

肺结核患者外周血 CD4⁺T 细胞的表达 和相关因素 Logistic 回归评估*

杨玉婷¹, 周 芬¹, 华彦珺¹, 顾国林¹, 张晓龙², 陈 慧¹, 胥 萍¹

(1. 苏州市第五人民医院检验中心, 江苏苏州 215007;

2. 苏州市疾病预防控制中心, 江苏苏州 215007)

摘要:目的 探讨肺结核患者外周血 CD4⁺T 细胞的表达, 并对相关因素进行 Logistic 回归评估。方法 对 2014 年 3 月~8 月期间苏州市第五人民医院肺科住院病例 141 例, 分肺结核患者组(95 例, 男性 71 例, 女性 24 例, 平均年龄 48.47±20.34)和肺部非结核疾病患者组(46 例, 男性 32 例, 女性 14 例, 平均年龄 44.04±18.31), 确诊后采取外周血 3 ml 经 EDTA-K₂ 抗凝, 采用流式细胞仪进行外周血 CD4⁺T 细胞亚群检测; 采用五分类血常规仪检测外周血白细胞总数、淋巴细胞比率, 从而计算 CD4⁺T 细胞的绝对数。采用 SPSS 19.0 软件进行统计分析。连续性变量正态分布用均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较用成组设计资料的 *t* 检验; 非正态分布采用中位数表示, 两组间比较用非参数检验中的秩和检验; 计数资料两组率的比较用 χ^2 检验, 采用多因素的非条件 Logistic 回归分析, 计算不同 CD4⁺T 细胞水平下发生肺结核危险的比值比。结果 ①肺结核组与肺部非结核疾病组 CD4⁺T 细胞绝对数分别为 313.20(189.90, 418.00), 400.81(278.84, 541.37), 采用非参数检验中的秩和检验分析, 两组间差异有统计学意义($P=0.003$); ②肺结核患者多因素(性别、年龄)的非条件 Logistic 回归分析发现, CD4⁺T 细胞绝对数与肺结核的关联性具有统计学意义($P=0.009$), 而淋巴细胞总数与肺结核无关联性。③以 CD4⁺T 细胞最低四分位(肺结核 CD4⁺T 细胞 $<217.4 \times 10^9$)分四组进行非条件 Logistic 回归分析, 结果显示发生肺结核的危险性随 CD4⁺T 细胞水平的增加而呈现下降趋势, 每两组间差异具有统计学意义($P=0.034, 0.010, 0.003$), 且经多因素(性别、年龄)调整后这种差异依然存在($P=0.038, 0.012, 0.005$)。结论 CD4⁺T 细胞可作为评价肺结核的鉴别指标及其危险性趋势的辅助指标, 有利于临床对肺结核病的发生发展进行免疫治疗及预防。

关键词:肺结核; CD4⁺T 细胞; Logistic 回归分析

中图分类号: R521; R392.12 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2016)02-090-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.02.027

Expression of CD4⁺T Cells in Peripheral Blood of Patients with Pulmonary Tuberculosis and the Assessment of Related Factors by Logistic Regression

YANG Yu-ting¹, ZHOU Fen¹, HUA Yan-jun¹, GU Guo-lin¹, ZHANG Xiao-long²,

CHEN Hui¹, XU Ping¹ (1. Department of Clinical Laboratory,

the Fifth People's Hospital of Suzhou, Jiangsu Suzhou 215007, China;

2. Suzhou Center for Disease Control and Prevention, Jiangsu Suzhou 215007, China)

Abstract: **Objective** To study the expression of CD4⁺T cells in peripheral blood of pulmonary tuberculosis patients and assess the related factors by Logistic regression mode. **Methods** 141 inpatients (March -August, 2014) from pulmonary medicine department of the Fifth People's Hospital of Suzhou were divided into two groups. Group 1 contains 95 pulmonary tuberculosis patients (71 cases for male and 24 cases for female, mean age: 48.47±20.34) and group 2 included 46 lung infection patients (32 cases for male and 14 cases for female, mean age: 44.04±18.31). Took 3 ml of EDTA anti-coagulated peripheral blood from every patient and determined the percentage of CD4⁺T cells in through flow cytometry. Using five classification blood test instrument, WBC and lymphocyte ratio in the peripheral blood was detected to calculate the absolute number of CD4⁺T cells. Used SPSS 19.0 software to make the statistical analysis. Normal distribution of continuous variables was expressed as mean±standard deviation and two groups were compared by T test for group design data. Non-normal distribution was expressed by the median and two groups were compared by rank sum test in non-parametric test. Compared the rate of two groups by χ^2 test and calculated the odds ratio of the tuberculosis risk in different level of CD4⁺T cells from non-conditional logistic regression analysis of multiple factors. **Results** ①The count of CD4⁺T cells in patients with pulmonary tuberculosis was 313.20 (189.90, 418.00) while in patients with lung infections was 400.81 (278.84, 541.37). Use of rank sum test in non-parametric test showed a significant difference in the count of CD4⁺T cells between pulmonary tuberculosis and lung infections patients ($P=0.003$). ②Non-conditional logistic regression analysis of multiple factors (gender, age) in

* 作者简介: 杨玉婷(1989-), 女, 学士学位, 检验师, E-mail: 240745119@qq.com。

pulmonary tuberculosis patients showed that the count of $CD4^+$ T cells was associated with pulmonary tuberculosis infection ($P=0.009$), while the total number of lymphocytes wasn't associated. ③ Making $CD4^+$ T cells to the lowest quartile (TB $CD4^+$ T cells $<217.4 \times 10^9$) as a reference, 141 cases were divided into four groups. The results obtained from non-conditional logistic regression analysis showed that the risk of pulmonary tuberculosis infection decreased with the increased levels of $CD4^+$ T cells. The difference between the groups was statistically significant ($P=0.034, 0.010, 0.003$) and even after multiple factors (gender, age) were adjusted, the result remained same ($P=0.038, 0.012, 0.005$). **Conclusion** $CD4^+$ T cells can be used as an auxiliary indicator for both the identification and the susceptibility of tuberculosis. Detecting $CD4^+$ T cells not only contribute to the treatment of tuberculosis but also prevent the occurrence of tuberculosis.

Keywords: pulmonary tuberculosis; $CD4^+$ T cells; logistic regression analysis

结核病是由结核分枝杆菌引起的慢性传染病,可累及全身多个脏器,但以肺结核最为常见^[1]。结核病的发生、发展和转归不仅与结核分枝杆菌的数量、毒力有关,而且与宿主细胞的免疫功能有密切关系^[2]。而结核病免疫是以 $CD4^+$ T 淋巴细胞介导为主的细胞免疫应答,张健等^[3,4] 研究发现 $CD4^+$ T 淋巴细胞在控制结核感染时有一定的独立性,该群细胞对结核病的发生、发展及愈后具有重要意义。我院是苏州市结核病定点收治医院,收集2014年3月~8月期间住院病例141例,对外周血中 $CD4^+$ T 细胞的表达进行分析,探讨 $CD4^+$ T 淋巴细胞与结核感染的相关性。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2014年3月~8月期间苏州市第五人民医院肺科住院病例141例,依据肺结核诊断标准(WS 288~2008),其中肺结核患者95例其中男性71例,女性24例,平均年龄 48.47 ± 20.34 ;肺部非结核疾病患者46例,其中男性32例,女性14例,平均年龄 44.04 ± 18.31 。

1.2 试剂和仪器

1.2.1 主要试剂: $CD3$ -APC, $CD4$ -PerCP, Mouse IgG1-PerCP 以及溶血素均购自美国 BD 公司,五

分类血常规仪 XE2100 配套试剂购自日本 Sysmex 公司。

1.2.2 仪器: FACS Calibur 流式细胞仪购自美国 BD 公司,五分类血常规仪 XE2100 购自日本 Sysmex 公司。

1.3 方法

1.3.1 标本的采集: 检测标本采用 EDTA- K_2 真空采血管(BD 公司)采集静脉血 3 ml, 新鲜标本 6 h 内做检测处理。

1.3.2 $CD3^+$ $CD4^+$ T 细胞表型的分析: $CD3$ -APC, $CD4$ -PerCP 测定标本的处理: 取对照与测定两管, 分别加入全血 100 μ l, 对照管依次加入 $CD3$ -APC 10 μ l, Mouse IgG1-PerCP 10 μ l, 测定管依次加入 $CD3$ -APC 10 μ l, $CD4$ -PerCP 10 μ l。室温避光孵育 15 min, 加入 FACS 1:10 稀释溶血素 2 ml, 混匀, 室温避光反应 15~20 min, 依据细胞溶血效果而定。1 300 r/min 离心 5 min, 弃上清液。加 PBS 2 ml 混匀, 1 300 r/min 离心 5 min, 弃上清液。加入 PBS 500 μ l 重悬, 应用流式细胞仪 CELLQUEST 软件, 设门于淋巴细胞, 再以淋巴细胞为门圈出 $CD3^+$ $CD4^+$ T 细胞, 见图 1。

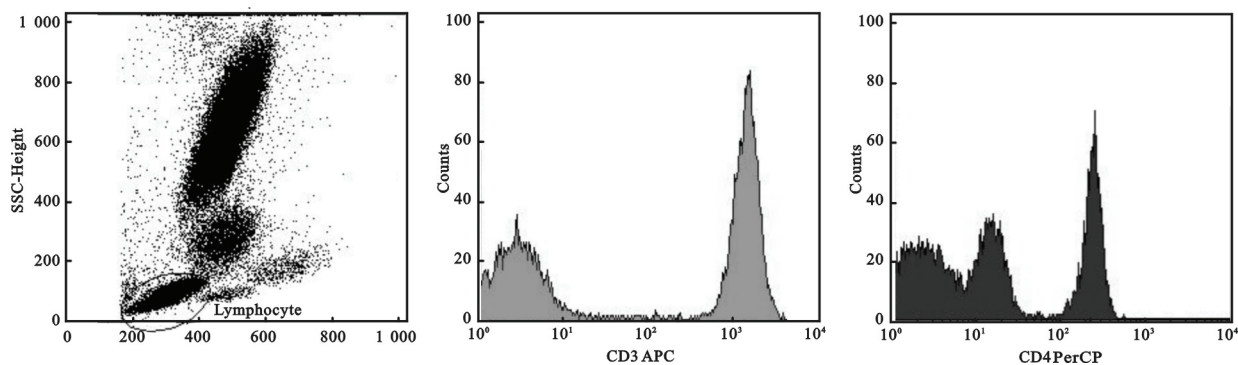


图1 $CD4^+$ T 细胞检测方案

同一管血采用五分类血常规仪 XE2100 测淋巴细胞, 通过白细胞总数、淋巴细胞比率, 计算 $CD4^+$ T 细胞的绝对数。

1.4 统计学分析 用 SPSS 19.0 软件进行统计分

析。连续性变量正态分布用均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 两组间比较用成组设计资料的 t 检验; 非正态分布采用中位数(四分位间距)表示, 两组间比较用非参数检验中的秩和检验; 计数资料两组率的比

较用 χ^2 检验,采用多因素的非条件 Logistic 回归分析,计算不同 CD4⁺T 细胞水平下发生肺结核危险的比值比(odds ratio, OR)和 95%可信区间(95% confident interval, 95% CI)。统计检验的水准为差异有统计学显著性意义($P < 0.05$)。

2 结果

2.1 肺结核组淋巴细胞计数 见表 1。CD4⁺T

表 1 肺结核组与非结核肺部疾病组一般特征比较

项 目	肺结核组($n=95$)	肺部非结核疾病组($n=46$)	检验统计量	P 值
年龄(岁)	48.47±20.34	44.04±18.31	1.251	0.215
男性[$n(\%)$] [#]	71(74.1)	32(69.6)	0.421	0.516
淋巴细胞($\times 10^9$) [*]	0.920(0.66, 1.25)	1.105(0.81, 1.43)	-2.168	0.039
CD4($\times 10^9$) [*]	313.20(189.90, 418.00)	400.81(278.84, 541.37)	-2.876	0.003

注: [#] 女性在肺结核组(25.9%)和肺部非结核疾病组(30.4%)中的差异无统计学意义(χ^2 值=0.421, $P=0.516$)。* 该变量为非正态分布,用中位数(25%分位数, 75%分位数)表示。

2.2 肺结核患者一般特征与肺结核发病的关联性进行非条件 Logistic 回归分析 见表 2。结果显示,经单因素 Logistic 回归分析,淋巴细胞水平和 CD4⁺T 细胞水平每升高 1 个单位,发生肺结核危

细胞绝对数均低于肺部感染组,其秩和检验统计量 z 值分别为 -2.168, -2.876, 差异均有统计学意义($P=0.039, 0.003$),而年龄(t 值=1.251)、性别(χ^2 值=0.421)因素对 CD4⁺T 细胞的影响在肺结核组和肺部非结核疾病组之间差异均无统计学意义($P=0.215, 0.516$)。

险的 OR 值(95%CI)分别为 0.432(0.191, 0.974)和 0.997(0.995, 0.999),经多因素调整后发现,仅有 CD4⁺T 细胞与肺结核的关联性差异具有统计学意义($P=0.009$)。

表 2 以肺结核患者各因素分四组进行非条件 Logistic 回归分析

项 目	单因素		多因素调整 [*]	
	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值
年龄(岁)	1.012(0.993, 1.030)	0.212	1.011(0.993, 1.030)	0.228
男性[$n(\%)$] [#]	1.294(0.593, 2.824)	0.517	1.251(0.570, 2.747)	0.577
淋巴细胞($\times 10^9$)	0.432(0.191, 0.974)	0.043	0.466(0.203, 1.071)	0.072
CD4($\times 10^9$)	0.997(0.995, 0.999)	0.005	0.997(0.995, 0.999)	0.009

注: [#] 女性在回归模型中赋值 0, 男性赋值 1。* 多因素调整包括性别、年龄。

2.3 以 CD4⁺T 细胞最低四分位(肺结核 CD4⁺T 细胞 $< 217.4 \times 10^9$)为参考分四组进行非条件 Logistic 回归分析 见表 3。结果显示肺结核发生的危险性随 CD4⁺T 细胞水平的增加而呈现下降趋

势(趋势性检验 $P=0.002$)。经多因素调整后,这种趋势依然存在,相邻两组间差异均有统计学意义($P=0.005$)。

3 讨论 结核病是严重危害公众健康的全球性公

表 3 以肺结核患者 CD4⁺T 细胞四分位分组进行非条件 Logistic 回归分析

CD4($\times 10^9$)	单因素		多因素调整 [*]	
	OR(95%CI)	P 值	OR(95%CI)	P 值
≤ 217.40	1		1	
217.41~344.00	0.258(0.074, 0.901)	0.034	0.261(0.073, 0.928)	0.038
344.01~472.05	0.194(0.056, 0.670)	0.010	0.196(0.055, 0.704)	0.012
≥ 472.06	0.153(0.045, 0.527)	0.003	0.156(0.043, 0.569)	0.005
趋势性检验	$P=0.002$		$P=0.005$	

注: * 多因素调整包括性别、年龄。

共卫生问题。结核病的发生、发展和转归与宿主细胞的免疫功能密切相关。成熟的 T 细胞经血流定

居于胸腺,经淋巴管、外周血和组织液等进行再循环,发挥细胞免疫及免疫调节等功能。而 CD4⁺T

细胞是机体针对结核分枝杆菌的主要免疫细胞,对结核分枝杆菌感染起保护性免疫作用^[5],而结核病患者多数有免疫功能抑制,细胞免疫功能低下等^[6]。故本研究就 CD4⁺ 细胞在肺结核患者外周血中的表达进行分析。

本研究发现,我院 141 例肺科住院病例中,肺结核组 CD4⁺T 细胞绝对数低于肺部非结核疾病组,差异有统计学意义。同时,经单因素 Logistic 回归分析及经多因素调整,CD4⁺T 细胞与肺结核的关联性具有统计学意义,且发生肺结核的危险性随 CD4⁺T 细胞水平的增加而呈现下降趋势。虽然有文献显示^[7],肺结核初治组外周血中 DPT (CD4⁺CD8⁺T 细胞)表达明显高于健康组人群,肺结核初治组外周血 DPT 高于治愈组,且随着治疗时间延长,DPT 细胞逐渐减少。但由于 CD4⁺CD8⁺T 细胞在外周血表达比例<5%,较 CD4⁺T 细胞在外周血的比例(40%~60%)可以忽略,与本研究并不矛盾。机体感染结核时,结核病变部位、单核巨噬细胞、CD4⁺T 细胞、中性粒细胞等均可发生凋亡,作为保护机制,细胞凋亡使结核分枝杆菌丧失了原有生存环境,可导致细菌活力的降低,同时清除炎症部位的感染细胞,此外,细胞凋亡还可抑制结核分枝杆菌生长和复制,从而控制结核分枝杆菌感染^[8,9],肺结核患者外周血确实存在 CD4⁺T 细胞减少的现象,与本研究一致,同时,本研究还发现 CD4⁺T 细胞的增加伴随肺结核危险性趋势的下降。有文献显示^[10],结核病患者都存在着不同程度的营养不良,营养不良又导致免疫功能受损,而且结核病患者营养不良程度与免疫系统的受损程度相关,从而使结核病患者病情恢复减慢,出现恶性循环。故对机体免疫有调节作用的 CD4⁺T 细胞可作为肺结核区别于其他肺部非结核疾病的辅助鉴别指标,通过结核病患者抗结核治疗的同时加强营养支持,增强免疫力,提高 CD4⁺T 细胞,以利于患者健康恢复,打破这种恶性循环。

综上所述,CD4⁺T 细胞可作为患肺结核危险性趋势的辅助指标,也可作为肺结核的辅助鉴别指标,从而更好地预防肺结核的发生,更有助于肺结核患者的治疗。

参考文献:

- [1] 张健,王昕升,王宝英,等.肺结核患者血中 CD95 与 PD-1,PD-L1 的检测与分析[J].现代检验医学杂志,2013,28(1):103-105.
Zhang J, Wang XS, Wang BY, et al. Detection and analysis of CD95 and PD-1, PD-L1 in the peripheral blood from pulmonary tuberculosis patients[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(1):103-105.
- [2] 王庆枫,韩喜琴,陈玉玲,等.肺结核患者 T 淋巴细胞

亚群的检测及临床意义[J].北京医学,2013,35(12):14-16.

Wang QF, Han XQ, Chen YL, et al. Expression and clinical significance of peripheral-blood T lymphocyte subsets in patients with pulmonary tuberculosis[J]. Beijing Medical Journal, 2013, 35(12):14-16.

- [3] 张健,王宝英,王昕升,等.肺结核病人 T 淋巴细胞亚群的变化研究[J].现代检验医学杂志,2013,28(4):104-105,107.
Zhang J, Wang BY, Wang XS, et al. Study on changes of T-lymphocyte subsets in patients with pulmonary tuberculosis[J]. J Mod Lab Med, 2013, 28(4):104-105,107.
- [4] Sharami SH, Afrakhteh M, Shakiba M. Urinary tract infections in pregnant women with bacterial vaginosis[J]. Journal of Obstetrics and Gynaecology, 2007, 27(3):252-254.
- [5] 胥萍,施美华,费晓峰,等.肺结核患者外周血中 Th 细胞极化偏移及临床意义分析[J].中国免疫学杂志,2010,26(2):178-181,185.
Xu P, Shi MH, Fei XF, et al. Study on T helper cells in the patients of pulmonary tuberculosis and the clinical significance of Th polarization[J]. Chinese Journal of Immunology, 2010, 26(2):178-181,185.
- [6] 胥萍,施美华,费晓峰,等.肺结核患者外周血树突状细胞和 T 辅助细胞水平的变化及其临床意义[J].苏州大学学报医学版,2010,30(1):114-117,137.
Xu P, Shi MH, Fei XF, et al. Study of dendritic cells and Th cells in the patients with pulmonary tuberculosis[J]. Suzhou University Journal of Medical Science, 2010, 30(1):114-117,137.
- [7] 廖春信,方毅敏,詹晓霞,等.肺结核患者外周血 CD4⁺CD8⁺T 细胞的检测及临床意义[J].中华微生物学和免疫学杂志,2014,34(10):781-786.
Liao CX, Fang YM, Zhan XX, et al. Alteration of CD4⁺CD8⁺T cell in peripheral blood of patients with tuberculosis and its clinical significance[J]. Chinese Journal of Microbiology and Immunology, 2014, 34(10):781-786.
- [8] 赵英伦,胡溪源,李翠萍,等.肺结核患者血清 caspase-3 活性研究[J].现代检验医学杂志,2014,29(5):40-41,45.
Zhao YL, Hu XY, Li CP, et al. Serum caspase-3 activity in tuberculosis patients[J]. J Mod Lab Med, 2014, 29(5):40-41,45.
- [9] 唐神结,肖和平.细胞凋亡与结核病[J].中华结核和呼吸杂志,2004,27(7):477-480.
Tang SJ, Xiao HP. Apoptosis and tuberculosis[J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2004, 27(7):477-480.
- [10] 王志刚,许庆华,苏密龙.肺结核患者营养不良与免疫功能的相关性[J].医学综述,2013,19(21):3978-3979.
Wang ZG, Xu QH, Su ML. The relation between TB patient nutritional status and immunity[J]. Medical Recapitulate, 2013, 19(21):3978-3979.

收稿日期:2015-08-04

修回日期:2016-02-25