

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2021.21.013

成年健康女性外周血免疫相关指标的分析

刘 松¹, 许 超¹, 魏 伟^{2△}

1. 广州瑞铂茵健康科技有限公司, 广东广州 510700; 2. 广东省脐带血造血干细胞库, 广东广州 510700

摘 要:目的 探讨成年健康女性外周血中多项免疫相关指标合适的参考范围和临床价值。方法 采集 21~40 岁的 356 例成年健康女性外周血, 测定血常规、T 淋巴细胞亚群、自然杀伤(NK)细胞和 B 细胞的数量及百分比, 采用免疫比浊法对免疫球蛋白(Ig)进行分析, 采用 95% 置信区间表示各指标参考范围。结果 21~40 岁成年健康女性白细胞计数的参考范围为 $(3.71 \sim 9.47) \times 10^9/L$; $CD3^+ CD4^+$ 绝对数参考范围为 378.21~1 170.02 个/微升, 百分比参考范围为 23.73%~51.05%; NK 细胞数参考范围为 94.4~660.4 个/微升; IgA、IgG、IgM 的参考范围分别为 1.10~4.01 g/L、9.51~15.80 g/L 和 0.64~2.57 g/L。结论 该研究全面评估了成年健康女性外周血免疫相关指标的均数和中位数, 为基础研究和临床实验提供了较为规范的反映成年健康女性身体免疫状况的参考范围。

关键词:成人; 外周血; 免疫指标; 参考范围

中图分类号: R446.11

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2021)21-3120-04

Analysis of related indexes of peripheral blood immunity in adult healthy women

LIU Song¹, XU Chao¹, WEI Wei^{2△}

1. Guangzhou Ruiboin Health Technology Co., Ltd., Guangzhou, Guangdong 510700, China; 2. Guangdong Province Cord Blood Hematopoietic Stem Cell Bank, Guangzhou, Guangdong 510700, China

Abstract: Objective To explore the appropriate reference range and clinical value of multiple immune-related indicators in the peripheral blood of adult healthy women. **Methods** The peripheral blood of 356 adult healthy women aged 21—40 years old were collected, and the number and percentage of blood routine, T lymphocyte subsets, natural killer (NK) cells and B cells were measured. Immunoglobulin (Ig) was analyzed by immunoturbidimetry, and the reference range of each index was expressed by 95% confidence interval. **Results** The reference range of white blood cell count for healthy adult women aged 21—40 years old was $(3.71 - 9.47) \times 10^9/L$; the reference range of absolute number of $CD3^+ CD4^+$ was 378.21—1 170.02 cells/ μL , and the reference range of percentage was 23.73%—51.05%; The reference range of the absolute number of NK cells was 94.4—660.4 cells/ μL ; the reference ranges of IgA, IgG, IgM were 1.10—4.01 g/L, 9.51—15.80 g/L and 0.64—2.57 g/L, respectively. **Conclusion** The comprehensive evaluation of the mean and median of the immune-related indicators of the peripheral blood of adult healthy women provides a standard reference range for basic research and clinical trials to reflect the immune status of adult healthy women.

Key words: adult; peripheral blood; immune index; reference range

由于年龄增长及生活节奏加快等因素, 一些成年女性免疫力开始下降, 从而导致疾病的发生。研究表明, 人体免疫力在 20 岁左右会达到顶峰; 在 40 岁, 免疫力为顶峰时期的一半; 而过了 40 岁, 免疫力呈明显下降趋势^[1], 因此成年女性的健康状况也成了社会普遍关注和不容忽视的问题。人体免疫系统由免疫器官、免疫细胞和免疫分子组成, 其中许多免疫细胞(如白细胞等)和免疫分子均存在于血液中^[1]。因此, 检测血液中的各类免疫相关指标对评估机体的免疫功能有重要意义。

白细胞可通过不同方式和机制参与机体免疫反应, 检测白细胞、中性粒细胞和淋巴细胞等数量和分布情况有助于了解机体免疫功能变化情况。血液中淋巴细胞亚群的组成会随着性别、年龄的改变而改变, 并可能随着压力、体力活动, 操作者使用流式细胞仪的种类, 荧光抗体的种类和数量, 以及统计分析方法等发生变化^[2-4], 因此不同地域和年龄群体应建立属于本地域、年龄群体的参考区间。目前国内外在确定各种淋巴细胞亚群的绝对数及百分比时一般根据整体人群来衡量, 而尚未通过性别、年龄等进行区分,

作者简介: 刘松, 男, 研究员, 主要从事细胞免疫治疗相关研究。△ 通信作者, E-mail: wwwei@chinacord.org。

本文引用格式: 刘松, 许超, 魏伟. 成年健康女性外周血免疫相关指标的分析[J]. 检验医学与临床, 2021, 18(21): 3120-3123.

这相应程度上会导致一些误差。我国目前尚未建立针对 21~40 岁成年健康女性淋巴细胞亚群的参考值范围,且对成年健康女性血液免疫指标综合检测评估分析鲜见报道。为此,本研究选取了 356 例年龄在 21~40 岁的成年健康女性,对外周血常规指标包括 T 淋巴细胞亚群、自然杀伤(NK)细胞和 B 细胞的数量及百分比进行了检测,并对免疫球蛋白(Ig)水平进行了测定分析,旨在揭示该年龄段成年健康女性血液中多种免疫相关指标的参考范围,为临床免疫功能状态评估提供参考依据,并为后续开展免疫细胞疗法,提高成年女性免疫力奠定基础。

1 资料与方法

1.1 一般资料 招募 356 例成年健康女性献血者,无现病史、无免疫系统疾病史,年龄 21~40 岁,平均(32.32±6.52)岁。采集献血者外周血 4 mL,用乙二胺四乙酸抗凝,并于 12 h 内完成检测。

1.2 仪器与试剂 选用 Sysmex XN-2000 全自动血球计数仪及配套试剂进行血常规检测。FACS Calibur 流式细胞仪购自美国 BD 公司;Tri Test 三色试剂(CD3PerCP、CD4FITC、CD8PE),标准数量微球的 Tru Count 管,FACS 溶血素(10×)等产品均购自美国 BD 公司;Ig 检测试剂盒购自上海科华生物工程股份有限公司。

1.3 方法 将采集到的外周血立即送往血液学实验室,在 Sysmex XN-2000 全自动血球计数仪上测定白细胞计数(WBC)、淋巴细胞数(LYMPH #)、单核细胞数(MONO #)、嗜酸性粒细胞数(EO #)、嗜碱性粒细胞数(BASO #)和中性粒细胞数(NEUT #)。严格按照试剂盒的说明书操作,在流式细胞仪专用试管中加入荧光标记抗体 20 μL 及抗凝新鲜外周血 100 μL,充分震荡混匀,室温避光放置 20 min 染色;加入 450 μL FACS 溶血素(10×),充分混匀后避光放置 15 min;制备完成后 2 h 内上机用流式细胞仪分析外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞、B 细胞绝对数和百分比,并计算 CD4⁺/CD8⁺。Ig 采用免疫比浊法进行检测,检测方法按试剂盒说明书进行操作。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件对数据

进行处理和分析,各指标的参考范围以 95%置信区间表示。

2 结果

2.1 成年健康女性血细胞参数结果 对 356 例成年健康女性血常规进行检测,统计分析后得到各免疫相关指标的参考范围,结果见表 1。WBC 的均数为 6.59×10⁹/L,中位数为 6.33×10⁹/L,参考范围为(3.71~9.47)×10⁹/L;LYMPH # 的参考范围为(1.17~3.13)×10⁹/L,淋巴细胞百分比(LYMPH%)的参考范围为 22.22%~45.34%;MONO # 的参考范围为(0.26~0.73)×10⁹/L,单核细胞百分比(MONO%)的参考范围为 4.32%~9.46%。

2.2 成年健康女性外周血淋巴细胞结果 对外周血 T 淋巴细胞亚群进行分析,检测结果见表 2。结果显示,成年健康女性外周血 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞绝对数均数和 CD4⁺/CD8⁺ 的中位数分别为 1471.3 个/微升、774.12 个/微升、562.72 个/微升和 1.41。对成年健康女性外周血 NK 细胞和 B 细胞的检测结果见表 3,NK 细胞的参考范围为 94.40~660.40 个/微升,B 细胞的参考范围为 109.20~478.40 个/微升。

表 1 成年健康女性血细胞参数结果				
项目	均数	标准差	中位数	参考范围
WBC(×10 ⁹ /L)	6.59	1.44	6.33	3.71~9.47
LYMPH # (×10 ⁹ /L)	2.15	0.49	2.17	1.17~3.13
LYMPH%	33.44	7.59	33.50	22.22~45.34
MONO # (×10 ⁹ /L)	0.45	0.15	0.43	0.26~0.73
MONO%	6.92	1.75	7.00	4.32~9.46
EO # (×10 ⁹ /L)	0.13	0.12	0.09	0.03~0.42
EO%	2.03	1.80	1.40	0.41~5.90
BASO # (×10 ⁹ /L)	0.04	0.02	0.03	0.01~0.07
BASO%	0.58	0.28	0.50	0.20~1.10
NEUT # (×10 ⁹ /L)	3.81	1.20	3.64	2.19~5.86
NEUT%	57.19	8.47	56.50	44.12~70.46

注:EO%为嗜酸性粒细胞百分比;BASO%为嗜碱性粒细胞百分比;NEUT%为中性粒细胞百分比。

表 2 成年健康女性外周血 T 淋巴细胞结果							
参数	CD3 ⁺		CD3 ⁺ CD4 ⁺		CD3 ⁺ CD8 ⁺		CD4 ⁺ /CD8 ⁺
	绝对数(个/微升)	百分比(%)	绝对数(个/微升)	百分比(%)	绝对数(个/微升)	百分比(%)	
均数	1 471.30	70.43	774.12	37.39	562.72	26.74	1.50
标准差	366.89	7.20	197.93	6.83	196.49	6.19	0.55
中位数	1 440.00	72.00	744.00	37.00	527.00	26.00	1.41
参考范围	737.51~2 205.07	55.20~80.80	378.21~1 170.02	23.73~51.05	303.61~971.01	14.35~39.12	0.82~2.46

2.3 成年健康女性外周血清免疫指标结果 血清中 IgA、IgG 和 IgM 的平均水平分别为 2.32、12.66

和 1.62 g/L, 参考范围分别为 1.10~4.01 g/L、9.51~15.80 g/L 和 0.64~2.57 g/L。见表 4。

表 3 成年健康女性外周血 NK 细胞和 B 细胞结果

参数	NK 细胞 (个/微升)	NK%	B 细胞 (个/微升)	B%
均数	300.85	13.88	276.14	13.19
标准差	189.14	6.58	113.47	4.29
中位数	260.00	13.00	261.00	13.00
参考范围	94.40~660.40	6.00~31.00	109.20~478.40	7.00~22.60

注: NK% 为 NK 细胞百分比; B% 为 B 细胞百分比。

表 4 成年健康女性外周血血清免疫指标结果

项目	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)
均数	2.32	12.66	1.62
标准差	0.84	2.40	0.56
中位数	2.21	12.46	1.56
参考范围	1.10~4.01	9.51~15.80	0.64~2.57

3 讨 论

人体的免疫系统在机体中发挥着免疫防御、免疫自稳和免疫监视的功能^[6]。由于多重因素影响, 成年女性免疫系统状态受到越来越多的关注。针对 21~40 岁的成年健康女性, 目前尚未见到全面综合分析检测其外周血中多种免疫相关指标的报道, 因此了解该年龄段女性血液中免疫相关指标的水平 and 参考范围将为评价免疫系统状态和病情进展程度提供重要依据。

21~40 岁的成年健康女性容易受到外界因素干扰, 免疫机能出现变化, 因此初步确定该年龄段成年健康女性 WBC 各参数值有重要的医学参考价值。本研究结果显示, 21~40 岁的成年健康女性 WBC 参考范围为 (3.71~9.47) × 10⁹/L, 其范围与喻茂杰等^[6]分析的中国人人群成人静脉血细胞参考范围调查结果相近。但高于王麒等^[7]和李琴琴等^[8]的报道, 这可能是由于年龄段和样本量不同导致的差异。在血细胞分类计数方面, 本研究中 EO%、BASO%、MONO%、NEUT% 和 LYMPH% 的参考范围分别为 0.41%~5.90%、0.20%~1.10%、4.32%~9.46%、44.12%~70.46%、22.22%~45.34%。以中性粒细胞为例, 当机体遭受病毒感染时, NEUT% 会升高, WBC 会降低。而当机体遭受细菌感染时, NEUT% 会降低, WBC 反而会升高。因此, 关注体内血细胞中各类指标的百分比变化对疾病有辅助诊断意义。血细胞分类计数的参考方法主要有仪器法和手工分类法 2 种^[9]。仪器法由于操作简便而被绝大多数医院采用, 其通常直接采用仪器生产厂家给定的参考范围。实验室应对厂家的参考范围进行确认以评估是否符合实验室所检测群体。然而, 由于条件限制, 目

前多数医院 WBC 参考范围一般直接引用《全国临床检验操作规程》, 而该规程群体的年龄范围相对较广, 且没有地域、性别等条件限制^[9]。因此, 可能不适用于本研究限定的年龄段女性。本研究参考范围较目前临床常用的血细胞参考范围稍窄, 相对来说更能反映该年龄段成年女性的身体机能状态。

外周血淋巴细胞仅占人体总细胞数的 2%^[10], 且一些因素影响其再循环^[11], 但外周血中淋巴细胞亚群的计数对于评估免疫状态仍有重要意义。本研究结果显示 21~40 岁成年健康女性外周血 CD3⁺CD4⁺ 绝对数均数为 774.12 个/微升, 参考范围为 378.21~1 170.02 个/微升, CD3⁺CD8⁺ 绝对数均数为 562.72 个/微升, 参考范围为 303.61~971.01 个/微升, 该结果与国内研究报道的结果接近^[12]。有研究表明, 在性别上 T 淋巴细胞亚群表型分布有一定差异, CD3⁺CD4⁺ 绝对数女性要高于男性, 而 CD3⁺CD8⁺ 绝对数正好相反。本研究中成年健康女性 CD3⁺CD4⁺ 的绝对数均数要高于刘炳等^[12]报道的男性 CD3⁺CD4⁺ 绝对数均数, 而 CD3⁺和 CD3⁺CD8⁺ 绝对数均数及百分比在性别上没有差异。有研究表明, CD4⁺/CD8⁺ 降低会引起免疫功能障碍或免疫性疾病, 通常将 CD4⁺/CD8⁺ 的降低视为机体免疫功能低下的标志^[13]。本研究中, 21~40 岁成年健康女性的 CD4⁺/CD8⁺ 和惠怡华等^[14]报道的 27~90 岁女性接近, 而略高于男性, 说明 CD4⁺/CD8⁺ 不受年龄影响, 但在性别上会有一定差异。这一点同样在 GHAZIZADEH 等^[15]和 YAS-SIN 等^[16]的研究中得到印证, 虽没有数据明确证明, 但猜测原因可能是相较于男性, 女性能产生更多的脱氢表雄酮, 从而引起免疫反应上调。在 T 淋巴细胞的亚型中, NK 细胞是一类缺乏 CD3 表达, 主要表达 CD56 的细胞, 在人体中参与固有免疫反应。同样发挥免疫功能的是 B 细胞介导的体液免疫, 其在抗肿瘤及血液相关疾病中占据重要地位。本研究结果表明, 成年健康女性外周血中 NK 细胞均数和 B 细胞均数分别为 300.85 个/微升和 276.14 个/微升。惠怡华等^[14]统计了 278 例年龄在 60 周岁以上的健康成人外周血 NK 细胞均数, 结果发现, NK 细胞均数为 532.15 个/微升, 与本研究相比, NK 细胞均数随年龄增长呈明显升高趋势。此外, 外周血 B 细胞均数会随年龄增加而降低, 导致机体体液免疫功能降低, 有研究表明老年人 B 细胞均数会明显低于青少年和中年人, 抗体特异性和亲和力与之相比明显下降^[15]。由此可见, 密切关注机体中淋巴细胞变化对监控身体状况有着重要意义。免疫力低下患者往往伴随着 T 淋巴细胞亚群、B 细胞及 NK 细胞数量的变化, 检测外周血 T 淋巴细胞亚群、B 细胞及 NK 细胞数量有助于成年女性的免疫力状态评价。

Ig 是一组具有抗原活性的蛋白质。IgG 占血清中 Ig 总量的 65%~75%, 是再次免疫应答的主要抗

体。血清 Ig 的测定是检查体液免疫功能最常用的方法^[17]。IgA 可结合抗原并以无炎症形式将其清除。IgM 是个体发育过程中最早合成和分泌的抗体^[18]。IgG、IgA、IgM 的检测在之前多采用单向环状免疫扩散法,目前随着生化分析仪器的普及,灵敏度高,重复性好的免疫比浊法得到广泛应用。通过免疫比浊法检测,本研究结果显示 21~40 岁成年健康女性外周血 IgA、IgG 和 IgM 参考值分别为(2.32±0.84)g/L、(12.66±2.40)g/L 和(1.62±0.56)g/L。据班永宏等^[19]的报道,男性 IgA、IgG 和 IgM 的参考值分别为(2.06±0.85)g/L、(12.06±2.56)g/L、(45.00±0.71)g/L,与本研究相比,女性明显高于男性。在参考范围上,IgG 正常范围多沿用 11.52~14.22 g/L 或 7~16 g/L,IgA 正常范围多沿用 2.01~2.69 g/L 或 0.7~4.0 g/L,IgM 正常范围多沿用 0.84~1.32 g/L 或 0.4~2.3 g/L^[9,20]。按照一直沿用的《全国临床检验操作规程》、教科书及试剂说明书上的参考范围,健康人群与疾病人群间的数据存在着较多的重叠,且旧的参考范围比较笼统,男女均是一个范围,给患者和临床医生造成许多困惑与不便。因此,在制订参考范围时,若存在性别差异,应分别制订两性的参考范围。若存在年龄组间差异,还应进一步制订两性各年龄组的参考范围。

人体免疫系统是由无数个防御屏障组成的,它的主要作用就是保持人体免疫力。现如今由于药物使用不当、各种辐射源和各种放射性物质等不利因素的积累,最终有可能导致人体免疫系统出现紊乱,尤其是在一些成年女性中,机体免疫力降低的风险会更高。机体免疫功能评估有多种手段,其中外周血中免疫指标分析相对来说更加快捷、方便,因此,综合测量成年女性外周血中免疫相关指标对评估其健康状态有着重要意义。而且在实际检测中,由于年龄、地域,以及实验室采用不同的分析方法和仪器试剂也会导致检测结果存在差异。本研究检测结果及确定的参考范围为综合评估成年健康女性外周血中免疫相关指标提供了有效的参考数据,同时也可尚无参考值的实验室提供参考。

参考文献

- [1] KAUFMANN S H E. Immunology's coming of age[J]. Front Immunol, 2019, 10: 684.
- [2] NIU H Q, ZHAO X C, LI W, et al. Characteristics and reference ranges of CD4⁺ T cell subpopulations among healthy adult Han Chinese in Shanxi Province, North China[J]. BMC Immunology, 2020, 21(1): 44.
- [3] 赵美淇,崔英,梁新强,等. 肿瘤患者外周血 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞比例检测的临床意义[J]. 中国实验诊断学, 2019, 23(3): 381-384.

- [4] 谢爱敏. 外周血 T 淋巴细胞亚群检测在肿瘤中的价值[J]. 现代医用影像学, 2018, 27(5): 1629-1630.
- [5] 何震. 浅谈白细胞在免疫系统中的作用[J]. 化工中间体, 2019, 19(1): 182-183.
- [6] 喻茂杰,刘晓华,赵衍江,等. 成年健康人群静脉血细胞分析参考范围调查与临床检验学前瞻性研究[J]. 中国医药指南, 2013, 11(3): 245-246.
- [7] 王麒,温丽华. 津南区成人静脉血白细胞参数参考范围的调查[J]. 黑龙江医学, 2019, 43(4): 102-104.
- [8] 李琴琴,邢渊,宋金香,等. 天水地区成人静脉血血常规 24 项参数的正常参考值范围调查[J]. 中国临床实用医学, 2018, 9(2): 17-21.
- [9] 尚红,王毓三,申子瑜. 全国临床检验操作规程[M]. 4 版. 北京:人民卫生出版社, 2015.
- [10] KOKUINA E, BREFF-FONSECA M C, VILLEGAS-VAL VERDE C A, et al. Normal values of T, B and NK lymphocyte subpopulations in peripheral blood of healthy Cuban adults[J]. MEDICC Rev, 2019, 21(2/3): 16-21.
- [11] APOIL P A, PUISSANT-LUBRANO B, CONGY-JOLIVET N, et al. Reference values for T, B and NK human lymphocyte subpopulations in adults [J]. Data Brief, 2017, 12: 400-404.
- [12] 刘炳,郭欣,郑凡,等. 四川省宜宾地区健康成人外周血淋巴细胞亚群参考区间的建立[J]. 现代检验医学杂志, 2019, 34(5): 101-105.
- [13] SATO H, ADACHI E, LIM L A, et al. CD4/CD8 ratio predicts the cellular immune response to acute hepatitis C in HIV-coinfected adults[J]. J Infect Chemother, 2019, 25(8): 646-648.
- [14] 惠怡华,王海娜,戚宇锋,等. 山西省健康成年人淋巴细胞亚群正常参考值范围[J]. 中国生物工程杂志, 2019, 39(9): 41-49.
- [15] GHAZIZADEH H, BOHN M K, POLUS R K, et al. Comprehensive hematological reference intervals in a healthy adult male population[J]. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 2020, 66(2): 99-104.
- [16] YASSIN M A, SOLIMAN A T, ABBAS F, et al. Hematological indices reference intervals for healthy arab population in qatar: effect of age, gender, geographic location and ABO blood group[J]. Blood, 2020, 136(1): 22-23.
- [17] 刘昌全. 血清中免疫球蛋白检验在乙型肝炎诊治中的意义[J/CD]. 临床检验杂志(电子版), 2019, 8(2): 29-30.
- [18] 田嘉军,黄聘和,岳茜岚,等. 免疫力低下小鼠动物模型建立及快速检测研究[J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(3): 83-88.
- [19] 班永宏,徐光,李晔. 江苏地区健康人群中 3 种免疫球蛋白的参考值调查[J]. 检验医学与临床, 2015, 12(1): 45-47.
- [20] 王兰兰. 临床免疫学与检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2007.