

多种炎症性疾病患者外周血 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞的检测与临床意义分析*

王 訢, 曹 炬, 张莉萍[△] (重庆医科大学附属第一医院检验科, 重庆 400016)

【摘要】 目的 探讨恶性肿瘤、肺结核、干燥综合征、葡萄膜炎等多种炎症性疾病患者外周血 CD4⁺ 和 CD8⁺ 淋巴细胞的变化及其临床意义。方法 应用 BD FACSCanto II 流式细胞仪检测上述疾病患者外周血 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞并计算两者比值, 同时检测健康者标本 20 例作为健康对照组, 进行统计分析。结果 与健康对照组比, 恶性肿瘤组 CD4⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 均明显降低, CD8⁺ T 淋巴细胞增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 全身炎症反应综合征组 CD4⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 均明显降低, CD8⁺ T 淋巴细胞增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 葡萄膜炎组 CD8⁺ T 淋巴细胞增高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); 肺结核组 CD4⁺ T 淋巴细胞降低, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 患者的 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞异常, 表明机体细胞免疫功能异常。流式细胞仪检测 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞可以作为患者临床免疫功能的初步诊断指标, 辅助疾病治疗和病情观察。

【关键词】 CD4⁺ T 淋巴细胞; CD8⁺ T 淋巴细胞; 免疫功能

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.21.004 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)21-2953-02

Detection of peripheral blood of CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes in multiple inflammatory diseases and its clinical significance* WANG Zhu, CAO Ju, ZHANG Li-ping[△] (Department of Clinic Laboratory, First Affiliated Hospital of Chongqing Medical University, Chongqing 400016, China)

【Abstract】 Objective To investigate the change of peripheral blood CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes and its clinical significance in the patients with multiple inflammatory diseases such as malignant tumors, tuberculosis, Sjogren syndrome, uveitis and systemic inflammatory response syndrome (SIRS). **Methods** The peripheral blood CD4⁺, CD8⁺ T lymphocytes in the patients with above diseases were detected by the BD FACSCanto II flow cytometry and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ T cells was calculated. At the same time 20 individuals with healthy physical examination as the healthy control group were measured. The detection results were statistically analyzed. **Results** Compared with the healthy control group, peripheral blood CD4⁺ T lymphocytes and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ in the malignant tumors group were significantly decreased with statistical difference between the two groups ($P < 0.05$); peripheral blood CD4⁺ T lymphocytes and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ in the SIRS group were significantly decreased and CD8⁺ T lymphocytes were increased compared with the healthy control group, the difference had statistical significance between the two groups ($P < 0.05$); CD8⁺ T lymphocytes in the uveitis group were increased compared with the healthy normal controls, the difference had statistical significance ($P < 0.05$); CD4⁺ T lymphocytes in the pulmonary tuberculosis group were decreased, the difference had statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The abnormality of peripheral blood CD4⁺, CD8⁺ T lymphocytes in the patients means the damage of cellular immune function. The CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes detected by flow cytometry can be considered as the preliminary diagnostic indicators of the immune function, which can assist the disease treatment and condition observation.

【Key words】 CD4⁺ T lymphocytes; CD8⁺ T lymphocytes; immune function

T 细胞分 CD3⁺CD4⁺CD8⁻ 和 CD3⁺CD4⁻CD8⁺ 细胞, 简称 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞。所有成熟 T 细胞表面都有 CD3 抗原, 而 T 细胞亚群中包括有 CD4⁺ 淋巴细胞(辅助/诱导 T 细胞)和 CD8⁺ 淋巴细胞(抑制/细胞毒 T 细胞), 前者调节、协助免疫反应, 后者抑制免疫效应、杀伤靶细胞。在正常情况下, T 淋巴细胞数量在周围组织中是相对稳定的, 而且各亚群之间处于平衡状态, 均保持着一定的数量比例。当机体患有恶性肿瘤、肺结核、全身炎症反应综合征(SIRS)等疾病时, 这种平衡状态就会受到影响, 造成 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞数量异常, 导致机体免疫功能紊乱。流式细胞术在淋巴细胞及其亚群分析, 淋巴细胞功能分析, 免疫分型, 分选, 肿瘤细胞的免疫检测,

机体免疫状态的监测, 免疫细胞系统发生及特性研究等方面都起着相对重要作用^[1]。本研究以炎症性疾病患者作为研究对象, 运用流式细胞技术检测其 CD4⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞并计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值, 再进行统计分析, 来探讨细胞免疫功能在炎症性疾病中的变化和临床意义。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2009 年 1 月至 2013 年 1 月本院诊治的 22 例恶性肿瘤患者(恶性肿瘤组, 男 13 例, 女 9 例, 年龄 21~83 岁), 19 例肺结核患者(肺结核组, 男 12 例, 女 7 例, 年龄 18~83 岁), 36 例干燥综合征患者(干燥综合征组, 男 9 例, 女 27 例, 年龄 14~65 岁), 16 例葡萄膜炎患者(葡萄膜炎组, 男

* 基金项目: 国家临床重点专科建设项目(财社 2010035)。

作者简介: 王訢, 女, 本科, 主要从事分子生物学微生物研究。 △ 通讯作者, E-mail: liuzhangcq@yahoo.com。

11 例,女 5 例,年龄 20~56 岁),14 例 SIRS 患者(SIRS 组,男 9 例,女 5 例,年龄 22~87 岁)。其中恶性肿瘤组包括淋巴瘤 3 例,自身免疫性疾病并发肿瘤 4 例,肺部恶性肿瘤 1 例,鼻咽恶性肿瘤 1 例,血液系统肿瘤 12 例。选择本院同期健康查体者 20 例为健康对照组,男 13 例,女 7 例,年龄 19~73 岁。各组性别、年龄等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 MuLitTEST IMK Kit(美国 BD Bioscience 公司),其中包括 CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PreCP/CD4-APC、CD3-FITC/CD16⁺56-PE/CD45-PreCP/CD19-APC、FACSLysing Solution, BD FACSCanto II 流式细胞仪(美国 BD 公司)。

1.3 方法 标本均于受检者清晨空腹时采集,取其外周静脉血 2 mL 置于乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝真空管中,并在 4 h 内进行检测。取 2 只流式专用管,1 只加 CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PreCP/CD4-APC 20 μ L,另 1 只加 CD3-FITC/CD16⁺56-PE/CD45-PreCP/CD19-APC 20 μ L,再各加入抗凝全血标本 50 μ L,混匀,避光室温放置 15 min 后各自加入 450 μ L 溶血剂,充分混匀,室温放置 10~15 min,上机测定。

1.4 统计学处理 采用 SPSS16.0 统计软件处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

恶性肿瘤、肺结核、干燥综合征、葡萄膜炎、SIRS 组与健康对照组比较:恶性肿瘤组 CD4⁺T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 均明显降低,CD8⁺T 淋巴细胞增高,差异有统计学意义($P<0.05$);肺结核组 CD4⁺T 淋巴细胞降低,差异有统计学意义($P<0.05$);葡萄膜炎组 CD8⁺T 淋巴细胞增高,差异有统计学意义($P<0.05$);SIRS 组 CD4⁺T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 均明显降低,CD8⁺T 淋巴细胞增高,差异有统计学意义($P<0.05$);干燥综合征组 T 淋巴细胞明显降低,差异有统计学意义($P<0.05$),但 CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞均无明显变化,与健康对照组差异无统计学意义($P>0.05$)。见表 1。

表 1 多种炎症性疾病组与健康对照组 T 淋巴细胞亚群及 CD4/CD8 比值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	CD4(%)	CD8(%)	CD4/CD8
健康对照组	20	40.39±4.16	30.04±4.46	1.38±0.26
恶性肿瘤组	22	23.13±13.20*	47.86±20.45*	0.66±0.53*
肺结核组	19	30.94±17.3*	37.74±26.01	1.47±1.28
干燥综合征组	36	42.18±12.64	31.81±11.95	1.54±0.72
葡萄膜炎组	16	41.94±8.53	35.03±7.89*	1.81±2.33
SIRS 组	14	22.64±18.15*	55.44±20.07*	0.60±0.76*

注:与健康对照组比较,* $P<0.05$ 。

3 讨 论

本研究中,肺结核患者的外周血 CD4⁺T 淋巴细胞明显降低,但 CD8⁺T 淋巴细胞与健康对照组相比,差异无统计学意义($P>0.05$)。肺结核患者的 CD4⁺T 淋巴细胞明显降低,导致本来相互抑制平衡的 Th1、Th2 数量紊乱,Th1 细胞功能降低,Th2 的功能得到加强,患者机体炎症免疫受抑制,结核分枝杆菌存活率增多,导致肺结核疾病的出现^[2]。本研究中的恶性肿瘤组与健康对照组相比,CD4⁺T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺ 均明显降低,CD8⁺T 淋巴细胞增高。有相关研究表明,肿瘤患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞高于健康者^[3-4]。这类细胞

的增多对 CD4⁺T 淋巴细胞的免疫功能和细胞增殖产生抑制作用,造成恶性肿瘤患者的 CD4⁺T 淋巴细胞降低,导致患者机体免疫功能损害,机体抗癌能力进一步减弱,甚至出现肿瘤的转移^[5]。本研究中葡萄膜炎组患者 CD8⁺T 淋巴细胞增高,CD8⁺T 淋巴细胞包括抑制性细胞(Ts)和细胞毒细胞(Tc)亚群。Ts 能抑制 Th 产生白细胞介素(IL)-2,Tc 细胞具有直接杀伤感染微生物的靶细胞的功能^[6]。因此,CD8⁺T 淋巴细胞增多说明体内清除被病原微生物感染的细胞的细胞免疫功能增强^[7],造成患者免疫功能亢进而损伤自身细胞。有研究发现原发性综合征组与健康对照组相比,患者外周血中 CD8⁺T 淋巴细胞明显降低;而 CD4⁺T 淋巴细胞在两组中则差异无统计学意义($P>0.05$)^[8-9];而本研究中,干燥综合征组的 CD8⁺和 CD4⁺T 淋巴细胞与健康对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。再对比 SIRS 组和健康对照组,CD4⁺T 淋巴细胞降低,CD8⁺T 淋巴细胞增高,导致 CD4⁺/CD8⁺ 均明显降低。CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值表示 Th 与 Ts 之间功能平衡状态,是人体免疫系统内环境稳定最重要的指标。细胞免疫功能改变往往敏感地表现在 Th/Ts 比值改变上,Th/Ts 比值下降被认为是疾病严重和预后不良的重要指标之一^[10]。所以,SIRS 组和恶性肿瘤组患者的免疫功能皆受到严重损害,导致疾病迁延不愈。

由上述讨论可以得出以下结论:(1)CD4⁺和 CD8⁺T 淋巴细胞检测可作为炎症疾病的初筛试验,若 CD4⁺T 淋巴细胞降低,则可能是肺结核、SIRS、恶性肿瘤或其他炎症性疾病;若 CD4⁺T 淋巴细胞明显降低,而 CD8⁺T 淋巴细胞增高同时存在,则有可能是 SIRS、恶性肿瘤或其他炎症性疾病;(2)可以作为肺结核患者免疫功能监测的指标,若 CD4⁺T 淋巴细胞降低明显,则可能需增强 Th1 相关细胞因子的功能,用药应注意适当增加 γ 干扰素的用量。(3)CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值可作为的疾病严重程度和预后的监测指标。

检测患者外周血 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞,能初步大致了解一些炎症性疾病患者细胞免疫的功能状态和病情进展,但还需要诸多更细化地检测来帮助临床掌握某些复杂发病机制疾病的病态发展及免疫机制。在本研究中,由于标本量较少,测得的结果尚不能全面反映此类患者的机体免疫指标情况,若要进行进一步研究,需增加标本量的收集及患者情况的跟踪调查,以便更确切地了解病情,来研究免疫指标 CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞的临床意义。

参 考 文 献

[1] 董兴艳. 流式细胞技术的临床应用与分析[J]. 中国实用医药,2012,12(7):46-47.
 [2] 罗玉,张放. 肺结核患者 T 细胞亚群的变化及意义[J]. 中国社区医师:医学专业,2012,14(12):103-104.
 [3] Wolf AM, Wolf D, Steurer M, et al. Increase of regulation T cells in the peripheral blood of cancer patients[J]. Clin Cancer Res, 2003, 9(4):606-612.
 [4] Sasada T, Kimura M, Yoshida Y, et al. CD4⁺CD25⁺ regulatory T cells in patients with gastrointestinal malignancies: Possible involvement of regulatory T cells in disease progression [J]. cancer, 2003, 98(1):1089-1099.
 [5] 唐红,蔡莉,惠延年. 葡萄膜炎患者外周血 CD4⁺CD25^{high} 调节性 T 细胞的表达[J]. 国际眼科杂志, 2008, 8(8): 1610-1611.
 (下转第 2957 页)

血脑屏障,且有一部分细胞被脾、肺等器官摄取而影响疗效,而采用经腰穿注入蛛网膜下腔的移植方式则避开了血脑屏障的阻碍,有利于更多的细胞进入脑内。缺血性卒中后最合宜干细胞移植治疗的时机目前仍不是很清楚,但移植时间窗对治疗效果的影响很大。虽然移植的细胞在脑卒中的各阶段均能存活,但在急性期的存活率低于亚急性期和晚期^[11]。移植时间的选择和脑梗死的病理变化过程是密切相关的,多数学者认为最佳移植时间点的选择要考虑超早期大量炎症因子、氧自由基和毒性神经递质对移植细胞的影响,同时也要顾及梗死后慢性期瘢痕形成对移植细胞生长、整合的阻碍。因此本研究选择在患者发病后的 1~4 周,取自体骨髓间充质干细胞经蛛网膜下腔移植治疗 30 例脑梗死,结果发现治疗组的 NIHSS 评分明显低于对照组($P < 0.01$),而且 Barthel 指数评分明显高于对照组($P < 0.01$)。虽然治疗组移植后 3 例出现低热、4 例出现头痛,但未经处理均在 2 d 内症状消失,说明骨髓间充质干细胞经蛛网膜下腔移植治疗脑梗死不良反应少,近期疗效肯定,能明显改善患者的神经功能,提高其生活能力。骨髓间充质干细胞治疗脑梗死的机制目前尚不明确,可能从以下几方面发挥作用:(1)刺激内源性干细胞和神经祖细胞的增殖分化,从而促进神经功能的恢复^[12];(2)自身分化为神经元样细胞和神经胶质样细胞,代替损伤细胞重建神经环路^[13];(3)通过促进新生血管生成,改善局部血液供应来实现改善神经功能的作用^[14];(4)自身分泌和促进宿主分泌神经生长因子、碱性成纤维细胞生长因子、脑源性神经营养因子等细胞因子来修复缺血性损伤^[15]。

总之,骨髓间充质干细胞移植为脑梗死的治疗开辟了一条新的途径,因其来源充足、易于获取,可体外培养和扩增,自体移植避开了排斥反应及伦理学限制,所以具有广阔的临床应用前景。本研究初步证实骨髓间充质干细胞经蛛网膜下腔移植治疗脑梗死是安全可行的,可明显改善脑缺血后神经功能损伤,但因观察时间短病例样本数少,其远期疗效仍有待于进一步深入研究。

参考文献

[1] Kopen GC, Prockop DJ, Phinney DG. Marrow stromal cells migrate throughout forebrain and cerebellum, and they differentiate into astrocytes after injection into neonatal mouse brains[J]. Proc Natl Acad Sci, 1999, 96(19): 10711-10716.
 [2] 中华医学会第 4 次脑血管病学术会议. 各类脑血管疾病诊断要点[J]. 中华神经科杂志, 1988, 29(8): 367-368.
 [3] Johansson CB, Momma S, Clarke DL, et al. Identification of a neural stem cell in the adult mammalian central nervous system[J]. Cell, 1999, 96(1): 25-34.
 [4] Flax JD, Aurora S, Yang C, et al. Engraftable human neu-

ral stem cells respond to developmental cues, replace neurons, and Express foreign genes[J]. Nat Biotechnol, 1998, 16(11): 1033-1039.

[5] Li Y, Chen J, Chen XG, et al. Human marrow stromal cell therapy for stroke in rat: neurotrophins and functional recovery[J]. Neurology, 2002, 59(4): 514-523.
 [6] 潘兴华, 贺斌, 庞荣清, 等. 猴脑血管缺血模型复制及骨髓间充质干细胞移植治疗[J]. 热带医学杂志, 2006, 6(5): 533-536.
 [7] Yano S, Kuroda S, Shichinohe H, et al. Do bone marrow stromal cells proliferate after transplantation into mice cerebral infarct:--A double labeling study[J]. Brain Res, 2005, 1065(1/2): 60-67.
 [8] Horwitz EM, Prockop DJ, Fitzpatrick LA, et al. Transplant-ability and therapeutic effects of bone marrow-derived, mesenchymal cells in children with Osteogenesis imperfecta[J]. Nat Med, 1999, 5(3): 309-313.
 [9] Bang OY, Lee JS, Lee PH, et al. Antologous mesenchymal stem cell transplantation in stroke patients[J]. Ann Neurol, 2005, 57(6): 874-882.
 [10] 张儒有, 郑永日, 胡韶山, 等. 神经干细胞移植治疗脑卒中后遗症 50 例临床效果分析[J]. 中国临床康复, 2006, 10(9): 138-139.
 [11] Chen JL, Li Y, Wang L, et al. The rapetic benefit of intravenous administraton of bone marrow stromal cells after cerebral ischemia in rats[J]. Stoke, 2001, 32(4): 1005-1011.
 [12] Aicher A, Heeschen C, Mildner-Rihm C, et al. Essential role of endothelial nitric oxide synthase for mobilization of stem and progenitor cells[J]. Nat Med, 2003, 9(11): 1370-1376.
 [13] Li Y, Chopp M, Chen J, et al. Intrastriatal transplantation of bone marrow nonhematopoietic cells improves functional recovery after stroke in adult mice[J]. J Cereb Blood Flow Metab, 2000, 20(9): 1311-1319.
 [14] Chen JZ, Li Y. Intravenous administration of human bone marrow stromal cells induces angiogenesis in the ischemic boundary zone after stroke in rats[J]. Cire Res, 2003, 92(6): 692-699.
 [15] Mudò G, Bonomo A, Di Liberto V, et al. The FGF-2/FGFRs neurotrophic system promotes neurogenesis in the adult brain[J]. J Neural Transm, 2009, 116(8): 995-1005.

(收稿日期: 2014-02-24 修回日期: 2014-04-16)

(上接第 2954 页)

[6] 李红平, 赵逵, 毛万姬, 等. 胃黏膜 TGF- β^1 在幽门螺杆菌感染中的表达及与外周血 T 细胞亚群变化的关系[J]. 世界华人消化杂志, 2010, 8(5): 506-511.
 [7] 朱冰, 吴丽娟, 陈雪芹, 等. 微生物感染致机体免疫功能改变的回顾性分析[J]. 国际检验医学杂志, 2011, 9(32): 1681-1683.
 [8] Ichikawa Y, Shimizu H, Takahashi k, et al. Lymphocyte subsets of the peripheral blood in Sjögren s syndrome and

rheumatoid arthritis[J]. Clin Exp Rheumatol, 1989, 7(1): 55-61.

[9] 汪迅, 李博, 叶志中, 等. 干燥综合征患者外周血中 T 淋巴细胞亚群的分析与临床意义[J]. 中国药物与临床, 2007, 7(4): 268-270.
 [10] 莫扬, 许小东. 流式细胞术检测体液 T 淋巴细胞亚群的临床应用[J]. 国际检验医学杂志, 2010, 31(1): 52-54.

(收稿日期: 2014-02-26 修回日期: 2014-04-15)