

淋巴细胞精细分型检测在 人类免疫缺陷病毒感染者/ 获得性免疫缺陷综合征患者中的应用

袁瑞 胡文佳 桂希恩 严亚军 冯玲 柯亨宁 熊勇 杨蓉蓉

【摘要】目的 探讨人类免疫缺陷病毒(HIV)感染后免疫细胞的变化特征,以及其在不同疾病分期的动态变化规律。**方法** 采用流式细胞术,对2021年8月17日至2022年9月14日于武汉大学中南医院感染科住院的173例HIV感染者/获得性免疫缺陷综合征(AIDS)患者(研究组)进行淋巴细胞亚群分类计数检测,分别与1 086例健康人群(对照组)进行对比分析。根据CD4⁺T淋巴细胞计数进行分期,比较HIV/AIDS患者在不同临床分期淋巴细胞亚群分类计数。计量资料中各类淋巴细胞绝对计数均呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示, HIV/AIDS患者和对照组各类淋巴细胞均值的比较采用两独立样本 t 检验。**结果** 研究组患者T淋巴细胞、B淋巴细胞和NK细胞绝对计数分别为(907 ± 105)个/ μl 、(128 ± 25)个/ μl 和(176 ± 16)个/ μl ,显著低于对照组($t = 8.508, P < 0.001, t = 8.265, P < 0.001, t = 18.552, P < 0.001$)。研究组患者CD4⁺CD28⁺T细胞和CD8⁺CD28⁺T细胞绝对计数分别为(123 ± 25)个/ μl 和(170 ± 48)个/ μl ($t = 28.522, P < 0.001, t = 5.820, P < 0.001$),百分比分别为84.86%和35.41%,均显著低于对照组($t = 2.583, P = 0.011, t = 12.806, P < 0.001$)。研究组患者CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺细胞计数和百分比分别为(476 ± 129)个/ μl 和73.68%,显著高于对照组[(135 ± 98)个/ μl 和22.38%],差异均有统计意义($t = 8.482, P < 0.001, t = 34.651, P < 0.001$)。研究组患者初始和记忆CD4⁺T淋巴细胞绝对计数分别为(76 ± 9)个/ μl 和(152 ± 12)个/ μl ,均显著低于对照组,差异有统计学意义($t = 19.823, P < 0.001, t = 20.815, P < 0.001$)。随着疾病进展,研究组患者CD4⁺CD28⁺T细胞和CD8⁺CD28⁺T细胞绝对计数分别由(540.77 ± 165.54)个/ μl 和(452.57 ± 135.65)个/ μl 降至(13.56 ± 33.63)个/ μl 和(102.96 ± 30.47)个/ μl ,且CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺细胞百分比由(36.00 ± 17.79)%升至(58.29 ± 13.27)%。**结论** HIV/AIDS患者可出现淋巴细胞数量和功能异常,以及免疫系统的异常激活,且AIDS进展后期患者淋巴细胞功能受损和异常免疫激活更显著。

【关键词】 淋巴细胞亚群; CD3⁺CD8⁺人类白细胞DR抗原⁺; CD28⁺T淋巴细胞; 初始/记忆CD4⁺T细胞; 人类免疫缺陷病毒/获得性免疫缺陷综合征

Application of refined lymphocyte subsets detection on patients with human immunodeficiency virus infection/acquired immunodeficiency syndrome Yuan Rui, Hu Wenjia, Gui Xien, Yan Yajun, Feng Ling, Ke Hengning, Xiong Yong, Yang Rongrong. Department of Infectious Diseases, Zhongnan Hospital of Wuhan University, Wuhan 430071, China

Corresponding author: Yang Rongrong, Email: yangrr1130@126.com

【Abstract】Objective To investigate the changing characteristics of the immunocytes after human immunodeficiency virus (HIV) infection and the dynamic changing patterns of different disease stages. **Methods** Lymphocyte subsets of 173 patients with HIV/acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) hospitalized in Department of Infectious Diseases, Zhongnan Hospital of Wuhan University from August 17th, 2021 to September 14th, 2022 (research group) were analyzed by flow cytometry, and were compared with 1 086 healthy individuals (control group). AIDS was staged according to the CD4⁺T lymphocyte

count; The lymphocyte subset classification counts of patients with HIV/AIDS at different AIDS stages were compared. The absolute counts of different types of lymphocytes in the measurement data were normally distributed, expressed by $\bar{x} \pm s$, and the mean values of all types of lymphocytes between patients with HIV/AIDS and control group were compared by two independent samples *t*-tests. **Results** The absolute counts of T lymphocytes, B lymphocytes and NK cells of patient in research group were (907 ± 105) cells/ μ l, (128 ± 25) cells/ μ l and (176 ± 16) cells/ μ l, respectively, which were significantly lower than those in control group ($t = 8.508$, $P < 0.001$; $t = 8.265$, $P < 0.001$; $t = 18.552$, $P < 0.001$). $CD4^+CD28^+$ cells and $CD8^+CD28^+$ cells of patient in research group were (123 ± 25) cells/ μ l and (245 ± 98) cells/ μ l, which were both significantly lower than those of control group ($t = 28.522$, $P < 0.001$; $t = 5.820$, $P < 0.001$). $CD3^+CD8^+HLA-DR^+$ cell counts and percentages of patient of research group were (476 ± 129) cells/ μ l and 73.68%, respectively, which were both higher than those of control group ($t = 8.482$, $P < 0.001$; $t = 34.651$, $P < 0.001$). The absolute counts of naïve and memory $CD4^+$ T cells of patient of research group were (76 ± 9) cells/ μ l and (152 ± 12) cells/ μ l, respectively, which were significantly lower than those of control group ($t = 19.823$, $P < 0.001$; $t = 20.815$, $P < 0.001$). As the disease progressed, the absolute counts of $CD4^+CD28^+$ cells and $CD8^+CD28^+$ cells gradually decreased from (540.77 ± 165.54) cells/ μ l and (452.57 ± 135.65) cells/ μ l to (13.56 ± 33.63) cells/ μ l and (102.96 ± 30.47) cells/ μ l, and the percentages of $CD3^+CD8^+HLA-DR^+$ cells increased from $(36.00 \pm 17.79)\%$ to $(58.29 \pm 13.27)\%$ of patients in research group. **Conclusions** Abnormalities in lymphocyte count and function, as well as abnormal activation of the immune system are common in patients with HIV/AIDS. In late stage of AIDS, impaired lymphocyte function and abnormal immune activation are more significant.

【Key words】 Lymphocyte subsets; $CD3^+CD8^+$ human leukocyte antigen DR^+ ; $CD28^+$ T lymphocytes; Naïve and memory $CD4^+$ T lymphocytes; Human immunodeficiency virus/acquired immunodeficiency syndrome

获得性免疫缺陷综合征 (acquired immunodeficiency syndrome, AIDS) 是因感染人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 而引起的一种多系统慢性传染性疾病^[1]。机体感染 HIV 后, 免疫系统逐渐遭受破坏, 导致对各种病原体的防御能力减弱, 对各种衰老细胞和肿瘤细胞的清除能力显著下降, 以并发多种机会性感染或肿瘤等疾病为特征^[2], 在不予以药物干预的情况下, 晚期 AIDS 患者的病死率高。

为及时并客观地对疾病进展以及预后状况进行评估, 降低 HIV/AIDS 患者的发病率和病死率, 淋巴细胞计数检测为常规必查项目, 在疾病防控中具有重要的指导作用。但目前多数医疗机构对 HIV/AIDS 患者病情评估仍局限于 $CD4^+$ T 淋巴细胞的检测和分析。

HIV 感染在降低患者 $CD4^+$ T 淋巴细胞数量的同时, 还伴有免疫细胞的功能缺陷^[3], 并引起免疫系统的异常激活。因此, 全面评估 HIV/AIDS 患者的整体免疫状况尤为重要^[4]。淋巴细胞种类较多, 且不同类型淋巴细胞表达的抗原具有特异性, 并发挥不同的生物学功能。本研究在常规淋巴细胞检测基础上, 根据不同细胞表面特异性标志物的差异,

进一步对 HIV/AIDS 患者的淋巴细胞亚群进行分类计数, 与健康人群进行对比分析; 为深入分析 HIV/AIDS 患者的免疫状态提供科学依据, 并进一步指导疾病的临床治疗和精准监测, 现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

本研究为回顾性横断面临床研究, 选择 2021 年 8 月 17 日至 2022 年 9 月 14 日于武汉大学中南医院感染科住院的 173 例 HIV/AIDS 患者 (研究组) 进行外周血淋巴细胞亚群分类计数分型检测; 以文献^[5]中公开发表的 1 086 例中国健康成人各种淋巴细胞亚型绝对计数和百分比作为健康对照组。

入组标准为: ①依据《中国艾滋病诊疗指南 (2021 年版)》^[6]中诊断标准, 明确诊断 HIV 感染者; ②一般人口学信息完整; ③自愿接受淋巴细胞亚群分类计数检测。

排除标准为: ①年龄 ≤ 18 岁; ②孕产妇或哺乳期妇女; ③合并恶性肿瘤; ④有严重的心脑血管疾病、终末期肝肾疾病和先天性免疫缺陷疾病; ⑤长期使用免疫抑制剂。

本研究HIV/AIDS患者根据病情轻重进行分层,参照《中国艾滋病诊疗指南(2021年版)》^[6] AIDS分期标准,并结合临床常用CD4⁺T淋巴细胞绝对计数节点,分为CD4⁺T淋巴细胞>350个/ μ l组,CD4⁺T:201~350个/ μ l组、CD4⁺T:51~200个/ μ l组和 \leq 50个/ μ l组。

入组患者均签署知情同意书,并获武汉大学中南医院伦理委员会审核批准(批号:科伦2021022)。

二、实验方法

1. 检测仪器与相关试剂: 研究组患者与健康对照组均使用美国BD公司生产的FACSCalibur流式细胞仪进行淋巴细胞亚群分类计数检测,检测试剂亦购自美国BD公司。检测过程严格遵守操作流程,按照试剂说明书在有效期内完成检测。

2. 全血采集: 选用EDTA-K2抗凝真空采集管,采集研究组和对照组受检者外周静脉血3~5 ml,握住采集管两端,立即轻柔地垂直颠倒采集管数次,混匀血液防止凝固。常温保存和运输血样,24 h内完成检测。

3. 抗体的配备: 取两只流式管,1管中加入别藻蓝蛋白H7(Allophycocyanin H7, APC H7)、多甲藻叶绿素蛋白(peridinin chlorophyll protein, PerCP)、新型系列荧光素(Violet 500, V500)、藻红蛋白(P-phycoerythrin, PE)、别藻蓝蛋白(allophycocyanin, APC)藻红蛋白晶体(P-phycoerythrin crystal 7, PE cy7)和新型系列荧光素(Brilliant Violet 421, BV421)各5 μ l混匀备用;另1管中加入APC H7、PerCP、V500、PE、APC、BV421和异硫氰酸荧光素(fluorescein isothiocyanate, FITC)各5 μ l混匀备用。

4. 全血标本制备和检测: 从上述两只流式管中分别吸取30 μ l和35 μ l抗体,加入至100 μ l全血标本,充分混匀后室温(20~25 $^{\circ}$ C)避光孵育15 min。再加入2 ml FACS溶血素,充分混匀,然后避光孵育15 min,然后1 300 r/min离心5 min(离心半径 $r=16$ cm)后小心弃去上清。再加入2 ml PBS,混匀后1 300 r/min离心5 min,再小心弃去上清。最后加入200 μ l PBS,混匀后上机,用Multiset软件获取1 000个细胞进行检测。

三、统计学处理

采用SPSS 25.0软件对数据进行统计学分析,计量资料中各类淋巴细胞绝对计数呈正态分布,

以 $\bar{x} \pm s$ 表示,HIV/AIDS患者和健康对照组间各类淋巴细胞均值比较采用两独立样本 t 检验;多组间比较采用方差分析。非正态分布计量资料(HIV RNA载量)以中位数(四分位数)进行统计描述,采用非参数检验进行组间比较。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、一般资料

研究组患者与健康对照组均为汉族,年龄分别为(41.3 ± 6.3)岁和(40.5 ± 5.8)岁,两组年龄差异无统计学意义($t = 0.263$ 、 $P = 0.793$);男性和女性之比分别为4.2(140:33)和2.2(731:337),两组研究对象性别分布差异有统计学意义($t = 2.241$ 、 $P = 0.025$)。研究组检出HIV RNA阳性患者75例,HIV RNA为 $\log_{10} 5.11$ (4.71, 5.28)拷贝/ml。其中,103例HIV/AIDS患者接受抗病毒治疗,治疗方案见表1:最常用治疗方案为替诺福韦酯+拉夫米定+依非韦伦。截至2022年9月,抗病毒治疗时间 < 6 个月、6个月~3年、3~10年和 > 10 年患者分别占29.13%(30/103)、21.36%(22/103)、32.04%(33/103)和17.48%(18/103)。

二、研究组患者和健康对照组淋巴细胞亚群

研究组患者总淋巴细胞计数显著低于健康对照组,且各种类型的淋巴细胞,即T淋巴细胞(CD3⁺T淋巴细胞)、B淋巴细胞(CD19⁺淋巴细胞)和NK细胞(CD16⁺CD56⁺T淋巴细胞)绝对计数均低于健康对照组,差异有统计学意义($t = 12.914$ 、 $P < 0.001$, $t = 8.457$ 、 $P < 0.001$, $t = 18.784$ 、 $P < 0.001$)。但两组研究对象B淋巴细胞百分比差异无统计学意义($t = 0.012$ 、 $P = 0.991$),见表2。

根据细胞表面分化抗原(cluster of differentiation, CD)不同,将T淋巴细胞进一步分为CD4⁺T和CD8⁺T淋巴细胞。研究组患者和健康对照组CD4⁺T淋巴细胞绝对计数分别为(225 ± 50)个/ μ l和(694 ± 122)个/ μ l($t = 24.679$ 、 $P < 0.001$),CD4⁺T淋巴细胞百分比分别为(15.32 ± 2.83)%和(33.48 ± 7.33)%($t = 18.608$ 、 $P < 0.001$),差异均具有统计学意义。而两组研究对象CD8⁺T淋巴细胞绝对计数差异无统计学意义($t =$

表1 173例 HIV/AIDS 患者的基本资料

基本资料	数值
性别 [例 (%)]	
男	140 (80.92)
女	33 (19.07)
年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	46.18 \pm 14.13
HIV RNA定性 [例 (%)]	
阳性	75 (43.35)
阴性	98 (56.64)
HIV RNA载量 (log ₁₀ 拷贝/ml)	5.11 (4.71, 5.28)
是否接受抗病毒治疗 [例 (%)]	
是	103 (59.53)
否	70 (40.46)
抗病毒治疗方案 [例 (%)]	
TDF + 3TC + EFV	45 (43.69)
TDF + 3TC + DTG	29 (28.16)
TDF + 3TC + LPV/r	13 (12.62)
BIC + FTC + TAF	12 (11.65)
TDF + 3TC + ainoovirine	2 (1.94)
AZT + 3TC + NVP	2 (1.94)
抗病毒治疗持续时间 [例 (%)]	
< 6个月	30 (29.13)
6个月~3年	22 (21.36)
3~10年	33 (32.04)
> 10年	18 (17.48)

注: TDF: 替诺福韦酯, 3TC: 拉夫米定, EFV: 依非韦伦, DTG: 多替拉韦, LPV/r: 克力芝, BIC: 比克替拉韦, FTC: 恩曲他滨, TAF: 丙酚替诺福韦, ainoovirine: 艾诺韦林, AZT: 齐多夫定; NVP: 奈韦拉平

0.996、 $P = 0.320$)。研究组患者CD4⁺/CD8⁺ T淋巴细胞比值为(0.41 \pm 0.06), 显著低于健康组($t = 25.866$ 、 $P < 0.001$), 见表2。

三、研究组患者和健康对照组T淋巴细胞第二信号受体

研究组患者和健康对照组CD4⁺CD28⁺ T细胞分别为(123 \pm 25) 个/ μ l和(170 \pm 48) 个/ μ l ($t = 28.522$ 、 $P < 0.001$), 百分比分别为(84.86 \pm 21.85) %和(89.18 \pm 8.44) % ($t = 2.583$ 、 $P = 0.011$), 差异均具有统计学意义。提示HIV/AIDS患者CD4⁺ T淋巴细胞表达的第二信号受体绝对计数和百分比均显著低于健康人群, 见表3。

研究组患者和健康人群CD8⁺CD28⁺ T细胞分别为(170 \pm 48) 个/ μ l和(329 \pm 56) 个/ μ l ($t = 5.820$ 、 $P < 0.001$), 百分比分别为(35.41 \pm 10.36) %和(57.71 \pm 14.17) % ($t = 14.802$ 、 $P < 0.001$), 差异均具有统计学意义。提示HIV/AIDS患者CD8⁺ T淋巴细胞表达的第二信号受体绝对计数和百分比均显著低于健康人群, 见表3。

四、研究组患者和健康对照组T淋巴细胞表达的HLA-DR分子

研究组患者CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺细胞计数为(476 \pm 59) 个/ μ l, 显著高于健康对照组[(135 \pm 28) 个/ μ l], 差异具有统计学意义($t = 8.482$ 、 $P < 0.001$); 研究组患者CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺细胞百分比亦高于健康对照组[(73.68 \pm 19.47) % vs. (22.38 \pm 3.26) %], 差异具有统计学意义($t = 30.522$ 、 $P < 0.001$)。

表2 研究组患者和健康对照组淋巴细胞亚群绝对计数和百分比 ($\bar{x} \pm s$)

指标	研究组 (173例)	健康对照组 (1 068例)	t 值	P 值
总淋巴细胞数 (个/ μ l)	1 121 \pm 108	2 086 \pm 174	12.914	< 0.001
CD3 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/ μ l)	907 \pm 105	1 387 \pm 414	8.508	< 0.001
CD3 ⁺ T淋巴细胞百分比 (%)	72.69 \pm 12.74	66.44 \pm 8.58	6.452	< 0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/ μ l)	225 \pm 50	694 \pm 122	24.679	< 0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ 百分比 (%)	15.32 \pm 2.83	33.48 \pm 7.33	18.608	< 0.001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/ μ l)	633 \pm 281	589 \pm 244	0.996	0.320
CD3 ⁺ CD8 ⁺ /CD3 ⁺ 百分比 (%)	53.00 \pm 17.59	27.96 \pm 7.67	18.720	< 0.001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T淋巴细胞比值	0.41 \pm 0.06	1.32 \pm 0.59	25.866	< 0.001
CD19 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/ μ l)	128 \pm 25	216 \pm 34	8.265	< 0.001
CD19 ⁺ T淋巴细胞百分比 (%)	10.41 \pm 8.35	10.40 \pm 3.73	0.012	0.991
CD16 ⁺ CD56 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/ μ l)	176 \pm 16	403 \pm 92	18.552	< 0.001
CD16 ⁺ CD56 ⁺ T淋巴细胞百分比 (%)	13.09 \pm 2.24	19.19 \pm 2.25	4.885	< 0.001

五、研究组患者和健康对照组辅助/诱导性T淋巴细胞亚群

辅助/诱导性T淋巴细胞即CD4⁺T淋巴细胞, 根据其表面抗原分子的表达差异及抗原刺激与否, 进一步分为初始CD4⁺T淋巴细胞(CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺细胞)和记忆CD4⁺T淋巴细胞(CD3⁺CD4⁺CD45RO⁺)。

研究组患者和健康对照组CD4⁺T淋巴细胞绝对计数分别为(76±9)个/μl和(264±38)个/μl($t=19.823$ 、 $P<0.001$), 百分比分别为(20.27±7.50)%和(37.19±11.94)%($t=9.569$ 、 $P<0.001$), 差异均有统计学意义。研究组患者记忆CD4⁺T淋巴细胞绝对计数显著低于健康对照组(152±12)个/μl vs. (430±78)个/μl: $t=20.815$ 、 $P<0.001$), 但CD4⁺T细胞百分比显著高于健康对照组(75.94±17.46)% vs. (62.81±11.94)%: $t=9.804$ 、 $P<0.001$), 差异均有统计学意义, 见表4。

六、不同疾病分期HIV/AIDS患者的淋巴细胞亚群分类计数

随着AIDS进展加重, T淋巴细胞(包括Ts和Th)、B淋巴细胞和NK细胞绝对计数均显著下降,

并于AIDS终末期达到最低值, 差异有统计学意义(P 均 <0.001), 但百分比差异无统计学意义(P 均 >0.05)。在疾病进展至终末期后, Ts百分比迅速增加至(64.64±12.17)%, Th百分比降至(2.57±0.82)%, CD4⁺/CD8⁺T淋巴细胞比值由(0.88±0.21)%降至(0.14±0.03)%, 组间差异具有统计学意义($F=132.356$ 、 $P<0.001$)。

随着AIDS进展, CD4⁺CD28⁺T细胞和CD8⁺CD28⁺T细胞绝对计数分别由(540.77±165.54)个/μl和(452.57±135.65)个/μl降至(13.56±33.63)个/μl和(102.96±30.47)个/μl, CD4⁺CD28⁺T细胞绝对计数下降幅度较明显。同样, CD3⁺CD8⁺HLA-DR⁺T细胞计数和CD3⁺HLA-DR⁺T淋巴细胞计数也显著下降, 但百分比均有不同程度增高, 差异具有统计学意义(P 均 <0.05)。初始和记忆CD4⁺T淋巴细胞绝对计数在疾病进展期间分别由(220.95±68.74)个/μl和(357.61±107.12)个/μl下降至(4.25±1.30)个/μl和(14.26±3.22)个/μl, CD3⁺CD4⁺CD45RA⁺/CD4⁺由(35.93±14.70)%下降至(18.83±5.84)%, 差异具有统计学意义($F=14.201$ 、 $P<0.001$), 见表5。

表3 研究组患者和健康对照组T淋巴细胞第二信号受体($\bar{x}\pm s$)

检测指标	研究组(173例)	健康对照组(1 068例)	t 值	P 值
CD4 ⁺ CD28 ⁺ 细胞绝对计数(个/μl)	123±25	617±102	28.522	<0.001
CD4 ⁺ CD28 ⁺ /CD4 ⁺ 百分比(%)	84.86±21.85	89.18±8.44	2.583	0.011
CD8 ⁺ CD28 ⁺ 细胞绝对计数(个/μl)	170±48	329±56	5.820	<0.001
CD8 ⁺ CD28 ⁺ /CD8 ⁺ 百分比(%)	35.41±10.36	57.71±14.17	14.802	<0.001

表4 研究组患者和健康对照组辅助/诱导性T淋巴细胞亚群($\bar{x}\pm s$)

检测指标	研究组(173例)	健康对照组(1 068例)	t 值	P 值
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RA ⁺ 细胞绝对计数(个/μl)	76±9	264±38	19.823	<0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RA ⁺ /CD4 ⁺ (%)	20.27±7.50	37.19±11.94	9.569	<0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ 细胞绝对计数(个/μl)	152±12	430±78	20.815	<0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO ⁺ /CD4 ⁺ (%)	75.94±17.46	62.81±11.94	9.804	<0.001

表5 不同疾病分期HIV/AIDS患者的淋巴细胞亚群分类计数

指标	AIDS分期				F 值	P 值
	轻度 (CD4 ⁺ T> 350个/μl)	中度 (CD4 ⁺ T: 201~350个/μl)	重度 (CD4 ⁺ T: 51~200个/μl)	终末期 (CD4 ⁺ T≤ 50个/μl)		
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ 百分比(%)	30.18±8.95	20.53±8.48	13.63±8.42	2.57±0.82	134.355	<0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T淋巴细胞绝对计数(个/μl)	578.59±201.99	259.61±43.88	110.17±39.48	14.52±4.53	172.896	<0.001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ /CD3 ⁺ 百分比(%)	39.01±13.27	49.42±13.21	57.54±15.32	64.64±12.17	33.495	<0.001

续表 5

指标	AIDS分期				F值	P值
	轻度 (CD4 ⁺ T > 350个/μl)	中度 (CD4 ⁺ T; 201~350个/μl)	重度 (CD4 ⁺ T; 51~200个/μl)	终末期 (CD4 ⁺ T≤ 50个/μl)		
CD3 ⁺ CD8 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/μl)	865.34 ± 139.39	818.55 ± 228.29	603.66 ± 141.02	376.60 ± 121.53	42.391	< 0.001
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ T淋巴细胞比值	0.88 ± 0.21	0.38 ± 0.11	0.30 ± 0.09	0.14 ± 0.03	132.356	< 0.001
CD3 ⁺ T淋巴细胞百分比 (%)	73.22 ± 9.18	73.40 ± 9.75	74.95 ± 13.28	72.37 ± 12.66	0.456	0.714
CD3 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/μl)	1 282 ± 541.02	969.48 ± 207.62	656.06 ± 152.85	363.02 ± 120.03	103.326	< 0.001
CD16 ⁺ CD56 ⁺ T淋巴细胞百分比 (%)	12.73 ± 2.06	11.71 ± 2.01	11.37 ± 1.85	14.44 ± 2.11	3.010	0.390
CD16 ⁺ CD56 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/μl)	274.52 ± 85.02	163.78 ± 52.76	115.82 ± 37.54	61.02 ± 19.87	54.041	< 0.001
CD19 ⁺ T淋巴细胞百分比 (%)	12.09 ± 3.13	11.93 ± 2.08	9.20 ± 3.11	8.89 ± 2.16	2.194	0.090
CD19 ⁺ T淋巴细胞绝对计数 (个/μl)	200.52 ± 62.80	121.32 ± 56.77	69.88 ± 32.01	36.27 ± 10.68	69.415	< 0.001
总淋巴细胞数 (个/μl)	1 903.22 ± 457.22	1 349.93 ± 305.64	904.58 ± 251.07	493.31 ± 101.23	110.410	< 0.001
CD4 ⁺ CD28 ⁺ /CD4 ⁺ T百分比 (%)	92.88 ± 7.54	92.78 ± 6.81	89.00 ± 17.70	80.62 ± 15.26	13.621	0.003
CD8 ⁺ CD28 ⁺ /CD8 ⁺ T百分比 (%)	53.84 ± 8.97	43.12 ± 12.98	31.00 ± 9.76	27.84 ± 8.67	23.587	< 0.001
CD4 ⁺ CD28 ⁺ T细胞绝对计数 (个/μl)	540.77 ± 165.54	241.11 ± 45.40	99.27 ± 29.72	13.56 ± 33.63	232.433	< 0.001
CD8 ⁺ CD28 ⁺ T细胞绝对计数 (个/μl)	452.57 ± 135.65	307.81 ± 99.87	173.11 ± 50.05	102.96 ± 30.47	18.423	< 0.001
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ /CD3 ⁺ T (%)	36.00 ± 17.79	47.66 ± 15.72	59.18 ± 16.92	58.29 ± 13.27	22.905	< 0.001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLA-DR ⁺ /CD8 ⁺ T (%)	57.38 ± 20.71	71.19 ± 18.68	80.31 ± 18.76	81.17 ± 11.78	19.862	< 0.001
CD3 ⁺ HLA-DR ⁺ T细胞绝对计数 (个/μl)	604.09 ± 197.56	596.64 ± 168.92	473.91 ± 146.76	262.53 ± 82.88	6.225	< 0.001
CD3 ⁺ CD8 ⁺ HLADR ⁺ T细胞绝对计数 (个/μl)	554.24 ± 165.33	636.38 ± 209.26	490.17 ± 139.00	311.09 ± 98.16	3.522	0.016
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RA ⁺ /CD4 ⁺ T (%)	35.93 ± 14.70	26.61 ± 16.72	17.64 ± 4.15	18.83 ± 5.84	14.201	< 0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO/CD4 ⁺ T (%)	64.06 ± 14.70	73.38 ± 16.72	82.35 ± 13.15	81.17 ± 17.84	14.218	< 0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RA细胞绝对计数 (个/μl)	220.95 ± 68.74	68.71 ± 19.20	19.71 ± 5.55	4.25 ± 1.30	77.91	< 0.001
CD3 ⁺ CD4 ⁺ CD45RO细胞绝对计数 (个/μl)	357.61 ± 107.12	190.89 ± 49.21	90.46 ± 23.96	14.26 ± 3.22	272.409	< 0.001

讨 论

在HIV感染和AIDS进展过程中，CD4⁺T细胞是表达CD4分子的辅助性T淋巴细胞，既是发挥抗HIV免疫作用的主要细胞，也是HIV攻击的靶细胞。HIV感染后以CD4⁺T淋巴细胞数量的进行性减少为特征^[7]，表现为多系统机会性感染或HIV相关性肿瘤^[8-9]。因此，CD4⁺T淋巴细胞水平是HIV感染后进行AIDS分期和判断抗病毒疗效的重要指标。与CD4⁺T淋巴细胞密切相关的是CD8⁺T淋巴细胞，两者共同构成T淋巴细胞的组成部分，后者作为特异性免疫反应的效应细胞^[10-11]，主要发挥细胞直接杀伤作用。有研究发现，与CD4⁺T细胞计数相比，CD4⁺/CD8⁺T受到外来因素的干扰较小，能更稳定地评估HIV/AIDS患者病情的严重程度，进而指导临床治疗^[12-13]。本研究通过与健康人群相比较，HIV/AIDS患者CD4⁺T淋巴细胞显著减少，且CD4⁺/CD8⁺T低于健康对照组，但CD8⁺T淋巴细胞数量与健康人群相近，与多数研究结果相一致^[14-16]。

人体感染HIV后，免疫系统受到损伤，表现为CD4⁺T淋巴细胞数量减少，CD4⁺/CD8⁺T比例失调；HIV感染的另外一个主要免疫特征是CD4⁺T淋巴细胞免疫功能的缺失。因此，在监测HIV/AIDS患者淋巴细胞数量变化的同时，有必要对淋巴细胞的功能进行评估。T淋巴细胞活化后才能发挥免疫作用，而CD28是目前已知的T细胞活化最重要的第二信号受体，是T细胞发挥正常免疫应答的必要条件，在T细胞激活中发挥共刺激作用^[17-18]，缺乏CD28的CD4⁺T细胞丧失活化能力，呈现免疫功能缺失状态^[19]。本研究中HIV/AIDS患者CD4⁺CD28⁺T细胞和CD8⁺CD28⁺T细胞的绝对值和百分比均显著下降，与既往报道一致^[20-22]，再次证实HIV感染影响T细胞的活化。有研究表明，T细胞的活化功能与HIV/AIDS患者病情分期密切相关^[23]。接受抗反转录病毒治疗能在多大程度上改善HIV/AIDS患者的T细胞活化功能，是需要继续探讨的问题。

除上述CD4⁺T淋巴细胞数量进行性减少和T细胞功能受损以外，HIV/AIDS患者对机体的免疫功

能损伤还体现在病毒抗原持续刺激使机体免疫系统处于异常增高的激活状态^[24]。HIV抗原持续刺激会引起T细胞表达的HLA-DR分子水平异常升高,且与血浆中HIV RNA水平呈正相关^[18]。本研究结果显示,HIV/AIDS患者外周血中活化的CD8⁺T细胞数量和百分比均显著高于健康对照组,证实了HIV/AIDS患者存在异常的免疫激活。有研究表明,机体CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞表达的HLA-DR分子较稳定^[25],能较好地规避干扰,客观地反映机体的免疫活化状态^[26-27]。因此,长期动态监测HIV/AIDS患者T细胞异常激活指标对指导临床治疗具有重要价值。

CD4⁺T淋巴细胞计数作为目前常规监测HIV感染后疾病状态的临床指标,根据其是否接受过抗原刺激细胞以及细胞表面表达的抗原分子,可进一步分为初始CD4⁺T细胞和记忆CD4⁺T细胞^[28-29]。在健康青壮年人群中,初始和记忆CD4⁺T细胞各占CD4⁺T淋巴细胞的约50%^[30]。本研究结果显示,与健康人群相比,HIV/AIDS患者初始CD4⁺T细胞绝对计数和百分比均下降,记忆CD4⁺T细胞绝对计数下降,但其百分比上升,提示HIV感染后以CD4⁺T淋巴细胞减少为特征的前提下,初始CD4⁺T细胞的变化尤其明显。HIV抗原的不断刺激引起部分初始CD4⁺T细胞转变成记忆细胞,对既往接触过的抗原刺激产生快速的免疫反应,形成常备免疫记忆库。鉴于初始和记忆性CD4⁺T淋巴细胞在生理和疾病状态下的代偿机制和转化规律^[31],在常规监测CD4⁺T淋巴细胞变化的同时,进一步区分初始和记忆CD4⁺T淋巴细胞亚群分类计数结果,能够对患者免疫状况有更全面的评估^[32]。

但本研究仍存在不足之处。本研究对象与健康对照人群的男女比例存在差异,可能存在一定程度的偏倚。本文数据是来自真实世界的临床分析,研究对象中男性显著多于女性,这与我国目前AIDS流行特点相一致。为排除性别这一因素的影响,笔者将同性别的HIV/AIDS患者和健康对照人群进行了比较,结论与本文一致。因此,本研究对象与健康对照人群在性别分布上的差异未对本文结论造成影响。

综上,本研究对比分析HIV/AIDS患者淋巴细胞亚群分类计数与健康人群的差异和特点,证实HIV感染可引起机体CD4⁺T细胞数量减少和免疫功能缺失,并导致免疫系统处于异常增高的激活状态,因此,对HIV/AIDS进行淋巴细胞亚群分类计

数的动态监测有助于全面评估患者病情和判断疗效,对临床治疗具有重要的指导价值。

参 考 文 献

- [1] 张建萍, 王晓锋, 陈琳. 1例艾滋病伴自身免疫性溶血性贫血及多种机会性感染患者的药学监护[J]. 中国现代应用药学, 2018, 35(12): 1890-1893.
- [2] 任芳, 田俊丽, 杜娟, 等. 2017年-2021年包头市哨点监测男男性行为人群HIV感染状况及相关因素分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2022, 32(18): 2278-2282.
- [3] 张之, 胡海洋, 葛尤, 等. 艾滋病病毒血浆控制者外周血淋巴细胞亚群分析[J]. 医学研究生学报, 2020, 33(10): 1051-1055.
- [4] 陈文丽, 陈剑惠, 张宏. 2011-2020年福州市男男性行为感染HIV/AIDS病例流行特征[J]. 河南预防医学杂志, 2022, 33(8): 594-597.
- [5] Qin L, Jing X, Qiu Z, et al. Aging of immune system: Immune signature from peripheral blood lymphocyte subsets in 1068 healthy adults[J]. Aging, 2016, 8(5): 848-859.
- [6] 中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组, 中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南(2021年版)[J]. 中华内科杂志, 2021, 60(12): 1106-1128.
- [7] 杜炜, 潘克女, 左中宝, 等. HIV/AIDS患者外周血T淋巴细胞亚群与血清HIV RNA病毒载量的相关性研究[J]. 中国卫生检验杂志, 2019, 29(18): 2228-2230.
- [8] Wong CS, Buckner CM, Lage SL, et al. Rapid emergence of T follicular helper and germinal center B cells following antiretroviral therapy in advanced HIV disease[J]. Front Immunol, 2021, 12: 752782.
- [9] Larijani MS, Sadat SM, Bolhassani A, et al. In silico design and immunologic evaluation of HIV-1 p24-Nef fusion protein to approach a therapeutic vaccine candidate[J]. Curr HIV Res, 2018, 16(5): 322-337.
- [10] Zhao N, Zhang T, Zhao Y, et al. CD3⁺T, CD4⁺T, CD8⁺T, and CD4⁺T/CD8⁺T ratio and quantity of $\gamma\delta$ T cells in peripheral blood of HIV-infected/AIDS patients and its clinical significance[J]. Comput Math Methods Med, 2021, 2021: 8746264.
- [11] Calcagno A, Piconi S, Focà E, et al. Role of normalized T-cell subsets in predicting comorbidities in a large cohort of geriatric HIV-infected patients[J]. J Acq Imm Def, 2017, 76(3): 338-342.
- [12] 邓建宁, 邓珊, 黄磊, 等. HIV-1感染患者肠道归巢CD4⁺变化与T淋巴细胞亚型的相关性[J]. 临床和实验医学杂志, 2019, 18(10): 1073-1077.
- [13] 陈伟烈, 袁小珍, 唐漾波, 等. HIV感染者/AIDS患者与肿瘤病人T淋巴细胞亚群数量的比较[J]. 中国艾滋病性病, 2003, 9(6): 338-340.
- [14] 王建芳, 谈国蕾, 赵磊, 等. 319例男性同性恋HIV感染者/AIDS患者血浆病毒载量及T淋巴细胞亚型表达的回顾分析[J]. 现代医学, 2015, 43(2): 197-200.
- [15] 刘建敏, 董雪, 刘娜, 等. 2015-2017年沈阳市新发现HIV/AIDS患者首次检测T淋巴细胞亚群分析[J]. 预防医学论坛, 2020, 26(1): 48-51.
- [16] 董潇潇, 许文炯, 董晓庆, 等. 2014-2015年南京市新发现HIV/AIDS病例首次T淋巴细胞亚群的检测分析[J]. 中国医学创新, 2016, 13(32): 58-61.
- [17] 谢静, 李太生. HIV感染的CD4⁺T淋巴细胞损伤机制[J]. 中国病毒病杂志, 2011, 1(3): 167-170.
- [18] Nyanhete TE, Frisbee AL, Bradley T, et al. HLA class II-restricted CD8⁺T cells in HIV-1 virus controllers[J]. Sci Rep, 2019, 9(1): 10165.
- [19] 施万英, 张子宁, 张旻, 等. 外周血纯真, 记忆性CD8⁺T细胞数量与中国HIV/AIDS患者疾病进程的相关性研究[J]. 中国免疫学杂志, 2010, 26(7): 655-658, 673.

- [20] 杨国强. HIV/HCV共感染者T淋巴细胞亚群CD₄⁺(28), CD₄⁺(38)分子表达特征的分析[J]. 中国医药指南,2016,14(7):5-6, 8.
- [21] Lederman MM, Funderburg NT, Sekaly RP, et al. Residual immune dysregulation syndrome in treated HIV infection[J]. Adv Immunol,2013,119:51-83.
- [22] 于倩, 王晔恺, 周世权. HIV/AIDS患者CD₄⁺ T细胞中CD25和CD8⁺ T细胞中CD28的表达[J]. 中国皮肤性病杂志,2010,24(5):416-417.
- [23] 张苗苗, 符林春, 张远芬, 等. 猴艾滋病模型急性感染期的T细胞各亚群变化规律研究[J]. 免疫学杂志,2013,29(12):1033-1037.
- [24] 赵增艳, 韦彩雯, 张源, 等. HIV-1感染者外周血T细胞miR-155水平与免疫激活和耗竭的关系研究[J]. 实用医学杂志,2021,37(23):2989-2992.
- [25] 李蓓, 孔雅娴, 樊立娜, 等. CD38⁺/HLA-DR⁺CD8⁺ T淋巴细胞比例与HIV/AIDS病人免疫状态的关系[J]. 中国艾滋病性病,2019,25(2):123-126.
- [26] Musyoki S, Mining S, Nyongesa P. Level of CD8⁺ T lymphocytes activation in HIV-infected pregnant women: in the context of CD38 and HLA-DR activation markers[J]. Interdiscip Perspect Infect Dis,2014,2014:1-4.
- [27] Wada NI, Jacobson LP, Margolick JB, et al. The effect of HAART-induced HIV suppression on circulating markers of inflammation and immune activation[J]. AIDS,2015,29(4):463-471.
- [28] 辛学娟, 杨翠先, 劳云飞, 等. HIV/AIDS患者免疫重建的影响因素与促进免疫重建的治疗策略[J]. 传染病信息,2021,34(3):265-269.
- [29] 谭清, 周仲辉, 严冬梅, 等. 成年人类免疫缺陷病毒感染者/艾滋病患者长期抗病毒治疗后免疫功能重建分析[J]. 中国全科医学,2020,23(23):2918-2922.
- [30] Hønge BL, Petersen MS, Jespersen S, et al. T-cell and B-cell perturbations are similar in ART-naive HIV-1 and HIV-1/2 dually infected patients[J]. AIDS,2019,33(7):1143-1153.
- [31] 任翊, 刘意, 黄晓婕, 等. HIV-1感染者CD₄⁺ T淋巴细胞及其各亚群细胞增殖和消亡情况的观察[J]. 中国艾滋病性病,2009,15(3):219-221, 275.
- [32] Meraviglia S, Di Carlo P, Pampinella D, et al. T-cell subsets (TCM, TEM, TEMRA) and poly-functional immune response in patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection and different T-CD4 cell response[J]. Ann Clin Lab Sci,2019,49(4):519-528.
- (收稿日期: 2022-10-07)
(本文编辑: 孙荣华)

袁瑞, 胡文佳, 桂希恩, 等. 淋巴细胞精细分型检测在人类免疫缺陷病毒感染 / 获得性免疫缺陷综合征患者中的应用 [J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志 (电子版), 2023,17(2):84-91.