老年人群不同性别间淋巴细胞亚群及细胞因子的检测分析

彭聪¹, 王亮^{2a}, 肖漓^{2b}, 肖军^{2a}, 张金花^{2a}, 王天天^{2a}, 翟武杰^{2a}, 马伟凤^{2a}, 李春晖^{2a},
汤玉萌^{2a}, 张明^{2a}, 程鹏^{2a}, 谢金凤^{2a}, 程代玉^{2a}, 孙正中^{2a}

1. 河北北方学院研究生学院, 张家口 075000; 2. 中国人民解放军总医院第八医学中心, a 老年医学科, b 呼吸与危重症医学部研究所 北京市器官移植与免疫调节重点实验室

[摘要] **目的** 探讨老年人群不同性别间淋巴细胞亚群及细胞因子的差别。**方法** 回顾性分析 2021 年 12 月 23 日至 2022 年 3 月 24 日于中国人民解放军总医院第八医学中心老年医学科就诊的 109 例患者资料, 按性别分为男性组 57 例, 女性组 52 例; 收集 2 组患者一般情况与免疫指标。**结果** 2 组患者一般情况[年龄、身高、体重、体重指数(BMI)]比较, 年龄与 BMI 差异无统计学意义($P > 0.05$); 2 组患者淋巴细胞亚群比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$); 2 组患者细胞因子比较, 差异无统计学意义($P > 0.05$)。**结论** 老年人群不同性别间存在免疫系统差异性失调, 不同性别间淋巴细胞亚群存在不同程度的差异。

[关键词] 性别因素; 免疫系统; 淋巴细胞亚群; 细胞因子类; 老年人

DOI: 10.3969/J.issn.1672-6790.2023.04.013

Detection and analysis of lymphocyte subsets and cytokine among different genders in the elderly population

Peng Cong*, Wang Liang, Xiao Li, Xiao Jun, Zhang Jinhua, Wang Tiantian, Zhai Wujie, Ma Weifeng, Li Chunhui, Tang Yumeng, Zhang Ming, Cheng Peng, Xie Jinfeng, Cheng Daiyu, Sun Zhengzhong

* Graduate Faculty of Hebei North University, Zhangjiakou 075000, China

Corresponding author: Wang Liang, Email: wangliang309@sina.com

[Abstract] **Objective** To explore the differences of lymphocyte subsets and cytokines among different genders in the elderly population. **Methods** One hundred and nine patients who attended the geriatric department of the Eighth Medical Center of the Chinese People's Liberation Army during the time period from December 23, 2021 to March 24, 2022 were retrospectively selected, according to gender as male group of 57 cases, women group 52 cases, and their general conditions and immunological indicators were collected. **Results** When comparing the general conditions (age, height, weight, and BMI) of the 2 groups, there was no statistically significant difference between age and BMI ($P > 0.05$); when comparing the lymphocyte subsets of the 2 groups, the differences between the 2 groups were not statistically significant ($P > 0.05$). **Conclusions** Differential immune system dysregulation exist between genders in the elderly population with significant differential dysregulation of lymphocyte subsets between genders.

[Keywords] Sex factors; Immune system; Lymphocyte subsets; Cytokines; Aged

随着增龄与衰老的发展, 老年人群不同性别间出现了差异性的免疫系统失调, 即存在不同类型的细胞亚型及细胞因子的表达异常。研究^[1-2]发现, 与免疫系统相关的多种疾病中, 结核、溃疡性结肠炎、银屑病、乙型肝炎及其他感染性疾病均不同程度体现了男性人群多发; 而自身免疫性肝炎、幽门螺杆菌感染及系统性红斑狼疮则表现为女性高发^[3-4]。老

年人群性别间的免疫差异评价对预测不同性别存在的危险因素及疾病发展、探讨老年人群不同性别间的机体差异及免疫衰老等十分重要。本文对老年人群不同性别间淋巴细胞亚群 + 细胞因子进行检测与分析, 为老年患者诊疗及科研, 提供更多角度的研究。

1 资料与方法

1.1 研究资料 回顾性分析 2021 年 12 月 23 日至

基金项目: 北京市海淀区卫生健康发展科研培育计划项目 (HP2021-03-80701)

作者简介: 彭聪, 硕士研究生, Email: pengzaoan@qq.com

通信作者: 王亮, 主任医师, Email: wangliang309@sina.com

2022年3月24日于中国人民解放军总医院第八医学中心老年医学科就诊的109例患者病历资料。记录既往病史(高血压、糖尿病、冠心病、恶性肿瘤、骨折、急危重症病史、输血史、免疫功能缺陷等),年龄,性别,身高,体重,体重指数(BMI)。按性别分为男性组57例,女性组52例。2组患者身高、体重比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。2组年龄、体重指数(BMI)比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。见表1。本研究通过中国人民解放军总医院第八医学中心伦理审查委员会批准。

表1 2组患者一般情况比较($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	年龄(岁)	身高(m)	体重(kg)	BMI(kg/m ²)
男性组	57	81.4±9.5	1.71±0.04	67.8±8.2	22.99±2.26
女性组	52	78.4±8.7	1.60±0.05	57.6±6.1	22.61±2.20
<i>t</i> 值		1.733	14.271	7.348	0.896
<i>P</i> 值		0.086	<0.001	<0.001	0.372

注: BMI为体重指数。

1.2 纳入与排除标准 纳入标准:患者为大于60岁的老年人群。排除标准:(1)既往存在以骨性损害为特征的骨科疾病;(2)原发性免疫功能障碍性疾病、获得性免疫功能缺陷性疾病、血液系统疾病、精神障碍疾病、3个月内存在重型感染或异体输血;(3)恶性肿瘤及主要脏器功能衰竭或器官移植患者;(4)1年内服用免疫调节剂及糖皮质激素或其他激素补充治疗的患者等。

1.3 淋巴细胞亚群检测 将20 μL淋巴细胞亚群检测试剂(CD3/CD8/CD45/CD4/CD16 + 56/CD19)加到绝对计数管的底部;采用反向移液法吸取50 μL充分混匀的EDTA抗凝全血,加入到绝对计数管

底部;震荡混匀后室温避光孵育15 min;每管加入450 μL溶血素(FACS Lysing solution:蒸馏水 = 1:10),充分混匀后,室温避光孵育15 min;利用FACS Canto Plus流式细胞仪(美国BD)获取和分析淋巴细胞亚群百分比和绝对数。

1.4 细胞因子检测 采用流式细胞术检测,向样品管中加入25 μL实验缓冲液,再加入25 μL血浆和25 μL检测抗体;再加入25 μL捕获微球抗体;室温[(25±1)℃]避光震荡孵育2 h(400~500 r/min);加入25 μL SA-PE;室温[(25±1)℃]避光震荡孵育0.5 h(400~500 r/min);加入500 μL 1×洗涤缓冲液,涡旋数秒,300~500 g离心5 min,缓慢倾出液体,倒扣于吸水纸上;根据FACS Canto Plus流式细胞仪(美国BD)需求,向每管中加入120 μL洗涤缓冲液;涡旋10 s将微球重悬后立即上机检测,检测后数据导入LEGEND plex v8.0软件进行分析获取。

1.5 统计学方法 采用SPSS 25.0统计学软件分析数据。计数资料用例数表示;正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用独立样本*t*检验;偏态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,使用Mann-Whitney *U*检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 2组淋巴细胞亚群比较 男性组中自然杀伤细胞(NK细胞)百分比显著高于女性组($P = 0.01$),而女性组中B细胞百分比与绝对值显著高于男性组($P < 0.001$),其余细胞亚群差异均无统计学意义。见表2。

2.2 2组细胞因子比较 2组白细胞介素、干扰素等细胞因子比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。

表2 2组患者淋巴细胞亚群的比较[$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	例数	总T细胞百分比(%)	总T细胞绝对数	细胞毒/抑制性T细胞百分比(%)	细胞毒/抑制性T细胞绝对数	辅助性/诱导性T细胞百分比(%)	辅助性/诱导性T细胞绝对数	未成熟T细胞百分比(%)
男性组	57	70.77(61.03,76.64)	1 068.88(737.41,1 330.29)	26.58(20.17,33.36)	410.57(239.29,562.23)	40.39(32.76,45.62)	611.20(420.19,744.06)	0.59(0.32,0.88)
女性组	52	71.29(62.56,74.34)	1 042.23(806.75,1 431.30)	23.78(17.75,30.49)	335.20(232.46,553.54)	42.12(34.76,45.79)	654.52(443.04,851.88)	0.66(0.39,1.14)
<i>U</i> 值		-0.406	-0.510	-1.341	-0.497	-0.449	-1.256	-0.992
<i>P</i> 值		0.684	0.610	0.180	0.619	0.653	0.209	0.321
组别	例数	未成熟T细胞绝对值	NK细胞百分比(%)	NK细胞绝对值	B细胞百分比(%)	B细胞绝对值	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	
男性组	57	7.95(4.03,14.19)	17.54(11.97,30.48)	297.68(150.41,424.01)	7.49(4.62,10.91)	98.60(53.87,200.08)	1.52(1.01,2.13)	
女性组	52	10.92(5.59,17.54)	13.72(8.36,19.84)	211.43(114.62,323.11)	13.06(8.25,18.14)	189.74(113.13,290.92)	1.72(1.28,2.30)	
<i>U</i> 值		-1.31	-2.563	-1.796	-4.128	-3.622	-1.153	
<i>P</i> 值		0.190	0.010	0.073	<0.001	<0.001	0.249	

注: NK细胞为自然杀伤细胞。

3 讨论

本研究显示,在男性人群中NK细胞比例显著高于女性组,NK细胞是一类大颗粒淋巴细胞,广泛存在于人体外周组织中,可以分化为具有各种功能的亚型^[5-6];NK细胞也可行使防御感染、破坏肿瘤细胞等功能,car-NK细胞治疗就是基于其存在的免疫学机制^[7];NK细胞是无须预刺激就可直接溶解破坏肿瘤细胞或感染细胞;NK细胞通过各种途径^[8-10]降解靶定细胞的细胞膜,破坏靶细胞完整性,进而发挥溶细胞效应。因此,老年女性人群因其NK细胞较老年男性人群更低,导致NK细胞介导的多种反应活动下降,这致使老年女性会进一步暴露在NK细胞介导的免疫反应中,如感染、肿瘤发生以及获得性免疫反应失调等。

本研究中,老年女性组B细胞绝对值与比例显著高于老年男性组,B淋巴细胞来源于骨髓多能干细胞,其主要分布在淋巴结皮质浅层淋巴小结和脾脏淋巴小结,B淋巴细胞在抗原刺激下可进一步分化为浆细胞,浆细胞可合成和分泌抗体,B淋巴细胞在机体内主要参与各种免疫活动。研究表明,人类B淋巴细胞百分比和数量随着年龄的增长而显著降低^[11-12]。B细胞通常被分为B₁与B₂亚型,B₂细胞通常参与体液免疫应答,而B₁细胞则在机体内出现较早,且不依赖于骨髓细胞,产生后会进一步成为具有自我更新能力的长寿细胞,B₁细胞本身就能产生多种自身抗原的抗体,故多与自身免疫性疾病相关^[13]。B₂细胞及通常意义的B细胞,在抗原刺激及Th细胞辅助下被活化为B细胞,行使体液免疫功能,B₂细胞还具有抗原提呈和免疫调节功能^[14]。因此,B淋巴细胞增殖异常可能介导不同群体在抗原提呈功能、免疫调节功能、自身免疫性疾病诱发功能、黏膜免疫应答功能等方面失调,进一步使人群暴露于各种高发及易感风险中。

综上所述,本研究通过比较老年人群不同性别之间的免疫衰老后的失调,观察到了不同性别的老年人所暴露的危险因素不尽相同,而这些可以被观察到的失调差异表达,可进一步指导我们评价老年人群的免疫风险及患病风险。

参考文献

- [1] 别文华. 溃疡性结肠炎 289 例临床特征回顾性分析[J]. 临床误诊误治,2016,29(9):98-101.
- [2] 修宁宁,郑碧英,辛青松. 2013 年东莞市沙门菌感染流行病学特征及耐药性分析[J/CD]. 中华临床医师杂志(电子版),2015,9(13):2530-2534. DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-0785.2015.13.018.
- [3] 崔阳,张晓. 妊娠期系统性红斑狼疮综合管理[J]. 协和医学杂志,2020,11(3):270-275.
- [4] 杨焕英. 根除幽门螺杆菌治疗后滤泡性胃炎内镜及病理转归的研究[D]. 太原:山西医科大学,2017.
- [5] CICHOCKI F,GRZYWACZ B,MILLER J S. Human NK Cell Development;one road or many?[J]. Front Immunol,2019,10:2078.
- [6] LOPEZ-VERGÈS S,MILUSH J M,PANDEY S,et al. CD57 defines a functionally distinct population of mature NK cells in the human CD56dimCD16⁺ NK-cell subset [J]. Blood,2010,116(19):3865-3874.
- [7] MAROFI F,AL-AWAD A S,SULAIMAN RAHMAN H,et al. CAR-NK Cell;a new paradigm in tumor immunotherapy[J]. Front Oncol,2021,11:673276.
- [8] CRETNEY E,TAKEDA K,YAGITA H,et al. Increased susceptibility to tumor initiation and metastasis in TNF-Related Apoptosis-Inducing Ligand-Deficient Mice [J]. J Immunol,2002,168(3):1356-1361.
- [9] SMYTH M J,CRETNEY E,KELLY J M,et al. Activation of NK cell cytotoxicity[J]. Mol Immunol,2005,42(4):501-510.
- [10] WALLIN R,SCREPANTI V,MICHAËLSSON J,et al. Regulation of perforin-independent NK cell-mediated cytotoxicity [J]. Eur J Immunol,2003,33(10):2727-2735.
- [11] FRASCA D,FERRACCI F,DIAZ A,et al. Obesity decreases B cell responses in young and elderly individuals [J]. Obesity (Silver Spring),2016,24(3):615-625.
- [12] FRASCA D,DIAZ A,ROMERO M,et al. Aging effects on T-bet expression in human B cell subsets[J]. Cell Immunol,2017,321:68-73.
- [13] MARTIN F,KEARNEY J F. B₁ cells; similarities and differences with other B cell subsets [J]. Curr Opin Immunol,2001,13(2):195-201.
- [14] BAUMGARTH N,CHEN J,HERMAN O C,et al. The role of B₁ and B₂ cells in immune protection from influenza virus infection [J]. Curr Top Microbiol Immunol,2000,252:163-169.

(收稿日期:2023-03-21)