

1976年中国唐山地震生存截瘫患者 淋巴细胞亚群水平检测研究*

王菊惠^{1a}, 袁宝军^{1a}, 李超^{1a}, 裴斐^{1b}, 李佳强², 杨宏秀^{1a}

(1. 开滦总医院 a. 检验科; b. 神经外科, 河北唐山 063000;

2. 唐山市截瘫疗养院检验科, 河北唐山 063003)

摘要:目的 测定1976年中国唐山地震生存截瘫患者外周血淋巴细胞亚群水平, 评估截瘫患者40多年后细胞免疫功能的状况。方法 采集110例截瘫患者静脉血, 用流式细胞术测定患者T淋巴细胞亚群(包括CD3⁺, CD4⁺ Th细胞, CD8⁺ Ts细胞, CD4⁺/CD8⁺), CD19⁺ B淋巴细胞和CD16⁺ CD56⁺ NK细胞, 并与正常对照作比较。同时, 按性别分层比较各项目的差异及其之间的相关性。结果 截瘫组与对照组比较, 截瘫组CD8⁺ T细胞升高, CD4⁺/CD8⁺和CD16⁺ CD56⁺ NK细胞水平下降, 差异均有统计学意义($F=1.375, 1.052, 0.674$, 均 $P<0.05$)。CD3⁺, CD4⁺ T细胞和CD19⁺ B细胞差异无统计学意义($F=0.800, 1.490, 0.223$, 均 $P>0.05$)。按性别分层, CD19⁺ B细胞女性组高于男性组, 两组结果差异具有统计学意义($F=0.038$, 均 $P<0.05$), 其他指标无明显差异($F=0.002\sim 1.808$, 均 $P>0.05$)。CD4⁺与CD8⁺, CD4⁺与CD4⁺/CD8⁺, CD4⁺与CD16⁺ CD56⁺, CD8⁺与CD4⁺/CD8⁺, CD8⁺与CD16⁺ CD56⁺, CD19⁺与CD16⁺ CD56⁺均存在显著相关性($P<0.01$)。结论 唐山地震截瘫患者细胞免疫功能严重紊乱。

关键词:截瘫患者; 细胞免疫功能; T淋巴细胞亚群; B淋巴细胞; NK细胞

中图分类号: R64; R392.11 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414(2019)01-038-04

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2019.01.010

Detection of Lymphocyte Subsets in Patients with Paraplegia after the 1976 Tangshan Earthquake in China

WANG Ju-hui^{1a}, YUAN Bao-jun^{1a}, LI Chao^{1a}, PEI Fei^{1b}, LI Jia-qiang², YANG Hong-xiu^{1a}

(1a. Department of Clinical Laboratory; 1b. Department of Neurosurgery,

Kailuan General Hospital, Hebei Tangshan 063000, China; 2. Department of

Clinical Laboratory, Tangshan Paraplegia Sanatorium, Hebei Tangshan 063003, China)

Abstract: Objective The peripheral blood lymphocyte subsets of paraplegic patients after the 1976 Tangshan earthquake in China were measured and the immune function of paraplegic patients after 40 years was evaluated. **Methods** Venous blood samples were collected from 110 paraplegic patients. T lymphocyte subsets (including CD3⁺, CD4⁺ Th cells and CD8⁺ Ts cells), CD19⁺ B lymphocyte and CD16⁺ CD56⁺ NK cells were measured by flow cytometry and compared with those of normal controls. The differences among items and their correlations were compared by gender stratification. **Results** Compared with the control group, in paraplegic group the levels of CD8⁺ T cells increased, the levels of CD4⁺/CD8⁺ and CD16⁺ CD56⁺ NK cells decreased. The difference was statistically significant ($F=1.375, 1.052, 0.674$, all $P<0.05$). There was no significant difference in the number of CD3⁺, CD4⁺, CD19⁺ B cells ($F=0.800, 1.490, 0.223$, all $P>0.05$). The sex stratified CD19⁺ B cells were higher in the female group than in the male group, and the result difference was statistically significant ($F=0.038, P<0.05$), but there was no significant change in other indexes ($F=0.002\sim 1.808$, all $P>0.05$). CD4⁺ and CD8⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺, CD4⁺ and CD16⁺ CD56⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺, CD8⁺ and CD16⁺ CD56⁺, CD19⁺ and CD16⁺ CD56⁺ were significantly correlated ($P<0.01$). **Conclusion** Patients with paraplegia after the Tangshan earthquake have severe cellular immune dysfunction.

Keywords: paraplegia patients; immune function; T lymphocyte subsets; B lymphocytes; NK cells

1976年中国唐山地震幸存截瘫患者, 经受身体残疾、心理疾患及反复发作的多种并发症(如褥疮、泌尿系感染、肺部并发症、便秘、深静脉血栓、神经痛等)折磨, 机体的免疫功能势必会受到不同程度的影响。以前的研究^[1,2]多着重于体液免疫水

平, 分析免疫球蛋白和补体的变化, 对截瘫患者外周血淋巴细胞亚群水平的研究罕有报道。本次实验主要检测唐山地震截瘫患者的细胞免疫水平, 即淋巴细胞亚群水平, 包括CD3⁺总T细胞, CD4⁺T细胞, CD8⁺T细胞, CD4⁺/CD8⁺, CD19⁺B细胞和

* 作者简介: 王菊惠(1972-), 女, 硕士研究生, 副主任技师, 研究方向: 医学检验, 流行病学与卫生统计学, E-mail: 15373588105@163.com。
通讯作者: 袁宝军: 主任技师, 教授, E-mail: ybj25999@163.com。

CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞(natural killer cells, NK细胞),为临床提供唐山地震40多年后截瘫患者的细胞免疫水平的数据,辅助临床治疗。

1 材料与方法

1.1 研究对象 截瘫组:从2016年7月~2017年6月,陆续采集110例唐山市截瘫疗养院、康复村及散居截瘫患者的清晨空腹静脉血2ml于ED-TA-K₂抗凝管中,6h内完成处理分析。其中,男性38例,平均年龄64.7±7.7岁,女性72例,平均年龄66.1±7.8岁。对照组为健康体检者,共130例,其中男性41例,女性89例,平均年龄68.7±8.9岁,无肝脏、肾脏及免疫功能疾病病史。

1.2 试剂和仪器 流式荧光标记抗体试剂CD3 FITC, CD4 PE, CD8 PE, CD19 PE 和 CD16⁺CD56⁺ PE CD4均购自美国BD Biosciences公司。仪器为美国BD公司的FACSCalibur流式细胞仪。

1.3 方法 严格按照说明书操作。具体操作步骤见李超等^[3,4]T淋巴细胞亚群,B淋巴细胞及NK

细胞测定的操作方法。用cellquest软件分析结果。

1.4 统计学分析 所有测定数据均用Excel建立数据库,并用SPSS 17.0统计软件进行分析。对于计量资料数据如呈正态分布,以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两均数比较采用t检验,各数据间的相关性分析用Pearson相关。以P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 截瘫患者和对照组外周血中CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺T细胞,CD4⁺/CD8⁺,CD19⁺B细胞和CD16⁺CD56⁺NK细胞水平 见表1。截瘫组与健康对照组比较,CD8⁺T细胞,CD4⁺/CD8⁺和CD16⁺CD56⁺NK细胞水平差异均有统计学意义(F=1.375,1.052,0.674,均P<0.05),CD3⁺,CD4⁺T细胞,CD19⁺B细胞差异无统计学意义(F=0.800,1.490,0.223,均P>0.05)。

表1 截瘫组与健康对照组CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺T细胞,CD4⁺/CD8⁺,CD19⁺B细胞和CD16⁺CD56⁺NK细胞水平($\bar{x} \pm s$)

检测项目	截瘫组(n=110)	健康对照组(n=130)	F值	P值
CD3 ⁺ (%)	67.35±9.81	65.67±10.15	0.800	0.453
CD4 ⁺ (%)	37.12±7.94	39.04±6.25	1.490	0.256
CD8 ⁺ (%)	28.69±8.33	24.62±9.77	1.375	0.043
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.45±0.67	1.84±0.80	1.052	0.016
CD19 ⁺	11.29±5.03	11.60±5.68	0.223	0.994
CD16 ⁺ CD56 ⁺	16.13±9.64	20.88±11.26	0.674	0.041

2.2 不同性别截瘫患者外周血中CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺T细胞,CD4⁺/CD8⁺,CD19⁺B细胞和CD16⁺CD56⁺NK细胞比较 见表2。男女两组外周血中CD19⁺B细胞差异具有统计学意义(F=

0.038,P<0.05),CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺T细胞,CD4⁺/CD8⁺和CD16⁺CD56⁺NK细胞无明显改变,差异无统计学意义(F=0.002~1.808,均P>0.05)。

表2 男女截瘫患者外周血CD3⁺,CD4⁺,CD8⁺T细胞,CD4⁺/CD8⁺,CD19⁺B细胞和CD16⁺CD56⁺NK细胞的比较($\bar{x} \pm s$)

检测项目	男性(n=38)	女性(n=72)	F值	P值
CD3 ⁺ (%)	69.18±8.64	66.41±10.33	0.022	0.297
CD4 ⁺ (%)	37.84±7.86	36.75±8.05	0.157	0.614
CD8 ⁺ (%)	29.97±9.47	28.04±7.72	1.808	0.392
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	1.44±0.60	1.46±0.69	0.003	0.929
CD19 ⁺	9.28±5.00	12.33±4.79	0.038	0.023
CD16 ⁺ CD56 ⁺	16.49±8.65	15.94±10.20	0.002	0.832

2.3 截瘫患者外周血中CD4⁺,CD8⁺T细胞,CD4⁺/CD8⁺,CD19⁺B细胞和CD16⁺CD56⁺NK细胞的相关性 见表3。CD4⁺与CD8⁺(r=-0.333,P=0.008),CD4⁺与CD4⁺/CD8⁺(r=0.728,P=0.000),CD4⁺与CD16⁺CD56⁺(r=-

0.429,P=0.000),CD8⁺与CD4⁺/CD8⁺(r=-0.783,P=0.000),CD8⁺与CD16⁺CD56⁺(r=-0.424,P=0.000),CD19⁺与CD16⁺CD56⁺(r=-0.346,P=0.001)差异均有统计学意义。

3 讨论 刘满合^[5]调查与分析唐山地震25年截

表3 截瘫患者外周血 CD4⁺, CD8⁺ T 细胞, CD4⁺/CD8⁺, CD19⁺ B 细胞和 CD16⁺ CD56⁺ NK 细胞的相关性分析

项目	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD19 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺
CD4 ⁺	1	-0.333**	0.728**	-0.008	-0.429**
CD8 ⁺		1	-0.783**	-0.204	-0.424**
CD4 ⁺ /CD8 ⁺			1	0.177	0.004
CD19 ⁺				1	-0.346**
CD16 ⁺ CD56 ⁺					1

注:**在0.01水平(双侧)上显著相关。

瘫病人死亡原因显示,威胁截瘫患者生命安全的是不同程度的各种并发症。由于反复发病和用药,截瘫患者的免疫功能可能会产生不同程度的变化。本研究主要研究截瘫40年后患者的淋巴细胞亚群水平。

T淋巴细胞在骨髓中形成,于胸腺中发育成熟,再定居淋巴结、脾及其他淋巴组织等周围免疫器官。CD3⁺是所有T淋巴细胞表面的特征性抗原标志,T淋巴细胞分为辅助性T淋巴细胞(其表面标志是CD4⁺)、抑制性T淋巴细胞(表面标志是CD8⁺)、调节/抑制T淋巴细胞和记忆T细胞等。各种T细胞作用不同,辅助性T淋巴细胞释放细胞活性因子,抑制性T淋巴细胞释放抑制因子,从而对B淋巴细胞及效应T淋巴细胞产生活化及抑制效应。淋巴细胞亚群CD4⁺/CD8⁺的比值是评价细胞免疫平衡的重要指标之一^[6],比值升高说明免疫功能增强,反之为免疫功能低下。本研究截瘫组与正常对照相比,辅助性T淋巴细胞有降低趋势,抑制性T淋巴细胞明显升高,提示截瘫患者免疫抑制增强,同时发现截瘫患者CD4⁺/CD8⁺比值降低,说明截瘫患者免疫功能低下。另有国外Sistigu等^[7]研究CD8⁺T细胞的抗原性和免疫原性显示大多数感染性疾病CD4⁺/CD8⁺比率降低或倒置,同时Remick^[8]G研究脓毒血症的病理生理显示免疫抑制的出现使得患者易于并发感染,并使感染难于控制,导致病情恶化。本研究人群为40多年的截瘫患者,长期受慢性疾病的影响,导致T淋巴细胞亚群结果异于正常人,免疫功能紊乱。此研究结果与江浪进等^[9]的280例慢性乙型肝炎,顾盼瑾等^[10]的36例肾癌患者的T淋巴细胞水平的分析结果相似。Dejong等^[11]的慢性阻塞性肺病炎症中淋巴细胞改变主要是CD8⁺T淋巴细胞增多,CD4⁺T淋巴细胞减少或不变,CD4⁺/CD8⁺比值下降,与我们的研究结果亦相似。截瘫患者反复发作的感染及并发症,可能是免疫紊乱引起的恶性循环,还有待进一步研究。

CD19是B淋巴细胞表面的激活性受体,在B淋巴细胞分化及成熟全过程均有表达。本研究显示截瘫患者与正常对照的B淋巴细胞功能无显著

性变化。但女性比男性有更高水平的CD19⁺B细胞,其意义尚不清楚。

CD16和CD56抗原是自然杀伤细胞主要的表面标记,不同NK细胞亚群的生物学功能各异^[12],并可通过释放细胞因子调节特异性免疫反应。Brigl等^[13]在CD1抗原呈递和T淋巴细胞功能中阐述,虽然NK细胞在人体中的数量相对较少,但是调节机体自身免疫平衡,抵御感染,抵抗肿瘤的重要细胞。本研究的结果为截瘫患者外周血中NK细胞百分比明显低于正常对照,证明截瘫患者自然杀伤细胞能力降低。

CD4⁺与CD8⁺,CD4⁺与CD4⁺/CD8⁺,CD8⁺与CD4⁺/CD8⁺,CD4⁺与CD16⁺CD56⁺,CD8⁺与CD16⁺CD56⁺,CD19⁺与CD16⁺CD56⁺存在显著相关性,说明各种T细胞、B细胞与NK细胞,协同发挥生物学作用,从而维持机体内环境的稳定。

另外,本实验没有研究唐山地震截瘫患者外周血中的CD4⁺CD25⁺Foxp3⁺的Treg细胞水平,可以借鉴高硕等^[14]的研究,对截瘫患者的细胞免疫水平做进一步探讨。

总之,1976年唐山地震截瘫患者四十多年来,机体淋巴细胞亚群水平严重紊乱,免疫功能降低,疾病恢复功能障碍,希望能对截瘫患者的预后提供一些参考和启发。

参考文献:

- [1] 张玉纯,赵鄯生,李磊,等.截瘫病人免疫功能状况研究[J].中华创伤杂志,1994,10(2):72-73,29.
ZHANG Yuchun,ZHAO Yinsheng,Li Lei,et al. Study on immunity of paraplegic patients[J]. Chinese Journal of Trauma,1994,10(2):72-73,29.
- [2] 王菊惠,邹吉敏,张淑青,等.唐山地震截瘫患者血钙,免疫球蛋白水平分析[J].中国煤炭工业医学杂志,2011,14(1):76-77.
WANG Juhui,ZOU Jimin,ZHANG Shuqing,et al. Analysis of serum calcium and immunobulin levels in paraplegic patients with Tangshan earthquake[J]. Chinese Journal of Coal Industry Medicine,2011,14(1):76-77.
- [3] 李超,袁宝军,王冬梅,等.壹期煤工尘肺患者外周血中淋巴细胞亚群和血清中IL-17A (下转46页)

- west China Normal University (Natural Science Edition), 2017, 42(11): 37-43.
- [15] 董静, 刘尊, 赵林杰. TRB3 在运动改善胰岛素抵抗中的作用[J]. 医学综述, 2012, 18(14): 2172-2174.
DONG Jing, LIU Zun, ZHAO Linjie. The role of TRB3 in exercise improving insulin resistance[J]. Medical Recapitulate, 2012, 18(14): 2172-2174.
- [16] 李琳, 徐瑜. 生活方式干预对 2 型糖尿病患者血糖控制的影响[J]. 上海交通大学学报(医学版), 2017, 37(6): 871-875.
LI Lin, XU Yu. Effects of lifestyle intervention on glucose control in people with type 2 diabetes[J]. Journal of Shanghai Jiaotong University (Medical Science), 2017, 37(6): 871-875.
- [17] 李全双, 邓演超, 吴燕, 等. 初诊 2 型糖尿病患者综合干预后血栓前状态分子标志物的变化[J]. 现代检验医学杂志, 2015, 30(2): 36-38.
LI Quanshuang, DENG Yanchao, WU Yan, et al. Changes in molecular markers of prethrombotic state for newly diagnosed Type 2 diabetic patients after comprehensive intervention [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2015, 30(2): 36-38.
收稿日期: 2018-10-17
修回日期: 2018-11-25
-
- (上接 40 页)
- 水平[J]. 职业与健康, 2014, 30(23): 3372-3374.
LI Chao, YUAN Baojun, Wang Dongmei, et al. Levels of peripheral blood lymphocyte subgroup and serum IL-17A in stage I coal worker pneumoconiosis patients[J]. Occupation and Health, 2014, 30(23): 3372-3374.
- [4] 袁宝军, 李超, 邹吉敏, 等. 壹期煤工尘肺患者 CD19⁺ B 淋巴细胞, CD56⁺ CD16⁺ NK 细胞表达及补体 C3, C4 水平[J]. 工业卫生与职业病, 2014, 40(3): 169-171.
YUAN Baojun, LI Chao, Zou Jimin, et al. Levels of CD19⁺ B lymph cell, cell expression of CD56⁺ CD16⁺ NK and C3 and C4 complements in stage I coal worker pneumoconiosis patients [J]. Industrial Health and Occupational Diseases, 2014, 40(3): 169-171.
- [5] 刘满合. 唐山地震 25 年截瘫病人死亡原因调查与分析[J]. 中国伤残医学, 2001, 9(4): 50-51.
LIU Manhe. Investigation and Analysis of the causes of death of paraplegic patients in Tangshan earthquake in 25 years[J]. Chinese Journal of Trauma Disability Medicine, 2001, 9(4): 50-51.
- [6] 孙华. 慢性阻塞性肺疾病急性加重期患者外周血 T 细胞亚群临床分析[J]. 临床肺科杂志, 2012, 17(3): 538-540.
SUN Hua. Clinical analysis of T-cell substes in peripheral blood of patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease[J]. Journal of Clinical Pulmonary Medicine, 2012, 17(3): 538-540.
- [7] SISTIGU A, BRACCI L, VALENTINI N, et al. Stong CD8⁺ T cell antigenicity and immunogenicity of large foreign proteins incorporated in HIV-1 VLPs able to induce a Nef-dependent activation/maturation of dendritic cells[J]. Vaccine, 2011, 29(18): 3465-3475.
- [8] REMICK DG. Pathophysiology of sepsis[J]. Am J Pa-thol, 2007, 170(5): 1435-1444.
- [9] 江浪进, 陈欣. 慢性乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化临床研究[J]. 中国实验诊断学, 2013, 17(7): 1235-1237.
JIANG Langjin, CHEN Xin. The study on detecting the changes of peripheral blood T lymphocyte subsets and their correlation with chronic hepatitis B[J]. Chinese Journal of Laboratory Diagnosis, 2013, 17(7): 1235-1237.
- [10] 顾盼瑾, 卢小东. 肾癌患者外周血 T 细胞亚群比例的变化及临床意义[J]. 江苏大学学报(医学版), 2016, 26(1): 71-73, 77.
GU Panjin, LU Xiaodong. Changes and clinical significance of T cell subsets in peripheral blood of patients with real cell carcinoma[J]. Journal of Jiangsu University (Medical Edition), 2016, 26(1): 71-73, 77.
- [11] DE JONG J W, VAN DER BELT-GRITTER B, KOETER G H. Peripheral blood lymphocyte cell subsets in subjects with chronic obstructive pulmonary disease: association with smoking; IgE and lung function[J]. Respir Med, 1997, 91(2): 67-76.
- [12] 吴长有, 刘杰, 杨滨燕, 等. 人外周血 NK 细胞亚群、表型和生物学特征[J]. 中国免疫学杂志, 2005, 21(7): 483-486.
WU Changyou, LIU Jie, YANG Binyan, et al. Phenotypic and biological characterization of human NK cells in PBMCs[J]. Chinese Journal of Immunology, 2005, 21(7): 483-486.
- [13] BRIGL M, BRENNER M B. CD1: antigen presentation and T cell function[J]. Annu Rev Immunol, 2004, 22: 817-890.
- [14] 高硕, 徐学静, 王森, 等. 免疫性血小板减少患者外周血 Treg 及 Th1, Th2 细胞检测及其临床意义[J]. 现代检验医学杂志, 2018, 33(1): 112-114.
GAO Shuo, XU Xuejing, WANG Sen, et al. Detection and clinical significance of treg and Th1, Th2 cells in peripheral blood of patients with immune thrombocytopenia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2018, 33(1): 112-114.
收稿日期: 2018-08-24
修回日期: 2018-10-17