

原发性肝细胞癌患者外周血中 T 细胞及 NK 细胞的水平变化和临床意义

曹 威, 刘 超, 王 建(江苏省南通市第三人民医院检验科 226001)

【摘要】 目的 观察原发性肝细胞癌患者外周血中辅助性 T 细胞、抑制性 T 细胞、调节性 T 细胞、NK 细胞的水平变化和临床意义。方法 利用流式细胞仪对 42 例肝细胞癌患者, 63 例慢性肝炎、肝硬化患者以及 60 例健康体检者外周血中辅助性 T 细胞、抑制性 T 细胞、调节性 T 细胞及 NK 细胞进行定量分析。结果 肝细胞癌组外周血中辅助性 T 细胞、抑制性 T 细胞、调节性 T 细胞较健康对照组及慢性肝炎、肝硬化组明显减少($P < 0.05$), 肝细胞癌组外周血中 NK 细胞较健康对照组及慢性肝炎、肝硬化组明显增加($P < 0.05$)。结论 抑制性 CD8⁺ T 细胞低下是机体无法有效清除病毒, 使得病程慢性迁延的主要原因, 辅助性 T 细胞、调节性 T 细胞可能通过对 NK 细胞功能的抑制参与了肝癌细胞的免疫逃逸作用。

【关键词】 辅助性 T 细胞; 抑制性 T 细胞; 调节性 T 细胞; 肝细胞癌

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2013.07.034 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)07-0835-02

乙型肝炎病毒(HBV)感染引起的肝炎是一种严重威胁人类健康的疾病, HBV 感染可引起肝硬化, 并有部分患者可能发生肝细胞癌, 其机制是错综复杂的, 到目前为止, 仍有很多机制不清楚。大部分学者认为肝组织损伤是机体一系列的免疫反应造成肝细胞的病理性免疫损害, 其中以机体的免疫异常、肝细胞与免疫细胞的相互作用、细胞凋亡的异常、癌变细胞对机体的免疫逃逸和癌细胞的反击机制起重要作用。本文用流式细胞仪对此类肝病患者外周血中辅助性 T 细胞、抑制性 T 细胞、调节性 T 细胞及 NK 细胞的水平进行了检测, 现将结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院 2010 年 1 月至 2011 年 5 月住院的肝细胞癌 42 例, 慢性肝炎、肝硬化 63 例, 且诊断均符合 2000 年病毒性肝炎防治方案标准^[1]; 健康对照组 60 例, 男 40 例, 女 20 例, 年龄 24~63 岁, 为同期到本院健康体检者。所有受试者 3 个月内均未用免疫制剂, 肝细胞癌患者均为首发。

1.2 仪器与试剂 EPICS XL-MCL 流式细胞仪为美国贝克曼库尔特公司生产, 激发波长 488 nm。美国 Becton-Kickinon (BD) 公司生产的 CD45-PerCP; FITC 分别为 CD4; PE 分别为 CD25、CD3 单克隆抗体、APC 分别为 CD8、CD16&-CD56。

1.3 实验方法 操作步骤为 100 μ L 全血加入 10 μ L 抗体, 孵育 30 min 后溶血, 离心去除上清液, 洗涤 3 次后在流式细胞仪上检测, 采用 System II TM 软件进行分析。

1.4 统计学处理 所有资料均输入 SPSS 10.0 软件包, 测定结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间均数比较采用 t 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

肝细胞癌组外周血中辅助性 T 细胞(CD3⁺CD4⁺)、抑制性 T 细胞(CD3⁺CD8⁺)、调节性 T 细胞(CD4⁺CD25⁺)较健康对照组及慢性肝炎、肝硬化组明显减少($P < 0.05$); 肝细胞癌组外周血中 NK 细胞(CD3⁻CD16⁺CD56⁺)较健康对照组及慢性肝炎、肝硬化组明显增加($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 各组流式细胞学检测指标($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺
健康对照组	60	13.41 ± 1.31	38.49 ± 7.55	28.24 ± 6.34	10.21 ± 1.64
慢性肝炎、肝硬化组	63	10.17 ± 1.87 ^a	32.24 ± 9.13 ^a	22.96 ± 8.31 ^a	10.30 ± 1.99
肝细胞癌组	42	8.99 ± 2.04 ^{ab}	29.21 ± 10.12 ^{ab}	18.67 ± 8.07 ^{ab}	14.40 ± 4.90 ^{ab}

注: 与健康对照组比较, ^a $P < 0.05$; 与慢性肝炎、肝硬化组比较, ^b $P < 0.05$ 。

3 讨 论

HBV 感染机体后, 并不直接损伤肝细胞, 而是通过诱导机体免疫间接损伤肝细胞。本试验发现原发性肝细胞癌患者组与慢性肝炎、肝硬化患者组辅助性 T 细胞、抑制性 T 细胞、调节性 T 细胞数量明显减少, 与健康对照组相比存在显著性差异, 且原发性肝细胞癌患者组与慢性肝炎、肝硬化患者组之间也存在显著性差异。淋巴细胞是人体主要的免疫细胞, 其数量的变化在一定程度上反映了机体的免疫水平。机体免疫功能以及病毒逃避免疫的能力决定了 HBV 感染发生、发展与转归^[2-3]。本试验提示随着病情加重恶化, 机体的免疫水平也不断下降, 伴随而来的是辅助性 T 细胞、抑制性 T 细胞、调节性 T 细胞的不断下降。

CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞(简称 Treg 细胞), 占外周血 CD4⁺ T 细胞的 5%~10%^[4], 具有免疫无能性和免疫抑制性两大功能特性^[5]。CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞不仅参与自身免疫耐受, 而且还抑制细胞毒性淋巴细胞对肿瘤细胞的杀伤能力^[6]。有研究已表明, CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞在肝细胞癌癌周组织中含量明显高于远离肿瘤及正常的肝脏组织, CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞在末梢静脉血中不增加反而减少; 并且在肿瘤周围随着 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的增加, CD3⁺CD8⁺ T 细胞出现了快速减少的趋势^[7]。机体无法有效清除病毒, 使得病程慢性迁延, 这部分解释 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞, CD3⁺CD8⁺ T 细胞减少的原因。

NK 细胞是不同于 T、B 细胞, 而是具有直接杀伤靶细胞效

应的特殊淋巴细胞,具有抗肿瘤、抗感染、免疫调节功能,在乙型肝炎的感染、发病、发展及转归中,特别是在 HBV 感染和造成肝细胞免疫损害方面都可能具有重要意义^[8]。有研究证实,CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞能够显著地抑制 NK 细胞的杀伤能力。本试验表明,随着慢性肝炎、肝硬化向肝细胞癌的发展,末梢静脉血中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞含量逐渐减少,而 NK 细胞逐渐增加,而这些增加的细胞在功能上可能是显著降低的,所以无法有效阻止肝癌的发展,此时 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞起到了重要的调控作用。

抑制性的 CD8⁺T 细胞低下以及 NK 细胞功能显著降低导致无法阻止肝癌的发展,CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞以及辅助性 T 细胞起到了重要的调控作用,对这些细胞的检测可以有效了解机体免疫状况。

参考文献

[1] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(6): 324-329.
 [2] 叶应妩, 王毓三, 申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 3

版. 南京: 东南大学出版社, 2006: 607-608.

[3] 胡敏鹏, 郑琦, 江家骥. 乙型病毒性肝炎的免疫动力学[J]. 世界华人消化杂志, 2011, 19(13): 1381-1388.
 [4] Baggolini M. Chemokines and leukocyte traffic[J]. Nature, 1998, 392(6676): 565-568.
 [5] Peng G, Li S, Wu W, et al. Circulating CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells correlate with chronic hepatitis B infection[J]. Immunology, 2008, 123(1): 57-65.
 [6] 杨秀华, 刘冰熔, 姜洪池. 肝细胞癌患者肝脏组织中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的表达及意义[J]. 中华肝脏病杂志, 2007, 15(4): 258-261.
 [7] 杨秀华, 张羽, 韩波, 等. 肝细胞癌患者肝脏组织中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 淋巴细胞的表达及意义[J]. 哈尔滨医科大学学报, 2010, 44(3): 227-229.
 [8] 李红兵. 乙型肝炎慢性化的细胞免疫机制研究进展[J]. 医学综述, 2005, 11(8): 679-681.

(收稿日期: 2012-09-05 修回日期: 2013-01-10)

• 临床研究 •

O 型血孕妇血清中 IgG 抗(A)B 抗体效价对 ABO 新生儿溶血病的诊断意义

李君华(四川省达县人民医院检验科 635000)

【摘要】 目的 研究 O 型血孕妇血清中 IgG 抗(A)B 抗体效价及对 ABO 新生儿溶血病(HDN)的诊断意义。
方法 将 446 例 O 型孕妇(丈夫血型非 O 型)接受 IgG 抗 A(B)抗体效价检测,并对孕妇所生的新生儿进行 HDN 血清学检测,包括新生儿 ABO 血型检测、Rh(D)血型检测、HDN 三项血清试验。**结果** 446 例 O 型 RH(D)阳性孕妇中, IgG 抗 A(B)抗体效价小于或等于 1: 32, 1: 64, 1: 128, 1: 256, ≥1: 512 分别有 77 例(17%)、117 例(26%)、92 例(21%)、84 例(19%)、76 例(17%), 呈现正态分布。母婴血型 O-A 组效价大于 1: 32 者所占比例明显高于 O-B 组及 O-AB 组($P < 0.05$), 而 O-B 组与 O-AB 组间差异无统计学意义($P > 0.05$)。HDN 发病率随孕妇血清 IgG 抗 A(B)抗体效价增加而升高, 高一级效价与低一级效价组间比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。**结论** O 型血孕妇的血清 IgG 抗 A(B)抗体效价可作为 ABO HDN 的诊断指标, 产时应尤其密切观察 A 型血新生儿的临床表现, 做到 ABO HDN 的早期筛查、早期诊断以及早期治疗。

【关键词】 O 型血; 孕妇; IgG 抗(A)B 抗体效价; ABO 血型系统; 新生儿溶血病

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2013. 07. 035 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2013)07-0836-03

新生儿溶血病(HDN)一般是指母婴血型不合而引起的胎儿或新生儿免疫性溶血疾病,可发生于胎儿期和新生儿早期。母婴血型不合是当胎儿从父亲方面继承来的红细胞抗原,恰为母亲所缺乏时产生的现象。这种胎儿的红细胞作为母体的一种异抗原,通过胎盘进入母体后,可以刺激母体产生与之相对应的血型抗体。本研究对 2008 年 10 月至 2011 年 12 月本院接收的 O 型孕妇孕期 IgG 抗(A)B 抗体效价的变化进行动态监测,分析孕妇产前 IgG 抗 A(B) 抗体效价检测对诊断 ABO-HDN 的意义, 以为临床提供 HDN 诊断和防治的依据和指导, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2008 年 10 月至 2011 年 12 月进行产前检查的 O 型孕妇 446 例为研究对象, RH(D)阳性, 孕 34~42 周, 年龄 23~37 岁, 平均(30.7±4.8)岁, 均接受孕期 IgG 抗(A)B 抗体效价检测, 孕妇均身体健康, 血清不规则抗体筛

选结果为阴性。丈夫: A 型 198 例、B 型 181 例, AB 型 67 例, Rh(D)阳性, 肝肾功能正常且无血液系统疾病。

1.2 仪器与试剂 抗-A、抗-B、抗-D 抗血清由上海血液生物医药有限责任公司提供; 标准 A、B 红细胞由上海血液中心提供; 0.2 mmol/L 二巯基乙醇(2-Me)由博德公司提供; 孕妇 IgG 抗 A(B)抗体效价检测卡、HDN 检测卡及其配套孵育器、离心机为 Diana 手工法凝胶检测系统。

1.3 检测方法 (1)监测 O 型孕妇产前的 IgG 抗 A(B)的抗体效价。(2)对新生儿血型进行测定, ABO 系统母婴血型不合的新生儿出生 1 周内做 HDN 血清学检测, 包括新生儿 ABO 血型检测、Rh(D)血型检测、HDN 三项血清试验, 以上所有的具体操作方法按照《输血科(血库)临床技术操作规范与标准化管理实用全书》ABO-HDN 诊断标准^[1]。

1.4 统计学方法 采用 SPSS13.0 软件进行数据统计分析。不同血清 IgG 抗 A(B)的抗体效价在不同母婴血型中分布情