

机化性肺炎患者 T 淋巴细胞亚群分析的 临床意义

薛占成 韩海燕 刘冀琴 周秀

作者单位: 300162 天津, 武警特色医学中心检验科

通信作者: 周秀, Email: 1307167661@qq.com

DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2023.02.018

【摘要】 目的 检测机化性肺炎患者支气管肺泡灌洗液 (BALF) 及外周血中 T 淋巴细胞亚群, 探讨其在机化性肺炎诊断中的价值。方法 选择 2013—2019 年武警特色医学中心收治的 45 例机化性肺炎患者及同期 30 名健康体检者作为研究对象, 分别纳入观察组和对照组。使用流式细胞术检测所有研究对象 BALF 及外周血中 T 细胞亚群 (包括 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺), 比较两组上述指标差异。绘制受试者工作特征曲线 (ROC 曲线) 并计算 ROC 曲线下面积 (AUC), 考察 T 淋巴细胞亚群对机化性肺炎的诊断效能。结果 观察组 BALF 和外周血中 CD3⁺CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值均明显低于对照组, CD3⁺CD8⁺ 明显高于对照组 [BALF 中: CD3⁺CD4⁺: (29.86 ± 1.44)% 比 (36.17 ± 0.87)%, CD4⁺/CD8⁺: 0.670 ± 0.053 比 1.242 ± 0.066, CD3⁺CD8⁺: (51.69 ± 2.02)% 比 (30.55 ± 1.22)%; 外周血中: CD3⁺CD4⁺: (29.23 ± 1.49)% 比 (35.17 ± 1.38)%, CD4⁺/CD8⁺: 0.810 ± 0.067 比 1.279 ± 0.104, CD3⁺CD8⁺: (36.64 ± 1.76)% 比 (30.31 ± 1.03)%; 均 $P < 0.05$]; 观察组 BALF 中 CD3⁺ 和 CD3⁺CD8⁺ 明显高于 PB [观察组 CD3⁺: (84.61 ± 1.54)% 比 (71.91 ± 1.41)%, CD3⁺CD8⁺: (51.69 ± 2.02)% 比 (36.64 ± 1.76)%, 均 $P < 0.05$]。BALF 中 T 细胞亚群诊断机化性肺炎的 AUC 为 0.892 [95% 可信区间 (95%CI) 为 0.808 ~ 0.963], 明显高于外周血 (AUC 为 0.747, 95%CI 为 0.628 ~ 0.866), 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。结论 BALF 及外周血中 T 淋巴细胞亚群分析对诊断机化性肺炎有一定意义。

【关键词】 机化性肺炎; T 淋巴细胞亚群; 支气管肺泡灌洗液; 外周血

Clinical value of T lymphocyte subsets analysis of patients with organizing pneumonia

Xue Zhancheng, Han Haiyan, Liu Jiqin, Zhou Xiu. Department of Clinical Laboratory, Characteristic Medical Center of PAP, Tianjin 300162, China

Corresponding author: Zhou Xiu, Email: 1307167661@qq.com

【Abstract】 Objective To detect T lymphocyte subsets in bronchoalveolar lavage fluid (BALF) and peripheral blood (PB) of patients with organized pneumonia and explore the value in diagnosis of organized pneumonia. **Methods** The 45 patients with organized pneumonia admitted to Characteristic Medical Center of PAP from 2013 to 2019 and 30 healthy individuals in the same period were selected as research subjects, and were included in observation group and control group, respectively. Flow cytometry was used to detect T lymphocyte subsets (including CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, CD3⁺CD8⁺) in BALF and PB of all study subjects, and the differences in above indicators were compared between the two groups. The receiver operator characteristic (ROC) curve was drawn and the area under ROC curve (AUC) was calculated to investigate the diagnostic efficacy of T lymphocyte subsets detection on organized pneumonia. **Results** The levels of CD3⁺CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ ratio in BALF and PB of observation group were lower than those of control group, and CD3⁺CD8⁺ was higher than that in control group [in BALF: CD3⁺CD4⁺: (29.86 ± 1.44)% vs. (36.17 ± 0.87)%, CD4⁺/CD8⁺: 0.670 ± 0.053 vs. 1.242 ± 0.066, CD3⁺CD8⁺: (51.69 ± 2.02)% vs. (30.55 ± 1.22)%; in PB: CD3⁺CD4⁺: (29.23 ± 1.49)% vs. (35.17 ± 1.38)%, CD4⁺/CD8⁺: 0.810 ± 0.067 vs. 1.279 ± 0.104, CD3⁺CD8⁺: (36.64 ± 1.76)% vs. (30.31 ± 1.03)%, all $P < 0.05$]. The levels of CD3⁺ and CD3⁺CD8⁺ in observation group were higher in BALF than those in PB [observation group CD3⁺: (84.61 ± 1.54)% vs. (71.91 ± 1.41)%, CD3⁺CD8⁺: (51.69 ± 2.02)% vs. (36.64 ± 1.76)%, all $P < 0.05$]. The AUC of T cell subsets in BALF for diagnosis of organized pneumonia was 0.892 [95% confidence interval (95%CI) was 0.808–0.963], which was higher than that of PB (AUC was 0.747, 95%CI was 0.628–0.866), with significant difference ($P < 0.05$). **Conclusion** Analysis of T lymphocyte subsets in BALF and PB is helpful for clinic diagnosis and observation of cryptogenic organizing pneumonia.

【Key words】 Organizing pneumonia; T lymphocyte subset; Bronchoalveolar lavage fluid; Peripheral blood

机化性肺炎是一种因肺损伤导致的以远端气道炎症细胞浸润和肉芽组织增生为特征的非特异性炎症反应,可由感染、药物等因素引起^[1-3]。作为间质性肺炎的一种亚型,机化性肺炎占间质性肺炎的4%~12%^[4]。机化性肺炎的发病机制涉及多种炎性细胞及炎症因子,是一个复杂的多因素参与的炎性机化过程,患者临床上主要表现为持续性的咳嗽、咳痰、胸闷、气短^[5]。

机化性肺炎的发生发展与机体免疫反应密切相关^[6]。T 淋巴细胞是机体执行细胞免疫的主要效应细胞之一, T 淋巴细胞亚群的变化会影响肺部疾病的发生发展。在 T 淋巴细胞亚群的临床研究中,目前大多选择患者外周血和支气管肺泡灌洗液(bronchoalveolar lavage fluid, BALF)作为样本,但针对二者结果的比较研究较少。本研究使用流式细胞仪检测 45 例机化性肺炎患者及 30 名健康体检者 BALF 和外周血中的 T 细胞亚群(CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺),探讨其在机化性肺炎诊断中的临床价值,现报告如下。

1 资料与方法

1.1 研究对象与分组 选择本中心 2013—2019 年收治的 45 例机化性肺炎患者作为研究对象,纳入观察组;另外选择 30 名本中心同期体检人员纳入对照组,回顾并分析两组的临床资料。所有受检者均对本研究知情同意。

1.1.1 纳入标准 所有患者均符合美国胸科学会和欧洲呼吸学会(American Thoracic Society/European Respirator Society, ATS/ERS)颁布的机化性肺炎诊断标准^[7],临床诊断为机化性肺炎,如感染、药物、放射、过敏、风湿免疫性肺损伤等^[8-9]。

1.1.2 排除标准 ① 临床资料不完整或在治疗随访中失访、退出的患者;② 肺癌患者。

1.2 研究方法

1.2.1 仪器与试剂 FC500 流式细胞仪和 CD45/CD4/CD8/CD3 检测试剂盒(流式细胞术)均购自美国贝克曼库尔特有限公司。

1.2.2 检测指标 采集受检对象静脉血 2 mL 置于乙二胺四乙酸二钾(dipotassium ethylenediamine tetraacetic acid, EDTA-K₂)抗凝管;BALF 经双层无菌纱布过滤后,以 1 500 r/min(离心半径为 10 cm)离心 10 min,沉淀的细胞成分用鞘液制成细胞悬液。取 CD3、CD4、CD8 荧光标记的单克隆抗体各 20 μL,分别加入 100 μL 抗凝外周血和 BALF 细胞悬液中,于

室温在暗处反应 20 min,用细胞裂解液溶解红细胞,鞘液洗涤细胞 1 次,采用流式细胞仪测定 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺),在直方图中标记出淋巴细胞群,再分别计数 6 000 个 T 淋巴细胞中各标记细胞的百分比。

1.3 统计学方法 采用 GraphPad Prism 5 统计软件对实验数据进行统计分析。对计量资料行 *t* 检验及方差分析;绘制受试者工作特征曲线(receiver operator characteristic curve, ROC 曲线)并计算 ROC 曲线下面积(area under ROC curve, AUC)。*P* < 0.05 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料 观察组和对照组的性别、年龄等一般资料比较差异均无统计学意义(均 *P* > 0.05),有可比性。见表 1。

表 1 观察组和对照组的一般资料比较

组别	例数(例)	性别(例)		年龄(岁)	
		男性	女性	范围	均数($\bar{x} \pm s$)
对照组	30	13	17	50~75	61.73 ± 1.11
观察组	45	21	24	50~75	60.47 ± 1.27

2.2 外周血 T 淋巴细胞亚群 两组 CD3⁺ 比较差异无统计学意义(*P* > 0.05);观察组的 CD3⁺CD4⁺ 以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均明显低于对照组,CD3⁺CD8⁺ 明显高于对照组(均 *P* < 0.05)。见表 2,图 1。

表 2 观察组与对照组患者 BALF 和外周血中 T 淋巴细胞亚群比较($\bar{x} \pm s$)

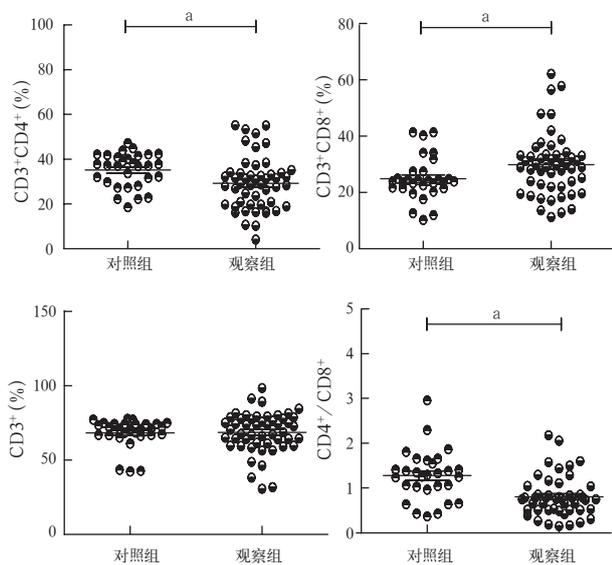
组别	项目	例数(例)	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)
观察组	外周血	45	71.91 ± 1.41	29.23 ± 1.49 ^a
	BALF	45	84.61 ± 1.54 ^{ab}	29.86 ± 1.44 ^a
对照组	外周血	30	69.40 ± 1.13	35.17 ± 1.38
	BALF	30	68.18 ± 1.79	36.17 ± 0.87

组别	项目	例数(例)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
观察组	外周血	45	36.64 ± 1.76 ^a	0.810 ± 0.067 ^a
	BALF	45	51.69 ± 2.02 ^{ab}	0.670 ± 0.053 ^a
对照组	外周血	30	30.31 ± 1.03	1.279 ± 0.104
	BALF	30	30.55 ± 1.22	1.242 ± 0.066

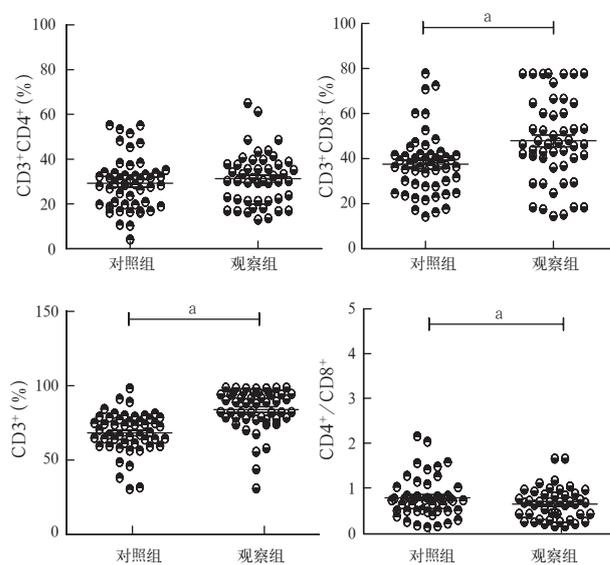
注: BALF 为支气管肺泡灌洗液;与对照组比较,^a*P* < 0.05;与外周血比较,^b*P* < 0.05

2.3 BALF T 淋巴细胞亚群 观察组 CD3⁺、CD3⁺CD8⁺ 均明显高于对照组, CD3⁺CD4⁺ 以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均明显低于对照组(均 *P* < 0.05)。见表 2,图 2。

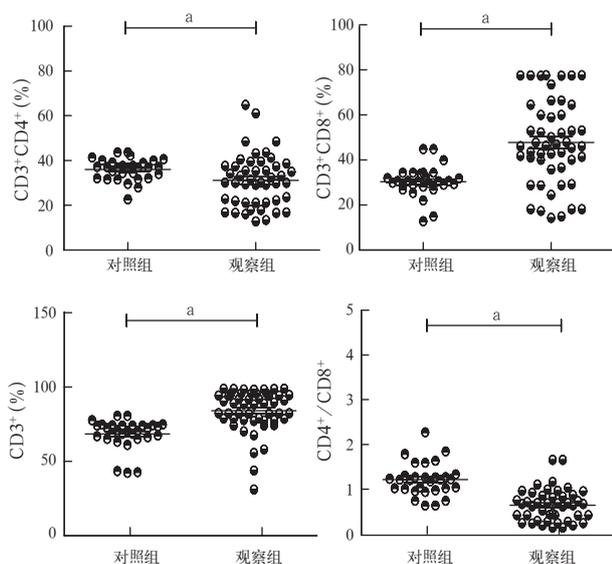
2.4 BALF 与外周血 T 淋巴细胞亚群比较 观察组 BALF 中 CD3⁺、CD3⁺CD8⁺ 均明显高于 PB 中(均 *P* < 0.05);观察组 BALF 中 CD3⁺CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比值与外周血比较差异均无统计学意义(均 *P* > 0.05)。见表 2,图 3。



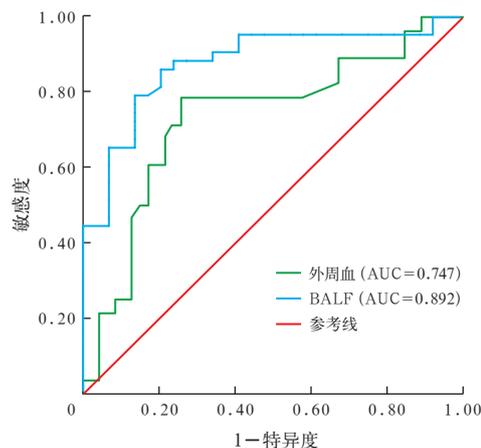
注：与对照组比较，^a $P < 0.05$
图 1 观察组与对照组患者外周血中 T 淋巴细胞亚群分析



注：BALF 为支气管肺泡灌洗液；与对照组比较，^a $P < 0.05$
图 3 观察组患者 BALF 与外周血 T 淋巴细胞亚群比较



注：BALF 为支气管肺泡灌洗液；与对照组比较，^a $P < 0.05$
图 2 观察组和对照组患者 BALF 中 T 淋巴细胞亚群分析



注：BALF 为支气管肺泡灌洗液，ROC 为受试者工作特征曲线，AUC 为 ROC 曲线下面积
图 4 BALF 及外周血中 CD4⁺/CD8⁺ 比值检测诊断机化性肺炎的 ROC 曲线

2.5 BALF 及外周血中 CD4⁺/CD8⁺ 比值检测对机化性肺炎诊断的敏感度和特异度比较 ROC 曲线分析结果显示，以 BALF 中 CD4⁺/CD8⁺ 比值等于 0.960 作为最佳截断值，该指标诊断机化性肺炎的敏感度为 86.67%，特异度为 80.00%；以外周血中 CD4⁺/CD8⁺ 比值等于 0.890 作为最佳截断值，该指标诊断机化性肺炎的敏感度为 80.00%，特异度为 76.09%。BALF 检测诊断机化性肺炎的 AUC 为 0.892 [95% 可信区间 (95%CI) 为 0.808 ~ 0.963]，外周血检测诊断机化性肺炎的 AUC 为 0.747 (95%CI 为 0.628 ~ 0.866)，差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。见图 4。

3 讨论

机化性肺炎是由于肺组织受损造成非特异性反应所致，表现为纤维母细胞异常增殖、炎症细胞浸润及间质纤维增生等，致肉芽组织遍布肺泡腔^[10]。国内外有研究结果表明，不同类型间质性肺炎患者的 BALF 中 T 淋巴细胞亚群水平均不同^[6, 11-13]。

BALF 由支气管以下肺部病变段灌洗回收而得，是获取远端肺实质炎症细胞简单而安全的途径，通过对 BALF 的检测和分析，可在患者发病早期了解肺部疾病的特点，有助于对间质性肺炎的诊断^[14-18]。且 BALF 中的 T 淋巴细胞亚群在不同类型间质性肺炎患者中表达水平不同^[19]。T 淋巴细胞介导机体细胞免疫，是细胞免疫的主要效应因子，其发挥的调

节作用主要是通过 T 淋巴细胞亚群相互作用来维持^[20-21]。CD3⁺CD4⁺ 细胞为机化性肺炎的保护因素,其表达量降低是机化性肺炎恶化的原因之一。CD3⁺CD8⁺ 为病情加重的危险因素,可通过释放抑制性细胞因子,负调节机体免疫功能^[22-23]。CD3⁺CD4⁺ 与 CD3⁺CD8⁺ 在体内维持一定程度的动态平衡,CD4⁺/CD8⁺ 决定了机体免疫状态和免疫反应水平^[24-25]。本研究结果显示,在机化性肺炎患者的 BALF 和外周血中,CD4⁺/CD8⁺ 比值明显降低,与田辉等^[6]、王小燕^[17]、林芳等^[18] 研究结果一致,其中 BALF 和外周血中 CD4⁺/CD8⁺ 比值降低是 CD3⁺CD4⁺ 降低和 CD3⁺CD8⁺ 升高共同作用的结果,提示 CD4⁺/CD8⁺ 比值与机化性肺炎的发生发展有一定关系。

进一步绘制 ROC 曲线结果显示, BALF 和外周血中 CD4⁺/CD8⁺ 比值诊断机化性肺炎的最佳阳性阈值分别为 0.960 和 0.890; BALF 和外周血检测的 AUC 分别为 0.892 和 0.747,两者差异具有统计学意义,提示 BALF 中 CD4⁺/CD8⁺ 比值检测对机化性肺炎的诊断效能高于外周血检测。

综上所述, BALF 和外周血中 T 淋巴细胞亚群检测对机化性肺炎患者的诊断具有一定临床价值,对患者 BALF 和外周血的 T 淋巴细胞亚群进行分析,可作为机化性肺炎患者免疫状态评估的辅助手段。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

参考文献

- ROBERTON B J, HANSELL D M. Organizing pneumonia: a kaleidoscope of concepts and morphologies [J]. *Eur Radiol*, 2011, 21 (11): 2244-2254. DOI: 10.1007/s00330-011-2191-6.
- 张文静, 廖晨, 王彦, 等. 隐源性机化性肺炎的诊断治疗 [J/CD]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2015, 8 (6): 73-74. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2015.06.017.
- 杨群, 张惠兰, 赵建平. 隐源性机化性肺炎的临床特点及诊治 [J]. *内科急危重症杂志*, 2015, 21 (5): 323-326. DOI: 10.11768/nkjwzzzz20150502.
- MARCHIORI E, ZANETTI G, IRION K L, et al. Reversed halo sign in active pulmonary tuberculosis: criteria for differentiation from cryptogenic organizing pneumonia [J]. *AJR Am J Roentgenol*, 2011, 197 (6): 1324-1327. DOI: 10.2214/AJR.11.6543.
- 徐玉菲, 范晓云, 姜雪勤, 等. 机化性肺炎患者临床特征的回顾性研究 [J]. *中国临床保健杂志*, 2022, 25 (4): 534-537. DOI: 10.3969/j.issn.1672-6790.2022.04.024.
- 田辉, 徐利军, 彭守春, 等. 支气管肺泡灌洗液对弥散性实质性肺疾病的诊断意义 [J]. *中国全科医学*, 2008, 11 (5): 428-430. DOI: 10.3969/j.issn.1007-9572.2008.05.029.
- American Thoracic Society, European Respiratory Society. American Thoracic Society/European Respiratory Society international multidisciplinary consensus classification of the idiopathic interstitial pneumonias [J]. *Am J Respir Crit Care Med*, 2002, 165 (2): 277-304. DOI: 10.1164/ajrccm.165.2.ats01.
- 潘婷, 孙铁英. 抗肿瘤药物诱导的机化性肺炎的研究进展 [J]. *中国全科医学*, 2022, 25 (14): 1772-1778. DOI: 10.12114/j.issn.1007-9572.2021.01.035.
- 何世伟, 樊建勇, 乔廉洁, 等. 29 例隐源性机化性肺炎的临床分析 [J]. *国际呼吸杂志*, 2022, 42 (22): 1713-1719. DOI: 10.3760/cma.j.cn131368-20220628-00550.
- 陈彬, 赵峰, 何健, 等. 隐源性机化性肺炎的 CT 征象分析 [J]. *中华放射学杂志*, 2011, 45 (6): 589-592. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1005-1201.2011.06.020.
- 李海潮. 特发性间质性肺炎概念和分类的演变 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2014, 37 (9): 645-646. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2014.09.003.
- TABAJ G C, FERNANDEZ C F, SABBAGH E, et al. Histopathology of the idiopathic interstitial pneumonias (IIP): a review [J]. *Respirology*, 2015, 20 (6): 873-883. DOI: 10.1111/resp.12551.
- 冯海军, 焦小净, 龚娟妮, 等. 隐源性机化性肺炎 30 例临床特征分析 [J]. *中国医刊*, 2020, 55 (7): 714-716. DOI: 10.3969/j.issn.1008-1070.2020.07.007.
- COSTABEL U, GUZMAN J, BONELLA F, et al. Bronchoalveolar lavage in other interstitial lung diseases [J]. *Semin Respir Crit Care Med*, 2007, 28 (5): 514-524. DOI: 10.1055/s-2007-991525.
- 刘宁, 苏明霞, 杨永辉, 等. 流式细胞检测肺结核患者肺泡灌洗液 T 淋巴细胞亚群评价 [J]. *昆明医科大学学报*, 2016, 37 (2): 103-106. DOI: 10.3969/j.issn.1003-4706.2016.02.026.
- 洪燕燕, 杨芝红. 流式细胞术检测肺泡灌洗液 T 淋巴细胞亚群的诊断价值 [J]. *检验医学与临床*, 2017, 14 (14): 2051-2053. DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2017.14.017.
- 王小燕. 特发性间质性肺炎支气管肺泡灌洗液细胞类型特点及临床意义分析 [D]. 北京: 中国协和医科大学, 2008.
- 林芳, 贾楠, 于刚刚, 等. 支气管肺泡灌洗液细胞分类及 CD4⁺/CD8⁺ 对间质性肺疾病的诊断价值 [J]. *临床肺科杂志*, 2019, 24 (8): 1359-1362. DOI: 10.3969/j.issn.1009-6663.2019.08.001.
- 赵云婷. 支气管肺泡灌洗液 T 淋巴细胞亚群在不同类型间质性肺疾病的表达及临床意义 [D]. 石家庄: 河北医科大学, 2018.
- 马锡慧, 肖漓. 淋巴细胞亚群成员研究进展 [J/CD]. *中华细胞与干细胞杂志(电子版)*, 2017, 7 (3): 168-172. DOI: 10.3877/cma.j.issn.2095-1221.2017.03.009.
- 王世瑜, 江雁. 肺癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化 [J]. *中国中西医结合急救杂志*, 2008, 15 (2): 84. DOI: 10.3321/j.issn.1008-9691.2008.02.017.
- YATHAPU S R, KONDAPALLI N B, SRIVALLIPUTTURU S B, et al. Effect of lead exposure and nutritional iron-deficiency on immune response: a vaccine challenge study in rats [J]. *J Immunotoxicol*, 2020, 17 (1): 144-152. DOI: 10.1080/1547691X.2020.1773973.
- 孙洪涛, 林江涛, 王群, 等. T 辅助淋巴细胞亚群平衡变化与支气管哮喘发病的关系研究 [J]. *中国危重病急救医学*, 2001, 13 (2): 87-88. DOI: 10.3760/j.issn.1003-0603.2001.02.007.
- ZHANG Z, NI Y, CHEN G, et al. Construction of immune-related risk signature for uveal melanoma [J]. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 2020, 48 (1): 912-919. DOI: 10.1080/21691401.2020.1773480.
- 王艳霞, 王瑞琳. T 淋巴细胞亚群失衡与类风湿性关节炎的研究进展 [J]. *实用检验医师杂志*, 2011, 3 (2): 113-116. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2011.02.015.

(收稿日期: 2023-01-16)

(本文编辑: 邵文)