
- [13] 唐金芝. 阴道菌群, 宫颈局部 T 细胞亚群和炎性因子改变对 HPV 感染的影响[D]. 南宁: 广西医科大学, 2014.
- [14] 张韶凯. 女性生殖道 HPV 感染与宫颈病变的关系及宫颈癌的自然史模型研究[D]. 北京: 协和医学院, 2014.
- [15] 程静新, 姚立丽, 李贺月, 等. 5 766 例宫颈癌临床特征分析[J]. 实用妇产科杂志, 2014, 30(10): 768-772.

(收稿日期: 2016-09-12 修回日期: 2016-11-15)