

· 论 著 ·

## T 淋巴细胞亚群与炎症因子在评估再生障碍性贫血病情及预后中的应用

何亚利, 梁顺容, 钟一梅

(江门市五邑中医院检验科, 广东江门 529000)

**摘要:**目的 研究 T 淋巴细胞亚群与炎症因子检测在再生障碍性贫血(AA)病情及预后评估中的价值。方法 选取本院收治的 40 例 AA 患者作为 AA 组,并进一步分为急性再生障碍性贫血(AAA)组和慢性再生障碍性贫血(CAA)组;同时选取同期于本院体检的 40 例健康者作为对照组。比较两组患者的血常规指标、外周血 T 淋巴细胞亚群百分率和血清炎症因子水平。结果 AA 组患者外周血辅助性 T 淋巴细胞(Th)Th1、Th17 细胞百分率及 Th1/Th2、Th17/Treg 调节性 T 淋巴细胞(Treg)比例均高于对照组( $P < 0.05$ ),Th2、Treg 细胞百分率低于对照组( $P < 0.05$ );AAA 组外周血 Th1、Th17 细胞百分率及 Th1/Th2、Th17/Treg 比例高于 CAA 组,Th2、Treg 细胞水平低于 CAA 组( $P < 0.05$ )。AA 组患者血清白细胞介素(IL)-2、IFN- $\gamma$ 、IL-17 水平高于对照组,IL-4、IL-6、IL-10 水平低于对照组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );AAA 组血清中 IL-2、干扰素- $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、IL-17 水平高于 CAA 组,IL-4、IL-6、IL-10 水平低于 CAA 组,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ );血红蛋白(Hb)水平、PTL 与 Th1、Th17 细胞水平及 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-17 水平呈负相关,与 Th2、Treg 细胞水平及 IL-4、IL-6、IL-10 水平呈正相关。结论 AA 患者外周血中 T 淋巴细胞亚群百分率及血清炎症因子水平存在异常,而且与反映病情严重程度及预后的指标具有良好的相关性。

**关键词:**再生障碍性贫血; 辅助性 T 淋巴细胞; 调节性 T 淋巴细胞; 炎症因子

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2015.17.026

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2015)17-2516-03

## Application of T lymphocyte subsets and inflammatory factors in evaluating severity and prognosis of aplastic anemia

He Yali, Liang Shunrong, Zhong Yimei

(Department of Clinical Laboratory, Jiangmen Wuyi Traditional Chinese Medicine Hospital, Jiangmen, Guangdong 529000, China)

**Abstract: Objective** To study the application value of T lymphocyte subsets and inflammatory factors in evaluating severity and prognosis of aplastic anemia. **Methods** 40 patients with aplastic anemia in the hospital were enrolled in the study as AA group, which was further divided into acute aplastic anemia(AAA) subgroup and chronic aplastic anemia(CAA) subgroup. In addition to that, 40 healthy people who received physical examination in the hospital during the same period were enrolled in the study as control group. Then blood routine tests were performed, T lymphocyte subsets content in peripheral blood and serum inflammatory factor content were detected and the results were compared. **Results** Th1, Th17 contents and Th1/Th2, Th17/Treg ratio in AA group were higher than those in control group( $P < 0.05$ ), while Th2, Treg contents were lower( $P < 0.05$ ); Th1, Th17 contents and Th1/Th2, Th17/Treg ratio in AAA group were higher than those in CAA group( $P < 0.05$ ), while Th2, Treg cells contents were lower. Serum IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-17 contents in AA group were higher than those in control group( $P < 0.05$ ), while IL-4, IL-6, IL-10 contents were lower( $P < 0.05$ ); serum IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-17 contents in AAA group were higher than those of CAA group, while IL-4, IL-6, IL-10 contents were lower. Hb, PTL contents were negatively correlated with Th1, Th17 contents and serum IL-2, IFN- $\gamma$ , IL-17 contents, while positively correlated with Th2, Treg cells contents and serum IL-4, IL-6, IL-10 contents. **Conclusion** Peripheral blood T lymphocyte subsets and serum inflammatory factors contents in aplastic anemia are abnormal and are correlated with the severity and prognosis related indicators.

**Key words:** aplastic anemia; helper T cell; regulatory T cells; inflammatory factor

再生障碍性贫血(AA)是血液系统的常见疾病,是骨髓造血功能衰竭所致的全血细胞减少综合征,临床主要表现为贫血、出血、感染,无肝脾淋巴结肿大,该病的发生与细胞免疫功能异常密切相关<sup>[1]</sup>。T 淋巴细胞是调节细胞免疫功能的重要细胞,不同的 T 淋巴细胞亚群在细胞免疫调节过程中发挥了不同的作用<sup>[2]</sup>。笔者分析了 T 淋巴细胞亚群与炎症因子在评估 AA 病情及预后中的应用价值。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取 2013 年 4 月至 2014 年 9 月本院收治的 40 例 AA 患者作为 AA 组,所有患者均符合《血液病诊断及疗效标准》中 AA 的诊断标准<sup>[3]</sup>;选取同期于本院进行体检且合格的 40 例健康者作为对照组。两组人群均在告知研究事项后

签署知情同意书。AA 组:男 24 例、女 16 例,年龄(36.92 ± 5.52)岁,再按照病情严重程度分为急性再生障碍性贫血(AAA)和慢性再生障碍性贫血(CAA)亚组。AAA 组:20 例,其中男 13 例、女 7 例,年龄(37.12 ± 5.61)岁;CAA 组:20 例,其中男 11 例、女 9 例,年龄(36.86 ± 5.48)岁。对照组:共 40 例,男 23 例、女 17 例,年龄(37.20 ± 4.93)岁。各组人群性别比、年龄等一般资料比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。

## 1.2 方法

**1.2.1 血常规检测** 采集两组患者的外周静脉血,采用 Sysmex XE-5000 血常规分析仪检测血红蛋白(Hb)和血小板计数(PLT),Hb 检测采用 SLS-血红蛋白测定法,PLT 采用 RF/DC 测定法。

**1.2.2 T 淋巴细胞亚群检测** 采集两组患者的外周血 5 mL, 肝素抗凝后加入淋巴细胞分离液, 3 000 r/min 离心 10 min 后分离得到外周血单核淋巴细胞后首先孵育 FITC 标记的 CD4 抗体, PBS 洗涤后加入破膜剂, 破碎细胞后加入 PE 标记的干扰素  $\gamma$ (IFN- $\gamma$ )、白细胞介素(IL)10、IL-17 及 CD25 抗体, 分别用于检测辅助性 T 淋巴细胞(Th) Th1、Th2、Th17、调节性 T 淋巴细胞(Treg); 室温孵育 30 min 后用流式细胞仪检测不同 T 淋巴细胞亚群的百分率。

**1.2.3 炎性因子的检测** 采集两组患者的外周静脉血 5 mL, 室温静置 30 min 后于 3 000 r/min 离心 10 min, 收集血清后采用酶联免疫吸附法检测血清干扰素(IFN- $\gamma$ )、IL-2、IL-4、IL-6、IL-10、IL-17 水平。试剂盒均为美国 Biomedical 公司产品, 检

测方法为酶联免疫法。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS18.0 软件录入和分析数据, 计量资料以  $\bar{x} \pm s$  表示, 组间比较采用 *t* 检验, 相关性分析采用一元线性回归,  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

**2 结 果**

**2.1 外周血 T 淋巴细胞亚群** AA 组患者外周血中 Th1、Th17 细胞百分率及 Th1/Th2、Th17/Treg 比例均高于对照组, 而 Th2、Treg 细胞百分率低于对照组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); AAA 组外周血 Th1、Th17 细胞百分率及 Th1/Th2、Th17/Treg 比例均高于 CAA 组, 而 Th2、Treg 细胞百分率均低于 CAA 组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 1。

表 1 各组受试者外周血 T 淋巴细胞亚群百分率或比值的比较( $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	Th1(%)	Th2(%)	Th1/Th2	Th17(%)	Treg(%)	Th17/Treg
AA 组	40	25.48 ± 2.98*	10.87 ± 1.48*	2.34 ± 0.32*	1.84 ± 0.25*	8.84 ± 0.95*	0.21 ± 0.03*
AAA 组	20	27.32 ± 3.45* $\Delta$	8.78 ± 1.21* $\Delta$	2.54 ± 0.42* $\Delta$	2.02 ± 0.21* $\Delta$	7.65 ± 0.75* $\Delta$	0.25 ± 0.05* $\Delta$
CAA 组	20	24.12 ± 2.62*	11.32 ± 1.54*	2.26 ± 0.06*	1.73 ± 0.23*	9.54 ± 1.02*	0.19 ± 0.04*
对照组	40	18.45 ± 2.14	16.63 ± 1.97	1.11 ± 0.13	1.14 ± 0.15	14.78 ± 1.92	0.08 ± 0.01

\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较;  $\Delta$ :  $P < 0.05$ , 与 CAA 组比较。

**2.2 血清炎性因子水平** AA 组患者血清 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-17 水平高于对照组, IL-4、IL-6、IL-10 水平低于对照组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ); AAA 组血清 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-17 水平

高于 CAA 组, IL-4、IL-6、IL-10 水平低于 CAA 组, 差异均有统计学意义( $P < 0.05$ )。见表 2。

表 2 各组受试者血清炎性因子水平比较(pg/mL,  $\bar{x} \pm s$ )

组别	<i>n</i>	IFN- $\gamma$	IL-2	IL-4	IL-6	IL-10	IL-17
AA 组	40	17.52 ± 2.04*	205.52 ± 27.72*	4.74 ± 0.22*	11.38 ± 1.52*	13.49 ± 1.85*	17.91 ± 2.15*
AAA 组	20	19.12 ± 3.21* $\Delta$	215.14 ± 32.25* $\Delta$	4.52 ± 0.14* $\Delta$	10.21 ± 1.35* $\Delta$	12.12 ± 1.65* $\Delta$	19.21 ± 3.21* $\Delta$
CAA 组	20	15.68 ± 2.54*	185.94 ± 26.54*	5.12 ± 0.23*	13.12 ± 1.46*	14.65 ± 2.01*	16.35 ± 2.65*
对照组	40	10.48 ± 1.28	127.48 ± 17.58	7.58 ± 0.92	17.79 ± 2.34	22.29 ± 2.58	7.85 ± 0.94

\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较;  $\Delta$ :  $P < 0.05$ , 与 CAA 组比较。

**2.3 血常规指标与 T 淋巴细胞百分率及炎性因子水平的相关性** Hb 水平、PTL 计数与 Th1、Th17 细胞百分率及 IL-2、

IFN- $\gamma$ 、IL-17 水平呈负相关, 与 Th2、Treg 细胞百分率及 IL-4、IL-6、IL-10 水平呈正相关, 见表 3。

表 3 Hb、PLT 与 T 淋巴细胞百分率、炎性因子水平的相关性分析

检测项目	Hb			PLT		
	回归系数 $\beta$	$r^2$	<i>P</i>	回归系数 $\beta$	$r^2$	<i>P</i>
Th1	-1.928	0.395	<0.05	-2.194	0.502	<0.05
Th2	1.442	0.442	<0.05	1.695	0.452	<0.05
Th17	-2.052	0.482	<0.05	-2.491	0.429	<0.05
Treg	1.634	0.495	<0.05	1.895	0.488	<0.05
IFN- $\gamma$	-1.384	0.408	<0.05	-2.392	0.524	<0.05
IL-2	-1.485	0.519	<0.05	-2.098	0.518	<0.05
IL-4	2.094	0.554	<0.05	1.744	0.448	<0.05
IL-6	1.585	0.378	<0.05	2.858	0.375	<0.05
IL-10	1.772	0.441	<0.05	2.228	0.495	<0.05
IL-17	-1.049	0.490	<0.05	-1.485	0.528	<0.05

### 3 讨 论

细胞免疫功能紊乱是造成 AA 发生和发展的关键环节;而 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞作为体内最为重要的 Th, 是机体免疫功能调控的中心。Th1 细胞和 Th2 细胞是最早被认识的两类 Th 细胞亚群, 正常条件下, 体内 Th1 和 Th2 细胞的数目和功能互相影响并处于动态平衡的状态, 维持机体正常的细胞免疫功能和体液免疫功能<sup>[4]</sup>; 当 Th1/Th2 细胞发生极化时, Th 细胞不同亚群的平衡被打破, 细胞免疫功能亢进, 进而抑制造血干细胞的功能<sup>[5]</sup>。Th17 细胞是近年来新发现的一类 Th 细胞, 主要分泌 IL-17、IL-21、IL-23 等细胞因子。在体内, Th17 细胞与 Treg 互相调节并维持平衡; Treg 的细胞表面表达 CD4、CD25 及 CD39, 经 T 细胞抗原受体(TCR)介导的信号激活后能够抑制效应 T 淋巴细胞、维持免疫耐受<sup>[6]</sup>。Th17 细胞功能增强、Treg 的免疫抑制功能减弱会导致造血功能损伤<sup>[7]</sup>。AA 组患者外周血 Th1、Th17 细胞百分率高于对照组, Th2、Treg 细胞百分率低于对照组, 且 AAA 组与 CAA 组间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

如前所述, 不同的 T 淋巴细胞亚群可以分泌不同的炎性细胞因子, 进而通过细胞因子来发挥对细胞免疫功能的调控作用。Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN- $\gamma$  并增强细胞免疫反应<sup>[8]</sup>; Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-6 并主导体液免疫反应、抑制细胞免疫反应<sup>[9]</sup>。Treg 细胞主要分泌 IL-10、转化生长因子(TGF) $\beta$ , 两者均是免疫系统中十分重要的抑制因子, 不仅可以直接抑制效应 T 细胞的功能, 还能够抑制 Th17 细胞的分化和成熟<sup>[10]</sup>; IL-17 是 Th17 细胞分泌的最重要的炎性因子, 能够通过活化下游信号分子丝裂原活化蛋白激酶(MAPK)、NF- $\kappa$ B 来造成炎性细胞募集、抑制造血功能、破坏造血组织<sup>[11]</sup>。本研究分析了血清中 T 淋巴细胞分泌产生的炎性因子水平, AA 组患者血清 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-17 水平高于对照组, IL-4、IL-6、IL-10 水平低于对照组, 而且 AAA 患者与 CAA 患者间比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。这提示 AA 患者体内存在 Th1 细胞和 Th17 细胞的功能亢进, Th2 和 Treg 细胞的功能减弱, 而且与病情严重程度有关。

AA 最主要临床表现是严重的贫血、感染和出血征象, 细胞免疫异常对骨髓造血功能的抑制直接表现为 Hb 水平和 PLT 减少。在临床实践中, Hb 水平和 PLT 是判断 AA 患者病情及预后的常用指标<sup>[12]</sup>。为了明确 T 淋巴细胞亚群及炎性因子水平对 AA 病情及预后的评估价值, 笔者分析了血常规指标与 T 淋巴细胞及炎性因子水平的相关性, 结果显示: Hb 水平、PLT 计数与 Th1、Th17 细胞百分率及 IL-2、IFN- $\gamma$ 、IL-17 水平呈负相关, 与 Th2、Treg 细胞百分率及 IL-4、IL-6、IL-10 水平呈正相关, 与国内外文献报道基本一致<sup>[13-14]</sup>。

本研究表明, AA 患者外周血中 T 淋巴细胞亚群百分率及血清炎性因子水平存在异常, 与反映病情严重程度及预后的指标具有良好的相关性。本研究的局限性在于选择样本量较少, 缺少对相关性的深入研究, 有待于今后扩大样本加以完善。

### 参考文献

- [1] 齐薇薇, 付蓉, 王化泉, 等. 重型再生障碍性贫血患者外周血调节性 T 细胞的数量异常及其临床意义[J]. 中国实验血液学杂志, 2014, 22(4): 1043-1046.
- [2] Mavroudi I, Papadaki HA. Genetic associations in acquired immune-mediated bone marrow failure syndromes; insights in aplastic anemia and chronic idiopathic neutropenia[J]. Clin Dev Immunol, 2012, 2012: 123789.
- [3] 张之南, 沈悌. 血液病诊断及疗效标准[M]. 3 版. 北京: 科学出版社, 2007; 19-23.
- [4] 张磊, 薛军, 苏爱玲, 等. 再生障碍性贫血血清 IL-2、TNF- $\alpha$ 、sFas、IFN- $\gamma$  及外周血 T 淋巴细胞亚群变化研究[J]. 现代预防医学, 2011, 38(24): 5135-5136.
- [5] Ge M, Zheng Y, Li X, et al. Differential expression profile of Th1/Th17/Th2-related chemokines and their receptors in patients with acquired bone marrow failure syndromes [J]. Hum Immunol, 2013, 74(2): 176-180.
- [6] 孙豫兰, 路丛, 何广胜, 等. mTOR 信号途径分子在再生障碍性贫血 T 淋巴细胞中表达的意义[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2014, 29(15): 1166-1169.
- [7] 童来根, 吴文忠, 周志刚, 等. 再生障碍性贫血外周血 Th17 和 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup> Treg 细胞表达情况研究[J]. 中国实验血液学杂志, 2013, 21(4): 974-978.
- [8] Qian L, Shen J, Cai J. Hydrogen therapy May be an effective and specific novel treatment for aplastic anemia[J]. Med Sci Monit, 2012, 18(6): 19-22.
- [9] 童勇, 马莉, 曾小菁. 再生障碍性贫血患者 Th 及 NKT 细胞 IFN- $\gamma$  和 IL-4 的表达及意义[J]. 中国免疫学杂志, 2011, 27(9): 840-843.
- [10] Solomou EE, Keyvanfar K, Young NS. T-bet, a Th1 transcription factor, is up-regulated in T cells from patients with aplastic anemia[J]. Blood, 2006, 107(10): 3983-3991.
- [11] 李军, 黄可欣, 陆培信, 等. 再生障碍性贫血患者外周血和骨髓中 IL-17、IL-23 及 TGF- $\beta$  表达水平及其临床意义[J]. 吉林大学学报: 医学版, 2014, 40(1): 146-149.
- [12] 董琪娥, 付蓉, 刘春燕, 等. 他克莫司对重型再生障碍性贫血患者效应 T 细胞抑制作用的研究[J]. 中华医学杂志, 2013, 93(20): 1541-1545.
- [13] Babushok DV, Li Y, Roth JJ, et al. Common polymorphic deletion of glutathione S-transferase theta predisposes to acquired aplastic anemia: Independent cohort and meta-analysis of 609 patients[J]. Am J Hematol, 2013, 88(10): 862-867.
- [14] 陆雯萍, 林贻华, 刘红, 等. 重型再生障碍性贫血模型小鼠脾脏 CD4<sup>+</sup>CD25<sup>+</sup>T 细胞凋亡影响及机制研究[J]. 中华血液学杂志, 2013, 34(11): 931-935.

(收稿日期: 2015-01-08)

(上接第 2515 页)

- 杂志, 2014, 35(6): 755-756.
- [2] 崔文娟, 朱凤群. 慢性乙型肝炎肝硬化血小板减少影响因素的研究进展[J]. 实用肝脏病杂志, 2010, 13(1): 78-80.
- [3] 黄英男, 吴昊, 沈锡中. 乙型肝炎肝硬化抗病毒治疗研究进展[J]. 世界临床药物, 2012, 33(9): 519-522.

- [4] 史旭波, 胡大一. 血栓形成与凝血机制及调节[J]. 临床荟萃, 2007, 22(14): 989-991.
- [5] 吴春晓, 周晓蕾, 李林芳, 等. 乙型肝炎肝硬化患者凝血及纤溶功能变化的临床意义[J]. 中国现代医生, 2014, 52(15): 35-37.

(收稿日期: 2015-01-08)