

• 短篇论著 •

结核病患者外周血T淋巴细胞CD28/CTLA-4表达及意义

吴映娥^{1*}, 郑高哲¹, 彭文光², 吴清花¹

1、汕头大学医学院第一附属医院 检验科, 广东 汕头 515041; 2、汕头市第三人民医院 胸外科, 广东 汕头 515071

摘要:目的 分析结核病患者外周血共刺激分子CD28/CTLA-4(CD152)表达,评价患者的免疫状态。方法 采集21例初诊结核病患者及15例健康对照者外周血,采用多参数流式细胞术检测分析共刺激分子CD28、CD152的表达,以及分析其亚群CD4⁺CD152⁺细胞、CD4⁺CD28⁺细胞、CD8⁺CD28⁺细胞、CD8⁺CD152⁺水平的变化。结果 与健康者比较,结核病患者外周血CD28⁺细胞、CD152⁺细胞水平明显增高($P<0.01$)。对共刺激分子CD28、CD152进行亚群分析,结核病患者外周血CD4⁺CD152⁺细胞、CD4⁺CD28⁺细胞、CD8⁺CD152⁺细胞水平明显高于健康者($P<0.05$), CD8⁺CD28⁺细胞水平无统计学意义($F=2.647$, $P=0.113$)。结论 结核病患者外周血共刺激分子CD28/CD152(CTLA-4)表达增加,且CTLA-4在CD4⁺和CD8⁺T细胞上表达均增加,提示可能存在T细胞活化或抑制信号调节失衡。

关键词:结核;CD28;CTLA-4(CD152)**中图分类号:**R521 **文献标识码:**A **文章编号:**1009-9727(2014)1-104-02

Expression and significance of CD28/CTLA-4 in peripheral blood T lymphocytes of patients with tuberculosis

WU Ying-e¹, ZHENG Gao-zhe¹, PENG Wen-guang, et al¹.Department of Laboratory Medicine, The First Affiliated Hospital of Shantou University Medical College, Shantou 515041, Guangdong, P.R. China

Corresponding author: WU Ying-e, E-mail: yinge_wu@aliyun.com

Abstract:Objective To investigate the expression of co-stimulatory molecules CD28 and cyto-toxic T-lymphocyte-associated antigen-4(CTLA-4,CD152) in T lymphocytes from patients with tuberculosis(TB), and evaluate the immune state of TB patients. **Methods** Blood samples were collected from 21 TB patients and 15 healthy controls. The expression of co-stimulatory molecules CD28 and CD152 were determined, and the changes of subsets CD4⁺CD152⁺, CD4⁺CD28⁺, CD8⁺CD152⁺, CD8⁺CD28⁺ were analyzed with flow cytometry and monoclonal antibodies technology. **Results** The percentages of CD28⁺ and CD152⁺ cells in TB patients were higher than in the healthy controls ($P<0.01$). The percentages of CD4⁺CD152⁺, CD8⁺CD152⁺, CD4⁺CD28⁺ cells in the TB patients were higher than in healthy controls ($P<0.05$), without showing statistical significance in CD8⁺CD28⁺ cells between TB patients and healthy controls($F=2.647$, $P=0.113$). **Conclusion** The expression of co-stimulatory molecules CD28/CD152(CTLA-4) was higher in TB patients. The abnormal expression of CD28 and CD152 indicates that coordination between activating and suppressing signals is destroyed.

Key words: Tuberculosis; CD28; Cyto-toxic T-lymphocyte-associated antigen-4(CTLA-4,CD152)

机体感染结核分枝杆菌后,通过一系列免疫机制对结核分枝杆菌进行免疫清除。本文对结核病患者外周血T淋巴细胞表面共刺激分子CD28/CTLA-4的表达及其亚群进行检测分析,旨在为结核病临床免疫治疗过程中起辅助指导作用。

1 材料与方法

1.1 研究对象 新确诊结核病患者21例,年龄(50±15)岁,男14例,女7例,痰涂片抗酸染色查结核菌阳性或痰结核菌培养阳性者,临床上未正规抗结核药物治疗、没有长期使用免疫类药物,血清抗HIV抗体阴性。健康志愿者15例,年龄(48±13)岁,男10例,女5例,TST试验阴性志愿者。

1.2 仪器/试剂 流式细胞仪(Epics-XL,美国 Beck-

man coulter),全自动溶血仪(Q-Prep,美国 Beckman coulter)。单克隆抗体:CD4-fitc/CD28-pe,CD4-fitc/CD152-pe,CD8-fitc/CD28-pe,CD8-fitc/CD152-pe (Beckman Coulter, Los Angeles, CA, USA)。同型对照: IgG1-fitc, IgG1-pe (Beckman Coulter, Los Angeles, CA, USA)。

1.3 方法 抽取结核病患者及健康对照者静脉血2ml,分别采用CD4-fitc/CD28-pe,CD4-fitc/CD152-pe,CD8-fitc/CD28-pe,CD8-fitc/CD152-pe二色单抗组合按照试剂说明书进行标记,采用流式细胞仪进行检测。

1.4 数据采集分析 采用FSC/SSC设门方法,选取淋巴细胞群进行分析CD28,CD152表达及亚群CD4⁺

基金项目:国家自然科学基金项目(No.81302540);汕头市医疗重点科技项目资助[汕府科[2012]113号]

作者简介:吴映娥(1976-),女,广东汕头,博士,副主任技师,研究方向:免疫学及血液病实验室诊断。

***通讯作者:**吴映娥, E-mail: yinge_wu@aliyun.com

CD28⁺, CD4⁺CD152⁺, CD8⁺CD28⁺, CD8⁺CD152⁺细胞百分率,采用分析软件EXPO32(Beckman Coulter)进行分析。

1.5 统计分析 结果采用均值±SD表示,采用分析软件SPSS17.0,结核组与健康组之间结果差别采用单参数方差分析。

2 结果

结核病患者外周血 CD28⁺、CD152⁺细胞百分率明显高于健康对照者,对共刺激分子 CD28、CD152 进行亚群分析,结核病患者外周血 CD4⁺CD152⁺细胞水平、

CD4⁺CD28⁺细胞水平、CD8⁺CD152⁺细胞百分率明显增高,差异有统计学意义($P<0.05$),而 CD8⁺CD28⁺细胞水平差异无统计学意义($P>0.05$)如下表1。

3 讨论

机体感染结核分枝杆菌后,主要通过一系列免疫细胞网络(如巨噬细胞、Th 细胞、NK 细胞等)及细胞因子(如 INF- γ 、TNF- α 等)通过不同免疫机制(如巨噬细胞吞噬、细胞毒作用、细胞凋亡作用等)对结核菌进行免疫清除。我们通过对结核病患者外周血淋巴细胞亚群全面分析,以更进一步了解结核患者的免

表1 结核病患者与健康者外周血T淋巴细胞共刺激分子CD28/CD152表达及其亚群分析(% $\bar{x}\pm s$)

Table 1 Expression of co-stimulatory molecules CD28/CD152 in T-lymphocyte of peripheral blood of TB cases and health control(% $\bar{x}\pm s$)

组别 Group	例数 No.case	CD28 ⁺	CD152 ⁺	CD8 ⁺ CD152 ⁺	CD8 ⁺ CD28 ⁺	CD4 ⁺ CD152 ⁺	CD4 ⁺ CD28 ⁺
结核组 TB	21	59.086±11.090	9.319±8.347	3.057±3.482	16.633±6.730	4.005±4.001	33.510±7.680
健康对照组 Control	15	51.767±4.124	0.363±0.282	0.190±0.236	13.499±3.768	0.109±0.059	25.224±6.186
F值 F value		5.903	17.112	10.051	2.647	14.105	11.904
P值 P value		0.021	0.000	0.003	0.113	0.001	0.002

疫功能。机体对结核菌的清除就要以细胞免疫为主,其中T淋巴细胞在机体清除结核菌过程中起重要作用,特别是CD4⁺T淋巴细胞(Th1)是机体免疫清除结核菌的重要成员^[1],CD4⁺T淋巴细胞主要通过①分泌细胞因子,如IL- γ 等来促进吞噬细胞对结核菌的吞噬消灭作用;②促进感染结核菌吞噬细胞凋亡作用,来促进机体对结核菌的免疫清除作用。而CD8⁺T淋巴细胞主要是通过细胞毒作用来清除感染结核菌吞噬细胞^[2,3],CD28是一种存在于T细胞表面的跨膜糖蛋白,表达于几乎所有CD4⁺T细胞和大多数CD8⁺T细胞。CTLA-4只表达于激活的CD4⁺、CD8⁺T细胞表面,并且表达量只有CD28的2%~3%。CD28和CTLA-4的天然配体存在于APC表面的B7分子家族,B7-1和B7-2通常表达于激活的单核细胞、B淋巴细胞、巨噬细胞和树突状细胞,CD28与CD152的共同配体是B7,两者竞争性与B7相结合^[4,5]。目前认为,CD28和CTLA-4是一对具有正负调节功能的重要共刺激分子,其可能的机理为:APC表达较少的B7分子,尽管CTLA-4在初始激活的T细胞表达量低,因其与B7有高亲和力,故可阻止T细胞反应的开始;在激活的B细胞、树突状细胞等APC表达高水平B7分子时,B7/CD28信号传递途径占优势,T细胞被激活,分泌IL-2等细胞因子并增殖、分化为效应细胞,大量激活T细胞。激活的T细胞大量分泌CTLA-4和CD28,CTLA-4和CD28竞争性结合B7分子,抑制T细胞从G1期进入S期,抑制IL-2转录因子的活性,继而下调或终止T细胞的反应^[6]。本实验结果显示,结构性表达的CD28分子和活化诱导表达的CD152(CTLA-4)分子在结核病患者T细胞上的表达均较健康对照组

明显增加,但以CD4、CD8T细胞上CD152分子的表达最为明显。提示结核患者的细胞免疫功能处于免疫抑制状态。我们进一步对结核病患者外周血对共刺激分子CD28、CD152进行亚群分析,在活动性肺结核病患者外周血CD4⁺CD152⁺细胞水平、CD4⁺CD28⁺细胞水平、CD8⁺CD152⁺细胞水平均明显上升,具有统计学意义,提示结核病患者T细胞亚群的正向调节与负向调节信号表达的同时增强,说明诱导T细胞活化的共刺激分子对CD28和CD152(CTLA-4)在结核患者的T细胞活化调节和功能紊乱中发挥了重要作用。因此,对于其免疫细胞及细胞表面分子信号传导的研究有利于探索结核病患者体内结核分枝杆菌免疫逃避机制,为结核病寻找新的免疫干预治疗提供依据。

参考文献

- [1] Deveci F, Akbulut HH, Celik I, et al: Lymphocyte subpopulations in pulmonary tuberculosis patients[J]. *Mediators Inflamm*, 2006; 89070.
- [2] Raja A: Immunology of tuberculosis[J]. *Indian J Med Res*, 2004; 120: 213-232
- [3] Corominas M, Cardona V, Gonzalez L, et al: Blymphocytes and co-stimulatory molecules in *Mycobacterium tuberculosis* infection[J]. *Int J Tuberc Lung Dis*, 2004, 8: 98-105.
- [4] Bradley JR, Pober JS. Tumor necrosis factor receptor - associated factors (TRAFs) [J]. *Oncogene*, 2001, (44): 6482-6491.
- [5] Salomon B, Bluestone JA. Complexities of CD28/ B7 :CTLA - 4 co stimulatory pathways in autoimmunity and transplantation[J]. *Annu Rev Immunol*, 2001, 19 (1) :225-252.
- [6] Ogawa S, Nitta K, Hara Y, et al. CD28 knockout mice as a useful clue to examine the pathogenesis of chronic graft - versus - host reaction [J]. *Kidney International*, 2000, 58 (5) :2215-2220.

收稿日期:2013-11-12 编辑:崔宜庆