

· 临床研究 ·

T 细胞亚群变化与慢性重型病毒性肝炎转归关系分析

李 健¹, 邹文娟^{2△}, 梅小平¹

(1. 川北医学院附属医院传染科, 四川南充 637000; 2. 重庆市中医院肿瘤科 400021)

摘要:目的 探讨慢性重型乙型肝炎(CSHB)患者外周血 T 细胞亚群变化与预后的关系。方法 采用流式细胞仪分别检测符合条件的 CSHB、慢性乙型肝炎(CHB)、健康对照者的外周血 T 细胞亚群、血生化、凝血酶原活动度。治疗后,根据病情变化将 CSHB 分为好转组和无好转组。对治疗前、后各组检测结果进行数据分析和统计学处理。结果 治疗前,CD3、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值;CSHB 组与 CHB 组、对照组比较均有明显下降,差异有统计学意义($P < 0.01$),CHB 组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。治疗后,CSHB 无好转组 CD3、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞进一步下降,CD4⁺/CD8⁺ 比值上升,好转组 CD3、CD4⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值上升,CD8⁺ T 细胞下降。CD3、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值:无好转组与好转组、CHB 组、对照组之间比较差异有统计学意义($P < 0.01$);CHB 组与对照组比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。结论 CSHB 患者外周血 T 细胞亚群变化趋势对 CSHB 的诊断及判断预后具有重要的指导意义。

关键词:肝炎,乙型,慢性;T 淋巴细胞亚群;预后

doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2013.18.011

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2013)18-2090-03

Analysis of changes of T cell subsets and chronic severe hepatitis prognosis

Li Jian¹, Zou Wenjuan^{2△}, Mei Xiaoping¹

(1. Department of Infectious Diseases, Affiliated Hospital of North Sichuan Medical College, Nanchong Sichuan 637000, China; 2. Department of Oncology, Chongqing City Hospital of Traditional Chinese Medicine, Chongqing 400021, China)

Abstract: Objective To investigate the relationship between the changes and the prognosis of T lymphocyte subsets in patients' peripheral blood with Chronic severe hepatitis B(CSHB). **Methods** T cell subsets in peripheral blood (by flow cytometry), blood biochemistry and prothrombin activity, in patients with CSHB or CHB as well as in the healthy control group. After treatments, according to the illness change, the patients with Chronic severe hepatitis B(CSHB) were divided into improvement group and no improvement group. Do data analysis and statistics of test results before and after treatments. **Results** Before the results of treatment, compared with the patients with CHB and the healthy control group, the counts of T lymphocyte subsets CD3, CD4⁺ T cell, CD8⁺ T cell, CD4/CD8⁺ ratio in the patients with CSHB decreased significantly, a statistically significant difference ($P < 0.01$), while the difference in the patients with CHB and in the control group was not statistically significant ($P > 0.05$). After treatment, the counts of CD3, CD4⁺ T cell, CD8⁺ T cell in patients with (CSHB) in no improvement group declined further; the CD4⁺/CD8⁺ ratio rised. While in the improvement group, the CD3, CD4⁺ T cells and the CD4⁺/CD8⁺ ratio rised; the CD8⁺ T cells declined. The difference of CD3, CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells, the CD4⁺/CD8⁺ ratio between the improvement group and no improvement group, chronic hepatitis B group as well as the healthy control group was statistically significant ($P < 0.01$); there was no statistically significant difference between chronic hepatitis B group and the control group. **Conclusion** The trends of peripheral blood T-cell subsets in patients with CSHB are of important significance to diagnosis and prognosis.

Key words: hepatitis B, chronic; T-lymphocyte subsets; prognosis

慢性重型乙型肝炎在中国发病率高(占重型肝炎 90%以上)^[1-2],病情危重,病死率高,严重威胁着人们的健康。其发病机制复杂,一直是研究的难点。现有的慢性重型乙型肝炎诊断标准主要根据其临床表现及生化指标,诊断明确时再进行治疗为时已晚,预后不佳。若在慢性乙型肝炎(CHB)演变成慢性重型乙型肝炎早期甚至在呈重症肝炎趋势之前就能准确预测并及时治疗将大大改善患者的预后。为了解 CSHB 患者 T 细胞亚群与预后的关系,本文对川北医学院附属医院传染科 2012 年 1 月至 2012 年 12 月收住院的 CSHB 患者 85 例进行 T 细胞亚群检测与分析。现将有关结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择川北医学院附属医院传染科 2012 年 1

月至 2012 年 12 月住院的慢性重型肝炎患者,诊断符合 2000 年(西安)中华医学会传染病与寄生虫病学分会、肝病学分会联合修订的《病毒性肝炎防治方案》的标准^[3],排除其他类型病毒性肝炎、原发性肝癌或其他肝脏转移性肿瘤、酒精性肝病、药物性肝病、自身免疫性肝病和遗传性肝病等^[4-6];同时排除并发有严重感染、3 个月内接受过免疫调节剂治疗及观察不满 2 周的患者。符合并完成观察的 CSHB 病例共 85 例。其中,男 66 例,女 19 例;年龄 22~75 岁,平均(43.1±11.2)岁。85 例中,好转组 59 例,男 45 例,女 14 例,年龄 29~67 岁,平均(48.0±9.8)岁;无好转组(包括 2 周后死亡 13 例)26 例,男 21 例,女 5 例;CHB 组每月随机抽取 5 例共 60 例,男 45 例,女 15 例,年龄 26~63 岁,平均(45.3±10.6)岁;对照组 20 例,均为健康体检者,男

表 1 治疗前 4 组病例肝功 PTA 和 T 细胞亚群情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3(个/ μ L)	CD4 ⁺ (个/ μ L)	CD8 ⁺ (个/ μ L)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	ALT(IU/L)	TBil(μ mol/L)	PTA(%)
好转组	59	1 195 ± 412 ^{bed}	637 ± 193 ^{bed}	567 ± 186 ^{bed}	1.21 ± 0.62 ^{bed}	346.52 ± 85.63 ^{bed}	347.83 ± 58.23 ^{bed}	28.60 ± 6.95 ^{bed}
无好转组	26	1 186 ± 406 ^{bc}	643 ± 206 ^{bc}	575 ± 191 ^{bc}	1.19 ± 0.59 ^{bc}	339.43 ± 89.45 ^{bc}	356.75 ± 52.36 ^{bc}	29.75 ± 5.30 ^{bc}
CHB 组	60	1 397 ± 385 ^a	783 ± 217 ^a	629 ± 203 ^a	1.29 ± 0.61 ^a	567.19 ± 235.92 ^b	65.22 ± 45.50 ^b	85.69 ± 19.56 ^b
对照组	20	1 495 ± 462	815 ± 225	667 ± 268	1.36 ± 0.62	26.41 ± 9.55	15.23 ± 6.93	95.32 ± 3.21

a: P > 0.05, b: P < 0.01, 与对照组比较; c: P < 0.01, 与 CHB 组比较; d: P > 0.05, 与无好转组比较。

表 2 治疗后 4 组病例 T 细胞亚群情况 ($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3(个/ μ L)	CD4 ⁺ (个/ μ L)	CD8 ⁺ (个/ μ L)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	ALT(IU/L)	TBil(μ mol/L)	PTA(%)
好转组	59	1 386 ± 356 ^{adf}	756 ± 213 ^{adf}	516 ± 205 ^{bef}	1.35 ± 0.52 ^{adf}	215.00 ± 65.60 ^{bdf}	182.47 ± 45.62 ^{bef}	42.65 ± 9.32 ^{bef}
无好转组	26	905 ± 339 ^{bc}	560 ± 197 ^{bc}	405 ± 212 ^{bc}	1.62 ± 0.54 ^{bc}	136.00 ± 73.56 ^{b,d}	425.45 ± 72.46 ^{bc}	22.51 ± 7.83 ^{bc}
CHB 组	60	1 445 ± 367 ^a	796 ± 216 ^a	637 ± 198 ^a	1.36 ± 0.56 ^a	176.00 ± 34.52 ^b	23.76 ± 14.32 ^a	90.58 ± 10.57 ^a
对照组	20	1 495 ± 432	815 ± 225	667 ± 268	1.36 ± 0.62	26.41 ± 9.55	15.23 ± 6.93	95.32 ± 3.21

a: P > 0.05, b: P < 0.01, 与对照组比较; c: P < 0.01, d: P > 0.05, 与 CHB 组比较; e: P < 0.01, 与无好转组比较。

15 例, 女 5 例, 年龄 23~56 岁, 平均(39.0 ± 11.2)岁。

1.2 治疗及检测 入院后予以综合保肝、血浆及对症支持治疗, 出现并发症时进行相应治疗, 未用免疫增强剂和糖皮质激素等免疫抑制剂。入院后次日检测血生化、凝血酶原活动度、T 细胞亚群、病毒性肝炎血清学标志物、腹部 B 超、HBV-DNA、自身免疫性肝病抗体, 有腹水的患者作腹水生化、常规检测。之后每周复查血生化、凝血酶原活动度, 每 2 周查 T 细胞亚群并记录相应表现, 共观察 4 周。生化指标检测采用美国德灵公司全自动分析仪, PTA 检测用日本东亚 CA-1500 全自动凝血仪, 均由相应公司提供配套试剂。T 细胞亚群用美国 BD 公司 calibur 流式细胞仪检测, 荧光标记单克隆抗体 CD4⁺T 细胞, CD8⁺T 细胞均为美国 Beckman Coulter 公司产品。所有检测均由专人完成(按说明书操作)。

1.3 预后判断 治疗后根据病情变化 CSHB 组分为好转组和无好转组。好转标准: 乏力、消化道及腹胀等症状明显好转; 总胆红素(TBil)较基线化验结果下降 50% 以上; 凝血酶原活动度(PTA) > 40%, 有肝硬化基础者凝血酶原活动度大于 30% 且较基线化验结果上升 10% 以上。符合以上全部 3 项标准者定为好转, 否则为无好转。基线化验结果为入院时首次化验结果或 CSHB 炎确诊时检验结果。

1.4 统计学处理 应用 SPSS17.0 统计软件, 数据均采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 计数资料比较采用 χ^2 检验, 均数比较采用 *t* 检验, 以 P < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 治疗前 4 组病例各项指标情况 CD3、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺: CSHB 组(好转组和无好转组)较对照组、CHB 组均有明显下降(P < 0.01), 好转组与无好转组比较差异无统计学意义(P > 0.05), 对照组与 CHB 组比较差异无统计学意义(P > 0.05); ALT、TBil、PTA: CSHB 好转组、无好转组比较差异无统计学意义(P > 0.05), 与对照组、CHB 组比较差异有统计学意义(P < 0.01), CHB 组与对照组比较差异有统计学意义(P < 0.01), 见表 1。

2.2 治疗 4 周后 4 组病例各项指标情况 CSHB 无好转组 CD3、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞进一步下降、CD4⁺/CD8⁺ 比值上升, 好转组 CD3、CD4⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值上升,

CD8⁺T 细胞下降。CD3、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值: 无好转组与好转组、CHB 组、对照组之间比较差异有统计学意义(P < 0.01); CHB 组与对照组比较差异无统计学意义(P > 0.05); 好转组与 CHB 组、对照组之间 CD3、CD4⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比较差异无统计学意义(P > 0.05); CD8⁺T 细胞下降, 差异有统计学意义(P < 0.01)。ALT、TBil、PTA: CSHB 好转组好转, 无好转组损害进一步加重, 两组比较差异有统计学意义(P < 0.01), CSHB 组(好转组和无好转组)与对照组、CHB 组比较差异有统计学意义(P < 0.01), CHB 组与对照组 ALT 比较差异有统计学意义(P < 0.01), TBil、PTA 差异无统计学意义(P > 0.05), 见表 2。

3 讨 论

HBV 感染人体后, 所引起的肝脏和其他脏器病变以及疾病的发生、发展, 与人体的免疫状态有一定的关系。根据目前的认识, 以细胞毒性 T 淋巴细胞(CTL)介导的细胞免疫反应, 在清除 HBV 和损伤肝细胞 2 个密切相关的过程中扮演主要角色^[7]。

T 细胞由不同的亚群组成, CD4⁺、CD8⁺ 细胞代表两类主要 T 细胞, CD4⁺T 细胞主要是辅助型 T 细胞(Th), Th 细胞受抗原刺激后分化为 Th1 和 Th2 两种类型。Th1 细胞主要分泌 IL-2、IFN- γ 、IL-12 等细胞因子, 促进细胞介导的免疫应答; Th2 细胞主要分泌血清 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等细胞因子, 参与抗体介导的免疫应答^[8]。Th 在病毒的免疫应答中发挥中心作用, 同时对病毒清除起重要作用^[9]。CD8⁺T 细胞激活和抑制严格依赖 CD4⁺T 细胞。CD8⁺T 细胞主要包括 CTL、抑制性 T 细胞(Ts), Ts 通过释放分泌可溶性介质下调体液免疫和细胞免疫。Ando 等^[10]在重型肝炎的动物模型中证实导致大量肝细胞坏死的细胞免疫主要由 CD8⁺T 细胞所致。CTL 在病毒清除以及肝细胞损伤中可能起关键作用^[11]。在正常情况下, 两者保持一定比例, 处于动态平衡状态, 维持机体细胞免疫功能。为了解 CSHB 患者 T 细胞变化情况, 本试验检测了 85 例 CSHB、60 例 CHB 和 20 例健康对照组 T 淋巴细胞亚群, 发现外周血 CD3、CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺: CSHB 组(好转组和无好转组)较对照组、CHB 组均有明显下降(P < 0.01), 差异有统计学意义, 对照组与 CHB 组比较差异

无统计学意义 ($P > 0.05$), 提示 CSHB 存在细胞免疫功能异常, 肝功损害程度与细胞免疫功能异常的程度存在一定相关性。与辛绍杰等^[12]报道的结果一致, 与肖光明等^[13]报道的对照组、CHB 组患者的结果有差异, 其原因是否与 CHB 组病情轻重不一有关, 需进一步观察。重型肝炎患者早期免疫活性 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞引起机体强烈的细胞免疫反应, 通过释放多种淋巴因子诱导炎症反应而损伤肝细胞。机体在免疫应答清除体内病毒及免疫介导的肝细胞损伤过程中, 消耗了大量的淋巴细胞, 再生补充部分不足以抵消机体淋巴细胞消耗的数量, 就会造成血中淋巴细胞计数降低, 亦可能存在 T 细胞向肝脏聚集致外周血 T 细胞亚群减少, 在一定程度上反映机体的免疫应答能力过强。

动态观察 T 淋巴细胞亚群的变化发现, CSHB 无好转组 CD3、CD4⁺ T 细胞、CD8⁺ T 细胞进一步下降、CD4⁺/CD8⁺ 比值上升, 好转组 CD3、CD4⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺ 比值上升, CD8⁺ T 细胞下降, 无好转组与好转组比较差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 同期 ALT、TBil、PTA: 无好转组损害进一步加重, CSHB 好转组好转, 两组比较差异明显 ($P < 0.01$)。与高海兵等^[14]、丁巧云等^[15]报道类似, 但与辛绍杰等^[12]报道的结果有差异。提示 CSHB 持续的细胞免疫功能异常, 导致大量肝细胞坏死, 肝功损害加重。随着细胞免疫功能的恢复, 肝功好转。

本研究表明, CSHB 患者存在细胞免疫功能异常, 细胞免疫功能异常的程度与肝功损害程度有一定相关性, 随着细胞免疫功能的恢复, 肝功好转。临床上通过检测 CSHB 患者外周血 T 细胞亚群变化趋势对其诊断及预后的判断有一定的指导意义。

参考文献:

- 王宇明, 陈耀凯, 顾长海, 等. 重型肝炎命名和诊断分型的再认识——附 477 例临床分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2000, 8(2): 261-263.
- 邹正升, 陈菊梅, 辛绍杰, 等. 565 例重型病毒性肝炎的临床特点分析[J]. 中华肝脏病杂志, 2001, 9(2): 247-248.
- 中华医学会传染病与寄生虫病学分会, 肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 中华传染病杂志, 2001, 19(1): 56-62.
- 中华医学会肝病学分会脂肪肝和酒精性肝病学组. 酒精性肝病诊疗指南[J]. 临床肝胆病杂志, 2010, 26(3): 229-232.
- Kaplovitz N. Drug induced liver disorders implication for drug development and regulation[J]. Drug Saf, 2001, 24(3): 489-490.
- 王燕, 陆伦根. 自身免疫性肝炎评分系统在临床诊断中的应用和评价[J]. 中华肝脏病杂志, 2010, 18(5): 394-396.
- Maini MK, Boni C, Lee CK, et al. The role of virus specific CD8(+) cells in liver damage and viral control during persistent hepatitis B virus infection[J]. J Exp Med, 2000, 191(8): 1269-1280.
- 毛卫林, 陈瑜. T 细胞亚群对乙型肝炎发病机制的作用[J]. 国际流行病学传染病学杂志, 2007, 34(2): 128-130.
- 李鸿宾, 江晓萍. 测定慢性乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的临床意义[J]. 安徽医药, 2006, 10(8): 588-589.
- Ando K, Moriyama T, Guidotti LG, et al. Mechanisms of class I restricted immunopathology. A transgenic mouse model of fulminant hepatitis[J]. J Exp Med, 1993, 178(13): 1541-1554.
- 陈瑜, 李兰娟. 乙型肝炎病毒感染的特异性 CTL 细胞免疫应答研究进展[J]. 国外医学: 流行病学传染病学分册, 2004, 31(1): 27-30.
- 辛绍杰, 邹正升, 李保森, 等. 慢性乙型重型肝炎患者外周血各亚群淋巴细胞绝对值的特点[J]. 第二军医大学学报, 2006, 27(4): 413-416.
- 肖光明, 姚细安, 连粤湘, 等. 乙型肝炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群的变化[J]. 实用肝脏病杂志, 2005, 8(1): 22-24.
- 高海兵, 许利军, 潘晨, 等. 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血 T 细胞亚群及 NK 细胞的特点及意义[J]. 中华实验和临床感染病杂志, 2009, 3(1): 13-19.
- 丁巧云, 俞海英, 孙薇薇, 等. 重型肝炎外周血 T 淋巴细胞亚群变化[J]. 江苏医药, 2010, 36(19): 2336-2337.

(收稿日期: 2013-01-08 修回日期: 2013-03-06)

(上接第 2089 页)

- Laghi L, Bianchi P, Miranda E, et al. CD3⁺ cells at the invasive margin of deeply invading (pT3-T4) colorectal cancer and risk of post-surgical metastasis: a longitudinal study[J]. Lancet Oncol, 2009, 10(7): 877-884.
- Alur M, Nguyen MM, Eggen SE, et al. Suppressive roles of calreticulin in prostate cancer growth and metastasis[J]. Amer J Pathol, 2009, 175(7): 882-890.
- Vougas K, Gaitanarou E, Marinou E, et al. Two-dimensional electrophoresis and immunohistochemical study of calreticulin in colorectal adenocarcinoma and mirror biopsies[J]. J BUON, 2008, 13(1): 101-107.
- Brown EJ, Frazier WA. Integrin-associated protein (CD47) and its ligands[J]. Trends Cell Biol, 2001, 11(2): 130-135.
- Barclay AN, Brown MH. The SIRP family of receptors and immune regulation[J]. Nat Rev Immunol, 2006, 6(4): 457-464.
- Majeti R, Chao MP, Alizadeh AA, et al. CD47 is an adverse prognostic factor and therapeutic antibody target on human acute myeloid leukemia stem cells[J]. Cell, 2009, 138(3): 286-299.
- 程千松, 王兴兵. CD47 与白血病干细胞[J]. 中国实验血液学杂志, 2010, 18(4): 1088-1091.

(收稿日期: 2012-11-28 修回日期: 2013-01-14)