

• 临床探讨 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2018.04.028

外周血 T 淋巴细胞亚群变化特点及血清因子表达水平的研究*

吴翠萍, 赵利

(山东省潍坊市益都中心医院 262500)

摘要:目的 探讨发热伴血小板减少综合征(SFTS)患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化特点及血清因子表达水平。方法 选取 2013 年 5 月 1 日至 2016 年 12 月 1 日该院确诊并治疗的 SFTS 患者 138 例,作为 SFTS 组。利用流式细胞术检测患者外周血 T 淋巴细胞 CD4⁺T 淋巴细胞和 CD8⁺T 淋巴细胞 2 个亚群变化的特点,运用酶联免疫吸附方法检测外周血清白细胞介素-2(IL-2)、肿瘤坏死因子-β(TNF-β)、干扰素-γ(IFN-γ) 表达水平。同时选取该院门诊体检健康者 120 例作为健康对照组,采用同样的方法检测相同的各项指标表达水平。结果 SFTS 组患者外周血 CD4⁺T 淋巴细胞数量明显减少,为(22.69±5.02)%,健康对照组 CD4⁺T 淋巴细胞数量比 SFTS 组多,为(56.11±4.14)%,差异有统计学意义($P<0.05$);SFTS 组 CD8⁺T 淋巴细胞数量明显增多,为(39.03±4.09)%,健康对照组 CD8⁺T 淋巴细胞数量比 SFTS 组患者少,为(24.51±4.82)%,差异有统计学意义($P<0.05$),CD4⁺T/CD8⁺T 在感染布尼亚病毒(SFTSV)后明显降低。SFTS 组 IL-2 表达水平为(55.81±7.52)μg/L,健康对照组为(117.02±5.31)μg/L;SFTS 组 TNF-β 表达水平为(72.91±6.03)μg/L,健康对照组为(112.84±4.91)μg/L;SFTS 组 IFN-γ 表达水平为(21.01±8.20)μg/L,健康对照组为(103.15±3.74)μg/L,SFTS 组患者感染 SFTSV 后 IL-2、TNF-β、IFN-γ 均明显下降,2 组间差异均有统计学意义($P<0.05$)。结论 SFTS 患者感染 SFTSV 后,导致外周血 CD4⁺T 淋巴细胞减少,CD8⁺T 淋巴细胞增加,CD4⁺T 与 CD8⁺T 比例失衡;造成外周血清中 IL-2、TNF-β、IFN-γ 因子表达水平降低。

关键词:发热伴血小板减少综合征; T 淋巴细胞亚群; 外周血清因子

中图分类号:R446.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2018)04-0523-03

发热伴血小板减少综合征(SFTS)俗称“蜱虫病”,是由感染布尼亚病毒(SFTSV)引起的新发传染病,属自然疫源性疾病^[1]。蜱为其主要传播媒介,但也有相关报道证实了人际间的传播,可能通过接触 SFTS 患者的血液而感染,裸露皮肤直接接触患者血液具有较高的危险性。SFTS 患者的临床特征以发热、消化道症状、意识障碍、出血倾向、浅层淋巴结肿大伴外周血白细胞、血小板减少为主要特征,危重者可因休克、呼吸衰竭、弥散性血管内凝血及多器官衰竭而病死^[2]。由于其传播媒介的独特,人群普遍易感,在丘陵、山林、森林等地区生活和生产的居民和劳动者,以及远赴该地区从事户外活动的人群具有较高的感染风险。流行病学资料显示,目前 SFTS 患者 97% 为农民,中老年居多,男性多于女性,我国已在河南、江苏、湖北、山东、安徽、辽宁等地区发现了 SFTS,由于其发病的机制尚不明确,有报道称与机体免疫损伤、免疫功能紊乱有关。SFTS 病死率约为 10%^[3-4]。现探讨 SFTS 患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化特点及外周血清因子表达水平,为临床治疗及研究提供相关依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 5 月 1 日至 2016 年 12 月 1 日该院确诊并治疗的 SFTS 患者 138 例,作为 SFTS 组,男 84 例,女 54 例,平均年龄(59.04±9.36)岁。另选取同期 120 例该院门诊健康体检者作为健

康对照组,平均年龄(55.09±6.23)岁。

1.2 纳入标准 依据流行病学史、实验室检测、临床表现进行确诊^[5]:流行季节在丘陵、山林、森林等地工作、生活或旅行;发现前 2 周内内有被蜱虫叮咬史或近 2 周内接触 SFTS 患者;病例标本分离出 SFTSV;SFTSV 标本核酸检测呈阳性;SFTSV 免疫球蛋白 M(IgM)抗体呈阳性;SFTSV IgM 抗体阳转或恢复期滴度较急性期 4 倍以上增高者。

1.3 方法

1.3.1 T 淋巴细胞检测 采集 2 组研究对象空腹外周静脉血 5 mL,离心后取血清,-70℃ 冰箱保存,利用流式细胞术检测外周血 T 淋巴细胞 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞,具体步骤如下^[6]。(1)单细胞悬液制备:将(1×10⁵)~(1×10⁷)细胞置入 1.5 mL 离心管中 3 000 r/min 离心 5 min,弃上清液;加入 FACS 缓冲液 100 μL 悬浮细胞。(2)封闭表面 Fc 受体:在步骤(1)中加入 Fc 受体抗体 0.5 μL(0.5 mg/mL),水浴 3 min。(3)细胞与荧光抗体结合:在步骤(2)中加入荧光抗体 1 μL(0.5 mg/mL),水浴 30 min。(4)洗细胞去除游离的荧光抗体:在步骤(3)中加入 FACS 缓冲液 350 μL,轻轻混匀,3 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,重复步骤(4)2 次。(5)上样前处理:取 100 μL 仪器缓冲液加入步骤(4)获得的细胞沉淀中,轻轻混匀悬浮细胞,将细胞悬液移入 FACS 专用管中,准备进行仪器检测和分析。

* 基金项目:山东省潍坊市卫生和计划生育委员会科研项目计划(2014 年第 116 号)。

1.3.2 外周血清因子表达水平检测 同时抽取患者空腹静脉血 3 mL, 运用酶联免疫吸附方法检测 2 组研究对象外周血清白细胞介素-2(IL-2)、肿瘤坏死因子-β(TNF-β)、干扰素-γ(IFN-γ) 的表达水平。首先将血液经至少 0.5 h 凝集, 然后取血清。将酶复合物用稀释液稀释后, 加血清及阴性、阳性对照, 经 1 h 孵育, 然后洗板, 加底物, 0.5 h 避光反应后加终止液即完成反应部分, 然后读数并判断结果的阴性或阳性^[7]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS20.0 统计软件进行数据分析, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间比较使用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 2 组研究对象外周血 T 淋巴细胞亚群结果比较 SFTS 组患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞数量明显减少, 为 (22.69 ± 5.02)%, 健康对照组 CD4⁺ T 淋巴细胞数量比 SFTS 患者多, 为 (56.11 ± 4.14)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); SFTS 组 CD8⁺ T 淋巴细胞数量明显增多, 为 (39.03 ± 4.09)%, 健康对照组 CD8⁺ T 淋巴细胞数量比 SFTS 患者少, 为 (24.51 ± 4.82)%, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。SFTS 组 CD4⁺ T/CD8⁺ T 感染 SFTSV 后明显降低。见表 1 和图 1。

表 1 2 组研究对象外周血 T 淋巴细胞亚群结果比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD4 ⁺ T(%)	CD8 ⁺ T(%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
SFTS 组	22.69 ± 5.02	39.03 ± 4.09	0.62 ± 0.21
健康对照组	56.11 ± 4.14	24.51 ± 4.82	2.15 ± 0.72
<i>t</i>	13.82	-9.31	2.06
<i>P</i>	0.006	0.028	0.016

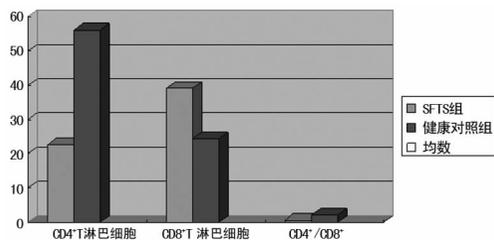


图 1 2 组研究对象 T 淋巴细胞亚群均数结果比较

表 2 2 组研究对象外周血清因子表达水平结果比较 ($\mu\text{g/L}, \bar{x} \pm s$)

组别	IL-2	TNF-β	IFN-γ
SFTS 组	55.81 ± 7.52	72.91 ± 6.03	21.01 ± 8.20
健康对照组	117.02 ± 5.31	112.84 ± 4.91	103.15 ± 3.74
<i>t</i>	20.81	14.80	23.09
<i>P</i>	0.002	0.007	0.001

2.2 2 组研究对象外周血清因子结果比较 SFTS 组 IL-2 因子表达水平为 (55.81 ± 7.52) $\mu\text{g/L}$, 健康对照组为 (117.02 ± 5.31) $\mu\text{g/L}$; SFTS 组 TNF-β 因子表达水平为 (72.91 ± 6.03) $\mu\text{g/L}$, 健康对照组为 (112.84 ± 4.91) $\mu\text{g/L}$; SFTS 组 IFN-γ 因子表达水平为 (21.01 ± 8.20) $\mu\text{g/L}$, 健康对照组为 (103.15 ±

3.74) $\mu\text{g/L}$; SFTS 组患者感染 SFTSV 后 IL-2、TNF-β、IFN-γ 因子均明显下降, 2 组差异均有统计学意义 ($P < 0.05$)。见表 2 和图 2。

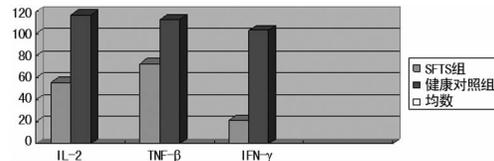


图 2 2 组研究对象外周血清因子表达水平均数结果比较

3 讨 论

SFTS 是近年来出现的一种传染病, 其发病机制缺乏系统研究, 且该病临床症状与某些病毒性疾病相似, 易发生误诊, 影响患者临床治疗^[8-10]。自 2010 年在河南地区 1 例 SFTS 患者分离出 SFTSV 后, 临床诊断和实验检测才将 SFTS 和其他病毒性疾病进行区分。该病近年来发病率上升, 目前尚无有效的疫苗和治疗药物, 病死率高, 已严重威胁生命健康, 引起较多医学专家的关注^[11-13]。老年群体对疾病及病毒的抵抗力较弱, 感染 SFTSV 后自身免疫系统是否因病毒受到限制, 损伤何种抗病毒细胞, 将为 SFTS 的临床治疗提供思路。

T 淋巴细胞是机体免疫系统内功能最重要的一大细胞群, 正常机体内各个 T 淋巴细胞亚群相互使用, 维持机体正常的免疫功能^[14]。本研究结果表明, SFTS 组患者外周血 CD4⁺ T 淋巴细胞数量明显减少, 约占健康者的 50%, Th1 为 CD4⁺ T 细胞的一种重要细胞, 主要分泌外周血清 IL-2、TNF-β、IFN-γ 因子, 这些因子可促进机体免疫系统应答, 病毒侵袭时第一时间进行防御和消灭。感染 SFTSV 后, CD4⁺ T 淋巴细胞数量减少, 分泌外周血清 IL-2、TNF-β、IFN-γ 因子的能力减弱。本研究结果显示, SFTS 组患者外周血清 IL-2、TNF-β、IFN-γ 因子表达水平与健康对照组比较, 明显下降, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$); SFTS 组 T 淋巴细胞亚群 CD8⁺ T 淋巴细胞与健康对照组比较, 显著上升 ($P < 0.05$), 因为在病毒侵袭时, 机体因病毒刺激产生干扰素, 干扰素是先天免疫系统的一部分, 在干扰素的作用下, CD8⁺ T 淋巴细胞活性增强, 说明 CD8⁺ T 淋巴细胞具有抗病毒作用^[15]。但 CD4⁺ T 淋巴下降和 CD8⁺ T 淋巴升高造成比例失衡, 抑制免疫系统的正常工作。本研究结果表明, SFTS 组 CD4⁺ T 淋巴和 CD8⁺ T 淋巴的比例为 0.62 ± 0.21, 而健康对照组为 2.15 ± 0.72, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 说明了感染 SFTSV 后 T 淋巴细胞亚群出现变化和比例失衡。

综上所述, 感染 SFTSV 后 T 淋巴细胞 CD4⁺ T 明显降低, CD8⁺ T 淋巴细胞明显升高, 2 种 T 淋巴细胞比例失衡; 外周血清 IL-2、TNF-β、IFN-γ 因子的表达水平降低。

参考文献

[1] WANG Z Q. Research the changes of peripheral blood lymphocyte subsets in patients with immune thrombocytopenia

- [J]. China Modern Medicine, 2015, 3(1): 127-132.
- [2] LIU L, HUA M Q, LIU C F, et al. The aberrant expression of microRNAs and correlations with T cell subsets in patients with immune thrombocytopenia[J]. Oncotarget, 2016, 7(47): 76453-76463.
- [3] YANG X P, MA R, YANG X H, et al. Effect of Yiqi tongyang decoction, on blood T cell subsets in patients with chronic immune thrombocytopenia[J]. Chin J Integr Med, 2016, 19(1): 54-61.
- [4] PENG C, WANG H, ZHANG W J, et al. Decreased monocyte subsets and TLR4-mediated functions in patients with acute severe fever with thrombocytopenia syndrome (SFTS)[J]. Int J Infect Dis, 2016, 43(2): 37-42.
- [5] WEN F U, CHEN M Y, ZHENG Z G. Expression of T lymphocyte subsets, NK cells and B cells in peripheral blood of children with acute primary immune thrombocytopenia[J]. Hainan Med J, 2016, 23(6): 331-332.
- [6] NIU G H, ZHANG Y F, GAO Y J, et al. Expression of peripheral blood T-lymphocyte subsets, IL-17 and IL-10 in primary Sjogren's syndrome[J]. Lab Med Clin, 2015, 81(2): 11-17.
- [7] HUANG Y, ZHENG M J, XU Y H. Analysis of the relationship between peripheral blood T lymphocyte subsets and HCV RNA levels in patients with chronic hepatitis C [J]. Genet Mol Res, 2015, 14(3): 10057-10063.
- [8] WAN Y I, SUN F Y. Meta-analysis of T-lymphocyte subsets change in peripheral blood of patients with chronic hepatitis B [J]. J Bengbu Med College, 2016, 61(8): 22-26.
- [9] WANG Y. The monitoring of the peripheral blood T lymphocyte subsets change and its clinical significance in advanced cancer patients before and after chemotherapy[J]. J Bengbu Med College, 2016, 31(4): 172-180.
- [10] WAN Y, MANQING X U, ZHANG A. Correlation of the expression of peripheral blood T lymphocyte subsets in the initial treatment of pulmonary tuberculosis patients and chemotherapy [J]. Jiangxi Med J, 2015, 52(11): 24-31.
- [11] YAN T U, DING N, FAN D Z. expression of T lymphocyte subsets in peripheral blood from patients with rheumatoid arthritis in Chinese population: a meta-analysis [J]. Anhui Med Pharmaceut J, 2015, 11(5): 212-221.
- [12] EBBO M, AUDONNET S, GRADOS A, et al. NK cell compartment in the peripheral blood and spleen in adult patients with primary immune thrombocytopenia[J]. Clin Immunol, 2015, 34(12): 89-92.
- [13] ANTONY A, AMBROISE M, KIRAN C, et al. Mott cells in the peripheral blood of a patient with dengue fever[J]. Turk J Hematol, 2015, 32(4): 376-377.
- [14] YANG L, ZHUANG Y, QIAN X, et al. Contributions of T lymphocyte abnormalities to therapeutic outcomes in elderly patients with immune thrombocytopenia[J]. J Clin Hematol, 2015, 17(9): 56-62.
- [15] REIMER P. New developments in the treatment of peripheral T-cell lymphoma - role of Belinostat[J]. Cancer Manag Res, 2015, 7(1): 145-151.

(收稿日期: 2017-07-16 修回日期: 2017-09-30)

• 临床探讨 • DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2018. 04. 029

支气管扩张剂治疗后患者肺功能改变情况的研究*

孙 娜¹, 蔡宇星²

(1. 陕西省宝鸡市人民医院呼吸内二科 721000; 2. 陕西省宝鸡市中心医院呼吸科 721008)

摘要:目的 探讨支气管扩张剂患者肺功能及支气管扩张剂使用后的临床疗效。方法 选取 2015 年 6 月至 2016 年 6 月宝鸡市人民医院治疗的支气管扩张患者 150 例, 随机分为 2 组, 对照组(75 例)和试验组(75 例)。对照组患者采用常规对症支持治疗, 试验组患者在治疗组的基础上增加噻托溴铵粉吸入治疗。观察 2 组患者的肺功能指标: 用力呼气量(FVC)、吸气量(IC)、用力呼气量所占预计值百分比(FEV1%)、用力呼气量占用力呼气量的百分比[(FEV1/FVC)%]和疗效情况、症状评分改变情况、不良反应情况。结果 治疗后 2 组患者病症评分均有不同程度的下降, 且试验组患者比对照组下降得更多, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 治疗后 2 组患者肺功能各项指标均有改善, 且试验组患者效果更佳, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 试验组患者治疗总有效率为 94.7%; 对照组为 78.7%, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 支气管扩张剂能显著改善支气管扩张症患者肺部的通气功能, 降低临床症状的发生率, 值得临床推广与应用。

关键词: 支气管扩张; 噻托溴铵粉; 支气管扩张剂

中图分类号: R562

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2018)04-0525-03

支气管扩张症为慢性气道受损引发的支气管管壁的肌肉与弹力支撑组织结构被破坏, 导致一支或者多支支气管发生不可逆的异常扩张, 合并气道慢性炎性, 临床特征主要为气流受限、反复咳嗽、气流阻塞、

脓液性痰、肺功能降低、反复肺部感染等, 是造成肺损伤的常见病症^[1-2]。近年来发病率逐渐上升, 病死例数也逐年增加, 对健康造成极大损伤^[3]。噻托溴铵粉吸入剂在支气管哮喘和慢性阻塞性肺疾病治疗中具

* 基金项目: 陕西省宝鸡市卫生局科研立项课题(2014-05)。