

重型颅脑损伤 T 淋巴细胞亚群的变化

苗雨露¹, 张明霞²

[摘要] **目的:**探讨重型颅脑损伤后 T 淋巴细胞亚群变化规律,为进行免疫干预预防感染提供参考依据。**方法:**选择单纯重型颅脑损伤格拉斯哥昏迷评分 ≤ 8 分的患者 30 例为观察组,同期单纯轻型颅脑损伤格拉斯哥昏迷评分 = 14 ~ 15 分患者 30 例为对照组。采用免疫荧光三色标记流式细胞仪对 2 组患者伤后第 1、3、7 和 14 天外周血 T 淋巴细胞亚群进行检测。**结果:**与对照组比较,观察组伤后第 1 天 CD3、CD4、CD4/CD8 开始下降,CD8 升高,第 3 天 CD3、CD4、CD4/CD8 明显下降,CD8 明显升高,第 7 天开始恢复,第 14 天基本同正常水平,2 组伤后第 1、3 和 7 天差异均有统计学意义($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。而伤后第 14 天 2 组 4 项指标差异均无统计学意义($P > 0.05$)。观察组伤后第 4 天肺部感染 73.3%,对照组无肺部感染,2 组差异有统计学意义($P < 0.01$)。**结论:**重型颅脑损伤后 T 淋巴细胞亚群变化规律为伤后第 1 天开始下降,第 3 天下降明显,第 7 天开始恢复,第 14 天基本恢复到正常水平,可考虑重型颅脑损伤后进行免疫干预预防感染。

[关键词] 颅脑损伤; T 淋巴细胞亚群; 流式细胞仪; 免疫; 感染

[中图分类号] R 651.15 **[文献标志码]** A **DOI:** 10.13898/j.cnki.issn.1000-2200.2015.05.021

Change of T lymphocyte subsets in patients with severe craniocerebral injury

MIAO Yu-lu¹, ZHANG Ming-xia²

(1. Department of Neurosurgery, The Second People's Hospital of Longgang District of Shenzhen, Shenzhen Guangdong 518112;

2. Department of Centre Laboratory, The Third People's Hospital of Shenzhen, Shenzhen Guangdong 518112, China)

[Abstract] **Objective:** To detect the change rules of T lymphocyte subsets in patients with severe craniocerebral injury to provide the basis in preventing infection by immunologic intervention. **Methods:** Thirty severe craniocerebral injury patients with glasgow coma score (GCS) ≤ 8 and 30 light craniocerebral injury patients GCS = 14 to 15 were divided into the observation group and control group, respectively. The expressions of lymphocyte subsets (including CD3, CD4, CD8, CD4/CD8 T) of peripheral blood in two groups after 1, 3, 7 d and 14 d of injury were detected using the immunofluorescent three-color flow cytometry. **Results:** Compared with the control group, the levels of CD3, CD4 and CD4/CD8 began to decrease, and the level of CD8 increased 1 d after injury in observation group. Compared with the control group, the levels of CD3, CD4 and CD4/CD8 decreased significantly, and the level of CD8 increased significantly 3 d after injury in observational group. The levels of lymphocyte subsets began to recover after 7 d of injury, and arrived at the normal level after 14 d of injury. The differences of the levels of lymphocyte subsets between two groups after 1 d, 3 d and 7 d after injury were statistically significant ($P < 0.05$ to $P < 0.01$), and there was not statistical significance 14 d after injury ($P > 0.05$). The lung infection rates in the observation group and control group after 4 d of injury were 73.3% and 0, respectively, the difference of which was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusions:** Decreasing on day 1, significant decreasing on day 3, recovering on day 7 and arriving at the normal level on day 14 are the change rules of T lymphocyte subsets in severe craniocerebral injury patients. The immunologic intervention can be used to prevent infection in severe craniocerebral injury patients.

[Key words] craniocerebral injury; T lymphocyte subsets; flow cytometry; immune; infection

重型颅脑损伤多并发感染,且以伤后 3 ~ 10 d 多发,这与颅高压高峰时间一致。重型颅脑损伤除颅脑实质细胞变化、出血等局部变化外,淋巴细胞及 T 淋巴细胞亚群变化值得关注^[1-2]。本文对重型颅脑损伤后临床资料进行探讨,以揭示 T 淋巴细胞亚群变化规律,为进行免疫干预治疗、预防感染提供参

考依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 观察组选择单纯重型颅脑损伤格拉斯哥昏迷评分 ≤ 8 分患者 30 例,男 21 例,女 9 例,年龄 18 ~ 60 岁。脑挫裂伤伴蛛网膜下腔出血 12 例,颅内血肿 10 例,脑干损伤 5 例,弥漫性轴索损伤 3 例。同时符合以下条件:(1)伤后 6 h 内入院;(2)伤前无重要脏器疾病。对照组选择同期单纯轻型颅脑损伤格拉斯哥昏迷评分 = 14 ~ 15 分患者 30 例,男 18 例,女 12 例,年龄 20 ~ 59 岁,脑震荡

[收稿日期] 2014-06-24

[作者单位] 1. 广东省深圳市龙岗区第二人民医院 神经外科, 518112; 2. 广东省深圳市第三人民医院 中心实验室, 518112

[作者简介] 苗雨露(1966 -),男,硕士,主任医师。

21 例, 头皮挫伤 5 例, 单纯颅骨骨折 4 例。

1.2 试剂及仪器 三色荧光标记单克隆抗体 CD4 FITC/CD8 PE/CD3 PerCP (Catalog No. 340298, IVD) 及阴性同型对照 γ 1FITC/ γ 1PE/CD3 PerCP (Catalog No. 340369, IVD) 均购自美国 Becton Dickinson 公司; 溶血素为 BD FACS™ Lysing Solution (Catalog No. 349202, IVD); FACS Calibur 型流式细胞仪为美国 BD 公司生产。

1.3 检测方法 取 2 组患者伤后第 1、3、7 和 14 天外周静脉血, 用流式细胞仪检测 2 组患者伤后 T 淋巴细胞亚群变化情况。取 2 组静脉血 1 ml, 肝素抗凝, 分装 2 管, 每管加 100 μ l 全血, 再分别加入 10 μ l 上述三色荧光标记单抗试剂以及同型对照, 室温避光 20 min, 加红细胞溶解液 2 ml, 混匀, 溶血 5 min, 离心弃上清液, 用 PBS 洗涤 2 次, 将细胞重悬于 1% 多聚甲醛缓冲液 500 μ l 中, 用流式细胞仪 CellQuest 软件收集 30 000 个细胞, 以 PerCP 标记 CD3⁺ 的细胞射门并分析数据, 以荧光抗体染色阳性细胞百分率记录结果。

1.4 肺部感染指标 伤后第 4 天统计肺部感染情况, 肺部感染诊断标准^[3]: 首选胸部 CT 检查, 无法 CT 检查者行床边 X 线胸片检查, 根据有无肺部渗出确定诊断, 并排除肺水肿、肺出血、肺间质纤维化、肺栓塞、肺结核、肺肿瘤。影像科会诊, 必要时纤维支气管镜活检病理诊断。

1.5 统计学方法 采用方差分析和 q 检验及 t 检验。

2 结果

与对照组比较, 观察组伤后第 1 天 CD3、CD4、CD4/CD8 开始下降, CD8 升高, 第 3 天 CD3、CD4、CD4/CD8 明显下降, CD8 明显升高, 第 7 天开始恢复, 第 14 天基本同正常水平, 2 组伤后第 1、3 和 7 天差异均有统计学意义 ($P < 0.05 \sim P < 0.01$)。而伤后第 14 天 2 组 4 项指标差异均无统计学意义 ($P > 0.05$) (见表 1)。观察组伤后第 4 天肺部感染 22 例 (73.3%), 对照组无肺部感染, 2 组差异有统计学意义 ($\chi^2 = 34.74, P < 0.01$)。

表 1 颅脑损伤患者伤后不同时间 T 淋巴细胞亚群变化比较 ($\bar{x} \pm s$)

分组	<i>n</i>	CD3/%	CD4/%	CD8/%	CD4/CD8
对照组					
伤后第 1 天	30	68.50 \pm 7.90 ^{▲▲}	55.73 \pm 8.10 ^{▲▲}	27.24 \pm 3.47 ^{▲▲}	2.05 \pm 0.31 ^{▲▲}
伤后第 3 天	30	70.03 \pm 8.12 ^{▲▲}	54.26 \pm 6.14 ^{▲▲}	24.39 \pm 2.76 ^{*▲}	2.22 \pm 0.56 ^{▲▲}
伤后第 7 天	25	67.74 \pm 7.25 [▲]	56.62 \pm 5.94 ^{▲▲}	29.40 \pm 7.00 ^{△△*}	1.93 \pm 0.47 ^{△▲}
伤后第 14 天	21	71.74 \pm 9.25	57.86 \pm 6.27	37.75 \pm 6.09 ^{**#△}	1.53 \pm 0.33 ^{**#△}
<i>F</i>	—	1.12	1.29	32.01	10.84
<i>P</i>	—	>0.05	>0.05	<0.01	<0.01
<i>MS</i> _{组内}	—	65.635	45.383	24.391	0.190
观察组					
伤后第 1 天	30	58.5 \pm 6.72	40.35 \pm 4.32	35.33 \pm 7.20	1.14 \pm 0.24
伤后第 3 天	30	53.84 \pm 5.56 [*]	31.28 \pm 3.92 ^{**}	32.17 \pm 3.35 [*]	0.97 \pm 0.37 [*]
伤后第 7 天	28	62.63 \pm 7.16 ^{*△}	50.45 \pm 5.59 ^{**}	36.23 \pm 7.54 [△]	1.39 \pm 0.26 ^{*△}
伤后第 14 天	26	73.63 \pm 8.15 ^{**#△}	55.45 \pm 5.72 ^{**#△}	36.57 \pm 5.40 [△]	1.52 \pm 0.38 ^{*△}
<i>F</i>	—	41.01	136.03	3.14	17.06
<i>P</i>	—	<0.01	<0.01	<0.05	<0.01
<i>MS</i> _{组内}	—	47.735	24.077	37.207	0.101

q 检验: 与伤后第 1 天比较 * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; 与伤后第 3 天比较 $\Delta P < 0.05$, $\Delta \Delta P < 0.01$; 与伤后第 7 天比较 $\#\# P < 0.01$; 与对照组对应的时间比较 $\blacktriangle P < 0.05$, $\blacktriangle\blacktriangle P < 0.01$

3 讨论

T 淋巴细胞在人体主要发挥细胞免疫功能, 外周血的 T 淋巴细胞分为功能不同的 2 个亚群, 一类为 CD4 细胞, 包括辅助型、诱导型, 辅助型主要介导细胞免疫和炎症反应, 诱导型主要参与 B 淋巴细胞

增殖、抗体产生和过敏反应; 另一类为 CD8 细胞, 包括 Tc 细胞毒型、抑制型, 细胞毒型主要能特异性溶解靶细胞, 在抗病毒感染, 抗肿瘤免疫中起重要作用, 抑制型主要抑制免疫应答的活化。CD4、CD8 的数量及其比值反应机体免疫状态的变化^[4-5], CD3 代表外周血成熟 T 淋巴细胞总数, 其增多表示免疫功

能增强,反之亦然。

本研究结果显示,观察组与对照组比较,伤后第1天和第3天,CD3与CD4数量均降低,CD8数量均升高($P < 0.01$),观察组CD4/CD8比值均低于对照组($P < 0.01$)。说明重型颅脑损伤后机体处于免疫抑制状态^[6-7],免疫力低下,这一现象发生在脑外伤后1周内,与脑水肿高峰期一致,这一结果说明应激可导致下丘脑-垂体-肾上腺功能的改变,神经系统特别是下丘脑和交感神经直接参与了免疫调控^[8],重型颅脑损伤后T淋巴细胞亚群变化规律是伤后第1天CD3、CD4、CD4/CD8开始下降,伤后第3天CD3、CD4、CD4/CD8下降明显,伤后第7天CD3、CD4、CD4/CD8开始恢复,伤后第14天基本恢复到正常水平,这一现象与脑外伤后脑水肿时相一致,说明颅脑损伤直接导致免疫功能受损^[9],特别是细胞免疫功能,伤后昏迷及不能进食加重免疫功能低下。所以,重型颅脑损伤后易并发感染,特别是肺部感染,本研究统计伤后第4天肺部感染为73.3%;王文涛等^[10]认为肠外谷氨酰胺免疫营养支持能有效降低肺部感染发生率。因此笔者认为,重型颅脑损伤后可以考虑进行免疫干预治疗,使用适当的免疫增强剂,以提高机体的细胞免疫功能,预防感染的发生,促进患者颅脑损伤的恢复。

[参 考 文 献]

- [1] Mrakovcic-Sutic I, Tokmadzic VS, Laskarin G, *et al.* Early changes in frequency of peripheral blood lymphocyte subpopulations in severe

traumatic brain-injured patients [J]. *Scand J Immunol*, 2010, 72 (1): 57-65.

- [2] Sotosek Tokmadzic V, Laskarin G. Expression of cytolytic protein-perforin in peripheral blood lymphocytes in severe traumatic brain injured patients [J]. *Injury*, 2012, 43 (5): 624-631.
- [3] 张梅, 赵云峰, 骆兰尼, 等. 肺炎及英国胸科协会改良肺炎评分及慢性阻塞性费疾病急性加重患者早期病死率的评估价值 [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2013, 36 (4): 269-273.
- [4] Zhang M, Zhao YF, Luo LN, *et al.* The value of coexisting pneumonia and British Thoracic Society CURB-65 score in predicting early mortality rate in patients with acute exacerbation of chronic obstructive pulmonary disease [J]. *Chin J Tuberc Respir Dis*, 2013, 36 (4): 269-273.
- [5] Zanetti M, Castiglioni P, Ingulli E. Principles of memory CD8 T-cells generation in relation to protective immunity [J]. *Adv Exp Med Biol*, 2010, 684: 108-125.
- [6] Mu J, Jeyanathan M, Shaler CR, *et al.* Respiratory mucosal immunization with adenovirus gene transfer vector induces helper CD4 T cell-independent protective immunity [J]. *J Gene Med*, 2010, 12 (8): 693-704.
- [7] Epifantseva NN, Borshchikova TI, Surzhikova GS, *et al.* The specific features of immune disorders in acute severe brain injury [J]. *Anesteziol Reanimatol*, 2009 (6): 65-68.
- [8] Smrcka M, Mrljan A, Karlsson-Valik J, *et al.* The effect of head injury upon the immune system [J]. *Bratisl Lek Listy*, 2007, 108 (3): 144-148.
- [9] 闫仁福, 周跃, 苏忠周, 等. 颅脑损伤后T细胞亚群及性激素的动态变化 [J]. *中华创伤杂志*, 2003, 19 (12): 724-727.
- [10] 王文涛, 马弟娃, 牛小东, 等. 免疫营养支持对颅脑损伤病人影响的系统评价 [J]. *肠外与肠内营养*, 2014, 21 (5): 273-281.

(本 文 编 辑 马 启)

(上接第623页)

本研究结果表明,口服孟鲁斯特治疗儿童咳嗽变异性哮喘,总有效率明显较以往常规治疗方法高,且孟鲁斯特给药方式简单,无需掌握给药技巧,药效持续时间长,没有明显的不良反应,易于被患儿及家长所接受,且长期口服具有更为理想的治疗效果,值得临床推广应用。

[参 考 文 献]

- [1] 陈慧英, 刘桂珍. 布地奈德与孟鲁斯特治疗咳嗽变异性哮喘的疗效观察 [J]. *实用临床医药杂志*, 2012, 16 (22): 54-56.
- [2] 杨皓. 孟鲁司特治疗咳嗽变异性哮喘疗效观察 [J]. *中国医药导报*, 2009, 6 (4): 54-55.
- [3] 中华医学会呼吸病学分会哮喘组. 咳嗽的诊断与治疗指南 (2009版) [J]. *中华结核和呼吸杂志*, 2009, 32 (6): 407-413.

- [4] 李军. 中西药结合治疗咳嗽变异性哮喘效果观察 [J]. *中外医疗*, 2014, 33 (2): 139-140.
- [5] 童维佳. 糖皮质激素和长效 β_2 受体激动剂联合吸入治疗哮喘的疗效分析 [J]. *实用药物与临床*, 2010, 13 (1): 67-69.
- [6] 黄立文. 孟鲁司特治疗小儿咳嗽变异性哮喘的疗效观察 [J]. *中国现代药物应用*, 2014, 8 (4): 120-121.
- [7] 黄丽萍, 方凤. 白三烯与支气管哮喘 [J]. *国外医学: 呼吸系统分册*, 2005, 25 (9): 674-676.
- [8] 赵德育. 白三烯受体拮抗剂在儿童支气管哮喘治疗中的地位 [J]. *儿科药理学杂志*, 2007, 13 (1): 4.
- [9] Bisgaard H, Nielsen KG. Bronchoprotection with a leukotrienes receptor antagonist in asthmatic preschool children [J]. *Am J Respir Crit Med*, 2000, 162 (1): 187-190.

(本 文 编 辑 刘 畅)