

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.17.008

学龄前珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者外周血淋巴细胞亚群比例分析*

孔义华¹, 王显河¹, 师海瑞², 吴秋阳¹, 吴治平¹, 欧阳¹, 邹远芹¹

贵州医科大学第二附属医院:1. 检验科;2. 口腔科, 贵州凯里 556000

摘要:目的 探讨学龄前地中海贫血(简称地贫)基因携带者外周血淋巴细胞亚群比例分布情况。**方法** 选取该院 2020 年 1 月至 2022 年 1 月学龄前(年龄 ≤ 6 岁)地贫基因携带者 29 例作为研究组,另选择同期学龄前非地贫基因携带者 30 例作为对照组。检测两组的 T 淋巴细胞亚群比例、自然杀伤(NK)细胞比例和 B 淋巴细胞比例。**结果** 两组 CD3⁺T 淋巴细胞比例比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);研究组 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞比例和 CD4⁺/CD8⁺比值低于对照组,而 CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞比例高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。研究组 CD16⁺CD56⁺ NK 细胞比例低于对照组($P < 0.05$)。研究组 CD19⁺B 淋巴细胞比例高于对照组($P < 0.05$)。**结论** 学龄前地贫基因携带者外周血淋巴细胞亚群比例存在明显异常,临床加强对外周血淋巴细胞亚群比例的检测有利于及时评估患儿免疫状况并进行有针对性的干预治疗。

关键词: 学龄前儿童; 珠蛋白生成障碍性贫血基因携带者; 淋巴细胞亚群

中图分类号:R446

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)17-2493-03

Analysis of peripheral blood lymphocyte subsets ratio in preschool thalassemia gene carriers*KONG Yihua¹, WANG Xianhe¹, SHI Hairui², WU Qiuyang¹, WU Zhiping¹, OU Yang¹, ZOU Yuanqin¹

1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Stomatology, the Second Affiliated Hospital of Guizhou Medical University, Kaili, Guizhou 556000, China

Abstract: Objective To investigate the ratio distribution of peripheral blood lymphocyte subsets in preschool thalassemia gene carriers. **Methods** A total of 29 preschool (age ≤ 6 years old) thalassemia gene carriers from January 2020 to January 2022 were selected as study group, and 30 cases of preschool non-thalassemia gene carriers in the same period were selected as control group. The ratios of T lymphocyte subsets, natural killer(NK) cells and B lymphocytes were compared between the two groups. **Results** The ratio of CD3⁺T lymphocytes was no significant difference between the two groups ($P > 0.05$). The ratios of CD3⁺CD4⁺T lymphocytes and CD4⁺/CD8⁺ in the study group were lower than those in control group, while the ratio of CD3⁺CD8⁺T lymphocytes was higher than that in control group, and the differences were statistically significant ($P < 0.05$). The ratio of CD16⁺CD56⁺ NK cells in study group was lower than that in control group ($P < 0.05$). The ratio of CD19⁺B lymphocytes in study group was higher than that in control group ($P < 0.05$). **Conclusion** There are obvious abnormalities in the ratio of peripheral blood lymphocyte subsets of preschool thalassemia gene carriers. Strengthening the detection of the proportion of lymphocyte subsets of peripheral blood in clinical practice is conducive to evaluating the immune status of children in time and carrying out targeted intervention treatment.

Key words: preschool children; thalassemia gene carriers; lymphocyte subsets

珠蛋白生成障碍性贫血(简称地贫)是一种遗传性溶血性疾病,在我国南方特别是广西最为高发,好发于婴幼儿。可采用血红蛋白电泳等血液学常规手段检出中间型和重型地贫,但无症状地贫基因携带者通常在日常生活和工作中很难被发现^[1-3],这部分患儿多以感染、发烧等症状入院就诊,这些症状极易诱发急性溶血发作,导致患儿生长发育受影响^[4-6]。地

贫的发生、转归与免疫功能密切相关,故监测学龄前儿童地贫基因携带者的免疫功能是否存在异常就显得尤为重要,加之有症状的患儿需反复、长期输血维持生命,可能造成患儿免疫功能异常,但这方面鲜有报道。目前临床评价机体免疫功能是否异常,主要是通过观察其淋巴细胞亚群水平。基于此,本研究探讨了学龄前地贫基因携带者外周血淋巴细胞亚群水平

* 基金项目:贵州省黔东南州科技计划项目[黔东南科合J字(2019)037号]。

作者简介:孔义华,男,副主任技师,主要从事血液病实验室诊断研究。

变化。现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取本院 2020 年 1 月至 2022 年 1 月学龄前地贫基因携带者 29 例作为研究组,其中男 17 例,女 12 例;年龄 1~5 岁,平均(2.72±1.49)岁。另选择本院同期学龄前非地贫基因携带者 30 例作为对照组,其中男 21 例,女 9 例;年龄 3 个月至 5 岁,平均(2.36±1.38)岁。研究组纳入标准:(1)年龄≤6 岁;(2)确诊为携带地贫基因(包括输血治疗患儿);(3)β 地贫基因 CD41-42、CD43、IVS-II-654、CD17、CD14-15、-28、-29、-30、-32、CD71-72、βE、IVS1-1、CD27-28、CAP、Int、CD31、IVS1-5 检出为阳性;(4)α 地贫基因^{-SEA}、^{-α^{3.7}}、^{-α^{4.2}}、CS、QS、WS 检测为阳性。排除标准:除携带地贫基因外合并其他疾病。两组患儿性别、年龄比较,差异无统计学意义($P>0.05$),有可比性。

1.2 方法 (1)分别向已编号的流式管中加入 50 μL 充分混匀的抗凝全血。(2)加入 20 μL CD3⁺/CD8⁺/CD45⁺/CD4⁺/CD16⁺/CD56⁺/CD19⁺,涡旋混匀,室温避光放置 15~20 min。流式细胞仪-6 色试剂(BD

生物科技有限公司)包括小鼠抗人 CD3-FITC、小鼠抗人 CD4-PE-Cy7、小鼠抗人 CD8-APC-Cy7、小鼠抗人 CD45-PerCP、小鼠抗人 CD19-APC。(3)溶血: FACS Lysing Solution(按说明书进行原液 10 倍纯净水稀释后使用)稀释的溶血素每管加 450 μL 混匀后避光室温放置,溶血 15 min。(4)24 h 内上机用 FACSCanto Clinical 软件获取 2 500 个淋巴细胞进行检测,上机前应充分混匀。

1.3 观察指标 (1)观察两组 T 淋巴细胞亚群比例;(2)观察两组自然杀伤(NK)细胞比例;(3)观察两组 B 淋巴细胞比例。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 26.0 统计软件分析数据。符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 t 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 T 淋巴细胞亚群比例比较 两组 CD3⁺T 淋巴细胞比例比较,差异无统计学意义($P>0.05$);研究组 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞比例和 CD4⁺/CD8⁺ 比值低于对照组,而 CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞比例高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 两组 T 淋巴细胞亚群比例比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ T 淋巴细胞(%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ T 淋巴细胞(%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ T 淋巴细胞(%)	CD4 ⁺ T 淋巴细胞/CD8 ⁺ T 淋巴细胞
研究组	29	63.82±3.45	33.28±1.65	25.31±2.08	1.37±0.17
对照组	30	63.78±2.19	36.26±1.89	22.70±1.76	1.61±0.13
<i>t</i>		0.053	6.443	5.210	6.104
<i>P</i>		0.958	<0.001	<0.001	<0.001

2.2 两组 CD16⁺CD56⁺NK 细胞、CD19⁺B 淋巴细胞比例比较 研究组 CD16⁺CD56⁺NK 细胞比例低于对照组($P<0.05$);研究组 CD19⁺B 淋巴细胞比例高于对照组($P<0.05$)。见表 2。

表 2 两组 CD16⁺CD56⁺NK 细胞、CD19⁺B 淋巴细胞比例比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD16 ⁺ CD56 ⁺ NK 细胞(%)	CD19 ⁺ B 淋巴细胞(%)
研究组	29	9.07±1.16	25.53±2.48
对照组	30	12.35±2.67	22.60±2.16
<i>t</i>		6.083	4.844
<i>P</i>		<0.001	<0.001

3 讨论

地贫是世界范围内较常见的常染色体隐性单基因遗传病,已被世界卫生组织列为危害人类健康的 6 种常见病之一,其主要是珠蛋白基因异常导致血红蛋白中的一种或几种珠蛋白肽链合成减少或不能合成,使血红蛋白的 α 链和 β 链蛋白比例失衡,导致急、慢性进行性溶血性贫血,严重影响患儿身心健康^[7-13]。有症状的地贫患儿需定期输血维持生命,但长期输血

会造成患儿体内铁超负荷,损害免疫系统,如降低补体系统活性、抑制中性粒细胞的吞噬作用等^[14-17]。而这种疾病不仅造成患儿贫血、黄疸及生长迟缓等,甚至会产生肝脾肿大、髓外造血等严重并发症,严重者甚至致死或致残。同时患儿多次输血治疗,机体受抗原反复刺激后,免疫细胞处于疲惫状态,易出现免疫反应异常,引起反复感染等。因此,检测淋巴细胞亚群比例评估有症状和无症状地贫基因携带者的免疫状态就显得尤为重要。

淋巴细胞亚群作为机体免疫系统的重要组成部分,参与机体的体液免疫与细胞免疫反应。淋巴细胞亚群比例主要用于评估机体的免疫状态,淋巴细胞总数与疾病发生及免疫功能强弱有关。正常情况下,淋巴细胞亚群比例在周围组织中相对稳定,但若机体出现免疫状态变化,则会导致淋巴细胞亚群比例随之发生相应变化^[18]。

检测淋巴细胞亚群比例是检测淋巴细胞中的 CD3⁺T 淋巴细胞(包含 CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞和 CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞)、CD19⁺B、CD16⁺56⁺NK 3 类细胞亚群水平。目前有关学龄前地贫基因携带者

淋巴细胞亚群比例及免疫状态评估的研究较少见。有研究发现,成人的地贫患者与健康对照组相比,其 CD3⁺ T 淋巴细胞比例、CD4⁺ T 淋巴细胞比例、CD4⁺/CD8⁺ 比值显著低于对照组^[19],而本研究结果发现学龄前地贫患儿 CD3⁺ T 淋巴细胞比例与对照组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),CD3⁺ CD8⁺ T 淋巴细胞和 CD19⁺ B 淋巴细胞比例高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。这可能与患儿长期免疫系统功能降低,易受到外来病原体感染,进而刺激 B 淋巴细胞和 CD3⁺ CD8⁺ T 淋巴细胞增殖分化,其中 CD19⁺ B 淋巴细胞增殖分化产生较多免疫球蛋白抵御感染。

本研究结果显示,CD16⁺ CD56⁺ NK 细胞、CD3⁺ CD4⁺ T 淋巴细胞比例和 CD4⁺/CD8⁺ 比值低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$),提示学龄前携带地贫基因患儿的免疫功能降低,可能是地贫患儿反复感染的原因之一。

检测学龄前地贫基因携带者淋巴细胞亚群比例可以动态掌握其免疫状态,并及时调整患儿抗感染及营养补充方案,避免患儿因反复感染和免疫力低下造成生长迟缓及脏器受损等。

综上所述,学龄前地贫基因携带者外周血淋巴细胞亚群比例与健康儿童之间存在明显差异,表明学龄前地贫基因携带者的免疫功能存在紊乱。临床加强对 CD3⁺ CD4⁺ T 淋巴细胞和 CD3⁺ CD8⁺ T 淋巴细胞、CD16⁺ 56⁺ NK、CD19⁺ B 淋巴细胞比例的检测,监测其比例变化,有利于及时评估患儿免疫状况并进行有针对性的干预治疗,对降低患儿的感染风险、提高其生存质量意义重大。

参考文献

- [1] GRECH L, SULTANA J, BORG K, et al. Drug safety in thalassemia: lessons from the present and directions for the future[J]. Expert Opin Drug Saf, 2021, 20(8): 937-947.
- [2] 宋琪玲, 郭杨柳, 何勇均, 等. RDW 筛查地中海贫血诊断界值的建立及其与 MCV、MCH、HbA2 联合筛查的价值[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(3): 847-852.
- [3] TAHER A, BOU-FAKHREDIN R, KATTAMIS A, et al. Improving outcomes and quality of life for patients with transfusion-dependent β -thalassemia: recommendations for best clinical practice and the use of novel treatment strategies[J]. Expert Rev Hematol, 2021, 14(10): 897-909.
- [4] 王芳, 张汝益, 邓东阳, 等. 贵阳地区地中海贫血基因突变类型及民族分布特点分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(6): 1887-1891.
- [5] 余晖, 杨清香, 刘春, 等. 湘西土家族苗族自治州 22 940 例孕妇地中海贫血筛查结果分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2022, 30(1): 206-210.
- [6] 左欣盟, 苏萍, 于小雯, 等. 二代基因测序技术在地中海贫血筛查中的应用[J]. 实用妇产科杂志, 2022, 38(2): 146-149.
- [7] CORDA V, MURGIA F, DESSOLIS F, et al. Professionally responsible management of the ethical and social challenges of antenatal screening and diagnosis of β -thalassemia in a high-risk population[J]. J Perinat Med, 2021, 49(7): 847-852.
- [8] 杨春兰, 王晓东, 周小辉, 等. 重型地中海贫血患儿造血干细胞移植术后心包积液临床特征及危险因素分析[J]. 中华儿科杂志, 2022, 60(4): 323-328.
- [9] 陈年坤, 李仲均, 黄莺莺, 等. 轻型 β 地中海贫血合并缺铁性贫血与单纯缺铁性贫血孕妇补铁治疗前后铁代谢参数变化的特点[J]. 实用医学杂志, 2022, 38(3): 340-343.
- [10] 赵红英, 叶茜, 王海霞, 等. 云南省红河州 141 例 α 地中海贫血患者基因检测结果的分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2021, 29(2): 596-602.
- [11] 李思闯, 李秋红, 易四维, 等. 重庆地区育龄人群地中海贫血不同基因型血液学特征的分析[J]. 中国实验血液学杂志, 2022, 30(1): 211-216.
- [12] 陆婧媛, 林进宗, 陈凌, 等. 非冻存同胞脐血干细胞移植治疗儿童重型地中海贫血症 9 例[J]. 中华器官移植杂志, 2022, 43(3): 151-155.
- [13] 刘荟敏, 张江召, 臧思斌. 湖北荆州地区 193 例地中海贫血基因型分析[J]. 临床内科杂志, 2022, 39(3): 200-201.
- [14] 何丹, 顾华妍, 张海燕, 等. 重庆市土家族和苗族育龄人群地中海贫血基因检测结果分析[J]. 中华地方病学杂志, 2021, 40(2): 109-113.
- [15] 余永雄, 陈唯, 陈洁, 等. 广西梧州地中海贫血流行现状及罕见基因型研究[J]. 临床检验杂志, 2022, 40(1): 74-76.
- [16] 王新燕, 刘建华. 北京地区地中海贫血基因的调查分析[J]. 标记免疫分析与临床, 2022, 29(2): 221-223.
- [17] 李东明, 何升. 30417 例儿童地中海贫血基因类型分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2021, 23(8): 841-847.
- [18] 黄佐梁, 梁兰芬, 梁柳玲. α 地中海贫血患儿免疫球蛋白与 T 淋巴细胞的价值与意义[J]. 中国优生与遗传杂志, 2015, 23(6): 111-112.
- [19] 覃安志, 杨贵彬, 黄宏全, 等. 地中海贫血外周血 T 淋巴细胞亚群的研究[J]. 中华血液学杂志, 1995(8): 422-423.

(收稿日期: 2022-12-29 修回日期: 2023-04-08)