

论著·临床研究

不同宫颈病变患者外周血 T 淋巴细胞亚群、调节性 T 细胞的表达*

王金生, 黄光墉

(广东省深圳市宝安区福永人民医院检验科, 广东深圳 518103)

摘要:目的 研究不同宫颈病变患者外周血 T 淋巴细胞亚群、调节性 T 细胞的表达。方法 以 2017 年 5 月至 2018 年 7 月在该院接受阴道镜检查与液基薄层细胞学检查的健康女性 50 例为对照组。另取同期于该院接受阴道镜检查与液基薄层细胞学检查的宫颈病变患者 90 例为观察组, 将其按照宫颈活检病理结果分为慢性宫颈炎+CIN1 组 30 例, CIN2~3 组 30 例, 宫颈癌组 30 例。分别比较各组年龄、人乳头瘤病毒(HPV)感染情况, 外周血 T 淋巴细胞亚群、调节性 T 细胞表达水平。结果 对照组、慢性宫颈炎+CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组年龄、HPV 感染率均呈逐渐升高趋势, 差异均有统计学意义($P < 0.05$)。对照组、慢性宫颈炎+CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平呈逐渐降低趋势, 而 CD8⁺ 水平呈逐渐升高趋势。对照组、慢性宫颈炎+CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组外周血 CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 水平呈逐渐升高趋势。经 Pearson 相关性分析可得: 宫颈病变严重程度与 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 呈负相关关系($P < 0.05$), 而与 CD8⁺、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 呈正相关关系($P < 0.05$)。结论 随着宫颈病变程度的逐渐加重, 外周血 T 淋巴细胞亚群、调节性 T 细胞异常表达越明显。可通过联合检测外周血 T 淋巴细胞亚群、调节性 T 细胞表达情况, 从而有效判断宫颈病变情况。

关键词: 宫颈病变; T 淋巴细胞; 调节性 T 细胞; 相关性分析

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2019.08.013 **中图法分类号:** R446.11

文章编号: 1673-4130(2019)08-0943-04

文献标识码: A

Expression of T lymphocyte subsets and regulatory T cells in peripheral blood in patients with different cervical lesions*

WANG Jinsheng, HUANG Guangyong

(Department of Clinical Laboratory, Guangdong Provincial Shenzhen Municipal Baoan District Fuyong People's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518103, China)

Abstract: Objective To study and analyze the expression of T lymphocyte subsets and regulatory T cells in peripheral blood of patients with different cervical lesions. **Methods** The control group of 50 normal women who underwent colposcopy and liquid-based thin layer cytology in the hospital from May 2017 to July 2018 were enrolled. In addition, 90 patients with cervical lesions who received colposcopic examination and liquid-based thin layer cytology examination in our hospital at the same time were taken as the study subjects. According to the pathological results of cervical biopsy, they were divided into chronic cervicitis + CIN1 group 30, CIN2-3 group 30, and cervical cancer group 30. Age, HPV infection, peripheral T-lymphocyte subsets and regulatory t-cell expression levels of each group were compared and their correlation was analyzed. **Results** The age and HPV infection rates of the control group, chronic cervicitis + CIN1 group, CIN2-3 group, cervical cancer group all showed a gradually increasing trend, and the one-way anova analysis showed that the comparison differences between the groups were statistically significant ($P < 0.05$). The levels of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in peripheral blood of the control group, chronic cervicitis + CIN1 group, CIN2-3 group and cervical cancer group showed a gradual decreasing trend, while the levels of CD8⁺ showed a gradual increasing trend. The levels of CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ in peripheral blood, of the control group, chronic cervicitis + CIN1 group, CIN2-3 group and cervical cancer group showed a gradually increasing trend, correlation analysis, the

* 基金项目: 深圳市宝安区科技计划项目(2018JD116)。

作者简介: 王金生, 男, 主管技师, 主要从事临床血液学检验工作。

本文引用格式: 王金生, 黄光墉. 不同宫颈病变患者外周血 T 淋巴细胞亚群、调节性 T 细胞的表达[J]. 国际检验医学杂志, 2019, 40(8):

severity of cervical lesions was negatively correlated with CD3⁺, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺, while positively correlated with CD8⁺, CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ ($P < 0.05$). **Conclusion** The abnormal expression of T lymphocyte subsets and regulatory T cells in peripheral blood increased with the severity of cervical lesions. The expression of T lymphocyte subsets and regulatory T lymphocyte in peripheral blood can be combined to judge the cervical lesions.

Key words: cervical lesions; T lymphocytes; regulatory T cells; correlation analysis

宫颈癌发病率正呈逐年升高趋势,已成为严重影响我国女性生命健康安全的重要疾病之一^[1]。有报道显示,宫颈癌与宫颈病变患者的细胞免疫功能存在不同程度的抑制,机体免疫系统对上皮突变细胞的识别与杀伤能力明显降低,对于肿瘤细胞的生长和转移具有异化作用^[2]。越来越多的学者认为细胞免疫功能可能与宫颈癌的发生、发展存在密切相关,其中 T 淋巴细胞是机体细胞免疫系统中最为重要的细胞群之一,具有介导细胞免疫反应,杀伤肿瘤细胞及维持机体内环境稳定等作用。调节性 T 细胞主要是指一类具有免疫负调控功能的 T 淋巴细胞亚群^[3],其可通过和多种免疫细胞相互作用,从而对一系列免疫细胞的活化产生抑制作用。本文研究不同宫颈病变患者外周血 T 淋巴细胞亚群、调节性 T 细胞的表达,旨在为早期宫颈癌患者防治提供循证依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以 2017 年 5 月至 2018 年 7 月在本院接受阴道镜检查与液基薄层细胞学检查的健康女性 50 例为对照组。纳入标准:(1)年龄 ≥ 18 周岁;(2)临床病历资料完整。另取同期于本院接受阴道镜检查与液基薄层细胞学检查的宫颈病变患者 90 例为观察对象。纳入标准:(1)所有患者均经组织病理活检确诊;(2)入院前均未接受任何相关治疗者;(3)年龄 ≥ 18 周岁;(4)临床病历资料完整。排除标准:(1)入院前 4 周内接受过免疫抑制剂或皮质类固醇激素治疗者;(2)合并心、肝、肾等脏器功能严重障碍者;(3)合并感染性疾病或免疫系统疾病者;(4)妊娠期或哺乳期女性;(5)存在交流沟通障碍或精神疾病者。将其按照宫颈活检病理结果分为慢性宫颈炎 + CIN1 组 30 例, CIN2~3 组 30 例,宫颈癌组 30 例。所有患者已知情同意,且医院伦理委员会予以批准。

1.2 方法

1.2.1 标本检测方法 (1)各组人员入院后均由本院医护人员对其临床资料进行统计、记录,主要内容包括年龄、联系方式、家庭住址及人乳头瘤病毒(HPV)感染情况等。(2)标本采集:所有人员入院后均采集清晨空腹静脉血 10 mL,保存于 -80 °C 冰箱中待检。(3)T 淋巴细胞亚群与调节性 T 细胞检测:应用美国 BD 公司 FACS Canto II 型流式细胞仪进行检测。将上述外周血标本予以肝素钠抗凝,随后加入 5

mL 流式管底,分别加入 CD3、CD4、CD8 抗体 10 μL 进行混匀,放置于室温条件下避光孵育 20 min,然后加入 2 mL 1×红细胞裂解液混匀,避光放置 10 min,溶解红细胞,将样品管以 1 500 r/min 离心 10 min,除去上清,并加入 2 mL PBS 洗液重悬细胞后流式细胞仪检测 CD3⁺、CD4⁺ 及 CD8⁺ 亚群数目及比例。按照上述方式检测外周血 CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 水平。其中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 试剂盒均购自德国 Partec 公司。

1.2.2 观察指标 分别比较各组年龄、HPV 感染情况,外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 表达水平。

1.3 统计学处理 采用 SPSS20.0 软件进行统计学分析,计数资料以率或构成比表示,进行 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,进行 t 检验。宫颈病变严重程度与外周血 T 淋巴细胞亚群、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 水平的关系予以 Pearson 相关性分析。多组间对比采用单因素方差分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组年龄、HPV 感染情况对比 对照组、慢性宫颈炎 + CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组年龄、HPV 感染率均呈逐渐升高趋势,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1。

表 1 各组年龄、HPV 感染情况对比

组别	n	年龄(岁, $\bar{x} \pm s$)	HPV 感染率[n(%)]
对照组	50	27.52 ± 3.66	3(6.00)
慢性宫颈炎 + CIN1 组	30	43.19 ± 11.20 ^a	11(36.67) ^a
CIN2~3 组	30	46.03 ± 8.12 ^{ab}	22(73.33)
宫颈癌组	30	50.12 ± 6.93 ^{abc}	30(100.00)
t/χ^2		5.032	9.231
P		0.014	0.002

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与慢性宫颈炎 + CIN1 组相比,^b $P < 0.05$;与 CIN2~3 组相比,^c $P < 0.05$

2.2 各组间 HPV 感染的型别对比 对照组、慢性宫颈炎 + CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组 HPV 单纯感染及多重感染(两个以上 HPV 型)的比例均依次增高,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表 2。

2.3 各组外周血 T 淋巴细胞亚群对比 对照组、慢性宫颈炎 + CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组外周血

CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平呈逐渐降低趋势,而 CD8⁺ 水平呈逐渐升高趋势,差异均有统计学意义 ($P < 0.05$),见表 3。

2.4 各组外周血 CD4⁺CD25⁺CD127⁻ 水平对比 对照组、慢性宫颈炎 + CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组外周血 CD4⁺CD25⁺CD127⁻ 水平呈逐渐升高趋势,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 4。

2.5 宫颈病变严重程度与外周血 T 淋巴细胞亚群、CD4⁺CD25⁺CD127⁻ 水平的相关性分析 经 Pearson 相关性分析可得:宫颈病变严重程度与 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 呈负相关关系 ($P < 0.05$),而与 CD8⁺、CD4⁺CD25⁺CD127⁻ 呈正相关关系 ($P < 0.05$),见

表 5。

表 2 各组间 HPV 型别对比 [$n(\%)$]

组别	<i>n</i>	阴性	单纯感染 (单一 HPV 型)	多重感染(两个 以上 HPV 型)
对照组	50	47(94.00)	3(6.00)	0(0.00)
慢性宫颈炎+CIN1 组	30	19(63.33)	8(26.67)	3(10.00)
CIN2~3 组	30	8(26.67)	14(46.67)	7(23.33)
宫颈癌组	30	0(0.00)	19(63.33)	11(36.67)
χ^2		11.603	6.071	8.142
<i>P</i>		0.000	0.016	0.009

表 3 各组外周血 T 淋巴细胞亚群对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	50	69.32 ± 9.72	32.01 ± 9.12	23.47 ± 5.70	1.49 ± 0.90
慢性宫颈炎+CIN1 组	30	60.21 ± 9.02 ^a	29.30 ± 8.74 ^a	26.80 ± 6.11 ^a	1.12 ± 0.88 ^a
CIN2~3 组	30	56.39 ± 8.59 ^{ab}	26.64 ± 8.13 ^{ab}	28.53 ± 6.22 ^{ab}	0.94 ± 0.62 ^{ab}
宫颈癌组	30	53.10 ± 8.27 ^{abc}	24.41 ± 7.70 ^{abc}	31.44 ± 6.32 ^{abc}	0.83 ± 0.41 ^{abc}
<i>F</i>		8.326	8.854	10.582	14.759
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与慢性宫颈炎+CIN1 组相比,^b $P < 0.05$;与 CIN2~3 组相比,^c $P < 0.05$

表 4 各组外周血 CD4⁺CD25⁺CD127⁻ 水平对比 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻
对照组	50	6.23 ± 1.32
慢性宫颈炎+CIN1 组	30	7.57 ± 1.65 ^a
CIN2~3 组	30	10.28 ± 2.01 ^{ab}
宫颈癌组	30	12.84 ± 2.29 ^{abc}
<i>t</i>		13.811
<i>P</i>		0.000

注:与对照组相比,^a $P < 0.05$;与慢性宫颈炎+CIN1 组相比,^b $P < 0.05$;与 CIN2~3 组相比,^c $P < 0.05$

表 5 宫颈病变严重程度与外周血 T 淋巴细胞亚群、CD4⁺CD25⁺CD127⁻ 水平的相关性分析

相关因素	宫颈病变严重程度	
	<i>r</i>	<i>P</i>
CD3 ⁺	-0.501	0.017
CD4 ⁺	-0.562	0.006
CD8 ⁺	0.530	0.012
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	-0.693	0.000
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ⁻	0.617	0.000

3 讨论

按照宫颈病变的严重程度分为慢性宫颈炎与 CIN1、CIN2、CIN3 及宫颈癌^[4]。随着对宫颈癌的病

因学与癌前病变研究不断深入发现^[5]:年龄、未保护的高危性行为、免疫功能低下及多孕多产均为宫颈病变发生的高危因素,其中 HPV 感染是最重要的宫颈病变高危因素。然而,有报道证实,90% 以上的免疫功能正常女性患者在发生 HPV 感染后均可在 2 年内自然痊愈,由此可知,免疫功能正常女性极少会发生 HPV 持续感染及持续加重宫颈病变,从而降低了宫颈病变发展成宫颈癌的风险^[6]。调节性 T 细胞可通过下调 CD4⁺与 CD8⁺亚群增殖反应,对 NK 细胞的免疫效应产生负性功能等途径促使肿瘤细胞逃避免疫监视,从而发生免疫逃逸,进一步促进肿瘤细胞的发生、发展^[7]。

本研究中对照组、慢性宫颈炎+CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组年龄、HPV 感染率均呈逐渐升高趋势。其中主要原因在于:随着年龄的不断增长,患者机体免疫功能随之下降,从而促进了宫颈病变的发生、发展。而 HPV 感染不但会激发宿主的非特异性细胞免疫及体液免疫,同时还会对特异性免疫反应的形成产生抑制效应^[8]。对照组、慢性宫颈炎+CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组 HPV 单纯感染及多重感染(两个以上 HPV 型)的比例均依次增高,提示了宫颈病变程度加重与 HPV 感染率具有相关性,HPV 感染可能促进加重了患者的宫颈病变程度。随着宫颈病变程度的逐渐加重,患者免疫功能降低越明显。分析原因,笔者

认为在正常生理状况下, T 淋巴细胞总群及其亚群在数量上维持在正常范围内, 而宫颈病变会导致患者免疫功能受损, 从而会减少 T 淋巴细胞总群及其亚群的数量, 且随着宫颈病变程度的逐渐加重, 进一步导致机体免疫系统失衡, 最终诱发了宫颈癌^[9]。淋巴细胞按照免疫学功能的不同分为 CD4⁺ 与 CD8⁺ 两大亚群, 正常生理状况下 CD4⁺ 与 CD8⁺ 亚群的比例维持在一定范围内, 共同维持机体免疫系统平衡^[10], 而宫颈病变会导致 CD4⁺ 与 CD8⁺ 亚群出现不同程度的改变, 且随着宫颈病变程度的加重, 上述变化趋势会持续保持, 最终导致细胞免疫系统失衡, 免疫功能丧失。另外, 对照组、慢性宫颈炎 + CIN1 组、CIN2~3 组、宫颈癌组外周血 CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 水平呈逐渐升高趋势。究其原因, 笔者认为调节性 T 细胞可通过分泌 IL-10 与 TGF-β 等多种抑制性细胞因子, 从而对 CD4⁺ 与 CD8⁺ T 淋巴细胞亚群的效应产生抑制作用^[11]。经 Pearson 相关性分析: 宫颈病变严重程度与 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 呈负相关关系, 而与 CD8⁺、CD4⁺ CD25⁺ CD127⁻ 呈正相关关系。这提示了 T 淋巴细胞亚群与调节性 T 细胞在宫颈病变中可能存在相互作用。临床工作中可通过对其表达水平进行检测, 从而有利于评估宫颈病变严重程度。

4 结 论

综上所述, T 淋巴细胞亚群与调节性 T 细胞参与了宫颈病变的发生、发展过程, 为临床宫颈癌的早期诊断、临床治疗及预后评估提供了新的靶点和思路, 值得临床重点关注。

参考文献

[1] 张朝清, 刘丽, 吴定滨, 等. TCT 联合 HPV 检查在宫颈癌患者筛查和诊断中的意义[J]. 中国当代医药, 2018, 26

(6): 99-101.

[2] 余杨, 付艳丽, 孙翔. 不同宫颈病变高危型人乳头状瘤病毒载量对局部调节性 T 细胞表达的影响[J]. 实用医学杂志, 2018, 31(4): 583-587.

[3] 沈聪, 刘婵娟, 孙宇琦, 等. 血清 MK 和 Th17/调节性 T 细胞对类风湿关节炎患者病情发生发展的影响[J]. 中国医药科学, 2017, 7(15): 107-109.

[4] 倪倩, 周跃华, 倪云翔. 高危 HPV 检测联合液基细胞学检查在妊娠期妇女宫颈疾病筛查中的价值[J]. 中国医药导报, 2017, 14(18): 109-112.

[5] 谭细凤, 徐慧君, 郭丽华, 等. 宫颈癌术后感染患者 T 淋巴细胞免疫功能变化及其临床意义[J]. 中华医院感染学杂志, 2015, 33(6): 1270-1272.

[6] 雷永革, 曹巧林, 谭秋梅. 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[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(3): 329-330.

[7] 李军, 王一羽, 原荣, 等. 高危型 HPV 感染者外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞检测及临床价值[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2015, 29(6): 465-469.

[8] 余晓凤, 陈玲玲, 王晶华, 等. 宫颈高危型 HPV 感染者外周血 T、B 淋巴细胞及 NK 细胞变化分析[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(3): 449-453.

[9] 樊金焱, 刘玉玲, 邵国香, 等. 外周血中 Th17/Treg 细胞及炎症因子水平与宫颈病变程度、HPV 危险分型的关系[J]. 山东医药, 2017, 57(29): 41-43.

[10] 陈少艳, 刘基铎, 肖明锋, 等. 淋巴细胞亚群检测在感染性疾病中的应用[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(2): 206-208.

[11] 陈志芳, 蔡冬慧, 范玲玲, 等. 维吾尔族宫颈癌患者手术前后 HPV 感染与 Th17/Treg 细胞的相关性[J]. 新疆医科大学学报, 2017, 40(1): 106-110.

(收稿日期: 2018-09-25 修回日期: 2018-12-27)

(上接第 942 页)

化药物杂志, 2017, 37(8): 73-74.

[4] 吴肇汉, 秦新裕, 丁强. 实用外科学[M]. 4 版. 北京: 人民卫生出版社, 2017: 1987-1990.

[5] 赵宇, 尹坤, 陈华东, 等. 骨肽注射液用于复杂胫骨平台骨折术后患者效果观察[J]. 山东医药, 2018, 58(4): 69-71.

[6] 田爱平. 骨肽注射液联合丹红注射液对胫骨骨折术后患者血清骨代谢指标水平及炎症因子水平的影响[J]. 山西医药杂志, 2017, 46(5): 566-568.

[7] 樊颖, 薛书萍, 杜滨, 等. 空心加压螺钉内固定术后应用复方骨肽注射液治疗股骨颈骨折的疗效观察[J]. 中国医院用药评价与分析, 2017, 17(2): 194-196.

[8] 黄刚. 丹参酮治疗对老年四肢骨折患者骨愈合指标, 炎症细胞因子水平的影响[J]. 四川医学, 2017, 38(8): 934-937.

[9] 杨芳芳, 高玉海, 慧慧荣, 等. 丹参酮 II A 对生长期大鼠骨密度及骨形态计量学影响的研究[J]. 中国骨质疏松杂志, 2017, 23(11): 1480-1483.

[10] 陈辉, 邬天刚, 田新宇, 等. 丹参酮胶囊对创伤后骨折延迟愈合患者血清 sICAM-1, sVCAM-1, BMP-2 水平及微循环指标的影响[J]. 现代中西医结合杂志, 2017, 26(28): 3111-3113.

[11] 党浩. 老年骨折延迟愈合患者血清 IGF-1, sICAM-1, sVCAM-1, β-CTX 水平的表达及临床意义[J]. 中国老年学杂志, 2018, 38(2): 405-407.

[12] 张秀亮, 李金华, 咸利军, 等. HIF-1α、VEGF 与晚期非小细胞肺癌化疗疗效及病理参数的相关性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2017, 38(22): 3183-3185.

[13] 黄媛霞, 郭春, 王利民, 等. 复元胶囊对大鼠骨折转化生长因子-β1, 胰岛素样生长因子-1, 骨钙素, I 型胶原表达的影响[J]. 中华实验外科杂志, 2017, 34(5): 829-832.

[14] 钱雪丰, 曹平, 刘拴, 等. 仙灵骨葆辅助外科治疗老年妇女 Colles 骨折的愈合时间、钙磷含量及骨代谢的评估[J]. 海南医学院学报, 2017, 23(2): 281-284.

(收稿日期: 2018-10-03 修回日期: 2019-01-11)