

瘤细胞的机制为:(1)识别肿瘤抗原,通过溶细胞作用直接杀伤肿瘤细胞;(2)分泌多种细胞因子间接杀伤肿瘤细胞。CD4⁺ 细胞则主要是通过释放细胞因子 IFN- γ 激活巨噬细胞,巨噬细胞分泌肿瘤坏死因子 α 和一氧化氮杀伤肿瘤细胞。CD4⁺ T 细胞通过抗原提呈细胞提呈的相关 MHC-II 抗原肽复合物和 CD80 共刺激信号,上调自身表达的 CD40L。CD40L 可与抗原提呈细胞上的 CD40 相互作用,并增强其抗原提呈作用和共刺激活性,然后活化的抗原提呈细胞可活化 CD8⁺ T 细胞^[9]。 $\gamma\delta^+$ T 细胞与 CTL 相似,可直接杀伤肿瘤细胞,还可分泌 IL-2、IL-4、IL-5、GM-CSF、TNF- α 等细胞因子,发挥抗肿瘤作用。此外,在 IL-2 作用下, $\gamma\delta^+$ T 细胞能够以肿瘤浸润淋巴细胞(TIL)或淋巴因子激活杀伤细胞(LAK)的形式杀伤肿瘤细胞^[10]。 B 细胞以其 BCR 捕捉肿瘤细胞释放的可溶性抗原,加工处理后与 MHC-II 类分子结合,诱导 CD4⁺ T 细胞对肿瘤的免疫应答。所以在良性骨肿瘤患者中,机体的免疫系统正常,会动员大量的淋巴细胞参与肿瘤免疫,杀灭清除肿瘤细胞,表现为外周血中的淋巴细胞升高,淋巴上升的幅度偏高则相对中性粒细胞百分比下降。即在良性骨肿瘤患者的外周血中出现中性粒细胞百分比下降,淋巴细胞百分比上升。

恶性肿瘤时常合并感染,产生肿瘤细胞异物等,同时因为肿瘤免疫各类细胞均有增多,所以常伴随白细胞计数的明显上升,但恶性肿瘤在浸润时会侵犯淋巴组织,且在恶性肿瘤发生至晚期时机体的免疫系统会遭到破坏。淋巴组织被侵袭,恶病质的发生,长期疾病的消耗,均会降低机体的免疫力,淋巴细胞对于肿瘤细胞的免疫应答就相应减弱,其淋巴细胞就不会出现明显上升。

参考文献

[1] 韩莹,王玉. 四川省 0~17 岁健康人群全血钙元素的参考
• 临床研究 •

区间研究[J]. 广东微量元素科学, 2014, 21(2): 27-30.
[2] 吉利,连丽丽,孙淑艳,等. 19 416 例健康成人碱性 P 酸酶活性分析[J]. 中国实验诊断学, 2011, 15(4): 683-684.
[3] 刘紫菱,罗有文,林华照,等. 不同年龄儿童血清骨碱性磷酸酶的水平分布及其临床应用观察[J]. 国际医药卫生导报, 2015, 21(1): 46-48.
[4] 陆琼,贾中伟. 0~18 岁未成年人血清碱性磷酸酶参考值探讨[J]. 检验医学与临床, 2009, 6(13): 1069-1070.
[5] 王广宇,朱旅云,张立,等. 石家庄市部分职业人群 9 843 例血清钙、磷、碱性磷酸酶检测分析[J]. 中国预防医学杂志, 2007, 8(3): 272-275.
[6] Ogoe A, Hotta T, Kawashima H, et al. Elevation of serum alkaline phosphatase in clear cell chondrosarcoma of bone[J]. Anticancer Res, 2001, 21(1B): 649-655.
[7] 刘潭,陈卫东,商冠宁. 骨巨细胞瘤的临床治疗进展[J]. 中国肿瘤外科杂志, 2013, 5(6): 377-379.
[8] Huang L, Xu J, Wood DJ, et al. Gene expression of osteoprotegerin ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappaB in giant cell tumor of bone: possible involvement in tumor cell-induced osteoclast-like cell formation[J]. Am J Pathol, 2000, 156(3): 761-767.
[9] Ostrand-Rosenberg S. CD4⁺ T lymphocytes: a critical component of antitumor immunity[J]. Cancer Invest, 2005, 23(5): 413-419.
[10] 王兰兰,许化溪. 临床免疫学检验[M]. 5 版. 北京:人民卫生出版社, 2012: 325-326.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-03-18)

幽门螺杆菌感染对特发性血小板减少性紫癜患者外周血 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞的影响*

汪宇婴,冯春颜

(广东省深圳市龙华新区人民医院检验科 518109)

摘要:目的 探讨幽门螺杆菌(HP)感染对特发性血小板减少性紫癜(ITP)患者 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞的影响,进一步揭示 ITP 的发病机制,为临床诊断、治疗与预防提供重要的理论依据。**方法** 2013 年 1 月至 2014 年 12 月门诊及住院收治的 ITP 患者 33 例纳入 ITP 组,HP 阴性 13 例,HP 阳性 30 例。另选取健康体检者 40 例作为对照组,其中 HP 阴性 23 例,HP 阳性 17 例;均测定血清 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞的浓度。**结果** ITP 组 HP 阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义。对照组 HP 阴性者与对照组 HP 阳性者 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞的浓度比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。对照组 HP 阴性者、阳性者分别与 ITP 组 HP 阴性者、阳性者比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。ITP 组 HP 阴性者与 HP 阳性者比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** HP 感染与 ITP 的发病有一定关系,健康人群 HP 感染可增加 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞的浓度;与健康人相比,ITP 患者 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞的浓度降低;而 HP 感染 ITP 对 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞没有影响。

关键词:幽门螺杆菌; 特发性血小板减少性紫癜; CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞

DOI: 10. 3969/j. issn. 1673-4130. 2016. 12. 032

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2016)12-1678-03

特发性血小板减少性紫癜(ITP)是一种获得性特异性自身免疫性疾病,以骨髓巨核细胞发育成熟障碍,血小板生存时间缩短,数量减少,产生血小板膜糖蛋白特异性自身抗体,并伴有广泛皮肤黏膜及内脏出血为特征。是临床最常见的一种血小板减少性疾病。近年来有学者从基因方面对 ITP 病例和健

康人群进行研究,例如 Rs17101655 位点 T→G 多态性的基因型和等位基因频率分布^[1], CD86 基因启动子-3479 A/C 位点单核苷酸多态性与 ITP 遗传易感性^[2],但都暂时未发现两者有差异。ITP 的发病机制迄今尚未完全阐明,但已有研究表明自身免疫性疾病的易感性与 CD4⁺ CD25⁺ T 调节细胞及幽门

* 基金项目:深圳市龙华新区科技局资助项目(2013027)。

螺杆菌(HP)感染有关。有研究表明 ITP 患者行 HP 根除治疗后,患者血小板计数升高,提示 HP 感染可能与 ITP 的发生有一定的关系^[3]。另外,ITP 患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的数量明显降低^[4-5]。HP 的感染可以干扰免疫系统,使 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞数量增加。HP 感染的 ITP 患者 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的情况如何尚不清楚。能不能用 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度变化来判断 ITP 患者病情的变化和转归,让患者免受取骨髓的痛苦? 本研究旨在讨论 HP 感染对 ITP 患者 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的影响,进一步揭示 ITP 的发病机制,为临床预防、诊断和治疗提供重要的理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 深圳市龙华新区人民医院血液科 2013 年 1 月至 2014 年 12 月门诊及住院收治的 ITP 患者 33 例纳入 ITP 组,诊断均符合《血液病诊断及治疗标准》^[6],其中男 14 例,女 19 例;年龄 19~69 岁,平均(39.0±6.5)岁;所有患者均为初次入院患者,既往未使用激素类药物,排除其他自身免疫性疾病。另选取健康体检者 40 例作为对照组,其中男 17 例,女 23 例;年龄 20~65 岁,平均(41.1±5.9)岁;无糖尿病、肿瘤及其他免疫性疾病病史,近 2 个月内未服用过激素及免疫抑制剂,2 周内未患感染性疾病。

1.2 仪器与试剂 异硫氰酸荧光素(FITC)标记的鼠抗人 CD4 单克隆抗体(CD4-FITC),藻红蛋白(PE)标记的鼠抗人 CD25 单克隆抗体(CD-25PE);相应同型对照抗体为 FITC 标记的小鼠 IgG1、PE 标记的小鼠 IgG1,试剂为美国 Beckman coulter 公司产品,美国 BD 公司 FACSC calibur 流式细胞仪。

1.3 检测方法 (1)HP 阳性的确定:采用 14C-尿素呼气试验(UBT)确定,14C-UBT ≥ 100 dpm/mmol 即诊断为阳性。CD4⁺CD25⁺T 调节细胞浓度的测定。(2)CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度测定:抽取 2 mL 静脉血,采用乙二胺四乙酸(ED-TA)抗凝。取流式专用试管 2 支分别标记对照管和测定管。对照管中加入 CD4⁺-FITC 和 IgG-PE 各 20 μL。测定管中加入 CD4⁺-FITC 和 CD25⁺-PE 各 20 μL。再分别加入标本 100 μL,混匀,室温避光 20 min。两管分别加溶血素 50 μL,混匀,室温避光 10 min,加蒸馏水 500 μL,混匀,室温避光 10 min。加磷酸缓冲盐溶液(PBS)3 mL。1 500 r/min 离心 5 min,弃上清,留沉淀,混悬。采用 Cellquest 软件进行上样,并用该软件自动统计结果。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计软件进行数据处理及统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验, *P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组 HP 阳性率比较 ITP 组 HP 阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。

表 1 两组 HP 阳性率比较

组别	<i>n</i>	HP 阳性[n(%)]	HP 阴性[n(%)]	合计(<i>n</i>)
ITP 组	33	30(69.8)*	13(30.2)	43
对照组	40	17(42.5)	23(57.5)	40

注:与对照组比较,**P* < 0.05。

2.2 两组 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度比较 对照组 HP 阴性者与对照组 HP 阳性者 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。对照组 HP 阴性者、阳性者分别与 ITP 组 HP 阴性者、阳性者比较,差异有统计学意义(*P* < 0.05)。ITP 组 HP 阴性者与 HP 阳性者比较,差异无

统计学意义(*P* > 0.05)。

表 2 两组 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度比较

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ CD25 ⁺ T 调节细胞
对照组	40	
HP 阴性	23	14±3*
HP 阳性	17	17±4
ITP 组	33	
HP 阴性	13	11±3#
HP 阳性	30	12±4*△

注:与 ITP 组 HP 阳性者比较,**P* < 0.05;与 ITP 组 HP 阳性者比较,#*P* < 0.05;与 ITP 组阴性者比较,△*P* < 0.05。

3 讨论

ITP 发病较隐匿,国内外一直缺乏较为准确的临床流行病学资料。随着对 ITP 发病机制不断深入研究,目前一般认为免疫因素介导占主要原因。自 1998 年 Gsabbarrini 等首先提出了 HP 感染与 ITP 的发病有关,目前国内外已有许多研究,提示 HP 感染与 ITP 的发生有一定的关系^[7]。CD4⁺CD25⁺T 调节细胞是维持机体免疫耐受的重要调控者,在自身免疫性疾病中起重要作用。CD4⁺CD25⁺T 调节细胞是一种表达白细胞介素-2(IL-2)受体 α 链(CD25)的 CD4⁺T 细胞。CD4⁺CD25⁺T 调节细胞具有低反应性和免疫抑制的特点。低反应性是指体外很难繁殖和扩增;免疫抑制主要指其具有抑制 CD4⁺和 CD8⁺细胞活化与增殖的能力。Zahrán 等^[8]与 Aboul 等^[9]研究发现,无论是急性还是慢性 ITP 患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞数量都是减少的。CD4⁺CD25⁺T 调节细胞活化后分泌大量的 IL-10、肿瘤坏死因子(TGF)-β 等抑制性细胞因子,其功能通过这些抑制性细胞因子来实现。因此,推测可能由于 ITP 患者外周血中 CD4⁺CD25⁺T 辅助细胞数量减少,有效的免疫抑制作用降低,导致自身反应性 T 细胞激活增多、凋亡减少,促进了血小板的破坏。

CD4⁺CD25⁺T 调节细胞在 HP 逃避宿主免疫清除中也起一定作用,Lundgren 等^[10]发现 HP 感染者胃和十二指肠黏膜 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞高于未感染者,并且它抑制胃黏膜对 HP 的免疫反应,使 HP 的感染持续存在。而国内王雪梅等^[11]的研究表明 HP 感染可增加 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度。ITP 患者外周血 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度是下降的;HP 感染者 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度是升高的;HP 感染与 ITP 的发生有一定的关系。但本研究分析显示 HP 感染对 ITP 患者 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞浓度无影响,这有可能是统计例数太少所致。希望有更多的学者进一步研究 HP 感染对 ITP 患者 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的影响。未来将加大研究例数,观察能否用 CD4⁺CD25⁺T 调节细胞的浓度变化来判断 ITP 患者病情的变化和转归。为 ITP 的发病机制、临床诊断、治疗与预防提供重要的理论依据。

参考文献

[1] 李丽华,徐颜美,李静,等. 江西汉族人群 NRG3 基因 rs17101655 T→G 单核苷酸多态性与 ITP 的关联性研究[J]. 实验与检验医学,2014(3):237-239.
 [2] 吴品,王智,陆时运,等. CD86 基因启动子-3479 A/C 位点单核苷酸多态性与 ITP 遗传易感性的关系[J]. 山东医药,2014(45):19-22.
 [3] 莫伟明,叶君,陆甜甜. 免疫性血小板减少性紫癜伴幽门

螺杆菌感染相关性调查[J]. 临床血液学杂志, 2014, 27(5):787-789.

[4] 王欣, 杨敬慈, 张广杰, 等. CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞表达在 ITP 和 AIHA 中的意义[J]. 河北医药, 2011, 33(16):2462-2463.

[5] 宋丽, 金呈强, 刘仿, 等. 急性 ITP 患儿外周血 Tr 细胞及其与 IL-2 的相关性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26(5):462-463.

[6] 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, 2007:172-176.

[7] 金瑞放, 黄智铭. 调节性 T 细胞与幽门螺杆菌持续感染的研究进展[J]. 国际消化病杂志, 2010, 30(5):259-260, 286.

[8] Zahran AM, Elsayh KI. CD4⁺ CD25⁺ high Foxp3⁺ regulatory T cells, B lymphocytes, and T lymphocytes in pa-

tients with acute ITP in assiut children hospital[J]. Clin Appl Thromb Hemost, 2014, 20(1):61-67.

[9] Aboul LM, Abdel MM, El-Deen MA, et al. Role of CD4⁺CD25⁺ T cells in children with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. J Pediatr Hematol Oncol, 2011, 33(2):81-85.

[10] Lundgren A, Stromberg E, Sjoling A, et al. Mucosal FOXP3-expressing CD4 CD25 high regulatory T cells in Helicobacter pylori infected patients[J]. Infect Immun, 2005, 73(1):523-531.

[11] 王雪梅, 杨清峰, 方强, 等. 幽门螺杆菌感染者 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的检测及其相关性分析[J]. 中国微生态学杂志, 2011, 23(12):1094-1096.

(收稿日期:2016-01-12 修回日期:2016-03-22)

• 临床研究 •

儿童急性呼吸道感染中 C 反应蛋白、白细胞计数、降钙素原的应用价值*

陈 恒¹, 江立千², 柯茂彬¹, 李永联¹, 丘锐浩¹

(1. 同江医院检验科, 广东顺德 528300; 2. 大良医院检验科, 广东顺德 528300)

摘要:目的 探讨白细胞计数(WBC)、C 反应蛋白(CRP)及降钙素原(PCT)在儿童急性呼吸道感染中的应用价值。方法 对 410 例检出病原体的急性呼吸道感染患儿进行回顾性分析, 分为细菌感染组 95 例、病毒感染组 94 例、肺炎支原体(MP)感染组 166 例、混合感染组 55 例, 并选择同期健康儿童 20 例作为健康对照组, 比较各组血中 WBC、CRP、PCT 的检测结果。结果 急性呼吸道感染患儿病原体检出比例从高到低分别为: MP 感染组(40.5%)、细菌感染组(23.2%)、病毒感染组(22.9%)、混合感染组(13.4%), 细菌感染组与混合感染组的 WBC、CRP 和 PCT 水平明显高于 MP 感染组、病毒感染组与健康对照组, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 儿童发生急性呼吸道感染时, 联合细菌培养、病原学检测和血 WBC、CRP、PCT 检测, 综合考虑检测指标, 以利于临床早期诊断与治疗。

关键词:急性呼吸道感染; C 反应蛋白; 白细胞计数; 降钙素原

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2016.12.033

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2016)12-1680-03

急性呼吸道感染是儿科的常见病、多发病, 以细菌性、病毒性、肺炎支原体(MP)感染多见, 可引起上呼吸道感染、支气管炎及肺炎等。其临床症状相似, 在疾病早期不易鉴别诊断, 往往延误诊治。本研究对同江医院治疗的检出病原体的 410 例急性呼吸道感染儿童的 C 反应蛋白(CRP)、白细胞计数(WBC)、降钙素原(PCT)进行检测, 探讨其在急性呼吸系统感染中的临床应用价值, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 同江医院儿科 2013 年 4 月至 2015 年 9 月收治的 410 例急性呼吸道感染患儿, 其中急性上呼吸道感染 178 例, 支气管炎 59 例, 肺炎 173 例; 其中男 221 例, 女 189 例, 男女比例 1.17 : 1.00, 年龄 1 月至 11 岁, 平均(3.6 ± 1.7)岁。分为细菌学培养阳性的细菌感染组(95 例), 血清学检测阳性的病毒感染组(94 例), MP 感染组(166 例), 细菌和病原学检测阳性的混合感染组(55 例), 并选择同期健康儿童 20 例作为健康对照组。

1.2 检测方法 细菌培养为咽拭子培养、血培养; 病原学为西班牙 VIRCELL 公司间接免疫荧光法检测血清中嗜肺军团菌血清 I 型(LP1)、MP、Q 热立克次体(QFR)、肺炎衣原体(CP)、腺病毒(ADV)、呼吸合胞病毒(RSV)、甲型流感病毒(INFA)、

乙型流感病毒(INFB)和副流感病毒(PIVs)9 种呼吸道病原体的 IgM 抗体; WBC 检测采用日本 Sysmex XE-2100 全自动五分类血液分析仪检测; CRP 检测采用韩国 Boditech MED 公司生产的 i-CHROMA Reader 免疫荧光分析仪进行全血检测; PCT 检测采用罗氏 COBAS e601 型电化学发光免疫分析仪检测。严格按照标准操作规程操作。

1.3 判断标准 WBC(≤ 2 岁) $> 12 \times 10^9/L$ 为阳性, WBC(≥ 2 岁) $> 12 \times 10^9/L$ 为阳性; CRP ≥ 5 mg/L 为阳性; PCT ≥ 0.5 ng/mL 为阳性。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行数据处理及统计学分析, 计数资料以率表示, 组间比较采用 χ^2 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 呼吸道感染检测结果 检出病原体感染的 410 例急性呼吸道感染的患儿, 单纯细菌培养阳性 95 例(23.2%), 主要病原菌为金黄色葡萄球菌; 血清学病毒检测阳性 94 例(22.9%), 主要病原体为 INFB; 血清学 MP 阳性 166 例(40.5%), 细菌及血清学病原检测同时阳性者 55 例(13.4%)。

2.2 5 组患儿 CRP 检测结果比较 CRP 的阳性率: 细菌感染组为 69.3%, 病毒感染组为 56.4%, MP 感染组为 64.2%, 混

* 基金项目: 佛山市科技局医学类科技攻关立项课题项目(2014AB001523)。