

• 临床检验研究 •

HIV 合并 HBV/HCV 感染患者外周血 T 细胞亚群的变迁

栗群英, 吴丽娟, 陈 莉, 刘毓刚, 彭 燕
(成都军区总医院检验科, 成都 610063)

摘要:目的 了解 HIV 合并 HBV、HCV 感染患者外周血 T 细胞亚群的变化特征, 探讨 HIV 合并 HBV 和 HCV 感染后患者的免疫功能。方法 采用三色流式细胞学检测技术, 对 26 例 HIV 合并 HBV 和 HCV 感染患者(合并感染组)、35 例单纯 HIV 感染患者(单纯感染组)和 194 例健康人群(健康对照组)外周血总 T 细胞、 T_4 细胞、 T_8 细胞含量进行测定并计算 T_4/T_8 比值。结果 单纯感染组患者外周血总 T 细胞、 T_4 细胞、 T_8 细胞的百分含量和 T_4/T_8 比值分别为 66.42 ± 4.11 、 27.74 ± 2.34 、 47.72 ± 3.86 和 0.74 ± 0.19 , 合并感染组分别为 54.76 ± 3.42 、 22.31 ± 1.87 、 58.23 ± 4.62 和 0.33 ± 0.12 , 健康对照组值分别为 69.98 ± 5.79 、 35.25 ± 5.16 、 25.08 ± 4.34 和 1.45 ± 0.28 。单纯感染组患者 T_4 细胞和 T_4/T_8 比值明显低于健康对照组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。单纯感染组患者 T_8 细胞较对照组明显升高 ($P < 0.05$)。合并感染组总 T 细胞、 T_4 细胞和 T_4/T_8 比值明显低于健康对照组和单纯感染组 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。合并感染组 T_8 细胞较健康对照组和单纯感染组明显升高 ($P < 0.05$, $P < 0.01$)。结论 HIV 感染患者合并 HBV 和 HCV 感染将进一步加重体内免疫功能的紊乱; 检测外周血 T 细胞亚群有利于 HIV、HBV 和 HCV 多重感染患者的鉴别诊断、病情监测以及预后判断, 是一项十分有效的客观依据。

关键词: HIV; 肝炎病毒, 乙型; 肝炎病毒, 丙型; T 淋巴细胞亚群; 流式细胞术

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2011.20.007

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2011)20-2313-02

The changes of peripheral blood T lymphocyte subset in the patients of HIV concurrent infection with HBV/HCV

Li Qunying, Wu Lijuan, Chen li, Liu Yugang, Peng yan

(Department of Medical Laboratory, Chengdu Military General Hospital, Chengdu 610083, China)

Abstract: **Objective** To Analyze of the change character of peripheral blood T lymphocyte subset in the patients of HIV concurrent infection with HBV/HCV, and investigate the immune function of these patients. **Methods** Three color Flow cytometry was used to determine the peripheral blood total T cell, $CD4^+$ T cell, $CD8^+$ T cell and calculate $CD4^+$ T / $CD8^+$ T in 26 patients of HIV concurrent infection with HBV/HCV (concurrent infection group), 35 patients with HIV only (simple infection group) and 194 health people (control group). **Results** The peripheral blood total T cell, $CD4^+$ T cell, $CD8^+$ T cell and $CD4^+$ T / $CD8^+$ T in simple infection group were 66.42 ± 4.11 , 27.74 ± 2.34 , 47.72 ± 3.86 and 0.74 ± 0.19 , or concurrent infection group were 54.76 ± 3.42 , 22.31 ± 1.87 , 58.23 ± 4.62 and 0.33 ± 0.12 ; and control group were 69.98 ± 5.79 , 35.25 ± 5.16 , 25.08 ± 4.34 and 1.45 ± 0.28 . Significantly higher percentage of $CD8^+$ T lymphocyte, lower of $CD4^+$ T lymphocyte and $CD4^+$ / $CD8^+$ ratio in simple infection group were found, comparing to those in controls ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). It was also demonstrate that in the group of concurrent infection, the percentage of total T lymphocyte, $CD4^+$ T lymphocyte and $CD4^+$ / $CD8^+$ were lower and $CD8^+$ T lymphocyte was higher than those in simple infection group and control group ($P < 0.05$ or $P < 0.01$). **Conclusion** Concurrent infection with HBV and HCV in patient of HIV infection will aggravate immune disorder; Detection of peripheral blood T lymphocyte subset can be used to differential diagnosis, patients' condition motion and prognosis judgment in patients of HIV/HBV/HCV multiple infection.

Key words: HIV; hepatitis B virus; hepatitis C virus; T lymphocyte subset; flow cytometry

获得性免疫缺陷综合征 (AIDS) 是由人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染引起的一种传染病, 已成为全球重大公共卫生危机和社会问题。中国自 1985 年发现首例艾滋病以来, 流行已经进入快速增长期, 并正在由高危人群向一般人群扩散。由于人体感染 HIV 后, 机体免疫系统受到破坏, 很容易合并各种机会感染, 多病毒重叠感染使免疫功能急剧下降。作者对 HIV 合并 HBV、HCV 感染及单纯 HIV 感染患者的外周血总 T 细胞 ($CD3^+$)、 T_4 细胞 ($CD3^+ CD4^+$)、 T_8 细胞 ($CD3^+ CD8^+$) 和 T_4/T_8 进行了回顾性调查。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2008~2010 年来本院就诊的门诊及住院患者, 其中 HIV 合并 HBV、HCV 感染患者 (合并感染组) 26 例, 其中男 21 例, 女 5 例; 单纯 HIV 感染患者 (单纯感染组) 35 例, 包括男 26 例, 女 9 例, 平均年龄 42 岁。HIV 感染患者均经四

川省疾病预防控制中心确诊, HBV、HCV 感染的诊断符合世界卫生组织相关标准。对照组 194 例为健康体检人群中被证实的健康者, 其中男 96 例, 女 98 例, 年龄 19~62 岁, 平均 37.4 岁。

1.2 仪器及试剂 T 淋巴细胞亚群检测试剂包括同型对照抗体 IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5、测定抗体 $CD4$ -FITC/ $CD8$ -PE/ $CD3$ -PC5、标本预处理试剂 (包括溶液 A、溶液 B 和溶液 C)、鞘液等均为美国 Beckman-Coulter 公司产品, 仪器为美国 Beckman-Coulter 公司 XL4-MCL 流式细胞仪。HBV、HCV 检测试剂由北京万泰生物公司提供, 仪器为上海热电仪器公司产 Multiskan-MK3 型酶标仪及上海新波公司 EGATE2310 型洗板机。

1.3 方法

1.3.1 流式 T 细胞亚群检测 清晨采取静脉血 2 mL (EDTA

抗凝)并立即送验。采用三色流式细胞术,SSC/FSC 设门淋巴细胞分析总 T 细胞(CD3⁺)、T₄ 细胞(CD3⁺ CD4⁺)、T₈ 细胞(CD3⁺ CD8⁺)和 T₄/T₈ 比值。具体方法见参考文献[1]执行。

1.3.2 HIV、HBV、HCV 检测 采用 ELISA 法,具体检验步骤严格按照说明书进行操作。HIV(1+2)型抗体进行初筛,阳性者再用原有试剂和不同厂家酶免试剂及金标试剂进行复检,如为一阴一阳或阳性者,送四川省疾病预防控制中心(CDC)采用免疫印迹法(WB)进行确认。

1.4 统计学处理 应用统计软件 SPSS17.0 对数据进行统计分析,所有数据以($\bar{x}\pm s$)表示,组间比较采用方差检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

HIV 感染患者总 T 细胞、T₄ 细胞含量均有一定程度减少,T₈ 细胞有升高,导致 T₄/T₈ 比值下降。将 HIV 感染患者

的结果与健康对照组比较,单纯感染组 T₄ 细胞和 T₄/T₈ 比值明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),T₈ 细胞则明显升高($P<0.01$),总 T 细胞未见减低($P>0.05$);合并感染组总 T 细胞、T₄ 细胞和 T₄/T₈ 比值明显降低($P<0.05$, $P<0.01$),T₈ 细胞明显升高($P<0.01$)。将单纯感染组与合并感染组患者的结果进行比较,合并感染组总 T 细胞、T₄ 细胞和 T₄/T₈ 比值均明显低于单纯感染组($P<0.05$, $P<0.01$),T₈ 细胞则明显升高($P<0.05$)。上述结果提示,HIV 感染将导致患者外周 T₄ 细胞不同程度的减少,当 HIV 感染患者再合并 HBV 和 HCV 感染后,患者 T₄ 细胞的减少进一步加剧,此时总 T 细胞也开始减少;相反,HIV 感染将引起 T₈ 细胞的增加,当 HIV 感染患者再合并 HBV 和 HCV 感染后,患者 T₈ 细胞的增加进一步加剧,导致 T₄/T₈ 比值严重倒置,见表 1。

表 1 HIV 感染患者外周血 T 淋巴细胞亚群检测结果(% , $\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	总 T 细胞	T ₄ 细胞	T ₈ 细胞	T ₄ /T ₈ 比值
健康对照组	194	69.98±5.79	35.25±5.16	25.08±4.34	1.45±0.28
单纯感染组	35	66.42±4.11	27.74±2.34*	47.72±3.86**	0.74±0.19**
合并感染组	26	54.76±3.42*△	22.31±1.87*△	58.23±4.62**△	0.33±0.12**△△

*: $P<0.05$,**: $P<0.01$,与健康对照组比较;△: $P<0.05$,△△: $P<0.01$,与单纯感染组比较。

3 讨 论

艾滋病毒(HIV)、乙肝病毒(HBV)、丙肝病毒(HCV)感染是世界性的重要公共卫生问题。由于 HIV、HBV、HCV 可经共同的途径传播,如静脉注射、性接触及母婴传播等,故 HIV、HBV、HCV 重叠感染在临床十分常见。文献报道,T 细胞亚群的数量与功能发生异常时,可导致机体免疫功能紊乱,增加 HBV 感染风险^[2-3];T 细胞亚群的数量与功能同 HBV 的复制关系密切^[4-5];HIV、HCV 重叠感染者,其 HCV 水平显著高于单纯 HCV 感染者,且高 HCV 水平与 CD4⁺ T 细胞数量减少有关^[6-7]。上述研究结果表明,HIV 感染与 HBV、HCV 感染以及 T 细胞亚群密切相关。

正常情况下,外周血中的 T 细胞亚群主要包括 T₄ 细胞亚群和 T₈ 细胞亚群。T₄ 细胞亚群简称 T₄ 细胞,也称其为 CD4⁺ T 淋巴细胞,其免疫学标志为 CD3⁺ CD4⁺。T₈ 细胞亚群简称 T₈ 细胞,也称其为 CD8⁺ T 细胞,其免疫学标志为 CD3⁺ CD8⁺。CD3⁺ 是 T 细胞的共同免疫学标志,因此,通常以 CD3⁺ 的淋巴细胞为总 T 细胞。文献报道,T₄ 细胞数量进行性减少是 HIV 感染的重要特征性改变,并且贯穿整个疾病的全过程^[2]。T₄ 细胞表面的 gP120 蛋白是 HIV 壳蛋白的受体,HIV 进入血液后,借助壳蛋白与 T₄ 细胞表面的 gP120 蛋白结合,介导 HIV 入侵 T₄ 细胞,并在 T₄ 细胞内大量繁殖,引起 T₄ 细胞的凋亡与破裂,进而释放出更多的 HIV 去感染血液中的其他 T₄ 细胞,最终造成 T₄ 细胞的大量破坏。大量 HIV 入侵的信息被抗原提呈细胞加工处理后传递给 T₈ 细胞,T₈ 细胞被活化进而大量增殖,以发挥其细胞毒作用,直接杀伤被 HIV 感染的 T₄ 细胞,进一步加重了 T₄ 细胞的破坏和 HIV 病毒的释放。HBV 和 HCV 感染同样也是引起 T₈ 细胞的活化与增殖,被 HBV 和 HCV 活化的 T₈ 细胞对感染了 HBV 和 HCV 的肝细胞发挥细胞毒作用的同时,是否也参与了对 HIV 感染的 T₄ 细胞的细胞毒作用呢,此点目前尚无定论。本调查

结果证实,被 HBV 和 HCV 活化的 T₈ 细胞是参与了对 HIV 感染的 T₄ 细胞的细胞毒作用的,在 HIV 合并 HBV 和 HCV 感染的患者外周血检查中发现,HIV、HBV 和 HCV 合并感染患者的外周血 T₈ 细胞的数量增加较单纯 HIV 感染患者的增加更为剧烈,而总 T 细胞和 T₄ 细胞较单纯 HIV 感染患者减低更为严重。因此,来自 HIV 感染和来自 HBV、HCV 感染引起的对机体免疫功能的伤害作用是两相叠加的,其结果是 T₄ 细胞破坏更为惨重。

T₄ 细胞和 T₈ 细胞是机体最为主要的免疫效应细胞,T₈ 细胞的功能在于清除被病毒感染了的靶细胞,T₄ 细胞的功能则在于清除入侵机体的细菌等病原微生物。单纯 HIV 感染的早中期患者,其外周血总 T 细胞数量一般多正常或只是轻微减低,体内免疫功能尚可维持一定的抵御外来微生物感染的能力。HIV 感染合并 HBV、HCV 感染后,患者体内的 T₄ 细胞被严重破坏,总 T 细胞水平进行性降低,最终累及 T₈ 细胞数量减少,机体免疫功能被彻底摧毁,临床上常常见到患者合并多重耐药菌感染、真菌感染、肿瘤等,最终全身功能衰竭而亡。

本调查同时也表明,开展外周血 T 细胞亚群检测对于 HIV 感染的诊断、HIV 合并 HBV 和 HCV 感染患者免疫功能的动态监测,以及病情和预后的判断都是十分有效的客观依据。

参考文献

[1] 吴丽娟.临床流式细胞学检验技术[M].北京:人民军医出版社,2010:79-82.

[2] 林飞卿.医学基础免疫学[M].上海:上海医科大学出版社,1992:127.

[3] Cooksley H,Chokshi S,Maayan Y,et al. Hepatitis B virus e antigen loss during adefovir dipivoxil therapy is associated with enhanced virus-specific CD4⁺ T-cell reactivity[J]. Antimicrob Agents Chemother,2008,52(1):312-320.

[4] Reherrmann B,Chang KM,Mc Hutchinson J,(下转第 2316 页)

时,期内 B 组比 A 组下降幅度更大,术后 1 周两组下降幅度比较差异有统计学意义($P<0.05$),其余时间段两组下降幅度比较无统计学意义;A 组总胆红素术后 1 周略有上升,由(74.8±44.5) $\mu\text{mol/L}$ 升至(80.6±41.2) $\mu\text{mol/L}$,差异无统计学意义,B 组总胆红素术后 1 周下降明显,由(89.3±45.1) $\mu\text{mol/L}$ 降至(65.2±36.3) $\mu\text{mol/L}$,差异有统计学意义($P<0.01$),A 组术

后 1 个月总胆红素下降明显由(80.6±41.2) $\mu\text{mol/L}$ 降至(62.5±37.2) $\mu\text{mol/L}$,B 组继续下降,差异均有统计学意义($P<0.01$),术后 3~6 个月差异无统计学意义;两组清蛋白术后均开始逐渐上升,术后 6 个月明显升高,差异有统计学意义($P<0.05$);两组凝血酶原时间术后均有不同程度改善,但与术前比较差异无统计学意义($P>0.05$),见表 1。

表 1 58 例干细胞移植患者血液生化指标变化($\bar{x}\pm s$)

时间	组别	丙氨酸氨基转移酶(IU/L)	天门冬氨酸氨基转移酶(IU/L)	总胆红素($\mu\text{mol/L}$)	清蛋白(g/L)	凝血酶原时间(s)
术前	A 组	60.6±30.4	89.3±41.1	74.8±44.5	27.1±3.9	17.8±4.3
	B 组	65.3±33.5	82.6±42.6	89.3±45.1	26.9±2.9	16.9±3.8
术后 1 周	A 组	66.9±31.2	70.2±38.6*	80.6±41.2	30.3±3.8	18.2±4.6
	B 组	64.1±33.8	61.3±37.2*	65.2±36.3*	28.1±3.2	17.3±4.1
术后 4 周	A 组	61.2±30.1	52.3±30.2*	62.5±37.2*	32.5±3.5	17.6±4.1
	B 组	48.5±26.3*	48.9±29.6*	43.2±31.2*	31.4±3.1	17.1±3.9
术后 12 周	A 组	50.3±29.6*	50.2±25.3*	40.3±26.3*	32.3±3.8	16.8±4.0
	B 组	46.5±27.3*	46.3±24.1*	41.2±28.5*	32.1±3.0	16.1±3.5
术后 24 周	A 组	38.5±23.5*	48.6±26.5*	39.2±24.1*	35.6±3.6*	16.4±3.2
	B 组	36.2±21.5*	45.3±25.3*	38.0±25.3*	37.1±3.4*	15.9±3.3

*: $P<0.05$,与术前比较。

3 讨 论

脐带血干细胞以其独特的生物学特性、资源优势及广泛的移植适应证等优势弥补了骨髓及外周血干细胞移植的某些不足,成为近十几年来造血干细胞移植领域的研究热点^[4]。干细胞移植成功与否,与其浓度和质量的高低密切相关^[5],对肝干细胞来说,只有移植一定数量的细胞才可能具有改善脏器的衰弱状态,所以干细胞计数对于干细胞移植治疗的效果评价至关重要。

本研究表明,所有患者在经过脐血干细胞移植治疗 6 个月后,ALT、AST、TB 均明显下降,ALB 明显上升,治疗前后差异有统计学意义($P<0.05$),说明脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化是有效的,PT 改变不明显,治疗前后差异无统计学意义($P>0.05$),这与国内的报道是相符的^[2-3],可能是由于本文选取的病例最长跟踪检测期限仅为 6 个月,而凝血酶原时间的恢复需要较长时间。

但是,与 A 组比较,B 组在术后 1 周 AST、TB 即已出现明显下降,术后 1 个月 ALT 有明显下降,与 A 组比较,差异均有统计学意义,说明高水平的干细胞移植能够在短时间内改善患者肝功能,这对于身体状况较差的终末期肝脏病患者来说,无疑是一个希望的信号^[6]。

目前,脐血干细胞移植治疗肝硬化尚处在探索阶段,治疗病例数量较少,追踪患者各项指标的时间也较短,其远期疗效、不良反应等尚需进一步观察及研究。

参考文献

[1] Kakinuma S, Tanaka Y, Chinzei R, et al. Human umbilical cord blood as a source of transplantable hepatic progenitor cells[J]. Stem Cells, 2003, 21(1): 217-227.

[2] 杨宏丽, 于发涛, 李桂杰, 等. 脐血干细胞移植治疗失代偿期肝硬化 86 例疗效观察[J]. 山东医药, 2010, 50(45): 16-17.

[3] 胡小宣, 陈海鸥, 钱林, 等. 经肝动脉脐血干细胞移植治疗肝硬化的临床应用[J]. 中华全科医师杂志, 2011, 10(1): 58-60.

[4] 黄钢丁. 人脐血干细胞的特性及其肝细胞分化的研究进展[J]. 医学文选, 2005, 24(1): 109-111.

[5] 王亮, 李梅君. 造血干细胞移植在肝脏疾病治疗中的应用与进展[J]. 中国组织工程研究与临床康复, 2009, 13(45): 8983-8986.

[6] 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: 50-52.

(收稿日期: 2011-08-08)

(上接第 2314 页)

et al. Differential cytotoxic T-lymphocyte responsiveness to the hepatitis B and C viruses in chronically infected patients[J]. J Virol, 1996, 70(10): 7092-7102.

[5] Daar ES, Lynn H, Donfield S, et al. Relation between HIV-1 and hepatitis C viral load in patients with Hemophilia[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2001, 26(5): 466-472.

[6] Greub G, Ledergerber B, Battegay M, et al. Clinical progression,

survival, and immune recovery during antiretroviral therapy in patients with HIV-1 and hepatitis C virus coinfection: the Swiss HIV cohort study[J]. Lancet, 2000, 356(9244): 1800-1805.

[7] 李太生, 邱志峰. HIV 感染和 AIDS 患者 T 淋巴细胞免疫病理改变的研究[J]. 中华医学杂志, 2002, 82(20): 1391-1395.

(收稿日期: 2011-08-08)