

T 细胞亚群及其受体在中老年人外周血中的变化

许立新¹,符义富²(1. 江苏省南京市大厂医院 210044;2. 南京大学医学院附属口腔医院 210008)

【关键词】 T 淋巴细胞亚群; 受体; 白细胞介素-6; 中年人; 老年人
DOI:10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 19. 074 文献标志码: B 文章编号:1672-9455(2011)19-2419-02

中老年人随着年龄的增长,功体各种机能及物质代谢均有明显改变,包括遗传物质、神经内分泌、微量元素及免疫系统。临床上老年人对感染、肿瘤、自身免疫性疾病易感,其重要原因之一是免疫功能的改变。白细胞介素-2(IL-2)是细胞免疫功能的重要指标,而 IL-6 是多功能细胞因子,也是机体重要的免疫病理因子之一^[1],其水平的改变在机体免疫功能老化的过程中扮演着重要角色。本文就外周血 T 细胞亚群、淋巴细胞分泌 IL-2 能力、血浆可溶性白细胞介素-2 受体(sIL-2R)、IL-6 及 sIL-6R 水平等变化与增龄的关系作一探讨。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 2~5 月在南京市大厂医院健康体检的中老年人 422 例,其中男 238 例,女 184 例,年龄 41~86 岁。A 组 102 例,年龄 41~50 岁,男 54 例,女 48 例;B 组 123 例,年龄 51~60 岁,男 68 例,女 55 例;C 组 110 例,年龄 61~70 岁,男 59 例,女 51 例;D 组 87 例,年龄 70 岁以上,男 47 例,女 40 例。

1.2 样品准备 分别抽取各组人群空腹静脉血 5 mL,肝素钠抗凝,4℃下 3 000 r/min 离心分离血浆,再用淋巴细胞分离液(上海生化试剂二厂)分离出外周血单个核细胞(PBMC),一部分用作培养,另一部分用作淋巴细胞亚群测定。

1.3 IL-2 的诱生和检测 用 RPMI1640(Gibco)全培养液将 PBMC 调整浓度至 1×10^6 /mL,在 24 孔板内,每孔加 0.4 mL PBMC 细胞悬液、0.4 mL 植物血凝素(40 μg/mL, Sigma),每一样品做 3 孔。37℃,5%CO₂ 培养 72 h,收集上清液。按 IL-2 酶联免疫吸附试验(ELISA)检测试剂盒(Immunotech,法国)说明书进行检测。

1.4 淋巴细胞亚群及血浆样本检测 PBMC 经磷酸盐缓冲液(pH7.2)离心洗涤后,最终浓度调整为 2×10^5 /mL。经涂片,采用碱性磷酸酶-抗碱性磷酸酶复合物法分别测定 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞百分率,试剂由邦定生物技术公司提供。血浆 IL-6、

sIL-2R 及 sIL-6R 检测分别按其酶联免疫吸附试验检测试剂盒(Immunotech,法国)说明书进行。

1.5 统计学方法 采用方差分析中成组设计的多个样本均数比较。

2 结果

2.1 不同年龄组中老年人外周血 T 淋巴细胞亚群分布见表 1。CD4⁺ T 细胞百分率随增龄逐渐降低,CD8⁺ T 细胞百分率随增龄逐渐升高。A、B 两组 CD4⁺ T 细胞百分率与 D 组比较差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$);A、B、C 组间比较差异均无统计学意义($P > 0.05$);C 组与 D 组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。A 组 CD8⁺ T 淋巴细胞百分率与 D 组比较差异有统计学意义($P < 0.05$),其余各组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。CD4/CD8 随年龄增长而减低,A 组与 C、D 组,B 组与 D 组间比较差异有统计学意义($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.05$),其余各组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 不同年龄组中老年人外周血淋巴细胞产生 IL-2 的能力及血浆 sIL-2R、IL-6、sIL-6R 水平比较见表 2。PBMC 培养上清液中 IL-2 水平随年龄增长而下降,其血浆可溶性受体随增龄而升高,而血浆 IL-6 及其可溶性受体水平则皆随增龄而升高。

表 1 不同年龄组中老年人外周血 T 淋巴细胞亚群分布($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4/CD8
A 组	56.14±4.77	28.50±4.26	1.97±0.42
B 组	55.32±4.91	30.91±4.82	1.79±0.31
C 组	53.01±5.83	31.55±5.10	1.68±0.33
D 组	50.65±6.88	33.54±5.89	1.51±0.29

表 2 不同年龄组中老年人 PBMC 培养上清液 IL-2 及血浆 sIL-2R、IL-6、sIL-6R 水平的比较

组别	IL-2(pg/mL)	sIL-2R(U/mL)	IL-6(pg/mL)	sIL-6R(pg/mL)
A 组	138.60±71.33	455.20±148.30	8.30±4.51	50.44±22.58
B 组	132.10±68.29	503.10±188.00	9.63±5.77	58.39±21.65
C 组	125.70±69.11	586.50±196.40	12.58±7.16	70.05±27.31
D 组	112.90±74.35	667.80±217.30	15.91±9.82	83.78±34.52

2.3 A 组与 C 组比较,IL-2、sIL-2R、IL-6、sIL-6R 水平差异均有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$),而 A 组与 D 组比较差异也有统计学意义($P < 0.01$)。B 组与 D 组比较,上述 4 种指标差异有统计学意义($P < 0.05$ 或 $P < 0.01$)。A 组与 B 组、B

组与 C 组、C 组与 D 组组间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。

3 讨论

人体免疫功能随着增龄呈现一定的变化。早期仅对免疫

球蛋白、补体水平以及迟发型变态反应等指标进行检测。这些指标的改变只是反映免疫细胞内和细胞间一系列复杂反应的最终结果,而对老化机体免疫功能变化的机制还不清楚。近年来这方面的研究已深入到细胞水平。有学者提出衰老首先是 T 淋巴细胞功能下降,从而造成免疫系统平衡失调^[2]。本研究结果表明,CD4 与 CD8 细胞间平衡失调表现为 CD4 细胞减低,CD8 细胞增高,CD4/CD8 比值减低。CD4 细胞根据其分泌的细胞因子种类不同可分为 TH1 和 TH2 细胞。TH1 细胞主要介导与局部炎症有关的免疫应答,在抗胞内病原体如细菌、病毒和寄生虫等感染中发挥重要作用;TH2 细胞的主要功能为刺激 B 细胞增殖并产生抗体,与体液免疫相关。临床上老年人易发生感染,有时病程反复,迁延不愈,与 CD4 细胞的减低有一定的相关性。CD8 细胞根据其生物学功能可分为细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)和抑制性 T 细胞(TS)。CTL 主要发挥细胞毒作用,而 TS 的功能是抑制免疫应答的活化阶段。临床上老年人易发生肿瘤及某些自身免疫性疾病(如类风湿关节炎等)是否与 CD8 细胞的增高有关,还有待进一步证实。

IL-2 是由 T 细胞产生的细胞因子,它对多种免疫效应细胞的增殖、分化起重要作用。IL-2 需通过与细胞膜表面的 IL-2R 特异性结合才能发挥效应。sIL-2R 是膜型 IL-2R 裂解释放到血浆中的,它能与 IL-2 结合,抑制 IL-2 活性,对 IL-2 生物学功能起负调控作用^[3]。本文结果显示,随着增龄,T 细胞分泌 IL-2 的能力有所下降,同时,血浆 sIL-2R 水平渐渐升高,双重因素作用的结果导致老年人细胞免疫功能逐步减退。

近来,IL-6 作为机体重要的免疫病理生理因子正受到人们的日益重视。令人感兴趣的是,随着年龄的增长,血浆 IL-6 和 sIL-6R 也逐步升高。与 sIL-2R 不同的是,sIL-6R 与 IL-6 结合后可与膜型 IL-6 第二受体(gp130)结合而发挥 IL-6 活

性^[4],因此它是 IL-6 生物学功能的正性调控因子。IL-6 和 sIL-6R 在许多恶性肿瘤(如肺癌、肝癌、白血病等)及某些自身免疫性疾病(如类风湿关节炎、系统性红斑狼疮等)时升高^[5],这是否表明老年人对肿瘤和某些自身免疫性疾病易感与 IL-6 和 sIL-6R 升高有关也有待进一步证实。

总之,作者认为,中老年人随年龄的增长,T 细胞亚群发生变化和 IL-2、IL-6 及其可溶性受体水平的改变,对机体免疫功能的失衡起重要作用。

参考文献

- [1] Zhang XG, Klein B, Bataille R, et al. Interleukin-6 is a potent myeloma cell growth factor in patients with aggressive multiple myeloma[J]. Blood, 1989, 74(1): 11-17.
- [2] 蔡永君, 孙文佳. 调节性 T 细胞的研究进展[J]. 浙江大学学报: 医学版, 2006, 35(5): 568-572.
- [3] Beloosesky Y, Salman H, Bergman M, et al. Cytokine levels and phagocytic activity in patients with Alzheimer's disease[J]. Gerontology, 2002, 48(3): 128-135.
- [4] Kishimoto T, Taga T, Sui XW, et al. IL-6 and its receptor is a hexameric complex consisting of two molecules each of IL-6, IL-6R and gp130[J]. J Biochem, 1994, 269(37): 23286-23291.
- [5] 刘俊恒, 张学光, 邱玉华, 等. SLE 和肺癌等肿瘤患者血浆 IL-6 及其可溶性受体链的测定[J]. 上海免疫学杂志, 1999, 19(2): 115-116.

(收稿日期: 2011-05-22)

不同方法检测乙型肝炎表面抗原弱阳性标本结果分析

赵忠婵(陕西省旬阳县医院检验科 725700)

【关键词】 乙型肝炎; 乙型肝炎表面抗原; 弱阳性; 胶体金; 酶联免疫吸附测定

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 19. 075 文献标志码: B 文章编号: 1672-9455(2011)19-2420-02

乙型肝炎(简称乙肝)表面抗原(HBsAg)在我国人群中的携带率达 9.09%。作为判断乙肝病毒(HBV)感染和诊断 HBV 感染的标志物,HBsAg 在感染性疾病标本检测中应用最为广泛。随着各种免疫标记技术在临床中的应用,发现部分 HBsAg 低浓度水平表达,由于检测试剂的敏感性、特异性等指标的差异,导致不同检测方法结果有所差异,造成一定程度的误诊与漏检,甚至引起医疗纠纷。本文选用经我国药品监督管理局认可的 3 种试剂对弱阳性标本进行检测,并对其进行评价与分析。

1 材料与方法

1.1 试剂与仪器 胶体金法选用艾康生物技术(杭州)有限公司产品,批号 2010.12321/2.5;酶联免疫吸附试验(ELISA 法)选用英科新创(厦门)科技有限公司产品,批号 2010085111;上海科华生物工程股份有限公司产品,批号 201008074。酶标仪和洗板机分别为雷杜 T-6000 和雷杜 RT-3000。HBsAg 室内质控产品由陕西省临检中心提供,浓度水平为 1 ng/mL。

1.2 样本 收集本院 2009 年 7 月至 2010 年 7 月 HBsAg 弱阳性标本 40 份,样品吸光度值/临界值(S/CO)由科华试剂检

测,样品 $1.01 < S/CO < 3.40$,血清自然收缩后,3 000 r/min 离心 15 min,无溶血,无脂血,吸取血清,−20 ℃ 冰箱保存。

1.3 方法 严格控制实验条件,室温 18~25 ℃,湿度 40%~60%,光线充足,严格按试剂说明书进行操作,每份标本平均检测 3 次,ELISA 法检测结果取其平均值。

2 结果

艾康试剂(胶体金法)浓度为 1 ng/mL,HBsAg 室内质控全部阴性。40 例弱阳性标本中,HBsAg 全为阴性;采用 ELISA 法、上海科华试剂检测,40 例中有 35 例阳性,S/CO 为 1.01~3.40;英科厦门新创试剂检测 40 例中有 38 例阳性,S/CO 值为 2.5~5.0。试验中采用 ELISA 法 HBsAg 室内质控结果均在控制范围内。

3 讨论

HBsAg 是 HBV S 基因编码含 226 个氨基酸的 HBV 外膜蛋白,常与 Dane 颗粒并存,因此将 HBsAg 作为 HBV 感染和诊断乙肝的指标。由于检测人群血清中存在一定数量的弱阳性标本,对此各基层医院由于医疗条件的限制,一些 HBsAg 检测的金标准无法得以应用,只有以多次常用常规方法进行复