

真性红细胞增多症患者红细胞免疫功能检测

周建伟 孔 翠 刘凌云 刘海峰 史 硕

(济宁医学院附属医院, 山东济宁 272029)

摘 要 **目的** 研究真性红细胞增多症患者血清循环免疫复合物水平及红细胞免疫功能状态。**方法** ELISA 法检测真性红细胞增多症患者血清循环免疫复合物浓度, 参照文献报道方法测定红细胞免疫功能, 直线回归分析血清循环免疫复合物与红细胞免疫功能各指标间的相关性。**结果** 与正常人比较, 真性红细胞增多症患者红细胞受体花环形成率、红细胞花环促进率、红细胞促淋巴细胞增殖率显著降低($P < 0.05$), 红细胞免疫复合物花环形成率、红细胞花环抑制率则明显增高($P < 0.05$), 血清循环免疫复合物浓度亦明显增高($P < 0.01$), 且与除红细胞促淋巴细胞增殖率以外的红细胞免疫功能诸指标均具有相关关系。**结论** 真性红细胞增多症患者红细胞免疫功能低下, 降低患者血清循环免疫复合物水平可能有助于免疫系统功能恢复和病情改善。

关键词 真性红细胞增多症; 循环免疫复合物; 红细胞免疫功能

中图分类号: R446.63, R555 **文献标志码**: A **文章编号**: 1000-9760(2011)04-099-03

Detection of erythrocyte immune function of patients with Polycythemia Vera

ZHOU Jian-wei, KONG Cui, LIU Ling-yun, et al

(The Affiliated Hospital of Jining Medical University, Jining 272029, China)

Abstract, **Objective** To explore the level of circulating immune complex (CIC) in serum and erythrocyte immune function (EIF) in patients with Polycythemia Vera (PV). **Methods** The concentration of CIC in patients with PV was measured with ELISA and EIF was analyzed using in the references respectively, and the correlation was further analyzed between them. **Results** Compared to healthy adults the rate of red blood cell C3b receptor rosette (RBC-C3bRR), rosette formation enhancing rate (RFER) and lymphocyte proliferation rate (LPR) by red blood cell all decreased significantly ($P < 0.05$), red blood cell immune complex rosette (RBC-ICR) and rosette forming inhibitory rate (RFIR) increased ($P < 0.05$) significantly. The concentration of CIC was also higher than healthy adults ($P < 0.01$) and it was correlated with the measurements of EIF except LPR. **Conclusion** The level of EIF is low in patients with PV and degradation of CIC will help to recover the function of immune system and alleviate the illness.

Key words: Polycythemia vera, circulating immune complex, erythrocyte immune function

真性红细胞增多症(PV)是一种以红系细胞克隆性异常增殖为主的慢性骨髓增殖性疾病, 主要累及红系和粒系, 巨核系也可增生, 临床表现为多血质、脾肿大、血栓发生率高。PV 的发病机制尚不甚明了, 但诸多研究业已证实, 由于红细胞的增多, 使血管内环境发生改变, 机体的免疫系统也在一定程度受到影响。目前, 在针对 PV 患者免疫功能的研究中, 还没有真性红细胞增多症患者红细胞免疫功能(EIF)变化的文献报道, 本文就这方面进行探讨。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 研究对象 以 2008 年 1 月至 2010 年 5 月 到 我 院 就 诊 的 门 诊 或 住 院 10 名 真 性 红 细 胞 增 多 症 患 者 为 研 究 对 象, 年 龄 为 37~74 岁, 平均年龄(56 ± 12)岁, 未合并其他感染性及免疫性疾病, 采集血 样 前 均 未 进 行 系 统 的 治 疗; 以 15 名 健 康 体 检 者 为 对 照, 年 龄 为 34~69 岁, 平均年龄(52 ± 8)岁。

1.1.2 试剂 酵母菌冻干粉, 上海第二军医大学 长海医院免疫室; RPMI 1640 培养干粉, Gibico 公 司; CIC 检测试剂盒, 美国 ALD 公司; 其他试剂均 为分析纯。

1.2 方法

抽取真性红细胞增多症患者及健康体检者静脉血 4ml, 2ml 注入普通试管, 离心取血清; 2ml 加入肝素抗凝, 以 Ficol1 分离液离心后, 取红细胞以生理盐水洗涤后, 配制浓度为 1.25×10^7 /ml 的细胞悬液。取补体致敏酵母试剂及未致敏酵母冻干试剂 1 支, 各加生理盐水 8 ml 混匀, 离心后按红细胞计数法配成 1×10^8 /ml 应用液。免疫复合物 (CIC) 浓度按照试剂盒说明检测; 红细胞受体花环形成率 (RBC-C3bRR)、红细胞免疫复合物形成率 (RBC-ICRR) 和红细胞免疫调节因子均按照文献报道的方法检测^[1]; 按照栗群英等报道的方法^[2], 以淋巴细胞增殖实验检测红细胞促淋巴细胞免疫功能, 计算淋巴细胞增殖率 (LPR)。

1.3 统计学处理

采用 SPSS15.0 统计软件处理数据。

2 结果

2.1 CIC 的含量

PV 患者血清 CIC 含量较正常人明显升高, 差异有统计学意义, 见表 1。

表 1 PV 患者血清 CIC 含量 (mU/L)

组别	n	CIC
患者	15	212±48*
正常人	15	75±24
t		4.728
P		<0.05

2.2 PV 与正常人 EIF

与正常人比较, PV 患者红细胞免疫黏附功能明显下降, 红细胞花环促进率 (RFER) 降低, 抑制率 (RFIR) 活性升高, 红细胞促淋巴细胞增殖功能下降, 统计学分析, 差异均具有显著性, 见表 2。

表 2 PV 患者与正常人 EIF 指标比较

组别	n	RBC-C3bRR (%)	RBC-ICRR (%)	RFER (%)	RFIR (%)	LPR (%)
患者	15	5.42±1.48*	18.44±3.94*	19.31±5.56*	36.62±11.96*	18.87±5.73*
正常人	15	15.16±3.57	6.19±1.85	42.55±10.09	12.73±3.92	28.54±7.49
t		2.251	2.439	2.372	2.404	2.020
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

2.3 CIC 与 EIF 各指标间的相关关系

PV 患者血清 CIC 浓度与红细胞免疫功能具有一定的相关性, 见表 3。

表 3 CIC 与 EIF 各指标间的相关关系

项目	RBC-C3bRR	RBC-ICRR	RFER	RFIR	LPR
相关系数	-0.189	0.743	-0.615	0.685	-0.231
P 值	>0.05	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05

3 讨论

红细胞是人体数量最多的免疫细胞, 除具有运输氧的功能外, 还具有识别、黏附、浓缩、杀伤抗原、清除循环免疫复合物, 防止机体组织中沉积损伤致病的能力, 参与机体的免疫调控等免疫功能。现已证实, EIF 与多种疾病的发生、发展有关, 甚至其功能状态影响到疾病的转归及预后^[3-5], 因此研究患者 EIF 具有重要意义。

C3b 受体是补体受体家族中的一员, 广泛存在于红细胞膜上, 虽然在数量上仅相当于白细胞膜上 C3b 受体的 1%~2%, 但由于红细胞数目庞大, 其与 CIC、抗原物质及其他机体细胞接触的机会是白细胞的 500~1000 倍。因此, 红细胞膜上 C3b 受体分子数量的表达状况与机体正常生理功能维持以及临床变化有重要意义。本研究通过检测 RBC-C3bRR 和 RBC-ICRR 以评估 PA 患者红细胞黏附功能状态, 结果显示, 前者显著降低, 后者则明显增高, 差异均有统计学意义。PA 患者红细胞数量高于正常人, 而其黏附功能却显著降低, 可能与以下因素有关: 1) 患者血清 CIC 增多, 占据了红细胞膜上 C3b 受体空位而使空位减少; 2) 红细胞免疫抑制因子活性升高, 促进因子活性下降, 因而红细胞免疫调节功能障碍; 3) 红细胞反复携带和释放 CIC, 导致 C3b 受体活性下降; 4) 由于 PA 患者红细胞生成速度快, 细胞发育成熟过程中 C3b 受体分子结构异常或缺陷, 具有完整结构或功能的 C3b 受体数目大大减少; 5) 某些因素引起的 C3b 受体代谢加速, 而使 C3b 受体发生获得缺陷; 6) 红细胞代谢改变, 而使红细胞 C3b 受体不容易暴露。

红细胞免疫抑制因子活性升高, 促进因子活性下降, 使得红细胞免疫调节功能障碍^[6]。本研究发现, PV 患者血液中红细胞免疫调节因子含量异常, 红细胞免疫功能促进因子含量明显低于正常人, 而免疫功能抑制因子则显著增高, 说明 PV 患者红细胞免疫功能较正常人显著降低。目前, 红细胞免疫调节因子的结构及分泌形式尚不明确, 这些调节因子是 PV 患者红细胞免疫功能低下的主要起因, 还是由于红细胞免疫功能异常造成的结果, 有待于进一步研究。

与正常人相比, PV 患者红细胞促淋巴细胞增

殖功能显著降低($P < 0.01$),说明红细胞免疫功能状态可能直接或间接影响到淋巴细胞的功能,这与文献报道一致^[2]。有研究^[7]认为红细胞对淋巴细胞功能的调控可能是通过分泌多种细胞因子实现的,其形式之一就是红细胞分泌的细胞因子与淋巴细胞表面的相应受体结合,从而影响淋巴细胞的效能。除淋巴细胞外,Telen 等^[8]发现红细胞免疫功能受损,可能会影响整个血液中特异性和非特异性免疫反应,所以调整和维持红细胞的正常免疫功能状态对 PV 患者内环境改善可能具有积极意义。

本研究显示,PV 患者血清 CIC 含量明显高于正常人($P < 0.01$),进一步分析与红细胞免疫功能各指标之间的相关关系,血清 CIC 水平与 RBC-C3bRR 呈正相关趋势,但无统计学意义;与 RBC-ICRR 呈正相关关系,说明血清 CIC 的浓度是影响 EIF 的重要因素,免疫复合物水平持续增高,超过红细胞处理能力,就会导致 EIF 降低。CIC 水平与红细胞免疫调节因子具有相关性,与 RFIR 呈显著正相关,与 RRER 呈负相关,提示 CIC 可能能够促进免疫抑制因子的产生,降低免疫促进因子水平,间接降低 EIF,但目前其具体作用机制尚不明确。另外,PV 患者血清 CIC 浓度与淋巴细胞增殖功能呈负相关趋势,提示可能 CIC 在一定程度上影响淋巴细胞的增殖功能,但由于影响淋巴细胞增殖功能的因素较多,CIC 水平只是诸因素中的一个方面,故这种相关关系不是十分明显。

(上接第 89 页)取,超声提取法和加热回流提取法并没有显著的差异,但考虑到与加热回流提取法比较,超声提取法具有选择性高。快速高效、溶剂消耗少、活性成分提取率高和适用于热不稳定物质的特点,因而在实验中选择了超声提取法。

本文通过单因素试验和正交试验对提取方法、提取时间、乙醇浓度、料液比和提取次数进行了全面综合的考察。虽然正交试验结果表明试验中的 3 个因素对山东肿足蕨总黄酮的提取没有显著性影响,但通过试验得到了最佳的提取条件。并且通过试验可看出乙醇的浓度对试验结果的影响最大,综合文献^[9-10],表明 70% 的乙醇对于黄酮类化合物的提取效率较高,是常用且合适的浓度。

参考文献:

[1] 凌秀珍,张洪祺,刘善庭,等. 山东肿足蕨药理作用的初步研究[J]. 济宁医学学报,1978,1(1):31-43.

总之,PV 患者 EIF 低下,且与患者血清 CIC 水平有一定相关性,降低患者血清 CIC 浓度,改善红细胞免疫功能,可能有助于整个免疫系统的功能恢复和病情改善。

参考文献:

[1] 安符臣,唐爱霞,党小军,等. 慢性阻塞性肺疾病红细胞免疫功能检测和 T 淋巴细胞亚群变化及相关性研究[J]. 陕西医学杂志,2005,34(1):19-22.
[2] 栗群英,李素华. 肺癌患者后果细胞促外周血淋巴细胞增殖能力的实验研究[J]. 西南国防医药,2008,18(2):214-215.
[3] 董泮亮,范萍,马金栋. 宫颈癌患者红细胞免疫功能检测的临床意义[J]. 潍坊医学院学报,2006,28(6):443-444.
[4] 邱元芝,胡坚,曹平良,等. 老年冠心病患者红细胞免疫功能与 BNP、CD62P 的临床意义[J]. 中国老年保健医学,2009,7(3):8-9.
[5] 苏赞妍,袁土兴,罗雄伟. 尖锐湿疣患者红细胞免疫功能的变化[J]. 中国中西医结合皮肤性病学期杂志,2007,6(1):14-15.
[6] 郭峰,钱宝华,张乐之,等. 现代红细胞免疫学[M]. 上海:第一军医大学出版社,2002:22-182.
[7] 方辉,谭诗云,罗和生,等. 十二指肠肠球部溃疡患者红细胞免疫功能与 T 细胞亚群的变化[J]. 基础医学与临床,2005(1):74-77.
[8] Telen MJ. Red blood cell surface adhesion molecules: their possible roles in normal human physiology and disease[J]. Semin Hematol,2000,37(2):130-142.

(收稿日期 2011-03-10)

[2] 王家英,张其祺. 山东肿足蕨对美尼尔氏综合症与胃神经官能症的治疗研究[J]. 济宁医学学报,1978,1(1):24-30.
[3] 山东肿足蕨抗生育作用研究协作组. 山东肿足蕨抗生育作用实验研究[J]. 济宁医学学报,1981,4(1):1-6.
[4] 陈亚民,王宁,魏莉莉,等. 山东肿足蕨化学成分研究(I)[J]. 中草药,1986,18(3):18.
[5] 陈亚民,王宁,卢英华,等. 山东肿足蕨化学成分研究[J]. 济宁医学院学报,1991,14(2):10-12.
[6] 高桂花,朱军,张华丽. 山东肿足蕨中总黄酮的含量测定[J]. 济宁医学院学报,2010,33(1):11-12.
[7] 国家医药管理局中草药中心情报站. 药物有效成分手册[M]. 北京:人民卫生出版社,1986.
[8] 李旗卿. 天然食用抗氧化物的研究进展[J]. 食品与发酵工业,1990,31(4):17-23.
[9] 苏秀芳,陈明兰,农克良. 超声波辅助提取人面子叶总黄酮的工艺研究[J]. 中药材,2010,33(12):1962-1964.
[10] 李根林,魏术会,张振凌,等. 正交法优选卷柏炭中总黄酮的提取工艺研究[J]. 河南中医,2011,31(1):83-84.

(收稿日期 2011-03-22)