

# 大连地区健康成年人群外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型分析研究

许兆杰<sup>a</sup>, 吴京学<sup>b</sup>, 王 娇<sup>b</sup>, 田 瑶<sup>b</sup>, 汤亚微<sup>b</sup>, 朱 杰<sup>b</sup> (大连医科大学附属第二医院

a. 检验科; b. 流式细胞中心, 辽宁大连 116023)

**摘要:** **目的** 分析大连地区健康成年人外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型特征与年龄及性别之间的关系。**方法** 选取 2022 年 10 月~2023 年 6 月在大连医科大学附属第二医院体检中心诊疗的 277 例健康成年人作为研究对象, 其中男性 154 例, 女性 123 例。按不同年龄将研究对象分为三组: 青年组 (18~44 岁,  $n=103$ )、中年组 (45~60 岁,  $n=114$ ) 和老年组 ( $>60$  岁,  $n=60$ )。通过流式细胞术检测外周血 T 淋巴细胞免疫表型, 包括初始 (N)、中央记忆 (CM)、效应记忆 (EM)、终末分化 (TEM)、活化 (HLA-DR<sup>+</sup>) 及衰老 (CD28<sup>-</sup>) CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞绝对计数和百分比, 比较不同性别和不同年龄段 T 淋巴细胞免疫表型绝对计数和百分比的差异性; 同时采用 Spearman 相关性分析评估年龄与 T 淋巴细胞免疫表型绝对计数和百分比的相关性。**结果** 与青年组比较, 中年组和老年组中 CD8<sup>+</sup>TEM, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞绝对计数和百分比升高 ( $Z=2.009 \sim 6.607$ ), CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞绝对计数和百分比降低 ( $Z=5.574 \sim 7.999$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。与女性组比较, 男性组中 CD8<sup>+</sup>CM, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞绝对计数和百分比升高 ( $Z=2.945 \sim 6.131$ ), CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞绝对计数和百分比降低 ( $Z=2.075 \sim 4.225$ ), 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。Spearman 相关性分析表明, 年龄与 CD4<sup>+</sup>CM, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>TEM, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞绝对计数和百分比呈正相关 ( $r=0.125 \sim 0.479$ , 均  $P<0.05$ ), 与 CD4<sup>+</sup>N 和 CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞绝对计数和百分比呈负相关 ( $r=-0.538 \sim -0.148$ , 均  $P<0.05$ )。**结论** 大连地区健康成年人外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型受年龄和性别影响, 有必要建立适宜当地的参考区间, 为机体免疫功能评估提供更精准的参考依据。

**关键词:** T 淋巴细胞; 免疫表型; 流式细胞术; 大连地区

中图分类号: R446.6 文献标志码: A 文章编号: 1671-7414 (2025) 01-001-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2025.01.001

## Analysis of 15 Immunophenotypes of Peripheral Blood T Lymphocytes in Dalian Area

XU Zhaojie<sup>a</sup>, WU Jingxue<sup>b</sup>, WANG Jiao<sup>b</sup>, TIAN Yao<sup>b</sup>, TANG Yawei<sup>b</sup>, ZHU Jie<sup>b</sup> (a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Flow Cytometry Center, the Second Hospital of Dalian Medical University, Liaoning Dalian 116023, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the relationship between 15 immunophenotypes of peripheral blood T cells and age and gender in healthy adults in the Dalian area. **Methods** A total of 277 healthy adults admitted to the physical examination center of the Second Affiliated Hospital of Dalian Medical University from October 2022 to June 2023 were selected as the research subjects, including 154 males and 123 females. They were divided into three groups according to age: young group (18 ~ 44 years,  $n=103$ ), middle-aged group (45 ~ 60 years,  $n=114$ ) and old age group ( $>60$  years,  $n=60$ ). Flow cytometry was used to determine immunophenotypes of T cells, including the absolute count and proportion of naïve cells (N), central memory (CM), effector memory (EM), terminal effector memory (TEM), activation (HLA-DR<sup>+</sup>) and senescence (CD28<sup>-</sup>) CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup> T cells, and the differences of them among age and gender were analyzed. Spearman correlation analysis was also used to evaluate the correlation between age and immunophenotypes of T cells. **Results** Compared with the young group, the absolute count and proportion of CD8<sup>+</sup>TEM, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T lymphocytes cells were increased in the middle-aged group and old age group ( $Z=2.009 \sim 6.607$ ), while the absolute count and proportion of CD8<sup>+</sup>N T cells were decreased in the middle-aged group ( $Z=5.574 \sim 7.999$ ) and old age group, and the differences were statistically significant (all  $P<0.05$ ).

**基金项目:** 国家自然科学基金项目 (82302047); 辽宁省博士科研启动基金 (2023-BS-160); 大连医科大学附属第二医院“1+X”计划临床技术水平提升优势技术项目 (2022LCJSYS03)。

**作者简介:** 许兆杰 (1996-), 男, 学士, 主管技师, 研究方向: 免疫监控与自身免疫病, E-mail: zhaojie\_hsu@163.com。

**通讯作者:** 朱杰 (1975-), 男, 硕士研究生, 主任技师, 研究方向: 血液病诊断与感染性疾病免疫监测, E-mail: 13998654975@163.com。

respectively. Compared with the female group, the absolute count and proportion of  $CD8^+CM$ ,  $CD8^+HLA-DR^+$  and  $CD8^+CD28^-T$  cells were increased in the female group ( $Z=2.945 \sim 6.131$ ), while the absolute count and proportion of  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  and  $CD8^+N$  T cells were decreased in the male group ( $Z=2.075 \sim 4.225$ ), and the differences were statistically significant (all  $P<0.05$ ), respectively. Spearman correlation analysis showed that age was positively correlated with the absolute count and proportion of  $CD4^+CM$ ,  $CD4^+HLA-DR^+$ ,  $CD4^+CD28^-$ ,  $CD8^+TEM$ ,  $CD8^+HLA-DR^+$  and  $CD8^+CD28^-$  T lymphocytes cells ( $r=0.125 \sim 0.479$ , all  $P<0.05$ ), while negatively correlated the absolute count and proportion of  $CD4^+N$  and  $CD8^+N$  T lymphocytes cells ( $r=-0.538 \sim -0.148$ , all  $P<0.05$ ). **Conclusion** The 15 immunophenotypes of peripheral blood T lymphocytes cells in healthy adults from Dalian area are affected by age and gender, so it is necessary to establish a suitable local reference interval to provide a more accurate reference for immune function assessment.

**Keywords:** T lymphocytes cells; immunophenotypes; flow cytometry; Dalian area

近年来,随着免疫系统相关疾病发病率逐年升高,机体免疫功能监测与评估受到越来越多的重视。T淋巴细胞是发挥免疫功能的核心细胞,采用流式细胞术(FCM)对外周血T淋巴细胞免疫表型检测已逐渐成为临床检验的常规工作之一,其结果在自身免疫病、肿瘤、微生物感染及免疫缺陷病等的辅助诊断和疗效观察中具有重要的指导意义<sup>[1-3]</sup>。然而,传统的T淋巴细胞免疫表型检测过于简单,仅局限于分析 $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$  T淋巴细胞数量,对机体免疫功能缺乏全面的评估,因此,精细化分析T淋巴细胞免疫表型显的尤为迫切。目前,国内尚无比较全面的T淋巴细胞免疫表型检测方案报道,也无针对辽宁大连地区人群的T淋巴细胞免疫表型分析,故本研究旨在观察该地区健康成年人外周血T淋巴细胞15种免疫表型特征,并探讨其与年龄、性别的关系,以期为临床相关疾病的诊断和预后判断提供依据。

## 1 材料与方法

**1.1 研究对象** 选取2022年10月~2023年6月于大连医科大学附属第二医院体检中心进行常规体检的健康成年人277例作为研究对象,其中男性154例,女性123例,年龄18~87(48.79)岁。根据国家卫生健康委员会分类方法,将研究对象分为三组,青年组(18~44岁,  $n=103$ )、中年组(45~60岁,  $n=114$ )和老年组(>60岁,  $n=60$ )。所有研究对象均满足以下纳入标准:①年龄 $\geq 18$ 岁;②血细胞检测、尿沉渣检测及肝、肾功能检查均正常者;③经过内科、外科、心电图、X线透视、B超检查无异常;④无恶性肿瘤、自身免疫病、血液病、感染性及代谢性疾病;⑤3个月内未使用激素类或免疫抑制剂类药物。本研究经大连医科大学附属第二医院伦理委员会批准(大连二院伦快审2023第280号),且获得所有研究对象的知情同意。

**1.2 仪器与试剂** FACS Canto 2流式细胞仪(美国碧迪医疗器械公司);BriCyte E6流式细胞仪(深圳迈瑞医疗器械公司);四色免洗淋巴细胞亚群分析试剂,单克隆抗体( $CD45-V500$ ,  $CD3-PerCp$ ,

$CD4-APC-Cy7$ ,  $CD8-APC$ ,  $CD28-PE$ ,  $HLA-DR-BV421$ ,  $CD45RA-FITC$ ,  $CCR7-PE-Cy7$ ),红细胞裂解液及荧光标准微球(美国碧迪医疗器械公司)。

### 1.3 方法

**1.3.1 标本采集:**用乙二胺四乙酸二钾( $EDTA-K_2$ )抗凝管采集研究对象的空腹外周静脉血2ml,并在采样48h内完成检测。

**1.3.2 实验步骤:**①T淋巴细胞绝对计数检测:反向加入 $40\mu l$ 全血及 $20\mu l$ 四色免洗淋巴细胞亚群检测试剂,室温孵育后加入 $370\mu l$ 红细胞裂解液溶血,利用BriCyte E6流式细胞仪采集数据;②T淋巴细胞免疫表型检测:将单克隆抗体按标准用量加入到 $100\mu l$ 全血中与细胞表面相应抗原结合,经溶血、洗涤等步骤后,通过FACS Canto 2流式细胞仪收集样本。

**1.3.3 结果分析:**通过 $CD45$ /侧向角(side scatter, SSC)建立散点图,圈出淋巴细胞。分别获得 $CD3^+$ ,  $CD4^+$ ,  $CD8^+$  T淋巴细胞百分比。体积法计算T淋巴细胞绝对计数公式如下: T淋巴细胞绝对计数(个/ $\mu l$ )=[T淋巴细胞获取数/样本获取体积( $\mu l$ )] $\times$ (样本制备总量/ $40\mu l$ 全血)。根据 $CD45RA$ 和 $CCR7$ 表达将 $CD4^+$ 和 $CD8^+$  T淋巴细胞分为初始(naïve, N)、中央记忆(central memory, CM)、效应记忆(effector memory, EM)及终末分化(terminal effector memory, TEM)亚群;通过 $HLA-DR$ 表达和 $CD28$ 缺失情况评估T淋巴细胞活化及衰老水平,获取上述T淋巴细胞亚群百分比并计算各亚群绝对计数。

**1.4 统计学分析** 使用SPSS 26.00统计软件进行数据处理。各组计量资料经Kolmogorov-Smirnov检验呈偏态分布,以中位数(四分位数间距)[M(IQR)]表示,不同性别及不同年龄段分组间T淋巴细胞免疫表型差异性比较采用Mann-Whitney U检验或Kruskal-Wallis H检验,通过Spearman相关性检验分析年龄与T淋巴细胞免疫表型的相关性,  $P<0.05$ 为差异具有统计学意义。

## 2 结果

2.1 不同年龄健康成年人外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型绝对计数检测结果比较 见表 1。与青年组比较，中年组和老年组 CD8<sup>+</sup>TEM，CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>，CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞绝对计数升高，CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞绝对计数降低，且老

年组 CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞绝对计数升高，CD4<sup>+</sup>N T 淋巴细胞绝对计数降低，差异具有统计学意义（均  $P<0.05$ ）；与中年组比较，老年组 CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞绝对计数降低，差异具有统计学意义（ $P<0.05$ ）。

表 1  
不同年龄健康成年人外周血 T 淋巴细胞免疫表型绝对计数结果比较 [M(P<sub>25</sub>,P<sub>75</sub>), 个 / μ l]

项目	青年组① (n=103)	中年组② (n=114)	老年组③ (n=60)	① vs ②		① vs ③		② vs ③	
				Z	P	Z	P	Z	P
CD3 <sup>+</sup>	1 234.00 (9 979.00, 1 434.50)	1 204.50 (1 053.00, 1 451.25)	1 168.00 (921.50, 1 391.75)	0.435	0.663	0.929	0.353	1.352	0.176
CD4 <sup>+</sup>	596.62 (463.804, 770.146)	651.71 (508.09, 748.86)	606.29 (480.57, 778.83)	1.111	0.267	0.079	0.937	0.921	0.357
CD4 <sup>+</sup> N	232.87 (161.93, 297.63)	200.19 (129.63, 299.18)	150.33 (111.45, 269.41)	1.811	0.070	3.035	0.002	1.509	0.131
CD4 <sup>+</sup> CM	162.07 (120.71, 218.02)	172.21 (125.97, 270.65)	192.85 (133.48, 238.98)	1.751	0.080	1.308	0.191	0.275	0.783
CD4 <sup>+</sup> EM	198.43 (147.39, 241.26)	202.25 (131.38, 253.29)	207.35 (149.09, 266.07)	0.579	0.562	0.838	0.402	0.336	0.737
CD4 <sup>+</sup> TEM	10.46 (5.50, 20.02)	8.95 (3.96, 21.84)	12.69 (6.74, 21.91)	0.630	0.529	1.142	0.253	1.643	0.100
CD8 <sup>+</sup>	464.57 (364.50, 576.12)	497.97 (347.50, 604.11)	439.62 (324.87, 600.55)	0.956	0.339	0.122	0.903	0.621	0.535
CD8 <sup>+</sup> N	137.43 (102.34, 201.44)	85.90 (55.20, 133.98)	57.38 (34.33, 90.61)	5.574	<0.001	7.439	<0.001	3.852	<0.001
CD8 <sup>+</sup> CM	14.39 (10.45, 24.63)	16.86 (9.77, 30.49)	18.45 (9.87, 30.88)	0.801	0.423	0.545	0.585	0.062	0.951
CD8 <sup>+</sup> EM	155.00 (109.94, 210.73)	163.28 (115.15, 245.56)	186.53 (12.07, 257.09)	1.570	0.116	1.937	0.053	0.744	0.457
CD8 <sup>+</sup> TEM	107.00 (58.21, 178.93)	152.03 (85.45, 245.39)	162.21 (95.98, 229.68)	3.264	0.001	3.307	<0.001	0.396	0.692
CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	79.18 (61.60, 117.59)	94.41 (69.20, 132.74)	114.67 (80.96, 159.45)	2.255	0.024	3.290	0.001	1.699	0.089
CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	146.34 (92.12, 188.71)	212.61 (127.05, 285.12)	207.38 (133.04, 318.07)	4.173	<0.001	4.043	<0.001	0.855	0.393
CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	20.88 (8.21, 57.07)	36.33 (12.50, 56.90)	41.04 (22.22, 61.35)	1.769	0.077	2.636	0.008	1.176	0.239
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	167.22 (95.24, 240.38)	218.35 (141.74, 344.84)	224.97 (156.43, 355.60)	3.026	0.002	3.300	<0.001	0.814	0.416

2.2 不同年龄健康成年人外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型百分比检测结果比较 见表 2。与青年组比较，中年组和老年组中 CD8<sup>+</sup>TEM，CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>，CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞百分比升高，CD4<sup>+</sup>N 和 CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞百分比降低，且老年组

中 CD4<sup>+</sup>CM，CD8<sup>+</sup>EM，CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞百分比升高，差异具有统计学意义（均  $P<0.05$ ）；与中年组比较，老年组中 CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>，CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞百分比升高，CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞百分比降低，差异具有统计学意义（均  $P<0.05$ ）。

表 2  
不同年龄健康成年人外周血 T 淋巴细胞免疫表型百分比结果比较 [M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>)%]

项目	青年组① (n=103)	中年组② (n=114)	老年组③ (n=60)	① vs ②		① vs ③		② vs ③	
				Z	P	Z	P	Z	P
CD3 <sup>+</sup>	71.16 (65.89, 75.14)	70.15 (63.78, 75.23)	69.04 (63.17, 73.59)	0.732	0.464	1.039	0.299	0.363	0.717
CD4 <sup>+</sup>	34.80 (31.00, 39.95)	37.00 (30.60, 43.15)	35.65 (28.55, 41.68)	1.092	0.275	0.174	0.862	0.997	0.319
CD4 <sup>+</sup> N	37.40 (30.95, 44.00)	32.60 (23.70, 42.23)	28.25 (19.30, 42.05)	3.017	0.003	3.833	<0.001	1.374	0.169
CD4 <sup>+</sup> CM	25.70 (20.80, 33.25)	28.65 (22.20, 36.80)	31.25 (24.30, 36.53)	1.913	0.056	2.144	0.032	0.527	0.598
CD4 <sup>+</sup> EM	31.70 (23.60, 39.25)	33.25 (22.10, 43.55)	34.90 (25.50, 45.58)	0.486	0.627	1.660	0.097	1.170	0.242
CD4 <sup>+</sup> TEM	1.60 (0.90, 3.10)	1.40 (0.70, 3.30)	2.15 (1.05, 4.13)	1.933	0.053	1.406	0.160	1.975	0.048
CD8 <sup>+</sup>	26.10 (21.90, 31.75)	27.50 (20.80, 32.13)	25.85 (20.05, 33.15)	0.411	0.681	0.323	0.746	0.154	0.878
CD8 <sup>+</sup> N	32.90 (24.25, 42.85)	21.00 (11.10, 31.68)	10.95 (7.65, 20.98)	6.251	<0.001	7.999	<0.001	3.895	<0.001
CD8 <sup>+</sup> CM	3.70 (2.50, 5.15)	3.95 (2.00, 6.97)	3.80 (2.10, 6.78)	0.391	0.696	0.268	0.788	0.017	0.986
CD8 <sup>+</sup> EM	36.40 (28.25, 42.45)	40.60 (29.20, 48.48)	44.35 (40.45, 54.98)	1.964	0.050	2.577	0.010	1.396	0.163
CD8 <sup>+</sup> TEM	22.70 (15.90, 32.80)	33.05 (22.20, 43.55)	34.30 (24.95, 47.93)	4.207	<0.001	4.836	<0.001	1.287	0.198
CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	13.70 (10.75, 17.75)	15.40 (11.40, 20.10)	19.20 (12.95, 28.40)	2.009	0.044	4.159	<0.001	2.734	0.006
CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	31.00 (23.10, 40.65)	42.40 (32.60, 53.95)	51.05 (40.20, 58.05)	5.733	<0.001	6.607	<0.001	2.405	0.016
CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	3.50 (1.65, 7.50)	5.70 (2.00, 8.93)	7.30 (4.00, 11.80)	1.933	0.053	3.298	<0.001	1.846	0.065
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	36.00 (25.70, 49.30)	47.90 (34.90, 60.95)	58.40 (42.15, 67.18)	4.330	<0.001	5.237	<0.001	2.316	0.021

2.3 不同性别健康成年人外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型绝对计数检测结果比较 见表 3。与女性相比, 男性中 CD8<sup>+</sup>CM, CD8<sup>+</sup>EM, CD8<sup>+</sup>TEM, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞绝对计数

升高; CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>N, CD4<sup>+</sup>EM, CD4<sup>+</sup>TEM, CD8<sup>+</sup>N 和 CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T 淋巴细胞绝对计数降低, 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

表 3 不同性别健康成年人外周血 T 淋巴细胞免疫表型绝对计数结果比较 [M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>), 个 / μl]

项 目	女性 (n=123)	男性 (n=154)	Z	P
CD3 <sup>+</sup>	1 275.00 (1 072.00, 1 458.50)	1 167.50 (955.00, 1 427.00)	2.075	0.038
CD4 <sup>+</sup>	672.19 (528.63, 827.04)	582.13 (443.77, 699.92)	3.221	0.001
CD4 <sup>+</sup> N	232.01 (151.25, 329.38)	184.61 (125.75, 264.98)	2.877	0.004
CD4 <sup>+</sup> CM	165.10 (126.15, 230.66)	174.30 (122.95, 243.09)	0.488	0.625
CD4 <sup>+</sup> EM	217.02 (169.24, 285.24)	182.84 (122.33, 237.38)	3.690	<0.001
CD4 <sup>+</sup> TEM	12.06 (6.33, 23.98)	9.35 (3.94, 17.97)	2.720	0.007
CD8 <sup>+</sup>	456.04 (330.19, 582.23)	498.50 (347.68, 612.68)	1.741	0.082
CD8 <sup>+</sup> N	114.13 (63.73, 185.90)	91.19 (55.39, 135.11)	2.695	0.007
CD8 <sup>+</sup> CM	11.68 (7.35, 18.63)	23.17 (13.63, 34.16)	6.131	<0.001
CD8 <sup>+</sup> EM	153.46 (94.80, 219.15)	173.42 (123.42, 26.53)	2.373	0.018
CD8 <sup>+</sup> TEM	120.85 (68.84, 202.02)	149.91 (83.11, 243.57)	2.073	0.038
CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	96.24 (70.56, 135.08)	91.18 (64.77, 131.75)	0.760	0.447
CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	154.61 (92.65, 247.70)	207.38 (128.39, 302.51)	3.440	0.001
CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	38.15 (17.96, 62.64)	26.68 (7.92, 55.44)	2.639	0.008
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	184.62 (103.67, 260.95)	225.01 (143.58, 346.41)	2.945	0.003

2.4 不同性别健康成年人外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型百分比检测结果比较 见表 4。与女性相比, 男性中 CD4<sup>+</sup>CM, CD8<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>

CD28<sup>-</sup> 和 CD8<sup>+</sup>CM T 淋巴细胞百分比升高; CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>N T 淋巴细胞百分比降低, 差异具有统计学意义 (均  $P<0.05$ )。

表 4 不同性别健康成年人外周血 T 淋巴细胞免疫表型百分比结果比较 [M(P<sub>25</sub>, P<sub>75</sub>), %]

项目	女性 (n=123)	男性 (n=154)	Z	P
CD3 <sup>+</sup>	71.48 (66.12, 76.20)	68.70 (63.01, 74.36)	2.579	0.010
CD4 <sup>+</sup>	37.20 (33.05, 43.08)	34.70 (28.75, 40.00)	3.035	0.002
CD4 <sup>+</sup> N	36.80 (27.45, 44.00)	32.90 (24.75, 42.00)	1.627	0.104
CD4 <sup>+</sup> CM	26.50 (20.10, 32.95)	29.85 (23.50, 38.30)	3.335	0.001
CD4 <sup>+</sup> EM	34.10 (25.45, 43.08)	33.10 (3.68, 59.36)	1.393	0.164
CD4 <sup>+</sup> TEM	1.70 (1.10, 3.78)	1.55 (0.70, 3.20)	1.758	0.079
CD8 <sup>+</sup>	24.10 (20.00, 31.05)	28.40 (31.85, 33.50)	2.991	0.003
CD8 <sup>+</sup> N	29.40 (16.40, 38.48)	20.65 (10.55, 30.10)	4.225	<0.001
CD8 <sup>+</sup> CM	2.80 (1.80, 4.30)	4.80 (2.70, 7.80)	5.173	<0.001
CD8 <sup>+</sup> EM	37.90 (26.95, 46.95)	39.95 (31.43, 48.20)	1.379	0.168
CD8 <sup>+</sup> TEM	27.30 (17.65, 38.25)	32.15 (21.33, 41.50)	1.759	0.079
CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	14.20 (10.80, 19.80)	16.50 (11.65, 21.50)	1.732	0.083
CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup>	33.90 (25.80, 46.80)	42.40 (32.63, 54.20)	3.316	<0.001
CD4 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	5.20 (2.60, 10.23)	4.30 (1.53, 9.10)	1.842	0.066
CD8 <sup>+</sup> CD28 <sup>-</sup>	41.90 (26.25, 52.83)	49.45 (34.95, 63.10)	3.455	<0.001



2.5 健康成年人外周血 T 淋巴细胞 15 种免疫表型检测结果与年龄相关性分析 Spearman 相关性分析发现, 年龄与  $CD4^+CM$ ,  $CD4^+HLA-DR^+$ ,  $CD4^+CD28^-$ ,  $CD8^+HLA-DR^+$ ,  $CD8^+CD28^-$ ,  $CD8^+TEM$  T 淋巴细胞绝对计数 ( $r=0.125, 0.157, 0.194, 0.273, 0.201, 0.187$ , 均  $P<0.05$ ) 和百分比 ( $r=0.140, 0.253, 0.302, 0.479, 0.363, 0.312$ , 均  $P<0.05$ ) 及  $CD8^+EM$  T 淋巴细胞百分比 ( $r=0.216, P<0.05$ ) 呈正相关; 与  $CD4^+N$  和  $CD8^+N$  T 淋巴细胞绝对计数 ( $r=-0.148, -0.421$ , 均  $P<0.05$ ) 及百分比 ( $r=-0.271, -0.538$ , 均  $P<0.001$ ) 呈负相关, 与其余免疫表型无相关性 ( $r=-0.059 \sim 0.140$ , 均  $P>0.05$ )。

### 3 讨论

T 淋巴细胞作为免疫系统的重要部分, 主要由  $CD4^+$  和  $CD8^+$  T 淋巴细胞组成。进一步按发生迁移、表面分子和功能不同, 可将  $CD4^+$  和  $CD8^+$  T 淋巴细胞分为多个亚群。临床上多种疾病如感染性疾病、免疫缺陷性疾病、肿瘤性疾病及药物使用等均可导致 T 淋巴细胞亚群数量和功能的变化, 例如评价新型冠状病毒感染患者病情严重程度及预后的重要监测指标为  $CD8^+HLA-DR^+$  和  $CD8^+CD28^-$  细胞百分比<sup>[4-5]</sup>。为此, 对 T 淋巴细胞亚群进行精细化免疫分型对临床诊疗至关重要。

研究显示, T 淋巴细胞免疫表型与年龄密切相关<sup>[6]</sup>。随着个体年龄增加,  $CD3^+$  和  $CD8^+$  T 淋巴细胞数量逐渐减少,  $CD4^+$  T 淋巴细胞数量无明显变化<sup>[7]</sup>, 说明 T 细胞数量下降是免疫系统老化的一个关键标志, 而在此过程中  $CD8^+$  T 淋巴细胞比  $CD4^+$  T 淋巴细胞更敏感。本研究结果发现,  $CD3^+$ ,  $CD4^+$  及  $CD8^+$  T 淋巴细胞数量在青年组、中年组和老年组中差异均无统计学意义, 与文献报道的结果略有不同。分析造成上述结果差异的原因可能与所选人群队列的年龄段不同、纳入的样本数量及地域因素有关。初始 T 淋巴细胞经历抗原刺激产生免疫应答, 进一步向效应细胞和记忆细胞分化。既往研究表明, 衰老个体中初始 T 淋巴细胞和记忆 T 淋巴细胞比例失衡, 表现为初始 T 淋巴细胞数量减少, 而记忆 T 淋巴细胞数量增加<sup>[8]</sup>。本研究中, 与青年组和中年组相比, 老年组中  $CD4^+N$  和  $CD8^+N$  细胞数量减低, 而  $CD4^+CM$ ,  $CD8^+EM$  和  $CD8^+TEM$  细胞数量显著升高, 这与 XIA 等<sup>[9]</sup> 人的研究结果相一致。不同年龄段 T 淋巴细胞群体组成异常的原因可能是由于个体年龄增长过程中, 初始 T 淋巴细胞减少致使老年机体对病毒、肿瘤等新抗原的免疫应答强度以及免疫记忆能力低于年轻机体; 而记忆 T 淋巴细胞积累则有助于抵抗反复接触的常见病原体, 降低再次感染的发生率与严重性。

T 淋巴细胞活化是免疫系统应对感染反应的第

一步, 通过对活化过程分子水平的测定可以有效评估 T 淋巴细胞的应答能力。HLA-DR 是主要组织相容性复合体 MHC II 类抗原, 表达在抗原提呈细胞及晚期活化的 T 淋巴细胞表面, 在 T 淋巴细胞活化 24-48h 后迅速上调, 并与干扰素- $\gamma$  分泌增多有关<sup>[10-11]</sup>。在本研究中, 我们发现  $CD4^+$  和  $CD8^+$  T 淋巴细胞表面 HLA-DR 表达随年龄增加显著升高, 说明年龄增长后, T 淋巴细胞活化功能逐渐增强。近期 JIN 等<sup>[12]</sup> 人的报道进一步显示, 老年个体中活化 T 淋巴细胞溶酶体功能缺陷, 通过释放线粒体 DNA 介导炎症反应, 这也部分解释了机体衰老过程中 T 淋巴细胞 HLA-DR 表达升高和活化增强的潜在机制。另有研究发现,  $CD4^+HLA-DR^+$  和  $CD8^+HLA-DR^+$  细胞数量在人类免疫缺陷病毒感染、新型冠状病毒感染以及传染性单核细胞增多症等感染性疾病中明显上调<sup>[5, 13]</sup>;  $CD8^+$  T 淋巴细胞中 HLA-DR 表达可反映肿瘤患者机体免疫状态, 并与肿瘤的大小和迁移有关<sup>[10]</sup>。上述研究提示 T 淋巴细胞活化水平对辅助鉴别感染性疾病和肿瘤患者病情判断有一定的临床意义。

CD28 是初始 T 淋巴细胞启动免疫应答必须的协同刺激分子, 与抗原提呈细胞上 CD80/CD86 结合产生第二信号调控 T 淋巴细胞活化。根据 CD28 表达情况, 可将 T 淋巴细胞分为  $CD28^+$  和  $CD28^-$  两个亚群,  $CD28^+$  T 淋巴细胞为功能性细胞, 包括初始和早期阶段记忆 T 淋巴细胞, 而  $CD28^-$  T 淋巴细胞包括晚期记忆细胞和终末分化的效应细胞, 具有杀伤功能, 但增殖能力和存活能力差, 因此也被称为衰老 T 淋巴细胞。在新生儿外周血中, 基本不存在  $CD28^-$  T 淋巴细胞; 随着年龄的增长, 外周血中  $CD28^-$  T 淋巴细胞大量出现<sup>[14]</sup>。本研究发现, 与青年组和中年组相比, 老年组中  $CD4^+CD28^-$  和  $CD8^+CD28^-$  T 淋巴细胞数量增多且与年龄呈显著正相关, 这与文献报道结果相符<sup>[15]</sup>, 进一步说明长期慢性的抗原刺激, 会引起 T 淋巴细胞表面 CD28 缺失。相关研究证实, T 淋巴细胞中 CD28 表达出现紊乱后, 通过打破机体免疫激活与免疫稳态的动态平衡, 诱发自身免疫性疾病的发生,  $CD4^+CD28^-$  T 淋巴细胞数量在类风湿关节炎、系统性红斑狼疮、多发性硬化症中明显上调, 且与疾病活动度密切相关<sup>[16-18]</sup>。另一方面, 在慢性感染、肿瘤及器官移植中,  $CD8^+CD28^-$  T 淋巴细胞表现出细胞毒性或免疫抑制的生物学特点。DEDEOGLU 等<sup>[19]</sup> 研究结果表明, 增多的  $CD8^+CD28^-$  T 淋巴细胞通过竞争性抑制  $CD8^+$  T 细胞增殖延迟效应细胞恢复, 促进肾移植后排斥反应发生。因此, 监测  $CD8^+CD28^-$  T 淋巴细胞数量是预测移植后排斥反应风险的有效指标之一。

免疫系统存在性别二态性, 女性和男性在免疫

应答方面存在很大不同,使得它们对自身免疫性疾病、恶性肿瘤和传染病的易感性不同,并影响疫苗接种的效果。本研究通过对不同性别成年人外周血T淋巴细胞免疫表型分析发现,女性中CD3<sup>+</sup>和CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞数量显著高于男性,而CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞数量较男性低,这与以往的研究结果相符合<sup>[20-21]</sup>。此外,我们的结果进一步显示,与男性相比,女性中CD4<sup>+</sup>N, CD4<sup>+</sup>EM, CD4<sup>+</sup>TEM及CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>T淋巴细胞数量升高,而CD8<sup>+</sup>CM, CD8<sup>+</sup>EM, CD4<sup>+</sup>TEM, CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>, CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>及CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup>T淋巴细胞数量降低,揭示T淋巴细胞不同免疫表型在男女之间的差异性,这可能是多种与性别相关疾病的潜在发病机制之一,如女性易患自身免疫性疾病,男性易患白血病或淋巴瘤等<sup>[22]</sup>。文献报道,造成男女T淋巴细胞数量和表型差异的因素主要与激素、性染色体、miRNA和长链非编码RNA有关<sup>[23]</sup>。值得注意的是,本研究结果提示了在临床治疗中考虑性别差异的重要性,如果忽略个体性别差异使用“一刀切”的诊断和治疗方式可能并不能达到理想的效果。

综上所述,大连地区健康成年人外周血T淋巴细胞15种免疫表型受年龄和性别因素影响。本研究结果对于全面评估机体免疫状态、辅助筛查多种良恶性疾病及并发症具有重要意义。但本研究仍有不足之处:首先,本研究是一个单中心、小样本量的临床研究,由此可能带来结果的偏倚,在未来需要更大样本量、多中心的研究以验证结果的准确性;另外,需要在后续研究中进一步建立符合本地区人群特征的T淋巴细胞15种免疫表型参考区间并深入研究其在临床诊疗中的应用价值。

#### 参考文献:

- [1] WALDMAN A D, FRITZ J M, LENARDO M J. A guide to cancer immunotherapy: from T cell basic science to clinical practice [J]. *Nature Reviews Immunology*, 2020, 20(11): 651-668.
- [2] BARBERIO M T, PAWLOWSKA N, DHAWAN M, et al. Exhausted T cell signature predicts immunotherapy response in ER-positive breast cancer[J]. *Nature Communications*, 2020, 11(1): 3584.
- [3] BHANDARKAR A R, BHANDARKAR S, VUKSANOVIC D B, et al. Characterizing T-cell dysfunction and exclusion signatures in malignant peripheral nerve sheath tumors reveals susceptibilities to immunotherapy[J]. *Journal of Neurooncology*, 2023, 164(3): 693-699.
- [4] MIRSHARIF E S, CHENARY M R, BOZORGMEHR M, et al. Immunophenotyping characteristics of COVID-19 patients: Peripheral blood CD8<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> T cells as a biomarker for mortality outcome[J]. *Journal of Medical Virology*, 2023, 95(1): e28192.
- [5] DU Juan, WEI Lirong, LI Guoli, et al. Persistent high percentage of HLA-DR<sup>+</sup>CD38<sup>high</sup> CD8<sup>+</sup> T cells associated with immune disorder and disease severity of COVID-19[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 735125.
- [6] GORONZY J J, HU Bin, KIM C, et al. Epigenetics of T cell aging[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2018, 104(4): 691-699.
- [7] BISSET L R, LUNG T L, KAELIN M, et al. Reference values for peripheral blood lymphocyte phenotypes applicable to the healthy adult population in Switzerland[J]. *European Journal of Haematology*, 2004, 72(3): 203-212.
- [8] RANE S, HOGAN T, SEDDON B, et al. Age is not just a number: Naive T cells increase their ability to persist in the circulation over time[J]. *PLoS Biology*, 2018, 16(4): e2003949.
- [9] XIA Ying, LIU Aqing, LI Wentao, et al. Reference range of naïve T and T memory lymphocyte subsets in peripheral blood of healthy adult[J]. *Clinical and Experimental Immunology*, 2022, 207(2): 208-217.
- [10] GÓMEZ R O, ARQUEROS C, GALANO C, et al. Effector mechanisms of CD8<sup>+</sup> HLA-DR<sup>+</sup> T cells in breast cancer patients who respond to neoadjuvant chemotherapy[J]. *Cancers*, 2021, 13(24): 6167.
- [11] 林帝金, 刘纯岳, 方俊粤, 等. 乳腺肿瘤患者外周血中T淋巴细胞表面活化分子和Tregs的表达研究[J]. *现代检验医学杂志*, 2018, 33(5): 31-34, 37.
- [12] LIN Dijin, LIU Chunyue, FANG Junyue, et al. Expression of T lymphocyte surface activating molecules and tregs in peripheral blood of patients with breast neoplasia [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2018, 33(5): 31-34, 37.
- [13] JIN Jun, MU Yunmei, ZHANG Huimin, et al. CISH impairs lysosomal function in activated T cells resulting in mitochondrial DNA release and inflammasome activation[J]. *Nature Aging*, 2023, 3(5): 600-616.
- [14] WANG Yun, LUO Ying, TANG Guoxing, et al. HLA-DR expression level in CD8<sup>+</sup> T cells correlates with the severity of children with acute infectious mononucleosis[J]. *Frontiers in Immunology*, 2021, 12: 753290.
- [15] WENG Nanping, AKBAR A N, GORONZY J. CD28- T cells: their role in the age-associated decline of immune function[J]. *Trends in Immunology*, 2009, 30(7): 306-312.
- [16] LI Mingde, YAO Danlin, ZENG Xiangbo, et al. Age related human T cell subset evolution and senescence[J]. *Immunity & Ageing*, 2019, 16: 24.
- [17] MALY K, SCHIRMER M. The story of CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T cells revisited: solved or still ongoing?[J]. *Journal of Immunology Research*, 2015, 2015: 348746.
- [18] NANDI M, PAL S, GHOSH S, et al. CD8<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T cells: key cytotoxic players impacting disease pathogenesis in chronic HBV infection[J]. *Clinical science (London, England : 1979)*, 2019, 133(17): 1917-1934.
- [19] ZHANG Ti, LIU Xin, ZHAO Yue, et al. Excessive IL-15 promotes cytotoxic CD4<sup>+</sup>CD28<sup>-</sup> T cell-mediated renal injury in lupus nephritis[J]. *Immunity & Ageing*, 2022, 19(1): 50.
- [19] DEDEOGLU B, MEIJERS R W, KLEPPER M, et al. Loss of CD28 on peripheral T cells decreases the risk

- Methodological evaluation of mCIM and carbapenemase inhibitor-enhancing assays to detect CRE and CRPA enzyme producing phenotypes [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2023, 38(3): 165-169.
- [5] LORUSSO A B, CARRARA J A, BARROSO C D N, et al. Role of efflux pumps on antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23(24): 15779.
- [6] CACCIOTTO P, BASCIU A, OLIVA F, et al. Molecular rationale for the impairment of the MexAB-OprM efflux pump by a single mutation in MexA [J]. Computational and Structural Biotechnology Journal, 2022, 20: 252-260.
- [7] ALCALDE-RICO M, OLIVARES-PACHECO J, HALLIDAY N, et al. The impaired quorum sensing response of *Pseudomonas aeruginosa* MexAB-OprM efflux pump overexpressing mutants is not due to non-physiological efflux of 3-oxo-C12-HSL [J]. Environmental Microbiology, 2020, 22(12): 5167-5188.
- [8] IVANOV M E, FURSOVA N K, POTAPOV V D. *Pseudomonas aeruginosa* efflux pump superfamily (review of literature)[J]. Klinicheskaia Laboratornaia Diagnostika, 2022, 67(1): 53-58.
- [9] 王生成, 杨祚明, 蔡潇阳, 等. 海南某三甲医院多重耐药铜绿假单胞菌 MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN, MexXY-OprM 表达及与耐药表型的关系研究 [J]. 实用药物与临床, 2020, 23(3): 247-252.
- WANG Shengcheng, YANG Zuoming, CAI Xiaoyang, et al. Expression of MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN and MexXY-OprM in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and their relationship with drug resistance phenotypes in a Third Class A Hospital in Hainan [J]. Practical Pharmacy and Clinical Remedies, 2020, 23(3): 247-252.
- [10] NOLAN L M, ALLSOPP L P. Antimicrobial weapons of *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Advances in Experimental Medicine and Biology, 2022, 1386: 223-256.
- [11] PÉREZ-VÁZQUEZ M, LÓPEZ-CAUSAPÉ C, CORRAL-LUGO A, et al. Mutation analysis in regulator DNA-binding regions for antimicrobial efflux pumps in 17 000 *Pseudomonas aeruginosa* genomes [J]. Microorganisms, 2023, 11(10): 2486.
- [12] 冯金鑫, 张瑞琴. 3 所综合性医院分离的多重耐药铜绿假单胞菌外排泵 MexAB-OprM 的表达分析 [J]. 西北药学杂志, 2021, 36(5): 833-837.
- FENG Jinxin, ZHANG Ruiqin. Expression analysis of MexAB-OprM in multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* effluent pump isolated from 3 general hospitals [J]. Northwest Pharmaceutical Journal, 2021, 36(5): 833-837.
- [13] COSERIU R L, MARE A D, TOMA F, et al. Uncovering the resistance mechanisms in extended-drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates: insights from gene expression and phenotypic tests [J]. Microorganisms, 2023, 11(9): 2211.
- [14] YOON E J, JEONG S H. Mobile carbapenemase genes in *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Frontiers in Microbiology, 2021, 12: 614058.
- [15] SALMON-ROUSSEAU A, MARTINS C, BLOT M, et al. Comparative review of imipenem/cilastatin versus meropenem [J]. Medecine et Maladies Infectieuses, 2020, 50(4): 316-322.
- [16] WAN Dapeng, JING Xiaopeng, ZHOU Huan, et al. Differences between meropenem and imipenem disk to detect carbapenemase in gram-negative bacilli using simplified carbapenem inactivation method [J]. Journal of Infection and Chemotherapy, 2020, 26(6): 636-639.
- [17] 谢国艳, 蔡枫, 梁斌, 等. mCIM 法与 PAE-MHT 法检测铜绿假单胞菌产金属  $\beta$ -内酰胺酶的性能评价 [J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(1): 57-59, 64.
- XIE Guoyan, CAI Feng, LIANG Bin, et al. Evaluation of modified carbapenem inactivation method and *Pseudomonas aeruginosa*-Modified Hodge test for detection of metallo-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* [J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(1): 57-59, 64.
- [18] DEY D, KAVANAUGH L G, CONN G L. Antibiotic substrate selectivity of *Pseudomonas aeruginosa* MexY and MexB efflux systems is determined by a Goldilocks affinity [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2020, 64(8): e00496-20.
- [19] VANSCHOY B, CONDE H, COTRONEO N, et al. 1281. An evaluation of Tebipenem in vitro activity against a panel of *Pseudomonas aeruginosa* isolates with efflux, AmpC, and OprD mutations [J]. Open Forum Infectious Diseases, 2021, 8(Supplement 1): S728-S730.
- [20] CATTE A, RAMASWAMY V K, VARGIU A V, et al. Common recognition topology of mex transporters of *Pseudomonas aeruginosa* revealed by molecular modelling [J]. Frontiers in Pharmacology, 2022, 13: 1021916.
- [21] AL RASHED N, JOJI R M, SAEED N K, et al. Detection of overexpression of efflux pump expression in fluoroquinolone-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates [J]. International Journal of Applied & Basic Medical Research, 2020, 10(1): 37-42.
- 收稿日期: 2024-03-28  
修回日期: 2024-04-20
- (上接第6页)
- for early acute rejection after kidney transplantation [J]. PLoS One, 2016, 11(3): e0150826.
- [20] JIA Zhenghu, REN Zhiyao, YE Dongmei, et al. Immune-ageing evaluation of peripheral T and NK lymphocyte subsets in chinese healthy adults [J]. Phenomics (Cham, Switzerland), 2023, 3(4): 360-374.
- [21] TANG Guoxing, YUAN Xu, LUO Ying, et al. Establishing immune scoring model based on combination of the number, function, and phenotype of lymphocytes [J]. Aging, 2020, 12(10): 9328-9343.
- [22] GLEICHER N, BARAD D H. Gender as risk factor for autoimmune diseases [J]. Journal of Autoimmunity, 2007, 28(1): 1-6.
- [23] TAKAHASHI T, IWASAKI A. Sex differences in immune responses [J]. Science (New York, N.Y.), 2021, 371(6527): 347-348.
- 收稿日期: 2023-12-04  
修回日期: 2024-05-20