

外周血中 $CD4^+CD25^+$ 与 $CD8^+CD28^-$ 调节性 T 细胞与 Graves 病的关系研究

韦 巍, 林英辉, 黄小琪 (广西中医药大学第一附属医院, 南宁 530023)

【摘要】 目的 分析 Graves 病(GD)患者外周血中 $CD4^+CD25^+$ 和 $CD8^+CD28^-$ 调节性 T(Tr)细胞的变化。**方法** 选择该院内分泌科门诊或住院部 43 例 GD 患者为研究对象, 其中内分泌科门诊确诊的 19 例 GD 患者为试验初发组。接受治疗且甲状腺功能恢复正常的 24 例 GD 患者为治疗缓解组; 选择同期健康体检者 20 例为健康对照组。采用流式细胞术检测 3 组外周血中 $CD4^+CD25^+$ 和 $CD8^+CD28^-$ Tr 细胞水平。**结果** 试验初发组外周血 $CD4^+CD25^+$ Tr 细胞水平为 $(4.56 \pm 4.14)\%$, 明显低于健康对照组的 $(8.84 \pm 4.45)\%$, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), $CD8^+CD28^-$ Tr 细胞水平为 $(14.95 \pm 5.38)\%$, 与健康对照组的 $(10.65 \pm 6.37)\%$ 比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。治疗缓解组外周血中 $CD4^+CD25^+$ Tr 细胞水平为 $(6.99 \pm 6.35)\%$, 与健康对照组比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 但其 $CD8^+CD28^-$ Tr 细胞水平为 $(20.48 \pm 6.07)\%$, 高于健康对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。**结论** $CD4^+CD25^+$ Tr 细胞水平可能与 GD 发病有关, $CD8^+CD28^-$ Tr 细胞可能与 GD 病程发展有关。

【关键词】 Graves 病; $CD4^+CD25^+$; $CD8^+CD28^-$; Tr 细胞

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.10.016 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)10-1376-02

Study on the relationship between regulatory T cell $CD4^+CD25^+$ and $CD8^+CD28^-$ in the peripheral blood between graves disease WEI Wei, LIN Ying-hui, HUANG Xiao-qi (the First Affiliated Hospital of Guangxi Chinese Medicine University, Nanning, Guangxi 530023, China)

【Abstract】 Objective To analyze the changes of the levels of $CD4^+CD25^+$ and $CD8^+CD28^-$ T cells in the peripheral blood in patients with graves disease(GD). **Methods** A total of 43 patients with GD were selected as objects in this study, 19 cases who were diagnosis in outpatient department were selected into incipience group, 24 cases who were treated and the thyroid function return to normal status were selected into alleviation group, meanwhile 20 healthy persons were recruited into control group. The levels of $CD4^+CD25^+$ and $CD8^+CD28^-$ regulator T cells in the peripheral blood were detected by flow cytometry. **Results** The $CD4^+CD25^+$ regulatory T cell levels in incipience group were $(4.56 \pm 4.14)\%$, which was significant lower than $(8.84 \pm 4.45)\%$ in the control group ($P < 0.05$). The $CD8^+CD28^-$ regulatory T cell levels in incipience group and control group were $(14.95 \pm 5.38)\%$, $(10.65 \pm 6.37)\%$ respectively, the difference had no significant difference ($P > 0.05$), the $CD4^+CD25^+$ regulatory T cell level in the alleviation group was $(6.99 \pm 6.35)\%$, which had no significant difference with the control group ($P > 0.05$), $CD8^+CD28^-$ regulatory T cell level in the alleviation group was $(20.48 \pm 6.07)\%$, which was significant higher than that in the control group ($P < 0.05$). **Conclusion** The level of $CD4^+CD25^+$ regulatory T cell in GD patients indicate that they might play an essential role in the pathogenesis of GD. $CD8^+CD28^-$ regulatory T cell plays important roles during the development of the disease in patients with GD.

【Key words】 graves disease; $CD4^+CD25^+$; $CD8^+CD28^-$; regulatory T cell

Graves 病(GD)是一种伴甲状腺激素(TH)分泌增多的器官特异性自身免疫疾病, 以高甲状腺素血症、弥漫性甲状腺肿、突眼及甲状腺自身抗体阳性为特征。一般认为 GD 以遗传易感为背景, 在感染、压力等因素作用下诱发体内免疫功能紊乱, 是由于正常免疫耐受功能受损导致免疫细胞及其成分对自身组织结构和功能的破坏, 并出现临床表现的一类自身免疫性疾病, 但其导致自身免疫反应的原因尚未明确。本试验通过对 GD 患者外周血中 $CD4^+CD25^+$ 和 $CD8^+CD28^-$ T 淋巴细胞的分析, 以探索这些指标与 GD 患者临床状态的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择本院内分泌科门诊或住院部 43 例 GD 患者为研究对象。内分泌科门诊确诊的 19 例 GD 患者为试验初发组, 其中男 3 例, 女 16 例; 年龄 23~48 岁, 平均 35.6 岁, 诊断参照《内科学》7 版的诊断标准, 均未接受抗甲状腺药物治疗。接受抗甲状腺药物治疗半年以上, 甲状腺功能恢复正常的

24 例 GD 患者为治疗缓解组, 其中男 5 例, 女 19 例, 年龄 22~50 岁, 平均 36.2 岁。选择在本院体检的健康人 20 例为健康对照组, 其中男 5 例, 女 15 例; 年龄 24~46 岁, 平均 34.8 岁, 排除甲状腺疾病和其他慢性疾病。3 组患者一般资料比较, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 具有可比性。

1.2 外周血淋巴细胞亚群分析 采用流式细胞术测定外周血淋巴细胞, 所用试剂包括抗 $CD4$ -FITC、抗 $CD25$ -PC5、抗 $CD8$ -PC5、抗 $CD28$ -FITC、IgG1-FITC、IgG1-PE, 均由美国 Beckman-Coulter 公司生产。取 2 mL 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝静脉血, 吸取 100 μ L 全血于 4 支测定管, 分别加入 10 μ L IgG1-FITC、IgG1-PE; $CD4$ -FITC、 $CD25$ -PE; IgG1-FITC、 $CD8$ -PC5; $CD28$ -FITC、 $CD8$ -PC5。混匀后室温避光 20 min 孵育。加入溶血剂溶解红细胞后, 上机进行测定。全部数据采用流式细胞仪和软件 SYSTEM 获取和分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 软件对数据进行统计学分

析,计量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 t 检验;以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

与健康对照组相比,试验初发组外周血 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞 (Tr 细胞) 明显降低,差异有统计学意义 ($P=0.011$);但 CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞与健康对照组比较,差异无统计学意义 ($P=0.058$)。治疗缓解组外周血 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞与健康对照组比较,差异无统计学意义 ($P=0.231$),但 CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞明显高于健康对照组,差异有统计学意义 ($P=0.00$)。见表 1。

表 1 3 组外周血中 CD8⁺CD28⁻ 及 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞测定结果 ($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	CD4 ⁺ CD25 ⁺ Tr 细胞	CD8 ⁺ CD28 ⁻ Tr 细胞
试验初发组	19	4.56±4.14 ^a	14.95±5.38
治疗缓解组	24	6.99±6.35	20.48±6.07 ^a
健康对照组	20	8.84±4.45	10.65±6.37

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$ 。

3 讨 论

Tr 细胞是 T 细胞的一类亚群,此类细胞能抑制其他 T 细胞的活力,在自身免疫性疾病、肿瘤及移植排斥反应等疾病的发生中起重要作用,逐渐受到医学界的关注^[1]。而 CD4⁺CD25⁺ 和 CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞是 Tr 细胞的重要组成部分。在免疫抑制机制中,CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞能够抑制那些成功逃避人工诱导耐受机制的自身反应性 T 细胞的活性和功能^[2]。当此类细胞数量减少,表面分子表达缺陷,抑制功能受损均可导致自身免疫病的发生。近年来已经有研究表明,1 型糖尿病、系统性红斑狼疮、重症肌无力等自身免疫性疾病患者的外周血中,CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞表达水平明显下降^[3-5]。CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞可通过细胞间的直接接触、分泌可溶性的细胞因子和阻止树突状细胞的成熟来抑制细胞毒性效应,故 CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞在免疫系统的自稳调节、自身免疫性疾病和器官移植免疫耐受中发挥着重要作用。CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞在一些自身免疫性疾病中,如强直性脊柱炎、多发性肌炎、皮肤炎,均可发现其数量表现异常^[6-8]。

Graves 病的发生是由于对自己或非己识别的控制机制出现了问题,一些自身反应性 T 细胞能够逃避克隆清除,识别外周组织抗原并且引起自身免疫反应^[9]。在本试验结果显示,GD 初发患者 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞水平比健康人低,说明在 GD 发病过程中存在 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞的缺乏,由于这类细胞减少可导致 T 细胞增殖、机体维持免疫稳定基本过程失调。经过一段时间药物治疗后,治疗缓解组的 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞比试验初发组稍增高,但较健康对照组仍偏低,说明虽然 GD 病患者甲状腺功能恢复正常,但机体的免疫系统尚未完全

恢复;GD 初发患者外周血中 CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞水平较健康对照组稍升高,治疗缓解组患者升高尤为明显,提示 GD 病患者体内存在一定比例上升的 CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞,但处于疾病初发期时该细胞群可能存在功能缺陷,无法发挥正常的抑制功能。治疗缓解组患者 CD8⁺CD28⁻ Tr 细胞数明显上升,可抑制体内异常活化的 T 细胞和抗原递呈细胞的功能,减轻免疫损伤。

综上所述,外周血 CD8⁺CD28⁻ 和 CD4⁺CD25⁺ Tr 细胞与 GD 的发生发展密切相关。进一步研究 Tr 细胞生物学特性及其在 GD 中的致病机制,将有助于 GD 的免疫治疗及防治。

参考文献

[1] Ha TY. The role of MicroRNAs in regulatory T cell and in the immune response[J]. Immune Network, 2011, 11 (1):11-41.

[2] Miyara M, Amoura Z, Parizot C, et al. Global natural regulatory T cell depletion in active systemic lupus erythematosus[J]. J Immunol, 2005, 175(12): 8392-9400.

[3] Tang QZ, Henriksen KJ, Bi MY, et al. In vitro-expanded antigen-specific regulatory T cells suppress autoimmune diabetes[J]. J Experim Med, 2004, 199(11): 1455-1465.

[4] 赵宏丽, 赵俊芳, 李孟娟, 等. 系统性红斑狼疮患者 CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞及其细胞因子的改变[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2012, 26(7): 581-583.

[5] Balandina A, Lecart S, Dartevielle P, et al. Functional defect of regulatory CD4⁺CD25⁺ T cells in the thymus of patients with autoimmune myasthenia gravis[J]. Blood, 2005, 105(2): 735-741.

[6] Schirmer M, Goldberger C, Würzner R, et al. Circulating cytotoxic CD8⁺CD28⁺ T cells in ankylosing spondylitis[J]. Arthritis Res, 2002, 32(4): 71-76.

[7] Fasth AE, Dastmalchi M, Rahbar A, et al. T cell infiltrates in the muscles of patients with dermatomyositis and polymyositis are dominated by CD28null T cells[J]. Immunol, 2009, 18(3): 4792-4799.

[8] Pedroza-Seres M, Linares M, Voorduyn S, et al. Pars planitis is associated with an increased frequency of effector-memory CD57⁺ T cells[J]. Br Ophthalmol, 2007, 35(91): 1393-1398.

[9] Shevach E. Regulatory T cells in autoimmunity[J]. Annu Rev Immunol, 2000, 19(18): 423-449.

(收稿日期:2014-10-08 修回日期:2015-01-12)

(上接第 1375 页)

[7] 徐文君, 吴国伟, 郑卫华. 黄葵胶囊联合厄贝沙坦治疗慢性肾小球肾炎临床观察[J]. 浙江中医杂志, 2013, 48(2): 153-154.

[8] 魏亚杰. 慢性肾小球肾炎所致慢性肾功能衰竭中医证候学研究[D]. 咸阳: 陕西中医学院, 2013.

[9] 苏军华, 魏崇莉, 冯小燕, 等. 静脉高氧液联合黄芪注射液治疗慢性肾小球肾炎[J]. 广东医学, 2011, 32(9): 1195-1196.

[10] 俞小凤. 贝那普利联合不同药物治疗慢性肾小球肾炎疗

效观察[J]. 现代中西医结合杂志, 2011, 20(10): 1204-1205.

[11] 丁世永, 郑平东, 何立群, 等. 小柴胡汤改善慢性肾小球肾炎患者炎症及减轻蛋白尿的作用研究[J]. 中国中西医结合杂志, 2013, 33(1): 21-26.

[12] 刘锋, 周广宇. 黄蜀葵花对慢性肾小球肾炎患者尿生化指标的影响[J]. 南京中医药大学学报, 2011, 27(3): 293-294.

(收稿日期:2014-11-08 修回日期:2015-01-05)