

绝经后骨质疏松症的 T 细胞亚群的变化及意义

徐玉善¹⁾, 江艳¹⁾, 李少游²⁾, 李红¹⁾, 洪敏²⁾, 李文艳¹⁾, 包秋燕¹⁾

(1) 昆明医科大学第一附属医院内分泌代谢病科; 2) 肿瘤内科, 云南昆明 650032)

[摘要] **目的** 探讨绝经后骨质疏松症女性患者外周血的 T 细胞亚群的变化及意义. **方法** 流式细胞仪检测 68 例绝经后骨质疏松症女性及 60 例无骨质疏松症绝经后女性外周血的 T 细胞亚群, 绝经后骨质疏松症女性患者外周血的 T 细胞亚群的变化. **结果** 绝经后骨质疏松症女性患者外周血的 T 抑制/毒性淋巴细胞 (Ts) 比率降低, Th/Ts 比值升高, NK 细胞、B 淋巴细胞升高 ($P < 0.05$). **结论** 外周血的 T 淋巴细胞亚群的变化可能促进了 OP 的发生发展. NK 细胞、B 淋巴细胞在体液免疫、免疫应答当中也出现相应的改变, 进一步加重了绝经期妇女的免疫紊乱.

[关键词] T 细胞类别; CD4⁺Th 细胞; 绝经; 骨质疏松症

[中图分类号] R392.12 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-610X (2015) 04-0034-03

Change and Significance of T Cell Subsets in Postmenopausal Women with Osteoporosis

XU Yu-shan¹⁾, JIANG Yan¹⁾, LI Shao-you²⁾, LI Hong¹⁾, HONG Min¹⁾, LI Wen-yan¹⁾, BAO Qiu-yan¹⁾

(1) Dept. of Endocrinology and Metabolism; 2) Dept. of Oncology, First Affiliated Hospital of Kunming Medical University, Kunming Yunnan 650032, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the change and significance of peripheral blood T cell subsets in postmenopausal women with osteoporosis. **Methods** Peripheral blood T cell subsets in postmenopausal women with osteoporosis ($n = 68$) and postmenopausal women without osteoporosis ($n = 60$) subjects were detected by flow cytometry. **Results** The ratio of peripheral blood T suppressor/cytotoxic lymphocytes (Ts) was decreased, while Th/Ts ratio, NK cells and B lymphocytes levels were increased in postmenopausal women with osteoporosis. **Conclusion** Changes in peripheral blood T lymphocyte subsets may promote the development of the osteoporosis. NK cells and B lymphocytes in humoral immune response are also changed, which can further exacerbate the immune disorder of menopausal women.

[Key words] T cell subsets; CD4⁺Th; Menopause; osteoporosis

骨细胞和免疫细胞处于共同的微环境骨髓腔中, 二者共享许多调节分子, 包括细胞因子及其受体、信号分子和转录因子, 所以免疫系统和骨代谢之间存在密切的关系. T 细胞是一类重要的免疫细胞. 免疫异常时 T 细胞总数或其亚群的绝对数和比值发生改变, 与某些疾病发生和发展相关^[1-3]. 本文旨在了解女性绝经后骨质疏松症患者外周血 T 细胞亚群的变化, 初步探讨骨质疏松症的免疫异常状况.

1 对象与方法

收集 2010 年 1 月至 2013 年 7 月的昆明医科大学第一附属医院内分泌科住院骨质疏松症女性患者 68 例, 平均年龄 (58.6 ± 10.1) 岁, BMI (23.39 ± 3.94) kg/m², 为骨质疏松组. 须符合以下条件: 除各种可能影响骨代谢的主要疾病, 包括先天性骨骼畸形, 小儿麻痹症, 严重肝、肾疾病, 甲状腺功

[基金项目] 云南省卫生科技计划项目 (2007C009Z); 云南省卫生科技计划项目 (2012ws0031)

[作者简介] 徐玉善 (1972~), 女, 云南潞西市人, 傣族, 博士, 副主任医师, 主要从事内分泌与代谢病方面的研究工作.

能亢进和减退, 胶原性疾病、糖尿病、骨肿瘤、骨软化症和其它骨关节疾病等, 除外新发生骨折, 除外长期服用影响骨代谢的药物者, 可能影响免疫系统的疾病: 自身免疫性疾病、感染性疾病、肿瘤。2010年1月至2013年7月体检女性健康人群60名, 平均年龄(56.3 ± 9.74)岁, BMI(22.83 ± 3.87) kg/m² 为非骨质疏松组, 年龄与骨质疏松症组差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 骨密度仪测定骨密度值 采用双能 X 线骨密度仪测定骨密度值, 分别测量椎体和髌部的骨密度, 根据诊断标准诊断为正常、骨量减少、骨质疏松。WHO 关于骨质疏松症的诊断标准定义为所测骨密度 (bone mineral density, BMD) 低于同性别峰值骨量值 2.5SD, 骨量峰值即个体在生命中获得最大骨密度, 即人生命过程中最成熟时期达到的骨组织总量。

1.2.2 流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群 (1) 试剂 CD4 单克隆抗体 CD4-FITC 美国 BD 公司; CD8 的单克隆抗体 CD8-PE 美国 BD 公司; CD4 阴性对照单克隆抗体 IgG2a-FITC 美国 BD 公司; CD8 阴性对照单克隆抗体 IgG2a-PE 美国 BD 公司; ELX800 酶标仪美国 BIO-TEK 公司; 流式细胞仪 (EPICS-XL 型) 美国 Beckman Coulter 公司; (2) 流式细胞术测定 T 细胞亚群: 采用肝素锂抗凝人外周血 3~5 mL, 来回倒置均匀混合抗凝血, 取 50

μL 至 Trucount™ Tubes, 勿使加样枪头接触 Trucount™ Tubes 底部小球; 取 20 μL BD 6 Color TBNK 抗体加入 Trucount™ Tubes 中, 简短震荡使试剂与样品均匀混合, 然后避光静置 15 min; 在上述样品中加入用水稀释 10 倍的 Lysing Solution 450 μL, 简短震荡使试剂与样品均匀混合, 然后避光静置 15 min; 红细胞溶解后的样品即可上流式检测。流式检测结束后, 用 BD Canto 软件分析数据用于报告。

1.3 统计学分析

采用 SPSS 统计软件进行分析。计量数据进行正态分布检验, 非正态分布资料经对数转换后进行分析, 采用 *t* 检验。

2 结果

T 淋巴细胞是指 CD3⁺ 占总的淋巴细胞的比率; T 辅助淋巴细胞为 Th, CD3⁺CD4⁺, 占 CD3⁺ 淋巴细胞的百分比; T 抑制 / 毒性淋巴细胞 (Ts, CD3⁺CD8⁺), 占 CD3⁺ 淋巴细胞的百分比; NK 细胞 (CD3⁺CD16⁺CD56⁺) 相对值 (%) 为占 CD3⁺ 淋巴细胞的百分比; B 淋巴细胞 (CD19⁺) 相对值 (%) 占 CD3⁺ 淋巴细胞的百分比。绝经后骨质疏松症女性患者外周血的 T 抑制 / 毒性淋巴细胞 (Ts) 比率降低, Th/Ts 比值升高, NK 细胞、B 淋巴细胞升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 1。

表 1 2 组 T 细胞对比 [% , ($\bar{x} \pm s$)]

Tab. 1 Comparison of T cells in the two groups [% , ($\bar{x} \pm s$)]

组别	T 淋巴细胞	T 辅助淋巴细胞	T 抑制淋巴细胞	Th/Ts 比值	NK 细胞	B 淋巴细胞
骨质疏松组	68.04 ± 8.89	39.94 ± 5.92	24.77 ± 8.26	1.96 ± 0.59	14.5 ± 4.31	14.7 ± 5.69
非骨质疏松组	73.25 ± 6.23	41.61 ± 5.81	27.46 ± 6.68*	1.59 ± 0.42*	11.3 ± 4.85*	10.95 ± 4.9*

与骨质疏松组比较, * $P < 0.05$ 。

3 讨论

骨质疏松症 (osteoporosis, OP) 是一种以骨量低下, 骨微结构破坏, 导致骨脆性增加, 易发生骨折的全身性骨病^[4]。世界卫生组织认为骨质疏松症是仅次于心血管疾病的公共健康问题。原发性骨质疏松症与增龄、性腺功能减退、体重指数、绝经时间、种族等有关^[5]。绝经是每个妇女都要面临的问题^[6]。

骨骼系统和免疫系统存在相互调节作用, 二者共享许多调节分子: 细胞因子及其受体、信号分子和转录因子^[7]。正常的骨重建过程依赖于骨吸收和

骨形成过程的动态平衡, 该动态平衡受免疫系统的调控, 尤其是免疫系统被激活或处于病理状态时^[8]。任何一种改变破骨细胞和成骨细胞的因素均可对骨形成产生深刻的影响^[9]。本文的女性绝经后骨质疏松症的患者外周血的 T 淋巴细胞、T 辅助淋巴细胞比率较无 OP 组下降, 但无统计学差异; 而 T 抑制 / 毒性淋巴细胞 (Ts, CD3⁺CD8⁺) 的比率下降; OP 组的 T 抑制 / 毒性淋巴细胞 (Th/Ts 比值) 明显升高。OP 患者体内存在免疫功能紊乱, 可能由于 T 抑制淋巴细胞的数量下降, 从而使 Th/Ts 比值升高。CD4⁺、CD8⁺ 两者之间的动态平衡被打破, 提示女性绝经后的外周血的 T 淋巴细胞亚群的变化可能促进了 OP 的发生发展。雌激素的

替代治疗可减少骨丢失,有研究表明雌二醇抑制骨丢失是延迟 T 细胞的衰老并增强 CD28 的表达,进一步证实 T 淋巴细胞的功能下降是绝经后骨质疏松症的可能机制之一。一般来说当 T 抑制/毒性淋巴细胞下降时,对因失去 T 细胞的控制 B 细胞而功能亢进,就可能产生大量自身抗体,并引起各种自身免疫病。在本研究中,骨质疏松组的 B 细胞的数量较正常组升高,可能与抑制/毒性淋巴细胞下降有关,减弱了对 B 细胞的抑制。骨质疏松组中的 NK 细胞比率增高,提示 NK 细胞处于活化状态,能够产生免疫应答,可能对骨形成与骨丢失的失衡起到一定作用。

综上所述,骨质疏松症与机体免疫存在密切的联系,从本研究可得出:绝经后骨质疏松症女性患者外周血的 T 抑制/毒性淋巴细胞(Ts)比率降低,Th/Ts 比值升高,NK 细胞、B 淋巴细胞升高。提示在女性绝经后的妇女,外周血的 T 淋巴细胞亚群的变化可能促进了 OP 的发生发展。NK 细胞、B 淋巴细胞在体液免疫、免疫应答当中也出现相应的改变,进一步加重了绝经期妇女的免疫紊乱。骨代谢疾病与免疫系统有着复杂的关系,骨质疏松症与免疫系统的具体作用机制有待于进一步研究。

[参考文献]

- [1] OKAMOTO K,TAKAYANAGI H. Regulation of bone by the adaptive immune system in arthritis [J]. *Arthritis Res Ther*,2011,13(3):219.
- [2] ISLANDER U,JOCHEMS C,LAGERQUIST M K,et al. Estrogens in rheumatoid arthritis; the immune system and bone[J]. *Mol Cell Endocrinol*,2011,335(1):14-29.
- [3] MARUOTTI N,GRANO M,COLUCCI S,et al. Osteoclastogenesis and arthritis [J]. *Clin Exp Med*,2011,11(3):137-145.
- [4] COMPSTON J. Guideline for the management of osteoporosis;the present and the future [J]. *Osteoporos Int*,2005,16(16):1173-1176.
- [5] VAN GEEL T A,NGUYEN N D,GEUSENS P P,et al. Development of a simple prognostic nomogram for individualising 5-year and 10-year absolute risks of fracture: a population-based prospective study among postmenopausal women[J]. *Ann Rheum Dis*,2011,1(70):92-97.
- [6] HICKEY M,AMBEKAR M,HAMMOND I. Should the ovaries be removed or retained at the time of hysterectomy for benign disease [J]. *Hum Reprod Update*,2010,2(16):131-141.
- [7] DANKS L,TAKAYANAGI H. Immunology and bone [J]. *J Biochem*,2013,154(1):29-39.
- [8] 何勇,刘树琴,王长江,等. IL-6、TNF- α 在绝经后骨质疏松症发生中的作用[J]. *中国临床保健杂志*,2007,10(1):41-43.
- [9] KOMANO Y,NANKI T,HAYASHIDA K,et al. Identification of a human peripheral blood monocyte subset that differentiates into osteoclasts[J]. *Arthritis Res Ther*,2006,8(5):R152.

(2015-02-25 收稿)