

为治疗监测指标的,长时间抗菌药物治疗后 PCT 不能恢复到正常范围的感染患者需要考虑合并真菌感染的可能。

低 PCT 水平并不能完全排除细菌感染的可能。在感染早期,局部感染及亚急性心内膜炎等情况下可见较低的 PCT 水平^[9]。有研究表明,PCT 可能是一种可以放大的二级炎症介质,却不是这些炎性反应的启动者,其水平高低可反映病情的危重状态,并为临床病情转归提供客观依据,即使患者尚无明显的临床表现,血浆中 PCT 浓度也可明显升高,其升高程度与感染的严重度呈正相关^[10-14]。因此,对疑似感染患者,PCT 持续监测十分重要。

总之,本研究显示感染组患者血清 PCT 水平高于健康对照组,重症感染组 PCT 水平高于局部感染组,局部感染组高于病毒感染组,其变化程度与机体感染的严重程度呈正相关。PCT 的定量检测 可以用做外科感染性疾病的诊断性指标,对临床诊断、治疗监测、预后等都具有一定的参考价值,但本文属回顾性研究,观察的病例数不多,且为基层医院外科感染性疾病,有一定的局限性,需大样本研究证实。

参考文献

- [1] Whang KT, Vaths D, Becker KL, et al. Procalcitonin and Proinflammatory cytokine interactions in sepsis[J]. Shock, 2000, 14(1):73-78.
- [2] Karzai W, Oberhoffer M, Meier-Hellmann A, et al. Procalcitonin—a new indicator of the systemic response to severe infections[J]. Infection, 1997, 25(6):329-334.
- [3] Monneret G, Pachot A, Laroche B, et al. Procalcitonin and calcitonin gene-related peptide decrease LPS-induced tnf production by human circulating blood cells[J]. Cytokine, 2000, 12(6):762-764.
- [4] Meisner M, Muller V, Khakpour Z, et al. Induction of procalcitonin and Proinflammatory cytokines in an anhepatic baboon endotoxin[J]. shock model[J]. Shock, 2013, 19(2):187-190.

• 临床研究 •

急性髓细胞白血病患者外周血淋巴细胞亚群的检验分析

杨 莉¹, 何浩明²

(1. 沭阳县人民医院检验科, 江苏宿迁 223600; 2. 连云港市第一人民医院检验科, 江苏连云港 222002)

摘要:目的 应用流式细胞学技术检测急性髓细胞白血病患者外周血淋巴细胞亚群的变化分析,揭示急性髓细胞白血病中外周血淋巴细胞亚群的变化规律,为临床个体化治疗累积分子机制研究资料。**方法** 应用流式细胞学技术检测 80 例急性髓细胞白血病患者外周血淋巴细胞,应用相应的单克隆抗体检测 CD3⁺T 淋巴细胞百分比、CD4⁺T 淋巴细胞百分比、CD4⁺/CD8⁺比值及 CD16⁺/CD56⁺NK 细胞百分比。同时通过 CD45/SSC 设门分析,分别测定多种 CD 分子的表达率,并通过配对检验分析不同高表达 CD 分子相关性。**结果** 急性髓细胞白血病(AML)组患者 CD3⁺T 淋巴细胞百分比、CD4⁺T 淋巴细胞百分比、CD4⁺/CD8⁺比值及 CD16⁺/CD56⁺NK 细胞百分比显著低于健康对照组,CD33、CD15、Cyt-MPO 和 CD64 阳性表达不仅比例高,而且表达量高。配对分析表明 CD33/CD15 和 CD33/Cyt-MPO 的抗原表达有差异性。**结论** AML 患者免疫系统低下,外周血 CD33、CD15、CD64 和 Cyt-MPO 的表达高。

关键词:急性髓细胞白血病; 淋巴细胞亚型; CD 抗原

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.06.045

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)06-0817-03

急性髓细胞白血病(AML)也称为急性非淋巴细胞白血病(ANLL),是一种血细胞的髓性癌积聚在骨髓中生长快速的异常白细胞干扰正常血细胞的生成,进而从骨髓进入血液取代正常血细胞,是高度异质化的恶性血液病。AML 疾病的进展十分迅速,患者如若诊断不及时或未接受治疗通常几周或几个月

- [5] 梁明. 降钙素原定量检测在临床中的意义[J]. 内蒙古中医药, 2012, 31(2):131-132.
- [6] Becker KL, Snider R, Nylen ES. Procalcitonin in sepsis and systemic inflammation: a harmful biomarker and therapeutic target[J]. Br J Pharmacol, 2010, 159(2):253-264.
- [7] 李梅, 江莲. 小儿全身炎症反应综合征降钙素原水平的测定及其临床意义[J]. 临床荟萃, 2009, 24(7):599-601.
- [8] 沈国森, 徐致远. 超敏 C-反应蛋白联合白细胞检测在新生儿细菌感染性疾病的应用价值[J]. 中国现代医生, 2013, 51(9):97-99.
- [9] 张涛, 周虹. PCT 在急诊抗感染中的诊断意义[J]. 中华急诊医学杂志, 2010, 18(5):556-558.
- [10] Sponholz C, Sakr Y, Reinhart K, et al. Diagnostic Value and prognostic implications of serum procalcitonin after cardiac surgery: a systematic review of the literature[J]. Crit Care, 2006, 10(5):R145.
- [11] Bouadma L, Lila, Luyt, et al. Use of procalcitonin to reduce patients' exposure to antibiotics in intensive care units (PRORATA trial): a multicentre randomised controlled trial[J]. Lancet, 2010, 375(9713):463-474.
- [12] Cortegiani A, Russotto V, Montalto F, et al. Procalcitonin as a marker of Candida species detection by blood culture and polymerase chain reaction in septic patients[J]. BMC Anesthes, 2014, 14(1):1-9.
- [13] Hohn A, Schroeder S, Gehrt A, et al. Procalcitonin-guided algorithm to reduce length of antibiotic therapy in patients with severe sepsis and septic shock[J]. BMC Infect Dis, 2013, 13(2):158.
- [14] Prkno A, Wacker C, Brunkhorst FM, et al. Procalcitonin-guided therapy in intensive care unit patients with severe sepsis and septic shock—a systematic review and meta-analysis[J]. Critical Care, 2013, 17(6):11-14.

(收稿日期:2016-01-10)

的时间就可能丢失生命^[1]。AML 的具体病因至今并不明确,病毒感染、遗传因素、化学物质毒性等都可能与 AML 的发病有关,而机体细胞/体液免疫功能缺失,免疫监视和免疫清除能力减弱,可能会导致癌细胞无限增殖^[2-3]。因此通过检测 AML 患者外周血淋巴细胞亚群分析,可判断患者机体免疫功能状态

和细胞免疫系统重建的情况,采取相应的措施预防感染。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2011 年 6 月至 2015 年 6 月江苏省沭阳县人民医院收治的 80 例 AML 患者的标本,根据临床血常规和骨髓穿刺检查确诊,符合张之南的《血液病诊断及疗效标准》^[4]。80 例患者(AML 组)中男 45 例,女 35 例;年龄 4~62 岁,中位年龄 19 岁;根据 FAB 分型划分为 M0 2 例,M1 10 例,M2 26 例,M3 21 例,M4 6 例,M5 8 例,M6 7 例。选取同期健康者 80 例(健康对照组),其中男 48 例,女 32 例,年龄 16~54 岁、中位年龄 22 岁。两组研究对象性别、年龄比较,差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 试剂和仪器 MultiSET 免洗淋巴细胞亚群试剂盒,红细胞裂解液,以及 CD4、CD8、CD56、CD16、CD19、CD7、CD2 和 CD64 等单克隆抗体购自美国 BD 公司;流式细胞仪购自美国 BD 公司。

1.3 方法 采取外周静脉全血 2 mL 置于抗凝管中振摇均匀后备用。分别取 50 μ L 抗凝全血置于 FACS 专用试管中,各加入 20 μ L CD3/CD4/CD8/CD45/CD19/CD45/CD1 等标记的抗体,漩涡混匀,室温避光放置 15 min 后,加入 450 μ L 溶血素,

混匀后避光放置 15 min,通过流式细胞仪 CD45/SSC 设门对 10 000 个细胞进行检测,通过 FACS Diva 软件分析细胞的免疫表型和表达强度。

1.4 统计学处理 通过 SPSS15.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,验证两样本资料符合正态分布且方差齐性之后采用 t 检验分析两组之间的差异;计数资料以率表示,组间比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 淋巴细胞亚群检测结果 AML 组与健康对照组比较,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞百分比及 CD4⁺/CD8⁺ 均明显低于健康对照组($P<0.05$);CD19⁺B 淋巴细胞百分比 AML 组明显高于健康对照组($P<0.05$);而 AML 组 CD16⁺/CD56⁺ NK 细胞百分比明显低于健康对照组($P<0.05$)。见表 1。

2.2 不同 CD 分子在 AML 患者中的表达 80 例 AML 患者中 CD 抗原表达各不相同,其中以 Cyt-MPO、CD38、CD33 和 CD64 表达率较高(表 2),将表达百分比超过 60.0%作为高表达患者,则 Cyt-MPO(68.8%)、CD38(71.2%)、CD64(32.5%)和 CD33(73.8%)为高阳性表达,提示这些 CD 分子在 AML 诊断上可能有直接诊断价值。

表 1 AML 患者及健康对照组外周血 T、B 淋巴细胞和 NK 细胞亚群检测结果($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD19 ⁺ (%)	CD16 ⁺ /CD56 ⁺
健康对照组	80	70.22±6.45	38.25±7.22	28.10±6.95	1.36±0.55	11.50±3.87	16.77±8.23
AML 组	80	64.90±13.45*	30.13±7.95*	34.42±10.77*	0.88±0.36*	20.11±7.41*	10.84±5.25*

*: $P<0.05$,与健康对照组相比。

表 2 80 例 AML 患者 CD 抗原表达分布[$n=80,n(\%)$]

CD 抗原	细胞 CD 抗原表达的比例数值					高表达数
	0%~20%	>20%~40%	>40%~60%	>60%~80%	>80%~100%	
Cyt-MPO	16(20.0)	4(5.0)	5(6.2)	14(17.5)	41(51.2)	55(68.8)
CD15	26(32.5)	13(16.2)	12(15.0)	8(10.0)	21(26.3)	29(36.2)
CD33	6(7.5)	10(12.5)	5(6.25)	7(8.8)	52(65.0)	59(73.8)
CD38	15(18.8)	0(0.0)	8(10.0)	16(20.0)	41(51.2)	57(71.2)
CD64	40(50.0)	10(12.5)	4(5.0)	14(17.5)	12(15.0)	26(32.5)
CD2	80(100.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
CD19	67(83.8)	13(16.2)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)
CD7	61(76.2)	5(6.2)	5(6.25)	3(3.8)	6(7.5)	9(45.0)

2.3 高表达 CD33 与 CD15、CD64 和 Cyt-MPO 在 AML 患者体内表达的相关性 由表 2 的数据可以发现 CD33、CD15、CD64 和 Cyt-MPO 在 AML 患者中的表达程度较高(将表达率超过 60.0%定义为阳性),分别进行 CD33 与 CD15、CD64 及 Cyt-MPO 的两两比较,经检验 CD33 与 CD15、Cyt-MPO 的抗原表达差异有统计学意义($P<0.05$),CD33 与 CD64 之间的抗原表达差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 3。

表 3 高表达 CD33 与 CD15、CD64 和 Cyt-MPO 在 AML 患者中表达的相关性

CD33	CD15		CD64		Cyt-MPO		合计
	阳性	阴性	阳性	阴性	阳性	阴性	
阳性	27	32	18	41	45	14	59
阴性	2	19	6	11	10	11	21
合计	29	51	24	56	55	25	
χ^2	4.882		0.104		5.918		
<i>P</i>	0.027		0.768		0.015		

3 讨论

AML 是造血干细胞异常增生的恶性肿瘤性疾病,虽然白血病的治疗已经取得了很大的进展,但是目前 AML 患者的 5 年生存率依然较低^[5]。主要是目前的治疗手段不能够彻底清除致病细胞,使得致病细胞有一定的残留,从而引起白血病复发,这是导致白血病致死的关键因素^[6-7]。

临床很多研究资料的结果表明,白血病患者外周血淋巴细胞亚群异常与白血病的发病具有较为密切的相关性。淋巴细胞是构成免疫系统的主要细胞,根据细胞的表面标志与功能,可将淋巴细胞分成许多不同的群体,在免疫应答过程中经抗原活化后进行分化和增殖,最后表达功能行使效应,维持机体内环境的稳定。T 淋巴细胞在肿瘤免疫中起中心调控作用。T 细胞亚群是一群具有特殊标志的人胸腺中输出细胞,执行细胞免疫功能及免疫调节功能;其中 CD3⁺细胞代表 T 淋巴细胞总数;CD4⁺细胞为免疫应答中的主要反应细胞,具有增强和扩大其他免疫细胞的功能;CD8⁺细胞可对靶细胞产生细胞介导的细胞毒作用,同时对 CD4⁺细胞具有调节性免疫抑制作用;

CD4⁺/CD8⁺的稳定比例维持着细胞免疫反应的平衡,只有在 CD4⁺/CD8⁺正常时才能发挥抗肿瘤作用。CD4⁺T 淋巴细胞的减少表明患者体内细胞免疫功能下降;CD8⁺T 淋巴细胞的相对增加使得机体处于免疫抑制状态,减弱白细胞清除癌变细胞的能力,使癌变细胞残存,导致复发率上升。CD19 是 B 细胞的标志之一,与 B 细胞的分化、活化、增殖以及抗体产生有关。由于 CD45 是白细胞表面的共同抗原,通过 CD45/SSC 设门可以得到几乎没有杂细胞的全部白细胞。CD33 分子是髓系细胞细胞表面的跨膜受体,通常被认为是粒细胞特异性的标志^[8]。CD64 分布于白细胞表面,是 Fc 受体之一,属于免疫球蛋白超家族的成员,是连接体液调节和细胞免疫的桥梁作用^[9]。Cyt-MPO 是中性粒细胞嗜天青颗粒产生的一种重要的过氧化物酶,可以通过催化氯化物和过氧化氢的氧化产生足够的自由基,抑制 NK 细胞对肿瘤细胞的反应,可以直接影响机体的免疫功能^[10]。CD15 是一种存在于中性粒细胞和单核细胞细胞膜表面糖蛋白的一种碳水化合物抗原。CD15 不仅作为第二信使参与细胞间的信号传导,将细胞外信息传导至细胞质和细胞核,而且还通过细胞黏附作用,使肿瘤细胞易于黏附在基膜上,促进癌症的进展。

本文对 AML 患者和健康人的外周血淋巴细胞相关指标进行检测,结果显示,AML 患者的 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞及 CD4⁺/CD8⁺比值均明显低于健康人,CD8⁺T 淋巴细胞高于健康人,说明 AML 患者体内的免疫功能紊乱。结果还显示 AML 患者体内的 CD19 水平明显高于健康人,其原因可能是由于 CD4⁺、CD3⁺T 淋巴细胞的下降以及 CD4⁺/CD8⁺比值的降低可以刺激 B 淋巴细胞增生,造成体液免疫功能亢进而导致的^[7]。CD16⁺/CD56⁺是 NK 细胞的标志物,其表达量可能与 NK 细胞的功能有关。NK 细胞是机体防御的天然屏障,可直接杀伤肿瘤细胞或使其活性降低抑制肿瘤的发展和转移。AML 患者 NK 细胞百分比显著降低,说明初发 AML 患者 NK 细胞功能低下,机体免疫能力下降。

本研究进一步检测了多种 CD 分子,结果表明不同 CD 分子在同一个体的表达差异较大。CD33、CD15、Cyt-MPO 和 CD64 阳性表达不仅比例高,而且表达量高,具有足够的稳定性,在 AML 的诊断中有着重要的意义。本研究通过配对检验分别比对 CD33/CD15、CD33/CD64 和 CD33/MPO 高表达的

• 临床研究 •

构成差异,结果显示 CD33/CD15 和 CD33/Cyt-MPO 的抗原表达有差异性,差异有统计学意义($P<0.05$),表明两者联合检验会提高 AML 的诊断率。

综上所述,AML 患者免疫功能低下,CD3⁺、CD4⁺T 淋巴细胞和 NK 细胞的表达显著降低,在多种 CD 分子的检测中,同一个对不同 CD 分子的表达也不相同。CD13、CD33、Cyt-MPO 和 CD64 在 AML 中有着更高的阳性表达率。随着嵌合抗原受体 T 细胞、NK 细胞治疗技术的发展,靶向性更强的治疗手段会为彻底治愈 AML 提供思路。

参考文献

- [1] 陈影. 流式细胞术检测急性髓细胞白血病免疫表型及其临床意义[D]. 合肥:安徽医科大学,2014.
- [2] 陆春伟,佟海侠,陆美言. 急性白血病患者外周血淋巴细胞亚群和调节性 T 细胞的检测及临床意义[J]. 现代肿瘤医学,2010,18(11):2230-2233.
- [3] 中华医学会血液学分会. 成人急性髓系白血病(非急性早幼粒细胞白血病)中国诊疗指南(2011 年版)[J]. 中华血液学杂志,2011,32(11):804-807.
- [4] 张之南. 血液病诊断及疗效标准[M]. 北京:科学出版社,2007.
- [5] 中华医学会血液学分会. 急性髓系白血病(复发难治性)中国诊疗指南(2011 年版)[J]. 中华血液学杂志,2011,32(12):887-888.
- [6] 范颖,任金海,郭晓玲,等. 急性髓系白血病复发前后生物学标志的变化[C]// 河北省免疫学会血液免疫专业委员会第三届年会暨河北省医学会血液学分会青年学组第二次学术会议论文集,石家庄,2012. 石家庄:河北省医学会血液学分会,2012.
- [7] 许晓东,胡翠华,常乃柏,等. 成人急性髓细胞白血病免疫分型特点及临床预后分析[J]. 中国实验诊断学,2010,14(3):423-426.
- [8] 张书芹,王光平,朱平,等. 急性髓系白血病 CD33⁺/CD34⁺细胞表面核酸适配体的筛选及结构分析[J]. 中国实验血液学杂志,2011,19(3):561-565.
- [9] 王贤,夏永泉,张葵. CD64 和 CD14 单核细胞相关性急性髓系白血病诊断中的意义[J]. 国际检验医学杂志,2013,34(2):158-159.
- [10] 贾明峰,席亚明,石秀娥,等. MPO、NQO1 优基因多态性与急性白血病易感性的相关研究[J]. 中国实验血液学杂志,2012,20(6):1336-1340.

(收稿日期:2016-01-26)

铁蛋白与 C 反应蛋白在婴儿贫血中的意义

钱柳妍

(无锡市儿童医院医学检验科,江苏无锡 214023)

摘要:目的 探讨铁蛋白与 C 反应蛋白在婴儿贫血中的意义。方法 选择该院健康体检或因贫血就诊的婴儿 323 例为研究对象,年龄段为小于 3 个月、3~<6 个月及 6~12 个月,其中贫血组 185 例,健康对照组 138 例。根据血红蛋白浓度将每个年龄段婴儿分为贫血组及健康对照组,比较两组间铁蛋白和 C 反应蛋白水平差异,并进行相关分析。结果 铁蛋白随年龄增长逐渐降低,除小于 3 个月年龄段婴儿外,3~<6 个月及 6~12 个月的贫血组婴儿铁蛋白水平均低于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。贫血组各个年龄段 C 反应蛋白水平均高于健康对照组,差异有统计学意义($P<0.05$)。3~<6 个月及 6~12 个月婴儿的铁蛋白与 C 反应蛋白水平呈显著负相关。结论 婴儿贫血程度随着月龄增长逐渐严重;与健康婴儿比较,贫血婴儿炎症程度更高;婴儿贫血程度与炎症程度呈负相关。

关键词:贫血; 铁蛋白; C 反应蛋白

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.06.046

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)06-0819-02

贫血是一种机体内红细胞数量减少,不能满足机体生理需

求的公众疾病,据统计约 20 亿人患有不同程度贫血,发展中国