

肺癌患者外周血 DNT 细胞和 T 淋巴细胞亚群检测的临床意义

胡小倩 王素霞 曹明善

作者单位:054001 邢台市,河北医科大学附属邢台市人民医院检验科(胡小倩)

054001 邢台市,邢台医学高等专科学校第二附属医院检验科(王素霞)

054001 邢台市,邢台市第三医院检验科(曹明善)

通讯作者:胡小倩,E-mail:hgyue1314@163.com

【摘要】 目的 研究肺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群和双阴性 T 淋巴细胞 (double-negative T-cell, DNT) 的变化及其临床意义。方法 收集我院 2013 年 7 月至 2014 年 7 月收治的 120 例肺癌患者作为肺癌组,选择同期健康体检者 80 例作为对照组。采用 FC500 流式细胞仪检测受检者的外周血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞和 DNT 细胞的表达水平,并对数据进行统计学分析。**结果** 肺癌患者的 CD3⁺、CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺T 淋巴细胞数量均显著低于对照组,而 CD8⁺T 淋巴细胞数量显著高于对照组,差异均有统计学意义 (P 均 < 0.05); 肺癌患者 DNT 细胞数量显著高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** 肺癌患者 DNT 细胞及 T 淋巴细胞亚群数量明显改变,提示肺癌患者存在免疫功能紊乱。

【关键词】 肺癌;双阴性 T 淋巴细胞;T 淋巴细胞亚群;流式细胞术

doi: 10.3969/j.issn.1674-7151.2015.03.012

Clinical significance of peripheral blood DNT cells and T lymphocyte subgroup detection in patients with lung cancer

HU Xiao-qian¹, WANG Su-xia², CAO Ming-shan³. ¹Department of Clinical Laboratory, Xingtai People's Hospital of Hebei Medical University, Xingtai 054001, China ²Department of Clinical Laboratory, the Second Affiliated Hospital of Xingtai Medical College, Xingtai 054001, China ³Department of Clinical Laboratory, the Third Hospital of Xingtai City, Xingtai 054001, China

【Abstract】 Objective To study the changes of T lymphocyte subsets and double-negative T-cell (DNT) in peripheral blood of patients with lung cancer and its clinical significance. **Methods** 120 cases patients with lung cancer (lung cancer group) and 80 cases healthy people (control group) were collected in our hospital from July 2013 to July 2014. The cell count of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and DNT cells in peripheral blood of lung cancer group and control group were measured by FC500 flow cytometry. All data were analyzed statistically. **Results** The cell count of CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in lung cancer group were all lower than those of control group, and the cell count of CD8⁺ was higher than that of control group, the differences all had statistical significance (P all < 0.05). The cell count of DNT in lung cancer group was higher than that of control group, and the difference had statistical significance ($P < 0.05$). **Conclusion** The cell count of DNT and T lymphocyte subsets in patients with lung cancer are significantly changed, which indicated that there are immune function disorders in patients with lung cancer.

【Key words】 Lung cancer; DNT cell; T lymphocyte subsets; Flow cytometry

肺癌是当今世界上对职业人群健康和生命威胁最大的恶性肿瘤之一。肺癌的发病率和病死率不断上升,但其发病机制尚不明确,因此肺癌的早期诊断尤为重要。研究^[1]发现,机体抗肿瘤的主要免疫方式是细胞免疫,T 淋巴细胞及其亚群是细胞免疫的主要效应细胞。双阴性 T 淋巴细胞(double-negative T-cell, DNT) 已经被证实是一种免疫调节性 T 细胞,

其抗肿瘤作用是当前研究的热点课题^[2]。本文研究收集我院 2013 年 7 月至 2014 年 7 月共 120 例肺癌患者及 80 例健康体检者的外周血样本,采用流式细胞术分别检测其 T 淋巴细胞亚群及 DNT 的表达水平,通过分析肺癌患者与健康对照者的细胞免疫功能状况,为患者选择手术、放化疗、生物治疗等临床方案提供依据。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2013 年 7 月至 2014 年 7 月我院收治的肺癌患者 120 例,均经过病理确诊,且没有进行手术及放化疗,其中,男性 65 例,女性 55 例。年龄 32~74 岁,平均年龄(48.32±9.65)岁。选取同期健康体检者 80 例作为对照组,其中男性 44 例,女性 36 例,年龄 25~72 岁,平均年龄(45.19±8.26)岁。两组间性别、年龄经平衡检验,差异均无统计学意义(P 均 >0.05),具有可比性。

1.2 仪器与试剂 采用四色流式细胞术检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 淋巴细胞和 DNT 细胞 (CD4⁻CD8⁻),仪器购自贝克曼-库尔特公司,型号为 FC500,荧光标记单克隆抗体均购自贝克曼-库尔特公司。

1.3 方法 所有研究对象均采集空腹静脉血 2 ml 置于含有乙二胺四乙酸抗凝剂的真空采血管中。标本在采集后 6 h 内处理。按照检测要求,分别向编好号的流式试管中加入 20 μ l 单克隆抗体,随后加入混匀的 100 μ l 抗凝血,混匀,避光,室温孵育 15 min,分别加入溶血剂,溶解未标记细胞及红细胞。按操作程序上机检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 统计软件对数据进行处理,计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用两样本均数 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 肺癌患者与对照组外周血 T 淋巴细胞亚群检测结果比较 肺癌患者外周血 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞及 CD4⁺/CD8⁺T 细胞数量较对照组均明显下降,而 CD8⁺T 淋巴细胞数量显著高于对照组,且差异均有统计学意义(P 均 <0.05),见表 1。

表 1 肺癌组与对照组 T 淋巴细胞亚群检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	CD3 ⁺ 细胞	CD4 ⁺ 细胞	CD8 ⁺ 细胞	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
肺癌组	120	67.33±5.69	35.42±6.91	29.60±5.23	1.21±0.84
对照组	80	74.64±5.27	43.02±7.53	26.65±5.32	1.72±0.85
t 值	-	11.40	7.32	3.87	4.17
P 值	-	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.2 肺癌患者与对照组外周血 DNT 细胞检测结果比较 120 例肺癌患者 DNT 细胞数量显著高于对照组,且差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 2。

3 讨论

近年来,研究人员试图从遗传、环境、生活习惯以及基因等角度解释肺癌的发病机制,同时也在不

表 2 肺癌组与对照组外周血 DNT 细胞检测结果比较($\bar{x}\pm s$)

组别	例数	DNT 细胞	t 值	P 值
肺癌组	120	8.44±5.31	7.61	<0.05
对照组	80	3.78±1.52		

断努力开发更准确、更快速的诊断技术以及更高效的治疗药物。肿瘤的发生发展与机体免疫状态密切相关,恶性肿瘤患者免疫功能低下,而淋巴细胞亚群的数量和比例是衡量机体免疫状态的重要指标。

细胞免疫是机体抗肿瘤免疫的主要方式。T 淋巴细胞亚群是细胞免疫的主要免疫应答形式,在免疫应答过程中起抗原识别、细胞免疫和免疫调节的作用^[3]。其缺陷或功能不良会引起细胞免疫功能异常,而且也会影响其调节 B 淋巴细胞的功能,导致抗体缺陷,患者经常表现一系列临床症状,如容易反复感染,自身免疫病或恶性肿瘤的发病率增加等。CD3⁺T 细胞的数量代表了机体总的细胞免疫状态,CD3⁺T 淋巴细胞包括 CD4⁺和 CD8⁺两个亚群,CD4⁺T 淋巴细胞为辅助性 T 细胞,辅助机体完成抗肿瘤免疫;CD8⁺T 淋巴细胞为抑制性 T 细胞,其功能为抑制机体的免疫应答^[4]。两个亚群之间有着相互制约和相互辅助的关系,任何一方的增多和减少都会造成机体免疫功能的紊乱。若 CD4⁺/CD8⁺比值降低,则患者的免疫功能低下,容易引起肿瘤的增殖^[5]。

本文研究结果显示,肺癌患者外周血 CD3⁺T 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞和 CD4⁺/CD8⁺T 淋巴细胞数量较对照组明显下降,而 CD8⁺T 淋巴细胞数量明显增多,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。这说明肺癌患者机体抗肿瘤免疫水平低下,且机体处于免疫抑制状态。

DNT 细胞是最近研究学者们非常感兴趣的免疫细胞,虽然对于其来源还没有定论,但其在维持自身免疫耐受和下调各种免疫应答中的作用已经被证实。有资料^[6]表明,DNT 细胞在免疫调节、器官移植、排斥反应、自身免疫性疾病及肿瘤免疫耐受过程中发挥重要作用,是当前免疫学领域研究的热点之一。有研究^[7]发现 DNT 细胞在体外经过非己抗原刺激后可以特异性抑制同种同源 CD4⁺和 CD8⁺T 淋巴细胞的增殖。因此,DNT 细胞是一种抑制性的免疫调节细胞。本文研究结果显示,肺癌患者 DNT 细胞比例显著高于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$),这与吴晓莲^[8]的研究结果相一致。说明肺癌的发生、发展过程中存在有 DNT 细胞的异常

排泵”^[8];对氨基糖苷类抗生素的耐药机制主要是通过产生氨基糖苷类修饰酶,即乙酰转移酶、磷酸转移酶及核苷转移酶,外膜通透性降低,主动外排、靶位突变或甲基化修饰等来灭活氨基糖苷类抗生素从而形成耐药^[9];对喹诺酮类抗生素耐药机制主要是拓扑异构酶的改变、膜通透性的改变和药物的主动外排系统的过表达^[10];对四环素类的耐药主要是 Tet、TetK 的外排作用,及 TetM 和 TetO 保护核糖体免受四环素、多西环素和米诺环素的杀灭作用(替加环素除外)^[8]。此外,鲍曼不动杆菌还可以通过转座子、整合子和质粒等可移动基因元件获得对多种抗菌药物的耐药性;另一方面,大剂量广谱抗菌药物、经验用药也可以诱导鲍曼不动杆菌的耐药性增加^[11]。

综上所述,鲍曼不动杆菌感染已成为临床感染检出的主要病原菌之一,其对抗菌药物的广泛耐药性已成为临床医生抗感染治疗的主要挑战,这就要求临床医生应加强预防感染意识、严格执行消毒隔离制度、防止交叉感染、改善住院环境,避免环境污染。临床实验室要加强鲍曼不动杆菌的规范性连续性耐药监测,掌握病原菌的流行病学及抗菌药物耐药特点,为临床合理用药提供实验室依据。

4 参考文献

1 倪语星,尚红,主编.临床微生物学检验.第 5 版.北京:人民卫生出版社,2012,29.

- 2 雷彦平.本院鲍曼不动杆菌近 5 年耐药率的变化趋势.中国临床药理学杂志,2012,151:330-333.
- 3 Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful Pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 2008, 21: 538-582.
- 4 李永丽.鲍曼不动杆菌多重耐药机制及耐药基因检测研究进展.检验医学,2012,27:963-968.
- 5 国承杰,张文.我院 2009-2010 年鲍曼不动杆菌的临床分布及耐药性研究.山东医药,2012,52:77-79.
- 6 何发明,范晶,余泽波,等. ICU 中痰标本来源的鲍曼不动杆菌的临床意义分析.中国抗生素杂志,2012,37:357-359.
- 7 Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. M100-S18, CLSI, 2008.
- 8 Vila J, Marti S, Sanchez-Cespedes J. Porins, efflux pumps and multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *J Antimicrob Chemother*, 2007, 59: 1210-1215.
- 9 谢美红,张利娟,余小萍,等.鲍曼不动杆菌对阿米卡星药敏试验误差分析.实用检验医师杂志,2014,6:176-178.
- 10 Gordon NC, Wareham DW. Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *Int J Antimicrob Agents*, 2010, 35: 219-226.
- 11 徐一鸣,王蓓,蒋晓飞.2008 至 2012 鲍曼不动杆菌临床感染分布及耐药特征检查.检验医学,2014,29:245-247.

(收稿日期:2015-02-06)

(本文编辑:李霖)

(上接第 181 页)

表达。其可能通过抑制同种同源性的 CD8⁺T 淋巴细胞对机体抗肿瘤起抑制性免疫调节作用,但其具体机制尚不明确,有待进一步研究。

综上所述,肺癌患者存在细胞免疫功能紊乱及 DNT 细胞的高表达,这可能会影响治疗和预后。因此,深入研究肺癌患者免疫机制可为其治疗开拓新思路,提供新依据。

4 参考文献

- 1 陈筱凡.肝癌患者 DNT 细胞和 T 细胞亚群检测的临床意义.浙江实用医学,2012,17:398-399.
- 2 董进浪,谭炜炜.胃癌患者 DNT 细胞和 T 细胞亚群变化及临床意义.检验与临床,2012,50:88-91.
- 3 时瑛,李薇.消化道恶性肿瘤患者外周血免疫细胞的检测.继续医

学教育,2013,27:23-24.

- 4 陈派强.外周血 T 细胞亚群检测在恶性肿瘤中的价值.医药论坛杂志,2012,33:118-119.
- 5 任林广,张健,徐广伟,等.肺癌患者外周血 T 细胞亚群与 NK、NKT 细胞检测的临床意义.中国实验诊断学,2013,10:1873-1874.
- 6 刘坤,杨亚萍,刁青,等.慢性重型乙型肝炎患者外周血 DNT 细胞及 T 细胞亚群的表达及意义.河北医药,2014,36:2248-2250.
- 7 赵雪,吴丽娟,刘毓刚.外周血双阴性 T 细胞升高与临床疾病的关系.重庆医学,2012,41:3702-3706.
- 8 吴晓莲.肺癌患者 DNT 细胞、T 细胞亚群检测及临床意义.放射免疫学杂志,2013,26:84-85.

(收稿日期:2015-05-13)

(本文编辑:张志成)