

临床研究

DOI:10.11699/cyxb20130831

老年慢性阻塞性肺病患者细胞免疫功能的变化及意义

吴 凯¹, 叶 军², 卢慧宇¹, 段德军¹

(江苏省泰州市人民医院 1. 呼吸科; 2. 中心实验室, 泰州 225300)

【摘要】目的:探讨细胞免疫功能在慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)发生、发展中的变化和意义。**方法:**采用流式细胞仪检测 31 例正常对照、35 例缓解期和 29 例急性加重 COPD 患者外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞和 CD19⁺B 细胞、CD16⁺56⁺自然杀伤(natural killer, NK)细胞的变化,分析与患者病程、吸烟指数和住院天数与这些指标的相关性。**结果:**①与正常对照组比较, COPD 缓解组和急性加重组 CD3⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞数均显著降低,急性加重组 CD4⁺/CD8⁺显著降低;急性加重组 CD16⁺56⁺NK 细胞显著升高;②与 COPD 缓解组比较,急性加重组 CD4⁺T 细胞数降低更显著, CD16⁺56⁺NK 细胞数显著升高;③CD3⁺CD4⁺T 细胞与吸烟指数成负相关,住院天数与 CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺呈负相关,而与 CD3⁺CD8⁺T、CD16⁺56⁺NK 细胞成正相关。**结论:**CD3⁺CD4⁺T 细胞在 COPD 的发病机制中起重要作用,与 COPD 的发病和严重程度、治疗密切相关。CD4⁺/CD8⁺、CD16⁺56⁺NK 细胞与 COPD 的急性发作、治疗密切相关。

【关键词】慢性阻塞性肺病;细胞免疫;吸烟指数;病程;住院天数

【中国图书分类法分类号】R563.3

【文献标志码】A

【收稿日期】2012-07-03

Changes and significances of cellular immunity in patients with chronic obstructive pulmonary disease

WU Kai¹, YE Jun², LU Huiyu¹, DUAN Dejun¹

(1. Department of Respiratory; 2. Central Laboratory, People's Hospital of Taizhou in Jiangsu Province)

【Abstract】Objective: To explore the changes and significances of cellular immunity in the occurrence and development of chronic obstructive pulmonary disease (COPD). **Methods:** Flow cytometry was used to detect the changes of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺T cells, CD19⁺B cells and CD16⁺56⁺ natural killer (NK) cells in peripheral blood of 31 normal controls, 35 patients at remission stage and 29 patients at acute severe stage. Correlation of these changes with smoking index, hospital duration and disease course was analyzed. **Results:** ① CD3⁺T cell and CD4⁺T cell counts were decreased significantly in patients at remission stage and acute severe stage than in normal controls; CD4⁺/CD8⁺ was decreased significantly and CD16⁺56⁺NK cells were increased significantly in patients at acute severe stage. ② CD4⁺T cell count was decreased significantly and CD16⁺56⁺NK cell count was increased significantly in patients at acute severe stage than in those at remission stage. ③ CD3⁺CD4⁺T cells were negatively correlated with smoking index; hospital duration was negatively correlated with CD3⁺CD4⁺T cells and CD4⁺/CD8⁺, but was positively correlated with CD3⁺CD8⁺T cells and CD16⁺56⁺NK cells. **Conclusions:** CD3⁺CD4⁺T cells play an important role in the pathogenesis of COPD and are closely related with the onset, severity and treatment of COPD. CD4⁺/CD8⁺, CD16⁺56⁺NK cells are closely related with the acute attack and treatment of COPD.

【Key words】chronic obstructive pulmonary disease; cellular immunity; smoking index; disease course; hospital duration

慢性阻塞性肺病(chronic obstructive pulmonary disease, COPD)是一种严重危害人民健康的慢性呼吸系统疾病,而且 COPD 患者数量多,病死率高。据 2007 年卫生部发表的我国城乡居民死亡的十大原因中,呼吸系统疾病位于城市人口死亡原因的第四位,农村人口死亡的第 3 位^[1]。COPD 是一种常见的、反复发作的慢性呼吸系统疾病,患者机体抵抗力下降而导致病原微生物感染是病情急性加重的常见

原因。细胞免疫功能在人体抗感染及内环境自身稳定中具有极其重要的作用。本文通过观察老年 COPD 患者的细胞免疫功能的变化,探讨老年 COPD 患者细胞免疫功能在发生发展的作用及其临床意义。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 实验组:按系统抽样的方法随机选取 35 例 2010-2012 年本院住院的年龄在 60 岁以上的 COPD 急性发

作者介绍:吴 凯, Email: hnwule@163.com,

研究方向:呼吸内科临床研究。

通信作者:叶 军, Email: dingyinglinyejun@163.com。

作患者,另选择本院门诊的 COPD 缓解期患者 29 例,COPD 的诊断根据肺功能测定和 X 线胸片,诊断标准依照 COPD 诊治指南^[2]。既往无肺结核、肝炎、肿瘤、冠心病、糖尿病、变态反应性疾病,无服用其他免疫抑制及增强剂史。其中急性发作组男 19 例,女 16 例;年龄 65~87 岁,平均年龄 72.8 岁。缓解组男 17 例,女 12 例;年龄 65~87 岁,平均年龄 69.5 岁。正常对照组:按系统抽样的方法随机选取 31 例为健康体检者。既往无肺结核、肝炎、肿瘤、冠心病、糖尿病、变态反应性疾病,无服用其他免疫抑制及增强剂史。其中男 18 例,女 13 例;年龄 62~82 岁,平均年龄 73.3 岁。实验组和正常对照组的性别、年龄无显著差异,有可比性。

1.1.2 主要仪器与试剂 FACSCalibur 流式细胞仪为美国 BD 公司产品,用 CELLQuest 软件(BD 公司)获取和分析实验数据。鞘液用 Sysmex 公司的 Cellpack 血细胞稀释液。CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-APC(Cat NO 340499t)、CD3-FITC/CD16+56-PE/CD45-PerCP/CD19-APC(Cat NO 340500+)由 BD 公司提供。

1.2 方法

1.2.1 流式细胞仪标本处理 所有受试者均于当天抽取外周静脉血 2 ml,EDTA-K2 抗凝,标本在 6 h 之内测定选 2 支试管,分别加入 CD3-FITC/CD8-PE/CD45-PerCP/CD4-APC、CD3-FITC/CD16+56-PE/CD45-PerCP/CD19-APC 20 μ l,将标本充分混匀,分别加入 50 μ l 标本,震荡器上充分混匀,避光放置 15 min;加入溶血素 2 ml,充分震荡,避光放置 10 min。1 500 r/min 离心 5 min 弃上清,加入生理盐水 2 ml 震荡,1 500 r/min 离心 5 min 弃上清,加入生理盐水 100 μ l,充分震荡混匀,待测。

1.2.2 流式细胞仪设置及数据分析 用 FACSCComp 调整仪器 FSC,SSC,FL1,FL2,FL3,FL4 的电压及补偿。用 CELLQuest 软件获取 20 000 个淋巴细胞,分析 CD3⁺T、CD4⁺T、CD8⁺T、CD19⁺B 细胞和 CD16⁺56⁺自然杀伤(natural killer,NK)细胞占淋巴细胞的百分比。分别将它们与淋巴细胞绝对数相乘,得

到各种表型细胞的绝对值。

1.3 统计学处理

采用 SigmaPlot 12.0 软件进行统计分析。两组间样本比较采用 *t* 检验进行分析,3 组样本间比较采用单因素秩和检验进行分析,相关性分析采用 Pearson 相关进行分析。以 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 正常对照组、COPD 缓解组和急性加重组淋巴细胞亚群结果比较

与正常对照组比较,COPD 缓解组和急性加重组 CD3⁺T 细胞数均降低($t=2.312, P=0.046$; $t=3.640, P=0.001$);CD4⁺T 细胞数均降低($t=3.772, P<0.001$; $t=7.110, P<0.001$);急性加重组 CD4⁺/CD8⁺降低($t=2.507, P=0.041$),而缓解组差异无统计学意义($t=1.240, P=0.218$);急性加重组 CD19⁺B 细胞数差异有统计学意义($t=2.352, P=0.041$),而缓解组差异无统计学意义($t=0.156, P=0.876$);急性加重组 CD16⁺56⁺NK 细胞数差异有统计学意义($t=3.924, P<0.001$),而缓解组差异无统计学意义($t=1.544, P=0.126$)。与 COPD 缓解组比较,急性加重组 CD3⁺T 细胞数差异无统计学意义($t=1.475, P=0.144$);CD4⁺细胞数差异有统计学意义($t=3.610, P<0.001$);CD4⁺/CD8⁺差异无统计学意义($t=1.362, P=0.322$);CD19⁺B 细胞数差异有统计学意义($t=2.573, P=0.035$);CD16⁺56⁺NK 细胞数差异有统计学意义($t=2.520, P=0.027$)。具体结果见表 1。

2.2 COPD 急性加重患者淋巴细胞亚群与吸烟指数、病程和住院天数的相关性

CD3⁺CD4⁺T 细胞与吸烟指数成负相关,住院天数与 CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺呈负相关,而与 CD3⁺CD8⁺T 细胞、CD16⁺56⁺NK 细胞成正相关。具体结果见表 2。

表 1 正常对照组、COPD 缓解和急性加重组淋巴细胞亚群的比较

组别	例数(<i>n</i>)	CD3 ⁺ T 细胞	CD3 ⁺ CD4 ⁺ T 细胞	CD3 ⁺ CD8 ⁺ T 细胞	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD19 ⁺ B 细胞	CD16 ⁺ 56 ⁺ NK 细胞
正常对照组	31	70.71 $\pm$ 5.75	37.23 $\pm$ 5.73	28.40 $\pm$ 4.15	1.35 $\pm$ 0.36	12.33 $\pm$ 5.73	16.38 $\pm$ 6.64
COPD缓解组	35	65.66 $\pm$ 5.51 ^a	32.13 $\pm$ 5.65 ^a	29.83 $\pm$ 5.95	1.18 $\pm$ 0.70	12.58 $\pm$ 7.69	20.11 $\pm$ 9.91
COPD急性发作组	29	62.38 $\pm$ 13.62 ^a	27.16 $\pm$ 4.98 ^{ab}	32.70 $\pm$ 12.80	0.99 $\pm$ 0.53 ^a	8.38 $\pm$ 5.64 ^{ab}	26.31 $\pm$ 12.20 ^{ab}

注:a,与正常对照组比较, $P<0.05$;b,与缓解组比较, $P<0.05$

表 2 COPD 急性加重患者淋巴细胞亚群与吸烟指数、病程和住院天数的相关性

	吸烟指数	病程	住院天数
CD3 ⁺ T 细胞	$r=-0.102, P=0.600$	$r=0.128, P=0.508$	$r=-0.149, P=0.440$
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T 细胞	$r=-0.524, P=0.004^a$	$r=-0.335, P=0.076$	$r=-0.432, P=0.019^a$
CD3 ⁺ CD8 ⁺ T 细胞	$r=-0.049, P=0.800$	$r=0.716, P=0.712$	$r=0.380, P=0.042^a$
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	$r=0.069, P=0.720$	$r=-0.067, P=0.731$	$r=-0.410, P=0.027^a$
CD19 ⁺ B 细胞	$r=-0.115, P=0.553$	$r=-0.149, P=0.439$	$r=0.097, P=0.617$
CD16 ⁺ 56 ⁺ NK 细胞	$r=-0.100, P=0.606$	$r=-0.021, P=0.916$	$r=0.369, P=0.049^a$

注:a,直线相关分析, $P<0.05$

3 讨 论

淋巴细胞是人体免疫系统的重要组成部分,它不仅具有识别抗原和排除抗原能力,而且对免疫应答起重要调节作用。其主要包括 T 淋巴细胞($CD3^+$)、B 淋巴细胞($CD19^+$)和 NK 细胞($CD16^+56^+$)。T 淋巴细胞中主要包括诱导性/辅助性 T 细胞($CD3^+CD4^+$)和抑制性/细胞毒性 T 细胞($CD3^+CD8^+$)。 $CD4^+$ T 细胞是免疫应答中的主要反应细胞, $CD8^+$ T 细胞可对靶细胞产生细胞毒作用,同时对 $CD4^+$ T 细胞具有调节性抑制作用。正常人的 $CD4^+$ T 细胞与 $CD8^+$ T 细胞的相互平衡,使免疫应答正常发挥作用。

COPD 是一种常见的、反复发作的慢性呼吸系统疾病,其病情急性加重绝大多数是由于患者机体抵抗力下降而导致病原微生物感染所致。长期的病毒或细菌的反复感染使机体免疫功能紊乱和低下,感染使机体缺氧, CO_2 潴留,组织细胞特别是 T 细胞内无氧酵解增强,免疫功能障碍;同时抗生素的反复使用,可抑制免疫调节系统,免疫功能的低下,使机体更易发生感染。这样恶性循环使病情逐渐加重。Corrigan 和 Kay^[3]研究认为通气功能障碍、内环境缺氧可使细胞变性坏死, $CD4^+$ T 细胞数量减少;而长期吸烟者,烟雾中的许多有害物质(如尼古丁、CO 等)可作为抗原直接刺激免疫活性细胞,从而导致机体细胞免疫功能改变。邱诗林和钟小宁^[4]报道 T 细胞介导的炎症反应参与 COPD 和肺气肿的发生与发展过程,并与疾病的严重程度有相关性。本研究显示,缓解组和急性发作组 $CD3^+$ 、 $CD3^+CD4^+$ T 细胞均显著低于正常对照,且急性发作组 $CD3^+CD4^+$ T 细胞显著低于缓解组,提示 $CD3^+CD4^+$ T 细胞的降低可能是 COPD 引起免疫功能紊乱的重要原因,与 COPD 的发病和严重程度密切相关。另一方面, $CD3^+CD4^+$ T 细胞与吸烟指数、病程均呈负相关,提示 $CD3^+CD4^+$ T 细胞在 COPD 的发病机制中起重要作用。同时还分析了 $CD3^+CD4^+$ T 细胞与住院天数的关系,结果显示, $CD3^+CD4^+$ T 细胞与住院天数呈负相关。提示 $CD3^+CD4^+$ T 细胞与临床疗效和预后有关。

机体维持正常的免疫功能有赖于 T 细胞亚群维持一定的比例, $CD4^+$ T 细胞和 $CD8^+$ T 细胞的失衡导致免疫病理的发生。有文献报道 $CD4^+$ T 减少、 $CD8^+$ T 升高、 $CD4^+/CD8^+$ 比例降低是机体免疫功能下降的重要指标^[5],下降程度和疾病严重程度和预后不良密切相关。本研究显示 $CD4^+/CD8^+$ 均显著低于正常对照人群且与住院天数呈负相关,提示 COPD 患者细胞免疫功能存在低下。

$CD16^+56^+$ NK 细胞是一种天然杀伤细胞,其不

需要特异性抗原刺激,复全靶细胞表面结构均可直接诱发 NK 细胞的免疫反应,研究显示, $CD16^+56^+$ NK 细胞在急性发作组显著高于对照组和缓解组,与 Prieto 等^[6]报道结果相反,但与王娜等^[7]报道的结果相符。可能是因为病例数量、选择或人种的差异。另外还研究显示 $CD16^+56^+$ NK 细胞与住院的天数呈正相关,提示可能在急性发作期时 $CD16^+CD56^+$ NK 代偿性增加,来激发机体的免疫系统对抗外来的细菌或病毒的感染,提示 $CD16^+56^+$ NK 细胞在 COPD 的急性发作中起重要作用,且与疗效和预后密切相关。

总之,COPD 患者细胞免疫功能的变化,在 COPD 的发病机制中起重要作用,对病情的评估、治疗等都具有一定的临床意义。是否可以考虑在 COPD 的治疗过程中加入免疫调节剂的治疗,来达到比较好的疗效,另外在稳定期的患者是否可以通过监测细胞免疫功能变化,来评估期急性发作的可能性,这些均有待进一步研究。

参 考 文 献

- [1] 中华人民共和国卫生部.中国卫生统计年鉴[M].北京:中国协和医科大学出版社,2007.
Ministry of Health, People's Republic of China. China Health Statistical Yearbook[M]. Beijing: Peking Union Medical College Press, 2007.
- [2] 中华医学会呼吸病学分会慢性阻塞性肺疾病学组.慢性阻塞性肺疾病诊治指南(2007 年修订版)[J].中华结核和呼吸杂志,2007,30(1):8-17.
Chronic Obstructive Pulmonary Disease Group, Respiratory Disease Branch, Chinese Medical Association. The guide of chronic obstructive pulmonary disease(revised edition in 2007)[J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory, 2007, 30(1):8-17.
- [3] Corrigan C J, Kay A B. $CD4^+$ T-Lymphocyte activation in acute severe asthma[J]. Am Rev Respir Dis, 1990, 141(4Pt1):970-977.
- [4] 邱诗林, 钟小宁. 免疫反应在慢性阻塞性肺疾病和肺气肿发生及发展过程中的作用[J]. 中华结核和呼吸杂志, 2010, 33(4):298-300.
Qiu S L, Zhong X N. The development of immune response in chronic obstructive pulmonary disease and emphysema[J]. Chinese Journal of Tuberculosis and Respiratory, 2010, 33(4):298-300.
- [5] Gadgil A, Zhu X, Sciurba F C, et al. Altered T-cell phenotypes in chronic obstructive pulmonary disease[J]. Proc Am Thorac Soc, 2006, 3(6):487-488.
- [6] Prieto A, Reyes E, Bernstein E D, et al. Defective killer and phagocytic activities in chronic obstructive pulmonary disease are restored by glycophosphopeptical (immunoferron)[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2001, 163(7):1578-1583.
- [7] 王 娜, 张湘燕, 张 程, 等. 慢性阻塞性肺病患者免疫功能的变化[J]. 贵州医药, 2011, 35(7):593-595.
Wang N, Zhang X Y, Zhang C, et al. The immune function changes of chronic obstructive pulmonary disease patients[J]. Guizhou Medical Journal, 2011, 35(7):593-595.

(责任编辑:关蕴良)