

成人原发性肾病综合征 T 细胞亚群、NK 细胞及 B 细胞的变化及临床意义

李肖甫 李雁青 智艳芳 敬明辉

作者单位: 450052 河南省, 郑州大学第三附属医院(李肖甫 李雁青 智艳芳)

450052 河南省, 郑州大学第一附属医院(敬明辉)

通讯作者: 李肖甫, E-mail: xiaofuli@tom.com

【摘要】 目的 探讨成人原发性肾病综合征(primary nephrotic syndrome, PNS)患者 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及 B 淋巴细胞的变化及临床意义。**方法** 应用流式细胞仪检测 64 例成人 PNS 活动期患者外周血中 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺、CD4⁺CD8⁺)、CD16⁺CD56⁺ NK 细胞及 CD19⁺ B 淋巴细胞水平的变化, 同时检测 30 例同期来院体检的正常人作为对照。**结果** PNS 组与对照组相比: CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞降低, CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞升高, CD4⁺CD8⁺比值显著下降且差异均有统计学意义(P 均 <0.05); PNS 组 CD16⁺CD56⁺ NK 细胞较对照组降低, 而 CD19⁺ B 淋巴细胞显著升高, 且差异亦均具有统计学意义(P 均 <0.05)。**结论** 成人 PNS 活动期 T 细胞亚群的比例结构发生严重失衡, 细胞免疫功能降低, 而体液免疫功能亢进。

【关键词】 肾病综合征, 原发性; T 细胞亚群; NK 细胞; B 淋巴细胞

The change and clinical significance of T lymphocyte subset, natural killer cell and B lymphocyte in adults with primary nephrotic syndrome

LI Xiao-fu, LI Yan-qing, ZHI Yan-fang, et al. the Third Affiliated Hospital of Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China

【Abstract】 Objective To investigate the change and clinical significance of T lymphocyte subset, natural killer cell and B lymphocyte in adults with primary nephrotic syndrome(PNS). **Methods** 64 cases PNS patients in acute phase and 30 cases healthy controls were selected. The change of T lymphocyte subset (CD3⁺; CD3⁺CD4⁺; CD3⁺CD8⁺; CD4⁺CD8⁺), natural killer cell (CD16⁺CD56⁺) and B lymphocyte (CD19⁺) in peripheral blood were measured by flow cytometry. **Results** The percentages of CD3⁺ T lymphocyte, CD3⁺CD4⁺ T lymphocyte and the ratio of CD4⁺CD8⁺ were significantly lower in PNS group than that in control group, while the level of CD3⁺CD8⁺ T lymphocyte was greatly higher in PNS group than that in control group and the differences all had statistical significance (P all <0.05). Meanwhile, compared with control group, the CD16⁺CD56⁺ natural killer cell depressed, but the CD19⁺ B lymphocyte risen in PNS group and the differences all had statistical significance (P all <0.05). **Conclusion** The serious imbalance of the proportion of T lymphocyte subset exist in acute phase PNS patients meanwhile with the cellular immune function depressed and the humoral immune function strengthened.

【Key words】 Nephrotic syndrome, primary; T lymphocyte subsets; Natural killer cell; B lymphocyte

原发性肾病综合征(primary nephrotic syndrome, PNS)是由多种因素引起的肾小球滤过膜通透性增加, 导致血浆内大量蛋白质从尿中丢失的一组临床综合征。PNS 的形成是多因素参与的复杂过程, 迄今仍有许多机制有待阐明^[1]。目前, 多数观点认为其发病与机体免疫功能紊乱有着非常密切的关系, 其中淋巴细胞功能紊乱在该病的发病中起着非常重要的作用^[2]。本文通过检测 64 例成人 PNS 患者外周血中 T 淋巴细胞亚群、NK 细胞及 B 淋巴细胞水平的变化

情况, 探讨成人 PNS 患者免疫功能的变化及其临床意义。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选择 2010 年 7 月至 2011 年 1 月期间在郑州大学第一附属医院住院治疗的 PNS 患者 64 例, 均符合 PNS 诊断标准^[3], 且未接受激素及免疫抑制剂治疗。其中男 33 例, 女 31 例, 年龄 14~59 岁, 平均(32.56±14.74)岁; 对照组 30 例, 均为同期来院的健康体检者, 其中男 17 例, 女 13 例, 年龄

14~64 岁,平均(32.87±17.83)岁,两组间年龄、性别等基本资料经平衡检验差异均无统计学意义(P 均>0.05)。

1.2 标本采集与检测 PNS 患者均于入院次日清晨空腹采集静脉血 2 ml, EDTA-K₂ 抗凝,充分混匀确认无凝血,20~25 °C 室温放置,24 h 内进行免疫荧光处理。MultiSET 四色免洗淋巴细胞亚群样本制备。①取两支试管编号 A 和 B, ②A 管:加 10 μl CD3/CD8/CD45/CD4 抗体。B 管:加 10 μl CD3/CD16+CD56/CD45/CD19 抗体。③用反向加样法加入 50 μl 充分混匀的抗凝全血。④涡旋混匀,室温避光放置 15 min。⑤取出试管,每管加入 1×FACS 溶血素 500 μl,充分混匀,避光放置 15 min。⑥24 h 内上机用 MultiSET 软件获取 15 000 个细胞进行检测,上机前充分混匀。标本检测采用美国 BD 公司 BD FAC-SCalibur 流式细胞仪。

1.3 统计学处理 采用 SPSS 13.0 软件进行统计学分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间数据比较采用 t 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组间 T 淋巴细胞亚群水平比较 64 例 PNS 患者外周血中 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞水平明显低于对照组且差异均有统计学意义(P 均<0.05),而 CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞明显高于对照组,差异有统计学意义 ($P < 0.05$),CD4⁺/CD8⁺比值显著低于对照组,差异亦具有统计学意义($P < 0.05$)。详见表 1。

2.2 两组间 NK 细胞、B 淋巴细胞水平比较 与对照组相比较,PNS 患者 CD16⁺CD56⁺ NK 细胞明显降低,而 CD19⁺ B 淋巴细胞则显著升高,差异均具有统计学意义(P 均<0.05)。详见表 2。

3 讨论

PNS 的实质是一种原发性肾小球疾病,即一种不明原因导致的特发性双侧肾脏弥漫性或局灶性肾小球病变,以“三多一少”为主要临床表现。PNS 占儿童肾小球疾病的 70%~90%,占成人肾小球疾病的 20%~30%,二者临床表现相似但病理类型却不尽相同^[9]。目前有关 PNS 研究的文章多以儿童患者为对象,以成人 PNS 患者为研究对象的相对较少。有关 PNS 的发病机制近年来进行了大量研究,多数学者

表 2 两组间 NK 细胞、B 淋巴细胞水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD19 ⁺
PNS 组	64	10.92±5.49*	17.59±6.14*
对照组	30	13.47±5.10	12.47±3.57

注: * 与对照组比较, $P < 0.05$

认为 PNS 的发生与细胞免疫、体液免疫及细胞因子功能紊乱有关^[4-6]。

机体细胞免疫最主要基础是 T 淋巴细胞,根据 T 淋巴细胞功能的不同分为辅助性 T 细胞 (CD3⁺CD4⁺) 和抑制杀伤性 T 细胞 (CD3⁺CD8⁺)。辅助性 T 淋巴细胞 (Th 细胞) 按其分泌的细胞因子及功能不同,分为 Th1 和 Th2 两大亚群。Th1 细胞分泌 IL-2、IFN- γ 和 TGF- β 等,主要参与细胞免疫和炎症反应;Th2 细胞主要分泌 IL-4、IL-5、IL-6、IL-10 等,可刺激 B 细胞增殖并产生 IgG 和 IgE 抗体,与抗体或免疫复合物在肾小球的沉积及其所致损伤密切相关。抑制杀伤性 T 淋巴细胞 (Tc 细胞) 依据其分泌的细胞因子不同,亦分为 Tc1 和 Tc2 两个亚群,其中分泌 IL-2、IFN- γ 和 TGF- β 等的 Tc 细胞称为 Tc1 细胞,分泌 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-13 等的 Tc 细胞称为 Tc2 细胞^[7]。若某一细胞亚群的数量和功能发生异常,则机体会发生免疫功能紊乱,进而发生一系列病理变化。

本文研究结果显示:与对照组相比,成人 PNS 组 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞降低,而 CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞明显升高,最终导致 CD4⁺/CD8⁺比值显著下降且差异均有统计学意义(P 均<0.05)。表明成人 PNS 活动期存在细胞间相互作用调节紊乱,T 细胞亚群间比例严重失衡,相应细胞免疫功能减低。尽管成人 PNS 与儿童 PNS 病理类型不尽相同,但细胞免疫功能均减低却是一致的^[8]。

NK 细胞是机体非特异性免疫作用细胞之一,可直接杀伤病变靶细胞,在机体免疫监视和早期抗感染免疫过程中发挥重要作用,NK 细胞活化后还可分泌 IFN- γ 和 TNF- α ,产生免疫调节作用。可抑制活化 B 淋巴细胞的增殖分化,对骨髓造血干细胞也有一定的抑制作用。另外还可通过释放 IFN- γ 、TGF- β 和 GM-CSF 等细胞因子,对机体免疫功能进行调节,增强机体早期抗感染能力和免疫监视作用。

表 1 两组间 T 淋巴细胞亚群水平比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	例数	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
PNS 组	64	69.81±5.33*	36.83±7.97*	30.83±7.90*	1.31±0.54*
对照组	30	72.50±5.60	43.00±4.34	26.53±4.07	1.67±0.34

注: * 与对照组比较, $P < 0.05$

(下接第 86 页)

- 3 胡雪飞, 廖晚珍, 孙爱娣, 等. 临床分离主要病原菌的感染分布及耐药性监测. 实验与检验医学, 2010, 28: 555-557.
- 4 卓超, 苏丹虹, 钟南山, 等. 2007 年广州地区耐药性监测分析. 中华检验医学杂志, 2009, 32: 397-402.
- 5 何祖光. 急诊重症监护病房患者医院感染病原菌监测及耐药性. 实验与检验医学, 2010, 28: 486-487.
- 6 闫广运, 张敏. 2009 年 1430 株临床常见病原菌的分布及耐药性分析. 实用医技杂志, 2010, 17: 818-820.
- 7 Nordmann P, Cuzon G, Naas T. The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing bacteria. Lancet Infect Dis, 2009, 9: 228-236.
- 8 Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the Versatile β -Lactamases. Clin Microbiol Rev, 2007, 20: 440-458.
- 9 Tenover FC, Emery SL, Spiegel CA, et al. Identification of plasmid-mediated AmpC β -Lactamases in *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp, and proteus species can potentially improve reporting of cephalosporin susceptibility testing results. J Clin Microbiol, 2009, 47: 294-299.
- 10 Ozgumus OB, Caylan R, Tosun I, et al. Molecular epidemiology of clinical *Pseudomonas aeruginosa* isolate carrying IMP-1 metallo- β -lactamase gene in a University Hospital in Turkey. Microb Drug Resist, 2007, 13: 191-198.
- 11 Ribera A, Ruiz J, Jimenez de Anta MT, et al. Effect of an efflux pump inhibitor on the MIC of nalidixic acid for *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. J Antimicrob Chemother, 2002, 49: 697-698.
- 12 Hisata K, Kuwahara-Arai K, Yamamoto M, et al. Dissemination of methicillin-resistant *Staphylococci* among healthy Japanese children. J Clin Microbiol, 2005, 43: 3364-3372.
- 13 Dobbs TE, Patel M, Waites KB, et al. Nosocomial spread of *Enterococcus faecium* resistant to vancomycin and linezolid in a tertiary care medical center. J Clin Microbiol, 2006, 44: 3368-3370.

(收稿日期: 2011-04-07)

(本文编辑: 李霁)

(上接第 105 页)

本文研究结果显示: 与对照组比较, 成人 PNS 组 CD16⁺CD56⁺ NK 细胞明显降低, 差异具有统计学意义, 表明在成人 PNS 活动期, NK 细胞的非特异性细胞免疫功能降低, 免疫调节能力下降, 对 B 淋巴细胞的抑制功能亦降低^[6]。

此外, 本文研究结果还显示: 与对照组相比成人 PNS 患者 CD19⁺ B 淋巴细胞显著升高, 且差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。由于 CD19 分子是成熟 B 淋巴细胞的特异性标志, 所以应用流式细胞仪检测外周血中 CD19⁺ B 淋巴细胞能较好的反应机体 B 淋巴细胞水平。CD19⁺ B 淋巴细胞显著升高, 表明 PNS 患者在活动期 B 淋巴细胞增殖活化明显, 大量分泌免疫球蛋白, 引起体液免疫功能亢进, 产生 IgG, 形成免疫复合物, 进而激活补体, 诱发免疫复合物的粘附和沉积, 引起病理损伤, 使肾功能受损^[7]。

综上所述, 成人 PNS 活动期患者, 外周血各淋巴细胞水平变化显著: T 细胞亚群比例严重失衡, 细胞免疫功能下降, NK 细胞非特异性细胞免疫功能降低, B 淋巴细胞增殖活化明显, 体液免疫功能增强, 最终导致机体细胞免疫功能与体液免疫功能的异常或紊乱。

4 参考文献

- 1 Clement LC, Avila-Casado C, Mace C, et al. Podocyte-secreted angiopoietin-like -4 mediates proteinuria in glucocorticoid-sensitive nephrotic syndrome. Nat Med, 2011, 17: 117-122.
- 2 van den Berg JG, Weening JJ. Role of the immune system in the pathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. Clin Sci(Lond), 2004, 107: 125-136.
- 3 王海燕, 主编. 肾脏病学. 北京: 人民卫生出版社, 2008: 690-703.
- 4 Stachowski J, Barth C, Michakiewicz J, et al. Th1/Th2 balance and CD45-positive T cell subsets in primary nephrotic syndrome. Pediatr Nephrol, 2000, 14: 779-785.
- 5 Audard V, Lang P, Sahali D. Minimal change nephrotic syndrome: new insights into disease pathogenesis. Med Sci(Paris), 2008, 24: 853-858.
- 6 Zhang SY, Audard V, Fan Q, et al. Immunopathogenesis of idiopathic nephrotic syndrome. Contrib Nephrol, 2011, 169: 94-106.
- 7 何文兵, 刘光陵. 原发性肾病综合征的免疫致病机制探讨. 中国全科医学, 2010, 13: 3461-3463.
- 8 Musiat K, Ciszak L, Kosmaczewska A, et al. Expression of zeta(zeta) chain in peripheral blood T lymphocytes and NK cells of children with idiopathic nephrotic syndrome (INS)-preliminary results. Przegl Lek, 2006, 63: 208-210.

(收稿日期: 2011-02-10)

(本文编辑: 陈淑莲)