CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞在 HLA-B27 阳性患者中的表达及其对免疫功能的影响

蔡鹏威¹, 林 芸², 沈 菁¹ (福建省立医院: 1. 检验科; 2. 血液化疗科, 福州 350001)

【摘要】 目的 了解 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞在 HLA-B27 阳性患者外周血中的表达水平及其对患者细胞免疫和体液免疫的影响。**方法** 用流式细胞仪采用直接免疫荧光法测定 37 例 HLA-B27 阳性患者和 20 例健康对照者外周血淋巴细胞表面 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD19⁺ 及 CD4⁺CD25⁺ 细胞的表达情况。用颗粒增强散射免疫比浊法测定血清中免疫球蛋白 IgG、IgA 和 IgM 的水平。**结果** (1) HLA-B27 阳性患者 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD19⁺ 细胞较正常对照组显著增高 ($P < 0.05$), CD3⁺CD8⁺ 细胞较正常对照组显著降低 ($P < 0.05$); (2) HLA-B27 阳性患者 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞较对照组显著降低 ($P < 0.01$); (3) HLA-B27 阳性患者血清中 2 种免疫球蛋白 IgG、IgA 的水平均较对照组显著增高 ($P < 0.05$)。**结论** CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞数量明显减少, 对 CD4⁺ 和 CD8⁺ T 细胞活化和增殖的抑制能力下降, 是 HLA-B27 阳性患者体内细胞免疫和体液免疫亢进的原因之一。

【关键词】 HLA-B27; 调节性 T 细胞; 流式细胞术

DIO:10.3969/j.issn.1672-9455.2010.17.001

中图分类号: R446.6

文献标志码: A

文章编号: 1672-9455(2010)17-1793-02

The expression of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell in the HLA-B27 positive patients and its effects on the immune function

CAI Peng-wei¹, LIN Yun², SHEN Jing¹. 1. Department of Clinical Laboratory; 2. Department of Blood Chemotherapy, Fujian Provincial Hospital, Fuzhou 350001, China

【Abstract】 Objective To investigate the expression of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell in peripheral blood of the HLA-B27 positive patients, and its effects on the humoral and cellular immune of patients. **Methods** The expressions of CD3⁺, CD3⁺CD8⁺, CD3⁺CD4⁺, CD19⁺ and CD4⁺CD25⁺ cell in 37 HLA-B27 positive cases and 20 healthy people were detected by flow cytometry using direct immunofluorescence assay. The serum levels of IgG, IgA and IgM were determined by particle-enhanced nephelometric immunoassay. **Results** (1) As compared with healthy controls, the expressions of CD3⁺, CD3⁺CD4⁺, and CD19⁺ cell in HLA-B27 positive patients were increased significantly ($P < 0.05$), while the expression of CD3⁺CD8⁺ cell was decreased markedly ($P < 0.05$); (2) The expression of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell in HLA-B27 positive patients was reduced obviously than that in healthy controls ($P < 0.01$). (3) The serum levels of IgG and IgA in HLA-B27 positive patients were higher than that in healthy controls ($P < 0.05$). **Conclusion** The quantity of CD4⁺CD25⁺ regulatory T cell decreased obviously in HLA-B27 positive patients, and then the inhibitory capacity of CD4⁺ and CD8⁺ T cell activation and proliferation were decreased. It is one of the causes of hyperfunction of humoral and cellular immune in HLA-B27 positive patients.

【Key words】 HLA-B27; regulatory T cell; flow cytometry

已有证据表明, 有些自身免疫疾病的发病常与一些类型的 HLA 抗原的检出有关, 这些 HLA 抗原的检出率较正常人群中检出者为高, 最典型的就是 HLA-B27 的表达与许多自身免疫性疾病的发生有很高的相关性。本研究通过流式细胞术对 37 例 HLA-B27 阳性患者和 20 例正常人的外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞进行检测, 了解 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞在 HLA-B27 阳性患者外周血中的表达水平及其对患者外周血细胞免疫和体液免疫的影响。

1 对象与方法

1.1 研究对象 37 例 HLA-B27 阳性患者系 2008 年 12 月至 2009 年 3 月在本院就诊的门诊和住院患者, 其中强直性脊柱炎 28 例, 急性前葡萄膜炎 6 例, 反应性关节炎 3 例; 男 18 例, 女 19 例; 年龄 18~66 岁, 平均 29 岁。选择 20 例健康人作为正常对照组, 男 10 例, 女 10 例, 年龄 23~35 岁, 平均 29 岁。

1.2 方法

1.2.1 检测仪器及试剂 单克隆抗体 CD3-PC5、CD4-FITC、CD8-PE、CD25-PE、CD19-PE 购于法国 Immunotech 公司; EP-ICS XL 型流式细胞仪为美国贝克曼库尔特公司生产。BN II 特定蛋白仪和血清免疫球蛋白试剂由德灵公司生产。

1.2.2 样本采集及处理 所有受试对象采集静脉血 5 mL, 其中 2 mL EDTA-K₂ 抗凝, 室温保存, 在 24 h 内用流式细胞仪进行分析, 3 mL 分离血清 4℃ 保存, 用于血清免疫球蛋白测定。

1.2.3 流式细胞仪分析 取充分混匀的 100 μL 抗凝全血, 分别按 CD4/CD8/CD3、CD4/CD25 进行多色荧光抗体标记, 相应标记的小鼠 IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5 抗体作为阴性对照, 充分混匀, 室温避光孵育 15 min, 用溶血后直接上机测定, 在散点图上用 FS-SS 设门确定出淋巴细胞的分布位置, 计算出 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD4⁺CD25⁺、CD19⁺ 细胞占淋巴细胞的百分率。每份标本分析 3 000 个细胞。

1.2.4 血清免疫球蛋白水平测定 分离后血清测定 IgG、

IgA、IgM 的水平(乳胶增强散射免疫比浊法)。

1.3 统计学方法 采用 SPSS10.0 统计软件,进行独立样本 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HLA-B27 阳性患者 T 细胞亚群测定 HLA-B27 阳性患者 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值较正常

对照组有显著增高 ($P < 0.05$), CD3⁺CD8⁺ 和 CD4⁺CD25⁺T 细胞较正常对照组明显降低 ($P < 0.05$), 检测结果见表 1。

2.2 HLA-B27 阳性患者外周血 B 淋巴细胞及血清中免疫球蛋白的水平 结果显示 HLA-B27 阳性患者外周血 B 淋巴细胞及血清免疫球蛋白 IgG、IgA 水平较正常对照组均显著增高 ($P < 0.05$), 检测结果见表 2。

表 1 HLA-B27 阳性患者 T 细胞亚群及 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的表达水平 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ⁺
HLA-B27 阳性组	37	72.6 ± 12.2*	44.9 ± 9.6*	25.7 ± 8.6*	1.75 ± 0.66*	4.6 ± 2.1**
健康对照组	20	69.9 ± 8.1	37.5 ± 8.9	28.9 ± 6.8	1.29 ± 0.56	10.7 ± 4.2

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$;与健康对照组比较,** $P < 0.01$ 。

表 2 HLA-B27 阳性患者外周血 B 淋巴细胞及血清中免疫球蛋白的水平 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD19 ⁺ (%)	IgG(g/L)	IgA(g/L)	IgM(g/L)
HLA-B27 阳性组	37	11.9 ± 5.26*	13.5 ± 3.6*	3.25 ± 1.01*	1.69 ± 0.97
健康对照组	20	10.4 ± 4.64	12.0 ± 4.9	2.26 ± 1.57	1.70 ± 1.07

注:与健康对照组比较,* $P < 0.05$ 。

3 讨 论

调节性 T 细胞(regulatory T cells, Treg)是一类具有较低的增殖能力,能够抑制免疫反应的细胞群,在免疫病理、移植物耐受、阻止自身免疫反应和维持机体免疫平衡方面发挥重要的作用,表现在多克隆激活和自身抗原激活以后能够抑制 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞活化和增殖^[1]。近年来,调节性 T 细胞已成为免疫学领域的研究热点。

本研究显示 HLA-B27 阳性患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞表达下降,提示其调节性 T 细胞的抑制功能受损。HLA-B27 阳性患者外周血免疫调节 CD4⁺CD25⁺T 细胞缺陷有几种可能的解释:(1)特定炎性反应介质影响调节性 T 细胞抑制自身免疫和炎性反应的能力。例如 TNF- α 可以通过 TNFR II 抑制调节性 T 细胞 FOXP3 mRNA 及其蛋白的表达^[2],而 TNF- α 是与强直性脊柱炎(AS)关系密切的一种促炎细胞因子,抗 TNF- α 治疗可以快速有效地控制 AS 患者的病情^[3]。(2)外周血调节性 T 细胞迁移到炎性反应部位,从而使外周血调节性 T 细胞数量减少。(3)CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的自发凋亡增加。有报道活动性类风湿性关节炎(RA)患者外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞的自发凋亡增加^[4]。

调节性 T 细胞的抑制功能受损导致外周血 T 细胞总数显著性增加 ($P > 0.05$),且 T 细胞亚群有明显的改变,CD4⁺T 细胞明显升高而 CD8⁺T 细胞明显降低。自身免疫性疾病患者体内过度的细胞毒性反应和细胞免疫效应,导致 CD8⁺T 细胞大量消耗可能是 CD8⁺T 细胞不升反降的主要原因,有待进一步探讨。

HLA-B27 阳性患者的 B 细胞数量和两种免疫球蛋白

IgG、IgA 水平较正常对照组显著增高。这是因为活化 T 细胞介导的 CD40 的 L 信号可促进表达 CD40 的 B 细胞克隆转化和抗体产生,并可抑制成熟 B 细胞表面膜免疫球蛋白诱导凋亡蛋白的表达,使成熟 B 细胞逃逸凋亡,数量增加,导致抗体分泌增加。

综上所述,CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞数量明显减少,对 CD4⁺和 CD8⁺T 细胞活化和增殖的抑制能力下降,是 HLA-B27 阳性患者体内细胞免疫和体液免疫亢进的原因之一。

参考文献

[1] 陈蕾,焦志军.天然调节性细胞与自身免疫性疾病[J].江苏大学学报,2008,8(4):366-367.
 [2] Valencia X, Stephens G, Goldbach-Mansky R, et al. TNF down-modulates the function of human CD4⁺CD25^{hi} Tregulatory cells[J]. Blood, 2006, 108: 253-261.
 [3] Kavanaugh A, Tutuncu Z, Catalan-Sanchez T. Update on anti-tumor necrosis factor therapy in the spondyloarthropathies including psoriatic arthritis[J]. Curr Opin Rheumatol, 2006, 18: 347-353.
 [4] Toubi E, Kessel A, Mahmudov Z, et al. Increased spontaneous apoptosis of CD4⁺CD25⁺T cells in patients with active rheumatoid arthritis is reduced by infliximab[J]. Ann N Y Acad Sci, 2005, 1051: 506-514.

(收稿日期:2010-03-07)