

肾移植术后 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞百分比参考范围的研究*

魏丽,刁宏燕,吴炜,汪超军[△],李兰娟(浙江大学医学院附属第一医院传染病诊治国家重点实验室/感染性疾病诊治协同创新中心,杭州 310003)

【摘要】目的 初步建立肾移植患者外周血 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞的百分比参考范围。**方法** 67 例健康对照组、169 例肾移植患者于肾移植手术后 1 周清晨采集外周血,用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞百分比。同时按年龄段划分为 3 组进行统计:≤30 岁(青年组)、31~49 岁(中年组)、≥50 岁(老年组)。**结果** (1)建立了肾移植术后 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞百分比的参考范围:CD3⁺ 56.80%~64.54%;CD4⁺ 30.82%~36.43%;CD8⁺ 23.45%~27.32%;CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 1.35~1.68;NK 6.04%~8.35%。(2)肾移植术后不同性别间的 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞差异无统计学意义($P>0.05$)。(3)肾移植术后不同年龄间的 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞差异有统计学意义($P<0.05$):与老年组比较,青年组和中年组肾移植术后 CD8⁺ 细胞百分比明显升高,差异有统计学意义($P<0.01$),CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 明显降低,差异有统计学意义($P<0.01$)。**结论** 初步建立了肾移植术后的 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞的参考范围,同时发现肾移植术后随年龄增长 CD8⁺ 细胞百分比降低,而 CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 升高。

【关键词】 肾移植; 术后; T 淋巴细胞亚群; 参考范围

DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.02.006 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)02-0155-02

Study on reference values of T-lymphocyte subsets and NK cell percentage after renal transplant operation* WEI Li, DIAO Hong-yan, WU Wei, WANG Chao-jun[△], LI Lan-juan (State Key Laboratory for Diagnosis and Treatment of Infectious Disease, First Affiliated Hospital, College of Medicine, Zhejiang University/Collaborative Innovation Center for Diagnosis and Treatment of Infectious Diseases, Hangzhou, Zhejiang 310003, China)

【Abstract】Objective To preliminarily establish the reference values of peripheral blood T-lymphocyte subsets and NK cell percentage in renal transplant patients. **Methods** Peripheral blood was collected from 67 cases of control and 169 cases of renal transplant in the early morning at postoperative 1 week. T-lymphocyte subsets and NK cell percentage were detected by the flow cytometry. 169 patients with renal transplant were divided into three groups according to age section for conducting statistics: ≤30 years old(youth group), 31-49 years old(middle age group) and ≥50 years old(older age group). **Results** (1)The reference values of T-lymphocyte subsets and NK cell percentage were established: CD3⁺: 56.80% - 64.54%; CD4⁺: 30.82% - 36.43%; CD8⁺: 23.45% - 27.32%; CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺: 1.35% - 1.68%; NK: 6.04% - 8.35%. (2) T-lymphocyte subsets and NK cell percentage showed no statistical differences between genders ($P>0.05$). (3) T-lymphocyte subsets and NK cell percentage showed statistical differences among different ages ($P<0.05$). Compared with the older age group, the level of CD8⁺ in the youth group and the middle age group was significantly increased, while CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ was significantly decreased ($P<0.01$). **Conclusion** The reference values of T lymphocyte subsets and NK cell percentage in renal transplant patients are preliminarily established. Meanwhile it is found that the level of CD8⁺ is decreased with the age increase after renal transplant, while CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ is increased.

【Key words】 renal transplantation; postoperation; T-lymphocyte subsets; reference values

肾移植是治疗中末期肾病的有效手段,而移植后的机体免疫状态对移植肾的功能影响很大,目前尚无有效的评估技术。T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞作为临床判断患者状态的一个敏感指标,对临床治疗具有重要意义。肾移植术后的免疫状态与健康人不同,而目前尚无肾移植术后 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞的参考标准,本文旨在探讨肾移植患者术后淋巴细胞亚群和 NK 细胞的参考范围和不同年龄组的细胞免疫状况,以期为临床治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 全部肾移植病例为 2013 年 1~12 月在本院肾内科住院患者,均为首次尸体肾移植受者,共 169 例,其中男 114 例,女 55 例,年龄 10~66 岁。年龄段划分:≤30 岁(青年组)52 例、31~49 岁(中年组)83 例、≥50 岁(老年组)34 例。

所有研究病例均于术后采用骁悉、FK506、强的松三联抗排斥治疗,均于接受肾移植术后 1 周康复出院。健康对照组 67 例,其中男 34 例,女 33 例,均为体检健康的人员,年龄 10~68 岁。

1.2 方法 肾移植手术后 1 周清晨采取静脉血 2 mL(乙二胺四乙酸抗凝)并立即检测。采用三色流式细胞术对 T 淋巴细胞亚群和 NK 细胞进行分析检测^[1]。其中,检测 T 淋巴细胞亚群抗体采用 PerCP 标记小鼠抗人 CD3、FITC 标记小鼠抗人 CD4、PE 标记小鼠抗人 CD8 单克隆抗体,检测 NK 细胞(CD3⁺CD16/56⁺)抗体采用 FITC 标记小鼠抗人 CD3、PE 标记小鼠抗人 CD16/56 单克隆抗体。T 淋巴细胞亚群抗体为美国 BD 公司产品,NK 细胞(CD3⁺CD16/56⁺)为美国 Beckman Coulter 公司产品,仪器为美国 Beckman Coulter FC500 型流式细胞仪。

1.3 统计学处理 应用统计软件 SPSS17.0 对数据进行统计

* 基金项目:浙江省钱江人才计划资助项目(2012R10G2010210)。

作者简介:魏丽,女,实验员,硕士,主要从事临床流式检测工作。△ 通讯作者,E-mail:wangchaojundf@hotmail.com。

分析,经检验淋巴细胞亚群和 NK 细胞百分比符合正态分布,以均数、95%建立淋巴细胞亚群和 NK 细胞的正常参考范围,不同性别间淋巴细胞亚群和 NK 细胞的比较采用独立标本 *t* 检验,各年龄组淋巴细胞亚群和 NK 细胞组间比较采用单因素

方差检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 不同性别肾移植患者外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞的差别无统计学意义 ($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 不同性别肾移植患者外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞数据的构成 ($\bar{x} \pm s$)

性别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	NK ⁺ (%)
男	114	63.18±2.23	35.92±1.65	25.53±1.04	1.56±0.10	7.56±0.61
女	55	55.18±3.79	28.60±2.60	25.05±2.20	1.41±0.16	6.38±1.30
<i>t</i>		1.91	2.44	0.2	0.80	0.94
<i>P</i>		0.11	0.15	0.8	0.65	0.91

2.2 肾移植患者外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞的正常参考范围,见表 2。

2.3 各年龄组外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞数据的分布,见表 3。由表 3 可见,与老年组比较,青年组和中年组肾移植术后 CD8⁺ 细胞百分比明显升高,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$);与健康对照组比较,肾移植患者 CD3⁺ 细胞百分比、CD8⁺ 细胞百分比、NK 细胞百分比明显降低,差异有统计

学意义 ($P < 0.01$)。

表 2 肾移植患者 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞的正常参考范围

细胞类型	均值	正常参考范围
CD3 ⁺ (%)	60.67	56.80~64.54
CD4 ⁺ (%)	33.63	30.82~36.43
CD8 ⁺ (%)	25.38	23.45~27.32
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	1.51	1.35~1.68
NK (%)	7.20	6.04~8.35

表 3 各年龄组外周血 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞数据的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	百分比 (%)	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	NK ⁺ (%)
肾移植组	169	100.0	60.99±1.81	33.30±1.33	25.93±0.92	1.48±0.08	7.16±0.57
青年组	52	30.8	67.23±2.26**	33.59±1.82	31.46±1.38**	1.20±0.09**	5.48±0.74**▲▲
中年组	83	49.1	59.62±2.79▲▲	33.01±2.01	25.04±1.25*▲	1.40±0.08**	7.09±0.65▲▲
老年组	34	20.1	54.79±4.55▲▲	33.57±3.52	19.63±2.23▲▲	2.11±0.29▲▲	9.89±2.01▲▲
健康对照组	67		69.25±0.97**	36.07±0.82	28.66±0.84**	1.36±0.06**	19.75±0.99**

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

3 讨 论

T 淋巴细胞是参与细胞免疫和免疫调控的枢纽,T 淋巴细胞亚群的动态平衡是维持机体免疫自稳的重要因素^[2]。同时 T 淋巴细胞亚群的变化反映了人体细胞免疫功能的改变,应用流式细胞术能快速、准确地检测淋巴细胞亚群,并及时、准确地判断病情,评价治疗效果^[3-5]。NK 细胞具有抗肿瘤,抗病毒感染,抗器官移植,参与 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞的调节及其免疫调节的功能。NK 细胞通过受体作用维持平衡、发挥杀伤效应^[6-7]。

同时,人体免疫状态中年龄也是一重要因素^[8],有报道儿童外周血 T 淋巴细胞高于成人^[9],本文研究亦发现肾移植术后 CD3⁺CD8⁺ 细胞百分比随年龄的增长呈下降趋势。青年组、中年组 CD3⁺CD8⁺ 细胞百分比明显高于老年组,提示肾移植年轻患者细胞免疫功能活跃,老年患者机体本身免疫低下,细胞免疫反应降低。

本文研究发现,与健康对照组比较,肾移植患者 CD3⁺ 细胞百分比、CD8⁺ 细胞百分比、NK 细胞百分比明显降低,差异有统计学意义 ($P < 0.01$),可见以健康人的标准难以准确评估肾移植患者术后的免疫状态。本文在此基础上建立了肾移植术后的参考范围:CD3⁺ 56.80%~64.54%,CD4⁺ 30.82%~36.43%,CD8⁺ 23.45%~27.32%,CD3⁺CD4⁺/CD3⁺CD8⁺ 1.35~1.68,NK 6.04%~8.35%,以期为临床诊断和治疗提供更准确的参考。

参考文献

[1] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京:人民军医

出版社,2010:78-127.

[2] 樊华,陈大志,贺强,等. 外周血 T 淋巴细胞亚群变化能预测肝移植急性排斥反应吗[J]. 肝胆外科杂志,2010,18(3):178.

[3] Hatam L,Sehuval S,Bonagura VR. Flow cytometric analysis of natural killer cell function as a clinical assay[J]. Cytometry,1994,16(1):59-68.

[4] 韩晓红,石远凯,冯奉仪,等. 流式细胞术分析肿瘤患者免疫功能变化[J]. 实用肿瘤杂志,1999,14(5):273-275.

[5] Mendes R,Bromelow KV,Westby M, et al. Flow cytometric visualisation of cytokine production by CD3-CD56 NK cells and CD3CD56 NK-T cells in whole blood[J]. Cytometry,2000,39(1):72-78.

[6] Raulet DH,Vance RE. Self-tolerance of natural killer cells[J]. Nat Rev Immunol,2006,6(7):520-531.

[7] Diefenbach A,Raulet DH. Innate immune recognition by stimulatory immunoreceptors[J]. Curr Opin Immunol,2003,15(1):37-44.

[8] Higuchi M,Tanaka E,Kiyosawa K. Epidemiology and clinical aspects on hepatitis[J]. Jpn J Infect Dis,2002,55(3):69-77.

[9] 丁巧云,俞海英,孙薇薇,等. 小儿重型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化与临床意义[J]. 临床肝胆病杂志,2011,27(7):729-730.

(收稿日期:2014-06-05 修回日期:2014-11-13)