

糖尿病合并肺部感染外周血调节性 T 细胞的检测分析*

张志哲, 李 洪, 李家莹, 黄天霞 (广西医科大学附属南宁市第一人民医院 530022)

【摘要】 目的 探讨糖尿病合并肺部感染与 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的关系。**方法** 用流式细胞仪分别检测健康对照组 32 例, 单纯糖尿病组 20 例, 糖尿病合并肺部感染组 23 例的 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺CD25⁺T 细胞, 计算出 CD4⁺/CD8⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 的比值; 用统计学方法比较各组 T 细胞亚群, 用因子分析法分析糖尿病合并肺部感染者 T 细胞亚群等常见因素的内在联系。**结果** 糖尿病、糖尿病合并肺部感染组 CD8⁺、CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 比健康对照组高, CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比健康对照组低, 且差异有统计学意义; 糖尿病合并肺部感染者年龄、病程、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 7 个指标之间存在中等偏强的内在联系。**结论** CD4⁺CD25⁺T 细胞升高可能是糖尿病合并肺部感染难治的原因之一, 糖尿病合并肺部感染者常见的 7 项指标之间存在一定的内在联系。

【关键词】 糖尿病; 肺部感染; CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞

DOI: 10. 3969/j. issn. 1672-9455. 2011. 06. 003 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2011)06-0647-02

Detection analysis of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in peripheral blood of diabetes mellitus complicating pulmonary infection* ZHANG Zi-zhe, LI Hong, LI Jia-xuan, HUANG Tian-xia (Nanning First People's Hospital Affiliated to Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530022, China)

【Abstract】 Objective To investigate the relationship between diabetes complicating pulmonary infection and CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells. **Methods** CD4⁺ CD25⁺, CD4⁺ and CD8⁺ were measured by flow cytometry in 32 subjects of normal control group, 20 cases of simple diabetes mellitus group and 23 cases of diabetes mellitus complicating pulmonary infection group. To compare T cell subsets of each group with statistics, to analyze the relationship among common factors of age, disease course, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺, CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD25⁺/CD4⁺, etc. in diabetic patients complicating pulmonary infection by factor analysis. **Results** CD8⁺, CD4⁺CD25⁺, CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ in diabetes mellitus group and diabetes mellitus complicating pulmonary infection group were higher than those in the normal control group, CD4⁺, CD4⁺/CD8⁺ were lower than those in the normal control group with statistical significance ($P < 0.05$). By factor analysis, the total contribution of mean square of 3 major factors in diabetes mellitus complicating pulmonary infection group was 82. 816%. **Conclusion** The CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells counts in diabetes mellitus complicating pulmonary infection is increased, which may cause difficulty in controlling diabetes complicating pulmonary infection. 7 common factors in diabetic complicating pulmonary infection have some internal correlation.

【Key words】 diabetes; pulmonary infection; CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells

糖尿病患者合并感染, 其中肺部感染最为常见, 肺部感染易发生难控制。有报道其与机体细胞和体液免疫功能紊乱, 机体防御功能低下有关。CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞是近来较为关注的免疫抑制 T 细胞, 以往很多研究表明, CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞与自身免疫疾病和肿瘤发生及发展密切相关, 本文将针对糖尿病合并肺部感染外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的检测结果进行分析。

1 资料与方法

1.1 一般资料 将 2006~2008 年本院住院部诊断为糖尿病的患者 (均符合 1999 年 WHO 诊断标准) 43 例分为 B、C 两组。B 组 (单纯糖尿病组) 20 例, 男 12 例, 女 8 例, 年龄 60~75 岁, 血糖控制不良, 排除同时合并其他免疫系统疾病及各种感染。C 组 (糖尿病合并肺部感染组) 23 例, 男 10 例, 女 13 例, 年龄 50~70 岁, 临床胸部 X 线摄片及疾病原检查证实并发肺部感染, 排除同时合并其他免疫系统功能异常疾病。A 组 (健康对照组) 为本院健康老年体检者 32 例, 男 18 例, 女 14 例, 年龄 60

~70 岁, 空腹血糖和餐后 2 h 血糖均正常, 排除各种免疫功能异常的各种疾病。

1.2 试剂与仪器 主要试剂: CD4-FITC-CD8-PE-CD3-PE-Cy5 抗体, CD4-PE 抗体, CD25-FITC 抗体。同型对照试剂: IgG1-FITC-IgG1-PE-IgG1-PE-Cy5 鼠抗人免疫球蛋白, IgG1-FITC 鼠抗人免疫球蛋白, IgG1-PE 鼠抗人免疫球蛋白 (美国贝克曼库尔特公司 IMMUL2VOTECH 提供)。流式细胞仪 (美国 Beckman-Coulter 公司 Epics-XL 型), 溶血机 (美国 Beckman Coulter 公司 Q-PREP 型)。

1.3 检测方法 受检者于清晨空腹时无菌采集外周静脉血 2 mL, 分别在 40 μ L 肝素抗凝血中加入荧光标记抗体及同型对照试剂各 5 μ L, 室温避光孵育 20 min, 每管加入红细胞裂解液 0.5 mL 后混匀, 溶血机溶血, 上流式细胞仪检测。糖尿病合并肺部感染组治疗后血糖稳定、感染控制时再次抽血检查。

1.4 统计学方法 将检测结果输入计算机, 用 PEMS3.1 统计软件进行因子分析, 各组 T 淋巴亚群比较采用方差分析。

* 基金项目: 南宁市科技局资助项目 (20060168C)。

2 结 果

2.1 各组 T 细胞亚群比较,糖尿病、糖尿病合并肺部感染组

CD8⁺、CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 比健康对照组高,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 比健康对照组低,且差异有统计学意义,见表 1。

表 1 各组 T 细胞亚群比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ⁺ /CD4 ⁺
A 组	32	41.84±5.11	14.60±2.94	2.99±0.80	1.69±0.63	4.02±1.33
B 组	22	38.47±8.33	20.95±5.55**	1.99±0.83**	4.26±2.33**	10.86±5.13**
C 组	23	36.47±9.31*	24.48±8.01**	1.62±0.51△**	2.56±1.05*△△	6.91±2.27**△△

注:与 A 组相比,**P*<0.05,***P*<0.01;B、C 组两组比,△*P*<0.05,△△*P*<0.01。

2.2 糖尿病合并肺部感染组年龄、病程、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 因子分析得表 2 特征根,表 3 特征向量,表 4 因子负荷系数。根据主因子数尽可能少,贡献率尽可能大的原则,经方差最大正交旋转得 3 个主因子方差累计贡献率为 82.816%,即 3 个主因子可以利用 7 项指标全部信息的 82.816%,其中主因子 1 对 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 影响较大,对 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 影响为促进作用,对 CD8⁺ 影响为抑制作用;主因子 2 对 CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 影响较大,为促进作用;主因子 3 对年龄影响较大,为促进作用。

表 2 特征根

序号	特征根	贡献率(%)	累计贡献率(%)
1	2.781 3	39.732 5	39.732 5
2	2.010 9	28.727 6	68.460 1
3	1.004 9	14.355 9	82.816 0
4	0.807 9	11.541 1	94.357 0
5	0.233 0	3.328 3	97.685 3
6	0.141 1	2.016 0	99.701 4
7	0.020 9	0.298 6	100.000 0

表 3 特征向量

项目	第 1 向量	第 2 向量	第 3 向量	第 4 向量	第 5 向量	第 6 向量	第 7 向量
年龄	0.163 0	-0.075 9	0.837 6	-0.507 9	0.066 3	-0.004 3	0.061 0
病程	-0.009 7	0.388 3	0.505 4	0.732 1	-0.150 0	0.088 9	-0.165 5
CD4 ⁺	0.554 6	0.125 4	-0.035 2	0.214 2	0.388 7	-0.494 0	0.484 2
CD8 ⁺	-0.527 5	-0.144 8	0.115 3	0.156 1	0.795 7	0.146 5	0.091 7
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.562 7	0.056 1	-0.116 1	-0.003 1	0.272 8	0.762 1	-0.107 7
CD4 ⁺ CD25 ⁺	0.000 2	0.659 9	-0.110 3	-0.304 4	0.306 0	-0.253 9	-0.549 2
CD4 ⁺ CD25 ⁺ /CD4 ⁺	-0.266 1	0.606 8	-0.053 1	-0.207 7	-0.144 2	0.285 3	0.642 5

表 4 因子负荷系数(方差极大正交旋转)

项目	Z1	Z2	Z3	Z4	公因子方差
年龄	0.096 1	-0.072 7	0.991 5	0.036 3	0.998 9
病程	0.022 6	0.191 9	0.038 0	0.976 9	0.993 1
CD4 ⁺	0.940 2	-0.075 0	0.012 1	0.188 7	0.925 5
CD8 ⁺	-0.905 3	-0.092 7	-0.108 2	0.096 7	0.849 3
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.942 8	-0.083 0	0.055 3	-0.040 7	0.900 5
CD4 ⁺ CD25 ⁺	0.183 4	0.959 1	-0.020 1	0.093 9	0.962 8
CD4 ⁺ CD25 ⁺	-0.267 8	0.931 9	-0.085 9	0.165 5	0.975 0

3 讨 论

3.1 根据 CD 分子不同,T 淋巴细胞可分为 CD4⁺ 和 CD8⁺ 两大亚群,有研究表明,CD8⁺T 淋巴细胞可抑制 CD4⁺T 淋巴细胞^[1]。循环中总 T 淋巴细胞减少及 CD4⁺ 细胞百分率、CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值降低是免疫缺陷的重要指征^[2],CD4⁺ 细胞与 CD8⁺ 细胞相互作用,相互平衡才能使机体产生正常免疫应答。本文资料表明,糖尿病合并肺部感染者外周血 CD4⁺ 细胞百分率降低,CD8⁺ 细胞百分率增高,CD4⁺/CD8⁺ 细胞比值降低,说明患者存在细胞免疫功能缺陷,与方荣和李红^[3]报道相似。

CD4⁺CD25⁺T 细胞为一类抑制性细胞,通过与效应细胞直接接触^[4]及分泌 Th2 型细胞因子而发挥作用^[5]。CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞具有独特的免疫调节作用,具有免疫抑制性和免疫无能性两大功能,实验证实移除或减少 CD4⁺CD25⁺T 细胞可以增强对多种病原体的抗感染免疫^[6-7]。另外有研究发现 CD4⁺CD25⁺T 细胞是正常动物体内已存在的细胞亚群,它们在一定程度上通过限制对感染位置的免疫应答的敏感性来抑制过度的免疫应答,导致病原体的长期存在^[8],糖尿病合并肺部感染组 CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 比健康对照组高,这可能是糖尿病合并肺部感染难治的原因之一,有待进一步研究。

3.2 经方差最大正交旋转得 3 个主因子可解释 7 个指标的 82.816%,提示这 7 个指标之间存在中等偏强的内在联系,主因子 1 与 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 呈明显正相关,与 CD8⁺ 呈负相关,提示有某种共同因素影响这 3 个指标,CD8⁺ 升高时 CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 下降,CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺ 与 CD8⁺ 相互作用相互平衡是机体免疫系统正常的表现。因子 2 与 CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 呈正相关,CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25⁺/CD4⁺ 有明显的聚集性;主因子 3 与年龄呈正相关。由于糖尿病合并肺部感染是很多因素共同作用的结果,免疫功能下降是基础,而具体哪个指标更能直接说明原(下转第 651 页)

有关。同样, HIFU 后肿瘤出现凝固性坏死, T1WI 表现为 HIFU 后信号增高, 与周边肝组织比较, 表现为稍高信号或等信号^[4], 本研究中 63.2% 病灶 HIFU 后 T1WI 信号增加, 对 HIFU 的早期疗效判断具有一定的参考价值。但是, T1WI 也可能因肿瘤出血、液化坏死等原因导致 HIFU 后难以出现凝固性坏死样的 T1WI 信号增高, 这也可能是本研究结果显示的增强扫描肿瘤血液灌注消失百分比高于 T1WI 信号增加的百分比的原因。

Rowland 等^[5]采用 T1WI 增强扫描对鼠肝癌 HIFU 治疗后 24 h 内进行病理与影像学的对照研究, 结果显示 HIFU 治疗区域增强扫描病灶内仅为轻微强化或无强化, 提示血流减少或消失, 而对应的病理学表现为凝固性坏死, 表明病变区域的 MRI 增强表现能很好地反映病理组织学的变化。人体病理学研究也显示, HIFU 治疗区域组织病理学变化主要表现为凝固性坏死^[6]。液化性坏死、黏液样变性、出血与凝固性坏死一样, 由于没有血液灌注, MRI 动态增强扫描也不强化。对于 HIFU 治疗后治疗区域周边组织变化, 病理学研究显示周边组织表现为早期的充血反应, 此后的炎性肉芽组织修复^[6]。HIFU 周边组织的充血反应、肉芽组织修复, 早期多表现为规则的光滑的环状延迟强化, 比较容易与多表现为动脉期结节状、斑片状、团块状强化的肿瘤残留相鉴别。因此, T1WI 增强扫描与 MRI 常规平扫序列比较, 增强扫描不仅能很好鉴别 HIFU 治疗区域液化性坏死、出血等常规扫描难以辨别的病理学变化, 而且也能依据 HIFU 周边组织的强化特点、形态等对周边区域进行辨别, 大大提高了鉴别肿瘤残留的准确性和精确性。与常规扫描序列比较, 增强扫描更能准确判断肿瘤的灭活, 更加准确地进行 HIFU 治疗放疗后肝癌的早期疗效评价。本研究中, 增强扫描 84.2% 肿瘤血液灌注消失, 提示 84.2% 肿瘤被 HIFU 有效灭活, 表明 HIFU 治疗放疗后肝癌是有效的。

综上, HIFU 治疗放疗后肝癌的早期 MRI 结果显示, MRI 常规平扫序列和增强扫描序列在 HIFU 后均有一定比例的特征性信号变化, 但由于 HIFU 前肿瘤的出血、液化坏死等因素

影响, 常规平扫序列信号变化的特异性明显下降, 导致早期疗效评价的准确率下降, 而这些因素对 T1WI 增强扫描的信号变化影响较小, 因而增强扫描较易鉴别肿瘤残留, 对 HIFU 治疗放疗后肝癌的早期疗效评价更为准确。因此, MRI 可能是 HIFU 治疗放疗后肝癌的可行的早期影像学疗效评价方法之一, 但为了增加疗效评价的准确率, 最好避免单纯依据 MRI 常规扫描的信号变化进行疗效评价, 需常规扫描结合增强扫描的信号变化才能做出更准确的早期疗效评价。

参考文献

- [1] Wu F, Wang ZB, Chen WZ, et al. Extracorporeal high intensity focused ultrasound ablation in the treatment of patients with large hepatocellular carcinoma [J]. Ann Surg Oncology, 2004, 11: 1061-1069.
- [2] Wu F, Wang ZB, Chen WZ, et al. Advanced hepatocellular carcinoma: treatment with high intensity focused ultrasound ablation combined with transcatheter arterial embolization [J]. Radiology, 2005, 235: 659-667.
- [3] 敬宗玉, 邹建中. MRI 在 HIFU 治疗肿瘤中的应用[J]. 临床超声医学杂志, 2005, 7(1): 42-44.
- [4] 柏沙美, 谢琦, 陈胜利, 等. 高强度聚焦超声治疗肝细胞癌的 MRI 观察[J]. 实用医学杂志, 2005, 21(16): 1788-1789.
- [5] Rowland IJ, Rivens I. MRI study of hepatic tumor following high intensity focused ultrasound surgery [J]. Br J Radiol, 1997, 70(2): 144-152.
- [6] Wu F, Chen WZ, Bai J, et al. Pathological changes in human malignant carcinoma treated with high-intensity focused ultrasound [J]. Ultrasound Med Biol, 2001, 27: 1099-1106.

(收稿日期: 2011-01-20)

(上接第 648 页)

因至今未明。本文的因子分析结果显示, 公因子方差大多数超过 0.9, 说明 3 个公因子能够较好地反映原各指标变量的大部分信息, 常见的 7 项指标之间存在一定的内在联系。

参考文献

- [1] Ma H, Ke Y, Li Q, et al. Bovine and human insulin activate CD8⁺ autoreactive CTL expressing both type 1 and type 2 cytokines in C57BL/6 mice[J]. J Immunol, 2000, 164(1): 86.
- [2] 盛宏光, 金惠. II 型糖尿病与流式细胞 CD 系列关系探讨[J]. 世界医学杂志, 2000, 4(12): 87.
- [3] 方荣, 李红. 2 型糖尿病伴感染者 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞的测定及意义[J]. 浙江医学, 2003, 25(3): 263-265.
- [4] Stephens LA, Mottet C, Mason D, et al. Human CD4⁺ CD25⁺ thymocytes and peripheral T cells have immune suppressive activity in vitro[J]. Eur J Immunol, 2001, 31:

1247-1254.

- [5] Kingsley CI, Karim M, Bushell AR, et al. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells prevent graft rejection: CTLA-4 and IL-10 dependent immuno regulation of alloresponses[J]. Immunol, 2002, 18: 1080-1086.
- [6] Belkaid Y. The role of CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells in leishmania infection[J]. Expert Opin Biol Ther, 2003, 3(6): 875-885.
- [7] Long TT, Nakazawa S, Onizuka S, et al. Influence of CD4⁺ CD25⁺ T cells on plasmodium berghei NK 65 infection in BALB/c mice[J]. Int J Parasitol, 2003, 33(2): 175-183.
- [8] Belkaid Y, Piccirillo CA, Mendez S. CD4⁺ CD25⁺ regulatory T cells control Leishmania major Persistence and immunity [J]. Nature, 2002, 420(5): 502-507.

(收稿日期: 2010-10-08)