

• 临床检验研究 •

活化 T 淋巴细胞亚群检测在肾移植术后急性排斥反应和 CMV 感染鉴别中的应用

胡晓云¹, 吴丽娟², 刘毓刚², 帖儒修³

(1. 四川大学望江医院检验科, 成都 610065; 2. 中国人民解放军成都军区总医院检验科, 成都 610083; 3. 第三军医大学大坪医院检验科, 重庆 400042)

摘要:目的 探讨活化 T 淋巴细胞亚群在肾移植急性排斥反应(AR)和巨细胞病毒(CMV)感染鉴别诊断中的价值和意义。方法 采用回顾性调查法, 分析移植肾功能正常组(稳定组)、AR 组、CMV 感染组、健康对照组外周血 CD25⁺ HLA-DR⁻ T 淋巴细胞和 CD25⁻ HLA-DR⁺ T 淋巴细胞亚群的含量; 外周血活化 T 淋巴细胞亚群检测采用 FSC/SSC 设门的三色流式细胞术。结果 AR 组患者外周血 CD3⁺ CD25⁻ HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群和 CD3⁺ CD25⁺ HLA-DR⁻ 淋巴细胞亚群的百分含量及绝对含量均较对照组明显升高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$), 而 CMV 感染组仅 CD3⁺ CD25⁻ HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群的百分含量和绝对含量较对照组升高($P < 0.01$)。AR 组和 CMV 感染组比较发现, 两组患者外周血 CD3⁺ CD25⁻ HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群之间差异无统计学意义($P > 0.05$), AR 组 CD3⁺ CD25⁺ HLA-DR⁻ 淋巴细胞亚群的百分含量和绝对含量均较 CMV 感染组高($P < 0.01$ 或 $P < 0.05$)。结论 外周血 CD25⁺ HLA-DR⁻ T 淋巴细胞和 CD25⁻ HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群含量的测定可以用于肾移植患者术后 AR 和 CMV 感染的诊断与鉴别。

关键词: 肾移植; 巨细胞病毒; 急性排斥反应; 活化淋巴细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.014

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)15-1688-02

Clinical application of monitoring activated T-lymphocytes in differential diagnosis of acute rejection and CMV infection after renal transplantation

Hu Xiaoyun¹, Wu Lijuan², Liu Yugang², Tie Ruxiu³

(1. Department of Medical Laboratory, Wangjiang Hospital, Sichuan University, Chengdu 610065, China; 2. Department of Medical Laboratory, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China; 3. Department of Medical Laboratory, Daping Hospital, Third Military Medical University, Chongqing 400042, China)

Abstract: **Objective** To analyze the differential diagnostic value and efficacy of activated T-lymphocyte detected by flow cytometry between acute rejection (AR) and cytomegalovirus (CMV) infection after renal transplantation. **Methods** All subjects were divided into 4 groups, including group with normal renal function and without rejection (group A), group with AR (group B), group with CMV infection (group C) and group of healthy volunteers (group D). Peripheral blood collected from all subjects were analyzed for CD25⁺ HLA-DR⁻ T lymphocyte and CD25⁻ HLA-DR⁺ T lymphocyte by using FSC/SSC gated three-color flow cytometry. **Results** Percentage and absolute counts of peripheral blood CD25⁺ HLA-DR⁻ T lymphocyte and CD25⁻ HLA-DR⁺ T lymphocyte in group B were significantly higher than those in group D ($P < 0.01$ or $P < 0.05$), and only percentage and absolute counts of CD25⁻ HLA-DR⁺ T lymphocyte in group C were higher than those in group D significantly ($P < 0.01$). There was no statistical difference of the percentage and absolute counts of CD3⁺ CD25⁻ HLA-DR⁺ T lymphocyte between group B and group C ($P > 0.05$), but those of CD3⁺ CD25⁺ HLA-DR⁻ T lymphocyte in group B were higher than those in group C ($P < 0.01$ or $P < 0.05$). **Conclusion** The determination of peripheral blood CD25⁺ HLA-DR⁻ T lymphocyte and CD25⁻ HLA-DR⁺ T lymphocyte by flow cytometry could be used for the diagnosis and differential diagnosis between AR and CMV infection after renal transplantation.

Key words: kidney transplantation; cytomegalovirus; acute rejection; activated T-lymphocyte

肾移植(RT)是当今根治肾衰竭(RF)的主要手段, 术后急性排斥反应(AR)和巨细胞病毒(CMV)感染的及时鉴别诊断对于临床十分重要, 是临床治疗措施决策的关键, 也是长期以来困扰 RT 领域的难题之一^[1-2]。本研究以流式细胞术检测外周血活化 T 淋巴细胞亚群含量, 回顾性调查了其在患者 RT 术后 AR 与 CMV 感染鉴别中的应用价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 全部 RT 病例为 2005 年 6 月至 2011 年 4 月西南地区 3 家综合性三甲医院泌尿外科住院患者, 共 96 例, 男 62 例, 女 34 例, 年龄 27~60 岁, 平均(46±7)岁。其中, 术后肾功能正常者 68 例(稳定组), 发生 AR 者 15 例(AR 组), 发生 CMV 感染者(无完整病原学指标的病例除外)13 例(CMV 感

染组)。对照组 100 例为同期体检人群中被证实的健康人员, 男 50 例, 女 50 例, 年龄 18~67 岁, 平均(40±6)岁。

1.2 仪器与试剂 同型对照抗体 IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5、测定抗体 CD3-FITC/HLA-DR-PE/CD25-PC5、标本预处理试剂(包括溶液 A、B、C)、鞘液等均为美国 Beckman Coulter 公司产品。测定时使用美国 Beckman Coulter 公司 XL4-MCL 流式细胞仪。

1.3 方法

1.3.1 标本采集 清晨空腹抽取肘静脉血 2~3 mL, EDTA-K₂ 抗凝, 采血后立即送检。

1.3.2 测定方法 采用三色流式细胞术, 以 FSC/SSC 设门法分析淋巴细胞群。具体方法参见文献[3]。

1.4 统计学处理 采用 Excel 2003 软件进行统计学处理,结果以 $\bar{x} \pm s$ 表示。绝对含量的组间比较采用 t 检验,百分率的组间比较采用方差分析,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

AR 组患者外周血 CD3⁺CD25⁻HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群和 CD3⁺CD25⁺HLA-DR⁻ 淋巴细胞亚群的百分含量及绝对含量均较对照组明显升高,而 CMV 感染组仅 CD3⁺CD25⁻HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群的百分含量和绝对含量较对照组升

高。AR 组和 CMV 感染组比较发现,两组患者外周血 CD3⁺CD25⁻HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群之间差异无统计学意义($P > 0.05$),而 CD3⁺CD25⁺HLA-DR⁻ 淋巴细胞亚群明显不同,AR 组 CD3⁺CD25⁺HLA-DR⁻ 淋巴细胞亚群的百分含量和绝对含量均较 CMV 感染组高。上述结果提示,发生 AR 时,患者外周血两种活化 T 淋巴细胞含量均明显升高;RT 并发 CMV 感染时,患者外周血中仅 CD3⁺CD25⁻HLA-DR⁺ 淋巴细胞亚群的含量会明显升高,见表 1。

表 1 外周血活化 T 淋巴细胞检测结果($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ CD25 ⁻ HLA-DR ⁺ 淋巴细胞亚群		CD3 ⁺ CD25 ⁺ HLA-DR ⁻ 淋巴细胞	
		百分含量(%)	绝对含量($\times 10^9/L$)	百分含量(%)	绝对含量($\times 10^9/L$)
对照组	100	3.05 $\pm$ 1.34	0.03 $\pm$ 0.01	15.94 $\pm$ 3.67	0.50 $\pm$ 0.22
稳定组	68	5.12 $\pm$ 1.03	0.07 $\pm$ 0.03	17.87 $\pm$ 4.24	0.63 $\pm$ 0.41
AR 组	15	25.11 $\pm$ 10.06 [#]	0.27 $\pm$ 0.12 [#]	32.07 $\pm$ 8.89 [#]	1.12 $\pm$ 0.87 [*]
CMV 感染组	13	23.12 $\pm$ 9.94 [#]	0.24 $\pm$ 0.13 [#]	16.04 $\pm$ 4.43 [▲]	0.59 $\pm$ 0.42 [△]

*: $P < 0.05$, #: $P < 0.01$,与对照组比较;△: $P < 0.05$,▲: $P < 0.01$,与 AR 组比较。

3 讨 论

CD25 抗原是白细胞介素-2(IL-2)的低亲和力受体(IL-2R α),可与 CD122(即 IL-2R β)结合,形成高亲和性的 IL-2R 复合物。CD25 表达于活化 T 细胞、活化 B 细胞、活化巨噬细胞和一些 T 细胞克隆中,因此在静息状态下的外周血中,存在一定量的 CD25⁺T 淋巴细胞(即 CD3⁺CD25⁺HLA-DR⁻淋巴细胞或 CD25⁺HLA-DR⁻T 淋巴细胞),但是总体水平较低^[4]。人类白细胞抗原(HLA)-DR 属于 HLA II 类分子,只表达于抗原提呈细胞(APC),只存在于 B 淋巴细胞、单核细胞、巨噬细胞及胸腺上皮细胞,T 淋巴细胞、粒细胞、血小板和红细胞表面没有 HLA-DR 分子表达,但是 T 淋巴细胞活化后即表达 HLA-DR 分子^[5]。因此,静息状态下的外周血中,HLA-DR⁺淋巴细胞含量极低。有文献报道,慢性肾衰竭患者接受 RT 治疗发生 AR 时可见到外周血 HLA-DR⁺淋巴细胞百分含量升高^[6],提示存在 T 淋巴细胞被激活的情况。考虑到 HLA-DR⁺淋巴细胞和 CD25⁺T 淋巴细胞为活化 T 淋巴细胞的两个重要亚群,为此笔者观察了 RT 后发生 AR 和 CMV 感染时,患者外周血中上述两种活化 T 淋巴细胞含量的变化。结果表明,RT 后发生 AR 时 HLA-DR⁺淋巴细胞和 CD25⁺T 淋巴细胞均明显升高,而发生 CMV 感染时,仅 HLA-DR⁺淋巴细胞升高,CD25⁺T 淋巴细胞含量无明显改变。上述结果提示,监测 RT 后患者外周血 HLA-DR⁺淋巴细胞和 CD25⁺T 淋巴细胞含量的变化,可以对发生 AR 和 CMV 感染做出及时诊断和鉴别。

RT 后 AR 和并发 CMV 感染是造成患者死亡的主要原因,但是它们的临床处理方法完全不同,AR 可借助增加免疫抑制剂剂量加以调控,但是 CMV 感染则需要抗病毒治疗,过度抑制患者自身的免疫功能只会加重 CMV 感染,但是在临床症状上二者却很相似,很难区别^[7-10]。本研究结果表明,将 CD25⁺T 淋巴细胞含量的变化与 HLA-DR⁺T 淋巴细胞含量的变化联合用于 RT 患者术后外周血活化 T 细胞监测,能够及时诊断和鉴别术后 AR 和并发 CMV 感染,很好地满足了临床

的需求。

参考文献

[1] Galante NZ,Camara NO,Kallas EG,et al. Noninvasive immune monitoring assessed by flow cytometry and real time RT-PCR in urine of renal transplantation recipients[J]. Transpl Immunol, 2006,16(2):73-80.

[2] Daniel V,Naujokat C,Sadeghi M,et al. Observational support for an immunoregulatory role of CD3⁺CD4⁺CD25⁺IFN-gamma⁺ blood lymphocytes in kidney transplant recipients with good long-term graft outcome[J]. Transpl Int,2008,21(7):646-660.

[3] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京:人民军医出版社, 2010:116-119.

[4] 薛剑,沈立松. Foxp3 参与调节性 T 细胞功能相关基因表达调控的研究进展[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(3):255-257.

[5] 朱宇芳. 流式细胞术检测人类白细胞抗原-B27 在诊断强直性脊柱炎中的价值[J]. 国际检验医学杂志,2010,31(7):735-736.

[6] 李香铁,李慎勤,刘少鸽,等. 肾移植术后测定外周血 CD3/HLA-DR 及 CD3/CD(16-56)的临床意义[J]. 中华器官移植杂志,1999, 20(1):27-29.

[7] Huurman VA,Kalpoe JS,van de Linde P,et al. Choice of antibody immunotherapy influences cytomegalovirus viremia in simultaneous pancreas-kidney transplant recipients[J]. Diabetes Care, 2006,29(4):842-847.

[8] 章咏裳. 肾移植术后巨细胞病毒感染[J]. 中华器官移植杂志, 2000,21(4):248-249.

[9] 许元文,梁艳冰,毛海萍,等. 肾移植受者巨细胞病毒感染及免疫抑制剂对其的影响[J]. 中华器官移植杂志,2001,22(4):201-203.

[10] 周敬敏,李汉忠. 肾移植急性排斥反应的早期诊断[J]. 国际移植与血液净化杂志,2006,4(2):17-21.

(收稿日期:2011-06-10)