

提高,满足了临床需要。

参考文献

[1] 陈倩云,石兵,韩江,等. PDCA 循环法在 ISO15189 医学实验室质量管理体系建立中的应用[J]. 国际检验医学杂志,2012,33(2):249-250.

[2] 刘佳心,程风敏,张维. 浅析 PDCA 循环在医院管理中的应用[J]. 科学咨询,2016(4):28-29.

[3] 孙会. PDCA 循环提高检验血液标本合格率[J]. 实验与检验医学,2015,33(6):739-741.

[4] 杨茂. 血液细胞形态学检查在血常规检验中的重要性[J]. 检验医学与临床,2013,10(4):509-510.

[5] 谢中建. 探讨血液细胞形态学镜下复检在血常规检验中的重要性[J]. 智慧健康,2017,3(10):117-118.

[6] 詹学良,潘宝龙. 血液分析仪联合血细胞形态观察在临床诊断中的应用[J]. 云南医药,2017,38(3):269-271.

[7] 杨晓琼. 形态学检查在血常规检验中的临床应用效果评

价[J]. 中国继续医学教育,2016,8(35):51-53.

[8] 陈艳. 血细胞形态学检查对疾病诊断的临床价值[J]. 河南医学研究,2013,22(6):900-901.

[9] 高兴莲,李婷婷,余文静,等. PDCA 循环在提高手术安全核查执行率中的应用[J]. 护理学杂志,2015,30(14):45-47.

[10] 宋金萍,黄睿,卢佩佩. BC-6800 血细胞分析仪白细胞分类复检规则的制定及应用评价[J]. 海南医学,2016,27(23):3831-3833.

[11] 贺雪花,张锦. PDCA 循环提高性病病原学检测率及减少抗生素消耗量的应用[J]. 中国药物与临床,2016,16(1):127-128.

[12] 陆作洁. 外周血涂片形态学检验与临床诊断的研究进展[J]. 中外医学研究,2014,12(9):153-154.

(收稿日期:2018-03-22 修回日期:2018-06-12)

• 短篇论著 •

淋巴细胞亚群在 MDS 和 AA 患者中的变化和意义

范 雯,张阳萍

(空军军医大学唐都医院血液科,西安 710038)

摘 要:目的 研究骨髓增生异常综合征(MDS)和再生障碍性贫血(AA)患者骨髓血淋巴细胞亚群的变化及其临床参考意义。**方法** 选取本院 2010—2016 年住院或门诊的骨髓增生异常综合征(MDS)和再生障碍性贫血(AA)患者各 28 例。另选取无贫血、感染等健康成人 20 例作为健康组,采用四色流式细胞术检测各组淋巴细胞亚群。**结果** 与健康组相比,MDS 组 CD19⁺B 淋巴细胞比例明显降低,CD3⁺CD56⁺NK 细胞比例降低,CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺(Th/Ts)值明显减低,差异均有统计学意义($P<0.05$),而 CD3⁺T 淋巴细胞比例差异无统计学意义($P>0.05$);与健康组相比,AA 组 CD3⁺T 淋巴细胞、CD19⁺B 淋巴细胞比例差异无统计学意义($P>0.05$),CD3⁺CD56⁺NK 细胞比例明显降低及 Th/Ts 值明显降低,差异均有统计学意义($P<0.05$)。**结论**

MDS 和 AA 患者骨髓血中淋巴细胞亚群与健康组存在一定差异,淋巴细胞亚群检测对 2 种疾病的诊断和鉴别诊断具有一定价值。

关键词:骨髓增生异常综合征; 再生障碍性贫血; 流式细胞术; 淋巴细胞亚群

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.20.033

中图法分类号:R446.6;R556.5

文章编号:1673-4130(2018)20-2579-03

文献标识码:B

骨髓增生异常综合征(MDS)是一组起源于骨髓造血干/祖细胞异常克隆增殖性疾病,以粒系、红系和巨核系一系或多系无效造血为特点,其临床表现为外周血全血细胞数减少和骨髓增生异常^[1]。再生障碍性贫血(AA)是以骨髓造血干细胞增生降低和外周血全血细胞减少为特征,由多种致病因素所致的骨髓造血功能衰竭性综合征^[2]。MDS 和 AA 的临床表现极其相似,且均与机体免疫异常相关,但两者发病机制完全不同,且 MDS 和 AA 患者在治疗及预后等方面存在较大差异,因此疾病早期及时准确的诊断及对疾病进展进行早期干预治疗会带来很好的治疗效果^[3]。

本研究以 2010—2016 年本院收集的 28 例 MDS 患者和 28 例 AA 患者骨髓血为研究对象,通过流式细胞术检测分析淋巴细胞亚群数量,探究二者之间的差异,以期为提高 MDS 和 AA 的临床诊断治疗水平提供一定的理论基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2010—2016 年住院或门诊的 MDS 和 AA 患者 56 例。MDS 组 28 例,男 17 例,女 11 例;年龄(56.32±17.95)岁;AA 组 28 例,男 16 例,女 12 例;年龄(23.48±14.28)岁。所有患者均经过 MICM 检查等确诊。另选取无贫血、感染等健康

成人 20 例作为健康组,男 8 例,女 12 例;年龄(34.90±7.73)岁。

1.2 仪器与试剂 仪器:BD FACSCalibur 四色流式细胞仪。试剂:CD3-FITC, CD10-FITC, CD8-PE, CD19-PE,CD16.56-PE,CD4-APC,CD45-PerCP 抗体(美国 BD 公司);BD FACSTM 溶血素。

1.3 方法 淋巴细胞亚群检测采用四色流式细胞术。取 50 μL 患者髂前骨髓血并加入 20 μL 单克隆抗体染色,抗体组合:CD3-FITC/CD16.56-PE/CD45-PerCP、CD4-APC/CD8-PE/CD45-PerCP、CD10-FITC/CD19-PE/CD45-PerCP。室温避光孵育 20 min 后加入 1 mL 溶血素(1×)溶血 10 min。离心去上清,加入 400 μL PBS 制成待检测标本。采用 Cellquest 软件上机检测收取 100 000 个细胞,Kaluza 软件分析数据,结果以阳性细胞的率(%)表示。

1.4 统计学处理 所有数据均采用 SPSS11.5 统计软件进行分析,经正态性检验符合正态分布,数据用 $\bar{x}\pm s$ 表示,采用 *t* 检验。*P*<0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 3 组骨髓血中不同淋巴细胞亚群表型比较 与健康组相比,MDS 组患者骨髓血中 CD3⁻CD56⁺ 细胞比例降低,CD19⁺ B 淋巴细胞比例显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05),而 CD3⁺ T 淋巴细胞的比值差异无统计学意义(*P*>0.05);与健康组相比,AA 组患者骨髓血中 CD3⁻CD56⁺ 细胞比例明显降低,差异有统计学意义(*P*<0.05),而 CD3⁺ T、CD19⁺ B 淋巴细胞与健康组比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);AA 组患者与 MDS 组患者比较,CD19⁺ B 淋巴细胞比例增高,差异有统计学意义(*P*<0.05),而 CD3⁺ T 淋巴细胞和 CD3⁻CD56⁺ 细胞比例差异均无统计学意义(*P*>0.05)。见表 1。

表 1 3 组骨髓血中淋巴细胞亚群检测结果($\bar{x}\pm s$,%)				
组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ T 细胞	CD19 ⁺ B 细胞	CD3 ⁻ CD56 ⁺ NK 细胞
MDS 组	28	70.08±13.01	7.23±6.19*	9.84±7.06*
AA 组	28	70.29±8.44	12.54±7.94	9.85±6.43*
健康组	20	68.30±8.57	13.50±4.07	16.40±6.85

注:与健康组比较,**P*<0.05

2.2 3 组骨髓血 Th/Ts 数值分析 骨髓血检测结果显示,与健康组相比,MDS 组患者 CD3⁺/CD4⁺ T 细胞占淋巴细胞的比例降低,差异有统计学意义(*P*<0.05),CD3⁺/CD8⁺ T 细胞占淋巴细胞的比例明显增高,因此,MDS 组患者比健康组的 CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ (Th/Ts)值显著降低,差异有统计学意义(*P*<0.05);AA 组患者 CD3⁺/CD4⁺ T 细胞占淋巴细胞的比例与健康组比较,差异无统计学意义(*P*>0.05);

AA 组患者 CD3⁺/CD8⁺ T 细胞占淋巴细胞的比例比健康组明显增高,从而 AA 患者的 Th/Ts 值较健康组明显降低,差异均有统计学意义(*P*<0.05)。见表 2。

表 2 3 组骨髓血中 Th/Ts 检测结果($\bar{x}\pm s$,%)				
组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺
MDS 组	28	35.97±9.47*	44.46±9.54*	0.87±0.37*
AA 组	28	29.38±10.69	47.59±14.02*	0.67±0.41*
健康组	20	37.70±4.89	26.85±7.29	1.52±0.52

注:与健康组比较,**P*<0.05

3 讨 论

MDS 是一组异质性疾病,患者骨髓造血干细胞克隆性改变、分化成熟障碍、病态造血并有向急性白血病转化的危险,其发病机制除了与基因突变、遗传学改变相关外,还与免疫系统异常相关。AA 是造血干细胞增殖分化障碍引起的疾病,其发病机制与化学药物、病毒感染和免疫紊乱相关。由此看来,二者疾病的发病机制有所不同,但临床表现却较为相似,因此,临床鉴别诊断具有一定困难,探寻更有临床意义的实验室检测指标显得尤为重要^[4]。

流式细胞术是近几年来发展极为迅速且在血液病分型诊断中起重要作用的一种检测手段,鉴于 MDS 和 AA 患者中均存在一定的免疫紊乱现象,本研究以患者骨髓血为标本,健康人群为对照组,采用 CD3/CD4/CD8/CD16.56/CD19/CD10 抗体组合,鉴定 MDS 和 AA 患者淋巴细胞亚群的变化情况。

MDS 疾病的发生机制是近年来的研究热点,在低危组 MDS 中以 CD34 阴性细胞的凋亡占主导,在高危组 MDS 中以 CD34 阳性细胞的增殖占主导,提示造血干祖细胞的异常凋亡和增殖会引发 MDS 的发生和发展^[5]。此外,很多研究显示细胞免疫功能紊乱对 MDS 和 AA 的发生发展也起到重要的作用,MDS 患者外周血淋巴细胞亚群检测观察到 CD3⁺ 细胞比例比较健康组减少,其中高危组 MDS 患者 CD3⁺ T 淋巴细胞比例有明显降低,而低危组 MDS 患者差异无统计学意义(*P*>0.05)^[6]。本实验结果提示,MDS 患者骨髓血与健康组相比,CD3⁺ T 淋巴细胞比例差异无统计学意义(*P*>0.05),推测低危组 MDS 和高危组 MDS 患者中 T 淋巴细胞比例存在一定差异,提示 CD3⁺ T 淋巴细胞数目跟 MDS 疾病的恶性进展程度相关。AA 发病机制目前尚未完全阐明,主要与造血干祖细胞异常、免疫机制损伤、骨髓内造血环境异常等密切相关^[7]。LI 等^[4] 研究显示,在低危组 MDS 和 AA 患者中,CD3⁺ T 淋巴细胞相对于健康组有明显增高,同时 CD19⁺ B 淋巴细胞比例明显降低,其他检测参数差异无统计学意义(*P*>0.05),与本实验结果存

在一定差异性。本实验结果显示,AA 患者 CD3⁺T 淋巴细胞和 CD19⁺B 淋巴细胞与健康组相差异无统计学意义($P>0.05$),但 MDS 患者中 CD19⁺B 淋巴细胞较健康组呈明显降低。有文献报道,在高危组 MDS 患者中 B 淋巴细胞较健康组无明显差异,低危组患者 B 细胞数量则明显降低,提示低危组患者中存在体液免疫异常^[3]。

本实验针对 MDS 患者和 AA 患者中 NK 细胞的检测结果显示:与健康组比较均呈现下降趋势,FUJII 等^[8]实验结果报告高危组 MDS 患者 NK 细胞数量明显降低,而低危组 MDS 患者 NK 细胞数量无明显差异,推测是 NKT 细胞功能的活化引起 NK 细胞功能异常,从而介导 MDS 疾病的发生。

在 T 淋巴细胞中,辅助性 T 细胞(CD4⁺CD3⁺、Th)和抑制性 T 细胞(CD8⁺CD3⁺、Ts)各自执行独特功能,且通过二者的相互作用而完成免疫调节,维持内环境免疫平衡^[9]。KOOK 等^[10]发现,CD8⁺/CD28⁺T 淋巴细胞明显高于健康组,且 MDS 患者单克隆和寡克隆性的 Ts 细胞增殖。贾宁等^[11]研究表明,MDS 患者的 Th 细胞表达降低,Ts 细胞表达升高,Th/Ts 值降低,与健康组相比差异均有统计学意义($P<0.05$),提示 MDS 患者细胞免疫功能处于抑制状态。在 AA 患者中,AA 患者外周血 T 细胞亚群分布异常,CD4⁺数目减少明显,同时 CD8⁺数据急剧增多,从而导致 CD4⁺/CD8⁺降低或倒置^[12],其中 CD8⁺T 淋巴细胞异常增多对骨髓产生抑制作用,THF- α 、IFN- γ 的表达增多,患者骨髓环境被破坏,表现出负性调节,从而抑制骨髓造血,导致全血细胞减少^[13]。临床使用抗胸腺细胞球蛋白(ATG)和环孢菌素 A(CsA)可使大部分的患者康复,说明 T 细胞免疫机制在 AA 发生中起重要作用^[14]。针对 Th/Ts 值的检测结果显示,在 MDS 患者和 AA 患者骨髓血中,与健康组比较呈明显降低,与上述文献报道结果相一致。

4 结 论

MDS 和 AA 疾病的发生发展均与免疫系统紊乱呈相关性,目前流式细胞术在血液病方面的检测具有方便快捷且准确性高等优点,因此采用流式细胞术检测淋巴细胞亚群对 MDS 和 AA 患者的早期诊断、判断疾病发展进程、预测疾病转归及判断预后具有重要的意义。探寻更有效的 MDS 和 AA 疾病的治疗靶点提供理论数据基础。

参考文献

[1] MACIEJEWSKI J P, RIVERA C, KOOK H, et al. Rela-

tionship between bone marrow failure syndromes and the presence of glycoposphatidyl inositol-anchored protein-deficient clones[J]. Br J Haematol, 2001, 115(4): 1015-1022.

[2] 张磊, 薛军, 苏爱玲, 等. 再生障碍性贫血血清 IL-2、TNF- α 、sFas、IFN- γ 及外周血 T 淋巴细胞亚群变化研究[J]. 现代预防医学, 2011, 38(24): 5135-5136.

[3] YOUNG N S, BACIGALUPO A, MARSH J C. Aplastic anemia: pathophysiology and treatment [J]. Biol Blood Marrow Transplant, 2010, 16(1 Suppl): S119-125.

[4] LI X, XU F, HE Q, et al. Comparison of immunological abnormalities of lymphocytes in bone marrow in myelodysplastic syndrome (MDS) and aplastic anemia (AA) [J]. Intern Med, 2010, 49(14): 1349-1355.

[5] 李丽娟. 骨髓增生异常综合征造血细胞增殖分化异常研究进展[J]. 中国实验血液学杂志, 2015, 23(5): 1504-1508.

[6] 杨隼, 王椿, 谢匡成, 等. 骨髓增生异常综合征淋巴细胞亚群及其激活状态的分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2006, 14(4): 708-713.

[7] 崔江霞, 裴敏飞, 张广森, 等. HLA-DR15 与 T 细胞亚群、免疫球蛋白在再生障碍性贫血和骨髓增生异常综合征中的变化及意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2010, 18(1): 111-115.

[8] FUJII S I, SHIMIZU K, KLIMEK V, et al. Severe and selective deficiency of interferon-gamma-producing invariant natural killer T cells in patients with myelodysplastic syndromes[J]. Br J Haematol, 2003, 122(4): 617-622.

[9] 王冬. 骨髓增生异常综合征的细胞免疫紊乱与调节[J]. 国际输血及血液学杂志, 2012, 35(6): 515-517.

[10] KOOK H, ZENG W, GUIBIN C, et al. Increased cytotoxic T cells with effector phenotype in aplastic anemia and myelodysplasia[J]. Exp Hematol, 2001, 29(11): 1270-1277.

[11] 贾宁, 叶芳, 张丽, 等. 骨髓增生异常综合征患者 T 淋巴细胞亚群的特征分析[J]. 临床医药实践, 2011, 20(3): 165-166.

[12] 张慧敏, 朱影, 刘清池, 等. CD226 在再生障碍性贫血患者 T 淋巴细胞上的表达及其与血清中相关细胞因子浓度的关系[J]. 临床血液学杂志, 2010, 23(6): 661-663.

[13] 刘春燕, 付蓉, 王珏, 等. 重型再生障碍性贫血患者 CD8⁺HLA-DR⁺T 淋巴细胞效应因子 mRNA 的表达[J]. 中华医学杂志, 2012, 92(18): 1240-1243.

[14] YOUNG N S. Hematopoietic cell destruction by immune mechanism in acquired aplastic anemia[J]. Semin Hematol, 2000, 37(1): 314.