

· 临床论著 ·

布鲁菌病患者外周血 NK 细胞 和 T 淋巴细胞亚群的变化

贾宇臣 其其格 郭菊红 赵海珍 乌云 奥敦托娅

【摘要】目的 了解布鲁菌病患者性别、年龄、职业分布特征及并发症, 外周血NK细胞和T淋巴细胞亚群的变化及意义。**方法** 对101例布鲁菌病患者采用流行病学调查法进行调查, 采用流式细胞仪抗体双表法检测38例布鲁菌病和非布鲁菌病发热患者外周血NK细胞 ($CD16^+CD56^+$)、淋巴细胞绝对值 ($CD45^+$)、T淋巴细胞绝对值 ($CD3^+$)、T辅助细胞绝对值 ($CD3^+CD4^+$)、T抑制/细胞毒细胞绝对值 ($CD3^+CD8^+$)、B淋巴细胞绝对值 ($CD19^+$)、 $CD4/CD8$ 比值, 并进行分析。**结果** 布鲁菌病患者以男性居多, 中老年患者居多, 发病人群主要为农牧民及从事防疫工作者, 并发症以肝功能损害最多; 布鲁菌病患者外周血NK绝对值显著低于非布鲁菌病发热患者组, 具有统计学意义 ($t = -2.58, P < 0.05$)。**结论** 布鲁菌病以男性中老年患者居多, 以农牧民和防疫员为主, 布鲁菌病患者外周血NK细胞常受损伤。

【关键词】 布鲁菌病; 并发症; NK 细胞; T 淋巴细胞亚群

Changed of NK cell and T-lymphocyte subsets in peripheral blood of patients with brucellosis

JIA Yuchen*, QI Qige, GUO Juhong, ZHAO Haizhen, WU Yun, AO Duntuoya. *Molecular Biology Research Center, Inner Mongolia Medical University, Hohhot 010059, China

Corresponding author: Qi Qige, Email: qgg1972@126.com

【Abstract】Objective To investigate the characteristics of gender, age, occupation distributions and complication of patients with brucellosis, explore the changes of NK cell and T-lymphocyte subsets, and the related significance. **Methods** Total of 101 cases of brucellosis were analyzed by descriptive epidemiological study. NK and T/B-lymphocyte subsets were studied in peripheral blood of 38 patients with brucellosis and 35 cases with non-brucellosis fever. **Results** The majority of cases were male elderly patients, mainly occurred among farmers, herdsmen and stuff engaged in the epidemic prevention. The complication of brucellosis was priority to liver damage. The number of NK cell in patients with brucellosis was below compared with in patients with non-brucellosis fever, with significant differences ($t = -2.58, P < 0.05$). **Conclusions** The majority of patients with brucellosis were male elderly person. Outbreak mainly occur in farmers, herdsmen and stuffs engaged in epidemic prevention field. Brucellosis always damage the NK cell of peripheral blood.

【Key words】 Brucellosis; Complication; NK cell; T-lymphocyte subsets

布鲁菌病 (brucellosis) 在我国是一种存在比较持久的公共卫生问题。布鲁杆菌为胞内寄生菌, 人类感染布鲁菌可引起全身网状内皮细胞增生, 刺激机体免疫系统, 故了解机体免疫状态, 包括天然免疫和获得性免疫非常重要。自然杀伤细胞 (natural killer cell, NK 细胞) 在无需抗原预先致敏即可自发地杀伤靶细胞, 无需再次应答和记忆功能, 其杀

伤作用属于天然免疫, 在机体抗感染、免疫调节方面发挥重要作用。而 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 和 T 细胞分泌的干扰素为获得性免疫。

本研究以就诊于本院并住院治疗的确诊为慢性期布鲁菌病患者为研究对象, 进行流行病学调查, 并通过外周血 NK 细胞和 T 淋巴细胞亚群测定评价布鲁菌病患者机体细胞免疫状态。

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2014.05.013

基金项目: 内蒙古自然科学基金资助 (No. 2012MS11110), 内蒙古自治区卫计委项目 (No. 201302071)

作者单位: 010059 呼和浩特市, 内蒙古医科大学分子生物学实验室 (贾宇臣); 内蒙古医科大学附属医院感染性疾病科 (其其格、郭菊红、赵海珍、乌云、奥敦托娅)

通讯作者: 其其格, Email: Qgg1972@126.com

资料与方法

一、一般资料

收集 2011 年 10 月至 2013 年 12 月于内蒙古医

科大学附属医院感染住院的布鲁菌病患者共 101 例, 其中男性 72 例, 女性 16 例, 年龄 2 ~ 73 岁; 病程 1 ~ 36 个月, 平均病程 3 个月。选择同期住院的非布鲁菌病发热患者 35 例做为对照组。

1. 疾病诊断标准(同时符合以下项目者): 流行病学史 + 典型的临床症状体征 + 虎红平板凝集试验(rose bengal plate agglutination test, RBPT)、布鲁杆菌 IgM 或 IgG、试管凝集试验(serum tube agglutination test, SAT) 均阳性或局部活组织病理检查阳性或细菌学诊断阳性者。

2. 纳入标准(同时符合以下项目者): 住院患者, 年龄 2 ~ 75 岁, 符合布鲁菌病诊断标准者, 并自愿签订知情同意书者。

3. 排除标准: 排除合并糖尿病、肺部感染、泌尿系统感染、风湿病、肿瘤、心脑血管病及肝、肾、造血系统严重疾病及其他骨关节病者; 妊娠期或哺乳期患者, 过敏体质者; 精神病患者。

二、研究内容与方法

符合纳入患者治疗前两天采集人口学特征、填写自制流行病学调查表, 清晨空腹采集 5 ml 抗凝血低温送至临床试验中心行流式细胞仪检测。

三、统计学处理

应用 SAS 18.0 软件进行相关统计分析, 数据采用 $(\bar{x} \pm s)$ 表示, 采用 χ^2 检验和 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计意义。

表 1 入组患者的年龄分布情况

年龄(岁)	例数	构成比(%)
< 20	4	3.96
< 30	8	7.92
< 40	10	9.90
< 50	24	23.76
< 60	31	30.69
< 70	18	17.82
> 70	6	5.94

表 2 入组患者的职业分布情况

职业	例数	构成比(%)
农牧民	25	24.75
无业	17	16.83
一般职业	29	28.71
防疫员、兽医	21	20.78
学生	4	3.96
退休职工	2	1.98
公务员	1	0.99
工人	1	0.99
个体	1	0.99

表 4 两组患者 NK 细胞和 T 淋巴细胞亚群分布情况

指标	布鲁菌病组(38 例)	非布鲁菌病组(35 例)	t	P
年龄	49.05 ± 14.71	48.65 ± 15.68	0.12	0.91
性别(男/女)	26/12	21/14	0.56	0.45
CD45 ⁺	2000.10 ± 1072.50	2487.10 ± 2618.80	- 1.06	0.29
CD3 ⁺	1517.30 ± 824.31	1818.10 ± 2301.60	- 0.76	0.45
CD3 ⁺ CD4 ⁺	676.84 ± 272.63	750.22 ± 391.71	- 0.94	0.35
CD3 ⁺ CD8 ⁺	665.32 ± 421.26	899.97 ± 1940.90	- 0.78	0.47
CD19 ⁺	209.79 ± 184.92	213.80 ± 152.44	- 0.10	0.92
CD4/CD8	1.31 ± 0.73	1.68 ± 0.82	- 2.00	0.05
CD16 ⁺ CD56 ⁺	208.79 ± 177.20	347.37 ± 274.58	- 2.58	0.01

结 果

一、布鲁菌病患者年龄、性别、职业分布特点

布鲁菌病患者以男性中老年患者居多, 其中男性 80 例(79%), 女性 21 例(21%); 40 ~ 70 岁患者 73 例, 占 72% 以上; 职业分布以农民和牧民为主, 25 例(占 24.75%), 兽医和防疫员 21 例(占 20.78%), 一般职业 29 例(占 28.71%), 无业者 17 例(占 16.83%), 具体见表 1 ~ 2。

二、入组布鲁菌病患者的并发症

并发症有肝功能损害者 28 例(27.72%), 脊柱炎(9.90%), 支气管炎/肺炎(7.92%), 肝脾淋巴结肿大(4.95%), 心包积液(4.95%), 电解质紊乱(4.95%), 骨关节炎(4.95%) 等, 见表 3。

三、布鲁菌病患者外周血 NK 细胞和 T 淋巴细胞亚群分布

对布鲁菌病组诊断为急性布鲁菌病 38 例, 同期住院的非布鲁菌病发热的患者 35 例做为对照组, 流式细胞术测定 NK 细胞及 T 淋巴细胞亚群测定, 两组间性别和年龄差异无统计学意义, 基线水平一致, 具有可比性。两组间淋巴细胞绝对值(CD45⁺)、T 淋巴细胞绝对值(CD3⁺)、T 辅助细胞绝对值(CD3⁺CD4⁺)、T 抑制/细胞毒细胞绝对值(CD3⁺CD8⁺)、B 淋巴细胞绝对值(CD19⁺) 和 CD4/CD8 比较差异无统计学意义; 而两组患者的 NK 细胞绝对值(CD16⁺CD56⁺) 比较差异具有统计学意义, 布鲁菌病组外周血中 NK 细胞绝对值

表 3 入组患者的并发症分布情况

并发症	例数	构成比(%)
肝损害	28	27.72
脊柱炎	10	9.90
支气管炎(肺炎)	8	7.92
肝脾淋巴结肿大	5	4.95
心包积液	5	4.95
电解质紊乱	5	4.95
骨关节炎	5	4.95
生殖系统炎症	2	1.98
心律失常	4	3.96
血小板减少	3	2.97
泌尿道炎症	3	2.97
胸膜炎	1	0.99
脑膜脑炎	1	0.99
神经根炎	1	0.99
结膜炎	1	0.99
脓毒血症	1	0.99

较对照组显著减低 ($t = -2.58, P < 0.05$), 见表4。

讨 论

布鲁菌病为人畜共患变态反应性传染病, 其发病率在我国呈上升趋势^[8], 内蒙古为主要疫区^[9]。本研究对101例布鲁菌病患者进行流行病学调查结果显示, 其性别、年龄及职业分布特征为以男性中老年患者为主; 职业分布以农牧民及兽医、防疫员居多, 与职业暴露相关。

布鲁杆菌可通过人皮肤、消化道和呼吸道进入人体而感染, 进入人体后, 首先侵犯局部淋巴结, 并在其内生长繁殖, 形成原发病灶, 继而细胞破裂进入血流, 造成血行播散, 出现菌血症和毒血症, 血流中的细菌留存于淋巴结、肝、脾和骨髓等处。在细胞内繁殖, 出现多发性转移病灶, 释放内毒素, 造成人体发热, 并累及人体多个器官的损伤且慢性化。布鲁菌病并发症较多, 本研究中出现肝损害, 生殖系统炎症(睾丸炎和子宫附件炎), 脊柱炎, 泌尿道炎症, 支气管炎(肺炎), 骨关节炎, 电解质紊乱, 神经根炎, 脑膜脑炎, 结膜炎, 胸膜炎, 肝脾淋巴结肿大以及血小板减少等并发症, 其中肝功能损害最多, 其次是脊柱炎和支气管炎(肺炎)居第3位。

在抗胞内菌感染的机体免疫机制中, 细胞杀伤效应占重要地位。参与的细胞有4类, 其依次进入病变部位是中性粒细胞、NK细胞、 $\gamma\delta$ T细胞和 $\alpha\beta$ T细胞。其中中性粒细胞和NK细胞属天然免疫, $\gamma\delta$ T细胞和 $\alpha\beta$ T细胞作用属获得性免疫。布鲁杆菌是一种兼性胞内菌, 能够感染人类和动物。在感染流产布鲁杆菌急性期一个突出特点是快速产生多克隆抗体IgG2c, NK细胞的耗竭降低了活化B细胞产生IgG2c多克隆抗体, 在体外分析结果显示, $\gamma 2a$ mRNA的B细胞直接与NK-B细胞相互作用^[9]。CD4⁺的iNKT细胞群具有抗菌活性, 诱导Fas途径和细胞溶解颗粒的释放, 直接参与消灭细菌和(或)细菌生长的控制, 通过杀死感染的细胞^[10]。Kilic等^[11]研究40例急性布鲁菌病患者和20名健康志愿者, 采用流式细胞术评

估 $\gamma\delta$ T细胞的水平。结果, 外周血 $\gamma\delta$ T细胞与健康人相比显著增加, 经治疗后急性布鲁菌病患者 $\gamma\delta$ T细胞显著下降。本研究中, 38例急性布病患者外周血NK细胞绝对值(CD16⁺CD56⁺)显著低于同期住院非布鲁菌病发热病例, 提示急性布鲁菌病患者NK细胞受损, 淋巴细胞绝对值(CD45⁺)、T淋巴细胞绝对值(CD3⁺)、T辅助细胞绝对值(CD3⁺CD4⁺)、T抑制/细胞毒细胞绝对值(CD3⁺CD8⁺)、B淋巴细胞绝对值(CD19⁺)以及CD4/CD8布鲁菌病组患者较对照组下降, 但无差异统计学意义。但也有研究认为在被流产布鲁杆菌2308感染的小鼠实验中, 即便NK细胞可能会激活其他免疫, 但却不是关键的早期控制因素^[12]。

参 考 文 献

- 1 窦肇华主编. 免疫细胞学与疾病[M]. 北京: 中国医药科技出版社, 2004: 6, 106-127.
- 2 王承芳, 曾政, 索勋. 布鲁氏菌抗感染免疫研究进展[J]. 中国动物检疫, 2009, 26(3): 67-69.
- 3 柳建新, 陈创夫, 王远志. 布鲁菌致病及免疫机制研究进展[J]. 动物医学进展, 2004, 25(3): 62-65.
- 4 张维珍. 布鲁菌和宿主相互作用机制的研究进展[J]. 中国畜牧兽医文摘, 2013, 29(4): 31-33.
- 5 田志刚, 魏海明, 孙纳. NK细胞免疫识别及其调节机制与免疫相关性疾病[J]. 中国科学技术大学学报, 2008, 38(8): 896-903.
- 6 吴长青, 刘杰, 杨滨燕, 等. 人外周血CD56⁺NK细胞亚群表型和生物学特征[J]. 中华肿瘤杂志, 2006, 28(3): 169-172.
- 7 王大力, 李铁峰, 李晔. 全国重点省(区)布鲁杆菌病疫情调研报告[J]. 中国地方病防治杂志, 2011, 26(3): 182-184.
- 8 米景川, 张庆华, 尉瑞平, 等. 内蒙古人间布鲁氏菌病的流行特征[J]. 中国地方病防治杂志, 2010, 25(1): 34-36.
- 9 Gao N, Jennings P, Guo Y, et al. Regulatory role of natural killer (NK) cells on antibody responses to *Brucella abortus* [J]. Innate Immun, 2011, 17(2): 152-163.
- 10 Bessoles S, Dudal S, Besra GS, et al. Human CD4⁺ invariant NKT cells are involved in antibacterial immunity against *Brucella suis* through CD1d-dependent but CD4-independent mechanisms [J]. Eur J Immunol, 2009, 39(4): 1025-1035.
- 11 Kilic SS, Akbulut HH, Ozden M, et al. Gamma/delta T cells in patients with acute brucellosis [J]. Clin Exp Med, 2009, 9(2): 101-104.
- 12 Fernandes DM, Benson R, Baldwin CL. Lack of a role for natural killer cells in early control of *Brucella abortus* 2308 infections in mice [J]. Infect Immun, 1995, 63(10): 4029-4033.

(收稿日期: 2014-02-24)

(本文编辑: 孙荣华)

贾宇臣, 其其格, 郭菊红, 等. 布鲁菌病患者外周血NK细胞和T淋巴细胞亚群的变化[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2014, 8(5): 648-650.