

抑郁症患者淋巴细胞亚群免疫表型分析

马永能 何芳 张洁 蒋伟 彭碧 邱晓勤 曾覃平

(绵阳市第三人民医院·四川省精神卫生中心 四川 绵阳 621000)

【摘要】 目的 探索抑郁症患者的淋巴细胞亚群免疫表型并比较不同程度抑郁症患者的淋巴细胞亚群免疫表型,为抑郁症的发生机制及诊疗提供参考。方法 通过整群抽样方法抽取某三甲医院符合《国际疾病分类(第 10 版)》(ICD-10)诊断标准的抑郁症患者 110 例为患者组,其中轻度组 34 例,中度组 38 例,重度组 38 例。同期在绵阳市第三人民医院随机抽取 60 名健康体检者为对照组。采用流式细胞术对所有研究对象的血液标本进行淋巴细胞亚群检测。结果 患者组 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK 细胞的比例和绝对值均低于对照组,重度组低于轻、中度组,中度组低于轻度组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05);患者组 CD4⁺/CD8⁺比值低于对照组,重度组低于轻、中度组,中度组低于轻度组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05);患者组 CD3⁺CD8⁺T 细胞的比例和绝对值高于对照组,重度组高于轻、中度组,中度组高于轻度组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。结论 抑郁症患者的 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK 细胞比例和绝对值较健康人群低,而 CD3⁺CD8⁺T 细胞比例和绝对值较健康人群高,且不同程度抑郁症患者的 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3⁺CD8⁺T 细胞及 CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK 细胞比例和绝对值存在差异。

【关键词】 抑郁症;淋巴细胞亚群;流式细胞术;免疫功能紊乱

中图分类号: R749.4

文献标识码: A

doi: 10.11886/j.issn.1007-3256.2018.04.011

Immunophenotype analysis of lymphocyte subsets in patients with depression

Ma Yongneng, He Fang, Zhang Jie, Jiang Wei, Peng Bi, Qiu Xiaoqin, Zeng Qinqing

(The Third Hospital of Mianyang · Sichuan Mental Health Center, Mianyang 621000, China)

【Abstract】 Objective To explore the immunophenotyping of lymphocyte subsets in patients with depression and to compare the difference of the immunophenotyping among patients with depression at different levels of severity, so as to provide reference for mechanism, diagnosis and treatment of depression. **Methods** 110 participants were diagnosed with depression according to International Classification of Diseases, tenth edition (ICD-10) as patient group, and they were selected by cluster sampling. Among patient group, 34 patients were mild depression (mild group), 38 patients were moderate depression (moderate group) and 38 patients were severe depression (severe group). During the same period, 60 healthy persons who had done physical examination in the Third Hospital of Mianyang were selected as the control group. Lymphocyte subsets were detected in all participants' blood samples by flow cytometry. **Results** The proportion and absolute value of CD3⁺T lymphocyte, CD3⁺CD4⁺T lymphocyte and CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK cell in patient group were lower than those in control group ($P < 0.05$). Those data in the severe group were lower than those in mild and moderate group, and the data in moderate group were lower than those in mild group ($P < 0.05$). The CD4⁺/CD8⁺ ratio showed the same results in all group ($P < 0.05$). The proportion and absolute value of CD3⁺CD8⁺T lymphocyte in patient group were higher than those in control group, and the data in the severe group were higher than those in mild and moderate group, the moderate group were higher than those in mild group ($P < 0.05$). **Conclusion** The proportion and absolute value of CD3⁺T lymphocyte, CD3⁺CD4⁺T lymphocyte, CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK cell of patients with depression are lower than healthy people while the proportion and absolute value of CD3⁺CD8⁺T cell are higher than healthy people. The proportion and absolute value of CD3⁺T lymphocyte, CD3⁺CD4⁺T lymphocyte, CD3⁺CD8⁺T lymphocyte and CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK cell vary with different levels of severity of depression.

【Keywords】 Depression; Lymphocyte subsets; Flow cytometry; Immune disorder

抑郁症以情绪持续低落、思维迟缓、情感反应低下、疲劳衰弱、言语动作减少等为主要特征,是一种常见的重性精神疾病^[1]。抑郁症患者多伴思维和行为异常、焦虑等症状,病情严重者甚至有自杀倾向^[2],严重影响患者的生活质量和生命安全。据世界卫生组织(WHO)统计,抑郁症在全球的发病率约为 11%^[3]。随着生活节奏的加快和社会压力的增大,抑郁症的发病率呈逐年上升趋势。据估计,到 2020 年,抑郁症可能成为仅次于冠心病的世界第二

大疾病^[4]。抑郁症的发病机制尚不明确,研究者普遍认为生物、心理和社会因素均对抑郁症的发生发展有一定影响。其中生物学因素主要包括遗传、神经、内分泌和免疫系统^[5]。免疫系统在生物学因素中起主导作用,机体免疫状态失衡可导致疾病的发生发展,同时还影响疾病的预后和转归^[6]。淋巴细胞是免疫系统的基本单位,由多个免疫表型和功能不同的亚群组成^[7]。正常情况下,机体淋巴细胞各亚群的绝对值和比例都维持在一定范围,淋巴细胞

亚群的异常可导致机体神经和内分泌异常,影响身体机能和精神状态^[8]。有研究显示,心理压力可抑制免疫功能,增加机体对炎症和精神疾病的易感性^[9-10]。目前国内外对抑郁症的研究主要集中在遗传、环境、心理社会、生物化学、神经递质等方面,关于免疫系统尤其是细胞免疫、体液免疫、细胞因子等方面的研究较少。本研究对 110 例抑郁症患者的淋巴细胞亚群进行检测,探索抑郁症患者的淋巴细胞亚群免疫表型与正常人群的差异并比较不同程度抑郁症患者的淋巴细胞亚群免疫表型,为抑郁症的发生机制及诊疗提供更多免疫学思路和实验室依据。

1 对象与方法

1.1 对象

以 2017 年 12 月 - 2018 年 2 月某三甲医院的抑郁症住院患者为患者组。纳入标准: ①符合《国际疾病分类(第 10 版)》(International Classification of Diseases, tenth edition, ICD - 10) 抑郁症诊断标准; ②抑郁自评量表 (Self - rating Depression Scale, SDS) 评分 ≥ 53 分; ③由两位经统一培训的医师共同诊断; ④近半年内未服用免疫调节剂、激素药、抗精神病药及免疫抑制剂等影响免疫功能的药物。排除标准: ①患自身免疫性疾病者; ②合并糖尿病、肿瘤或其他严重疾病者; ③近两周内有感染、免疫功能紊乱、创伤、发热或过敏史者。符合纳入标准且不符合排除标准共 110 例。同期在绵阳市第三人民医院随机选取与患者组性别、年龄匹配的 60 名健康体检者为对照组。所有受试者均签署知情同意书,本研究经绵阳市第三人民医院伦理委员会审核通过。

1.2 检测方法

由绵阳市第三人民医院检验科工作人员于研究对象入组或体检当日 7:00 - 9:00 抽取受试者空腹静脉血 2.0 mL 行 TBNK 淋巴细胞亚群检测。检测指标包括 $CD3^+$ T 细胞、 $CD3^+$ $CD4^+$ T 细胞、 $CD3^+$ $CD8^+$ T 细胞、 $CD3^-$ $CD19^+$ B 细胞以及 $CD3^-$ $CD56^+$ $CD16^+$ NK 细胞。采用 ACEA NovoCyte D2040R 流式细胞仪 [艾森生物 (杭州) 有限公司] 进行检测分析,所用试剂均购自艾森生物 (杭州) 有限公司。

采用直接免疫荧光流式细胞术进行检测。具体操作如下: ①取两只干净的流式管,分别标记为 T 管和 BNK 管; ②取 20 μ L $CD3/CD8/CD45/CD4$ 检测试剂盒 (8920008) 中的抗体置于 T 管底,取 20 μ L

$CD3/CD16^+$ $CD56/CD45/CD19$ 检测试剂盒 (8920009) 中的抗体置于 BNK 管底; ③分别取 50 μ L 已充分混匀的新鲜外周血置于 T 管和 BNK 管底,漩涡混合器上轻轻振荡 5 s,室温避光静止 15 min; ④向 T 管和 BNK 管中加入 450 μ L 溶血素,漩涡混合器上轻轻振荡 5 s,室温避光静止 15 min; ⑤2 h 内流式细胞仪上机检测,用 NovoExpress 软件分析流式数据。

1.3 淋巴细胞亚群设门方法

采用 $CD45/SSC$ 设门法,具体步骤如下: ①以 $CD45$ 为横轴,侧向角 (SSC) 为纵轴,在 $CD45/SSC$ 散点图上设 $CD45 + SSC_{low}$ 为淋巴细胞门,见图 1。②分析淋巴细胞内 $CD3^+$ T 细胞的绝对值和占淋巴细胞的比例,见图 2。③分析 $CD3^+$ $CD4^+$ T 细胞、 $CD3^+$ $CD8^+$ T 细胞的绝对值和占淋巴细胞的比例,见图 3。④分析 $CD3^-$ $CD19^+$ B 细胞及 $CD3^-$ $CD56^+$ $CD16^+$ NK 细胞的绝对值和占淋巴细胞的比例,见图 4。

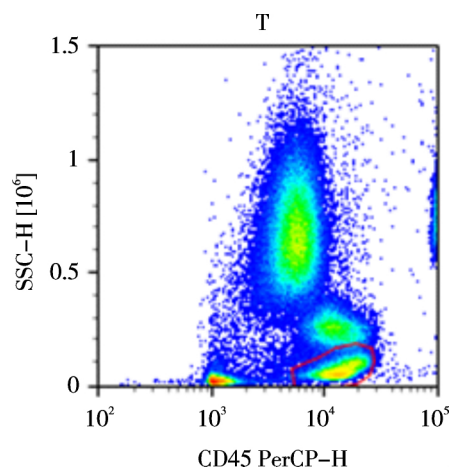


图 1 $CD45 + SSC_{low}$ 淋巴细胞

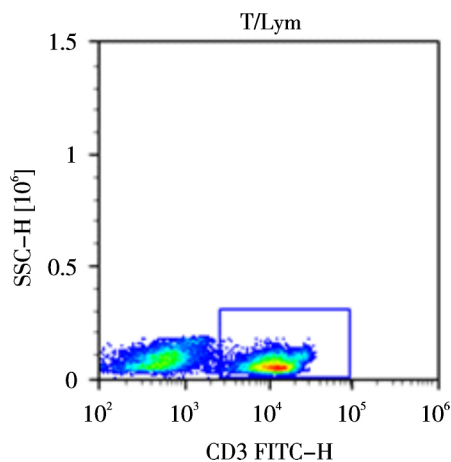


图 2 $CD3^+$ T 细胞

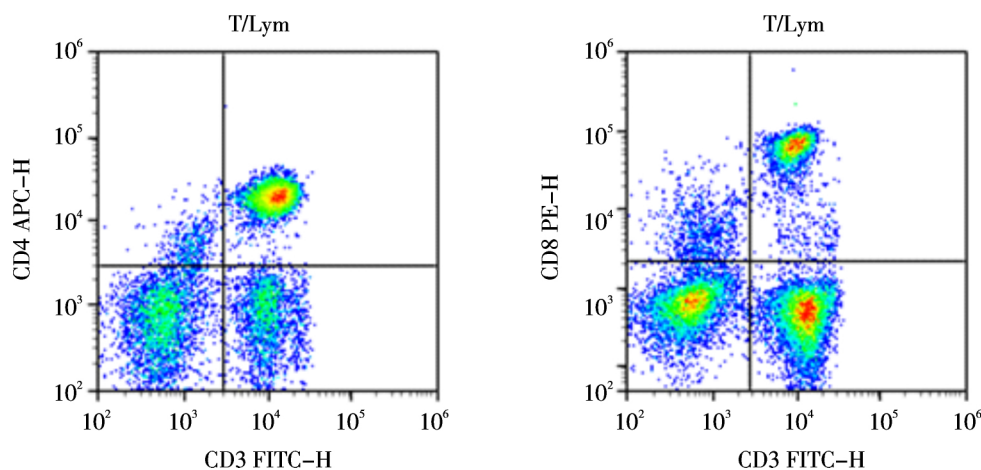


图3 CD3⁺CD4⁺T 细胞与 CD3⁺CD8⁺T 细胞

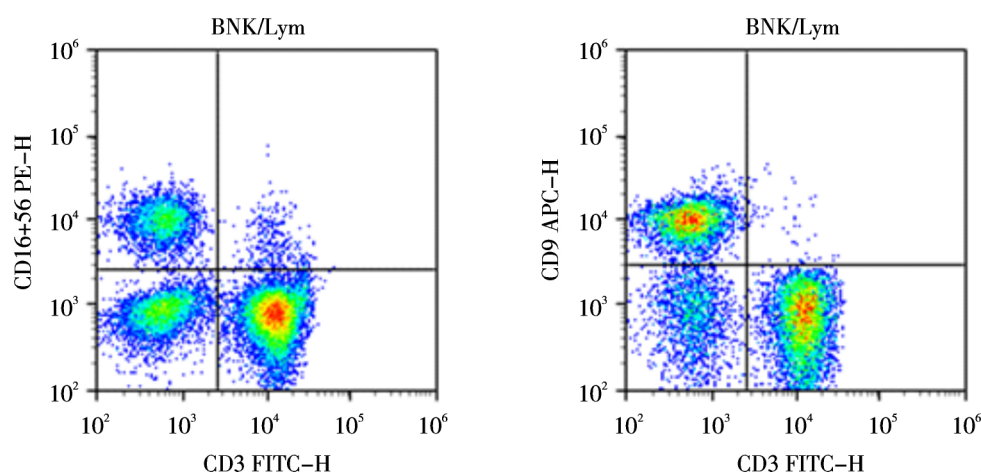


图4 CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK 细胞与 CD3⁻CD19⁺B 细胞

1.4 统计方法

采用 SPSS 16.0 进行统计分析。对符合正态分布的计量资料用($\bar{x} \pm s$)表示,两样本组间比较采用独立样本 *t* 检验,多个样本组间比较采用单因素方差分析,两两比较采用 LSD-*t* 检验。 $P < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究对象一般资料

患者组男性 53 例,女性 57 例;年龄 20~55 岁,平均(33.4 ± 11.7)岁。根据 SDS 评分将患者分为轻、中、重度组,SDS 评分 53~62 分为轻度组,63~72 分为中度组,≥73 分为重度组;其中轻度组 34 例,中度组 38 例,重度组 38 例。对照组男性 30 名,女性 30 名;年龄 20~55 岁,平均(34.5 ± 12.3)岁。以 20~35 岁为青年组,36~55 岁为中年组,患者组和对照组中的青年组与中年组淋巴细胞各亚群比例和绝对值差异均无统计学意义($P > 0.05$)。

2.2 患者组与对照组淋巴细胞亚群比较

患者组 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK 细胞的比例和绝对值均低于对照组,CD3⁺CD8⁺T 细胞比例和绝对值均高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。两组 CD3⁻CD19⁺B 细胞比例和绝对值差异均无统计学意义($P > 0.05$)。患者组 CD4⁺/CD8⁺比值低于对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。见表 1、表 2。

2.3 轻、中、重度组淋巴细胞亚群比较

轻、中、重度组的 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3⁺CD8⁺T 细胞及 CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK 细胞比例和绝对值差异均有统计学意义($P < 0.05$)。进一步两两比较显示,重度组 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3⁻CD56⁺CD16⁺NK 细胞的比例和绝对值低于中、轻度组,中度组低于轻度组,差异均有统计学意义($P < 0.05$);重度组 CD3⁺CD8⁺T 细胞比例和绝对值高于中、

轻度组,中度组高于轻度组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。不同抑郁严重程度患者组的

CD3⁻CD19⁺B 细胞比例和绝对值差异均无统计学意义(P 均 >0.05)。见表 3、表 4。

表 1 患者组与对照组淋巴细胞各亚群占淋巴细胞比例及 CD4⁺/CD8⁺ 比值比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	比例(%)					CD4 ⁺ /CD8 ⁺
	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD19 ⁺	CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺	
患者组($n=110$)	63.09 ± 5.21	25.65 ± 3.28	32.23 ± 5.76	10.27 ± 4.25	18.19 ± 3.44	0.79 ± 0.25
对照组($n=60$)	70.73 ± 5.07	43.25 ± 4.21	23.27 ± 6.45	10.02 ± 2.11	24.25 ± 1.61	1.89 ± 0.43
t	14.57	17.47	4.68	23.74	8.75	26.96
P	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05	<0.05

表 2 患者组与对照组淋巴细胞各亚群绝对值比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD19 ⁺	CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺
患者组($n=110$)	873 ± 65	413 ± 38	434 ± 38	409 ± 34	230 ± 26
对照组($n=60$)	1414 ± 66	780 ± 65	419 ± 41	390 ± 23	418 ± 29
t	11.23	12.48	7.62	21.06	19.54
P	<0.05	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

表 3 轻、中、重度组淋巴细胞各亚群占淋巴细胞比例及 CD4⁺/CD8⁺ 比值比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	比例(%)					CD4 ⁺ /CD8 ⁺
	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD19 ⁺	CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺	
轻度组($n=34$)	67.90 ± 3.41 ^a	31.05 ± 5.31 ^a	27.30 ± 3.90 ^a	10.52 ± 2.25	21.24 ± 2.24 ^a	0.94 ± 0.21 ^a
中度组($n=38$)	63.26 ± 6.23 ^{ab}	23.46 ± 4.27 ^{ab}	32.78 ± 6.62 ^{ab}	9.14 ± 3.23	18.90 ± 1.22 ^{ab}	0.79 ± 0.23 ^{ab}
重度组($n=38$)	59.24 ± 4.22	14.45 ± 5.71	34.23 ± 6.29	10.81 ± 4.27	15.65 ± 3.01	0.42 ± 0.33

注:与重度组比较,^a $P < 0.05$;与轻度组比较,^b $P < 0.05$

表 4 轻、中、重度组淋巴细胞各亚群绝对值比较($\bar{x} \pm s$)

组 别	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD3 ⁻ CD19 ⁺	CD3 ⁻ CD56 ⁺ CD16 ⁺
轻度组($n=34$)	906 ± 56 ^a	511 ± 67 ^a	406 ± 22 ^a	397 ± 27	547 ± 31 ^a
中度组($n=38$)	868 ± 75 ^{ab}	421 ± 55 ^{ab}	439 ± 36 ^{ab}	418 ± 31	452 ± 23 ^{ab}
重度组($n=38$)	853 ± 32	397 ± 72	456 ± 41	411 ± 26	314 ± 28

注:与重度组比较,^a $P < 0.05$;与轻度组比较,^b $P < 0.05$

3 讨 论

神经、内分泌和免疫系统相互作用、影响和协调,保证人体的身心健康,其中免疫系统起主要作用^[11]。细胞免疫在免疫应答系统中起主导作用,CD3⁺CD4⁺T 细胞与 CD3⁺CD8⁺T 细胞在抗感染、自身免疫等病理生理过程中起重要作用。B 淋巴细胞是体液免疫的主要细胞。CD3⁻CD56⁺CD16⁺ NK 细胞主要发挥免疫监视和免疫防御作用,NK 细胞除直接杀伤感染或变异细胞外,还可通过分泌、释放细胞因子如 INF- γ 、TNF- β 等,增强和促进 T 细胞的免疫功能与活化^[12]。免疫细胞通过抗原刺激,释放细胞因子、刺激细胞分泌信号、引导和调节细胞间

的相互作用,进而将免疫、内分泌与中枢神经系统相关联,影响人体的精神行为^[13]。近年有研究显示,抑郁症是一种炎症性疾病,与免疫系统的应答和失衡相关,免疫细胞分泌的细胞因子以及免疫细胞数量、比例的异常均可导致神经、内分泌和免疫系统紊乱,具体作用机制和参与其中的细胞因子还处于研究阶段^[14-15]。

CD3⁺CD4⁺T 细胞主要通过各种方式辅助、诱导其他淋巴细胞发挥免疫功能,CD3⁺CD8⁺T 细胞主要发挥免疫抑制功能,当两者都保持在一个正常范围内且处于平衡状态时,机体才能发挥正常的免疫功能。本研究结果显示,患者组的 CD3⁺CD4⁺T 细胞比例和绝对值低于对照组,CD3⁺CD8⁺T 细胞

比例和绝对值高于对照组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05),提示抑郁症患者的抗感染、自身免疫及免疫应答功能降低。同时,患者组的 $CD3^-CD56^+CD16^+$ NK 细胞比例和绝对值低于对照组($P<0.05$),提示抑郁症患者的免疫监视和防御功能降低,杀伤感染或变异细胞的能力减弱。 $CD4^+/CD8^+$ 比值是免疫调节的一项指标,本研究结果显示,患者组 $CD4^+/CD8^+$ 比值低于对照组,差异有统计学意义($P<0.05$),提示抑郁症患者的免疫功能紊乱。

进一步对不同程度抑郁症患者进行分析,结果显示,轻、中、重度组 $CD3^+$ T 细胞、 $CD3^+CD4^+$ T 细胞、 $CD3^+CD8^+$ T 细胞及 $CD3^-CD56^+CD16^+$ NK 细胞比例和绝对值差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。重度组 $CD3^+$ T 细胞、 $CD3^+CD4^+$ T 细胞、 $CD3^-CD56^+CD16^+$ NK 细胞比例和绝对值低于中、轻度组,中度组低于轻度组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05);重度组 $CD3^+CD8^+$ T 细胞比例和绝对值高于中、轻度组,中度组高于轻度组,差异均有统计学意义(P 均 <0.05)。提示不同程度抑郁症患者的淋巴细胞亚群比例和绝对值存在差异,且病情越严重,机体的抗感染、免疫应答及免疫监督等功能越弱。可为抑郁症病情的评估提供客观指标。

综上所述, $CD3^+$ T 细胞、 $CD3^+CD4^+$ T 细胞、 $CD3^-CD56^+CD16^+$ NK 细胞比例和绝对值较健康人群低,而 $CD3^+CD8^+$ T 细胞比例和绝对值较健康人群高,且不同程度抑郁症患者的 $CD3^+$ T 细胞、 $CD3^+CD4^+$ T 细胞、 $CD3^+CD8^+$ T 细胞及 $CD3^-CD56^+CD16^+$ NK 细胞比例和绝对值存在差异;抑郁症患者的 $CD3^-CD19^+$ B 细胞比例和绝对值与健康人群无差异。本研究仅对抑郁症患者的淋巴细胞亚群进行了初步分析,其具体原因和机制还需更深入的研究进一步探讨。

参考文献

- [1] 沈渔邨. 精神病学[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2009: 548.
- [2] Wohleb ES, Franklin T, Iwata M, et al. Integrating neuroimmune

- systems in the neurobiology of depression[J]. *Nat Rev Neurosci*, 2016, 17(8): 497-511.
- [3] 瞿伟,谷珊珊. 抑郁症治疗研究新进展[J]. 第三军医大学学报, 2014, 36(11): 1113-1117.
- [4] Suzuki H, Savitz J, Kent Teague T, et al. Altered populations of natural killer cells, cytotoxic T lymphocytes, and regulatory T cells in major depressive disorder: association with sleep disturbance[J]. *Brain Behav Immun*, 2017, 66: 193-200.
- [5] Koesters M, Ostuzzi G, Guaiana G, et al. Vortioxetine for depression in adults[J]. *Cochrane Database Syst Rev*, 2017, 7: CD011520.
- [6] Chen P, Jiang T, Ouyang J, et al. Depression, another autoimmune disease from the view of autoantibodies[J]. *Med*, 2009, 73(4): 508-509.
- [7] 刘艳荣. 实用流式细胞术——血液病篇[M]. 北京: 北京大学医学出版社, 2010: 327-328.
- [8] Grosse L, Hoogenboezem T, Ambrée O, et al. Deficiencies of the T and natural killer cell system in major depressive disorder: T regulatory cell defects are associated with inflammatory monocyte activation[J]. *Brain Behav Immun*, 2016, 54: 38-44.
- [9] Guan SZ, Liu JW, Fang EF, et al. Chronic unpredictable mild stress impairs erythrocyte immune function and changes T-lymphocyte subsets in a rat model of stress-induced depression[J]. *Environ Toxicol Pharmacol*, 2014, 37(1): 414-422.
- [10] Eyre HA, Lavretsky H, Kartika J, et al. Modulatory effects of antidepressant classes on the innate and adaptive immune system in depression[J]. *Pharmacopsychiatry*, 2016, 49(3): 85-96.
- [11] Wu W, Zheng YL, Tian LP, et al. Circulating T lymphocyte subsets, cytokines, and immune checkpoint inhibitors in patients with bipolar II or major depression: a preliminary study[J]. *Sci Rep*, 2017, 7: 40530.
- [12] Kipnis J, Gadani S, Derecki NC. Pro-cognitive properties of T cells[J]. *Nat Rev Immunol*, 2012, 12(9): 663-669.
- [13] Raison CL, Capuron L, Miller AH. Cytokines sing the blues: inflammation and the pathogenesis of depression[J]. *Trends Immunol*, 2006, 27(1): 24-31.
- [14] 赵素华,孔洁华,杨婵娟,等. 度洛西汀对首发抑郁症患者血清细胞因子水平的影响[J]. 中华行为医学与脑科学杂志, 2012, 21(2): 158-160.
- [15] Filiano AJ, Xu Y, Tustison NJ, et al. Unexpected role of interferon- γ in regulating neuronal connectivity and social behaviour[J]. *Nature*, 2016, 535(7612): 425-429.

(收稿日期: 2018-06-28)

(本文编辑: 唐雪莉)