

[文章编号] 1007-0893(2024)02-0082-03

DOI: 10.16458/j.cnki.1007-0893.2024.02.023

难治性肾病综合征患儿外周血 T 淋巴细胞亚群变化及其意义

李红叶 蒋文娟 张小田*

(南京医科大学附属逸夫医院, 江苏 南京 211112)

[摘要] 目的: 分析难治性肾病综合征(RNS)患儿外周血 T 淋巴细胞亚群变化及其意义。方法: 选取 2020 年 5 月至 2023 年 5 月南京医科大学附属逸夫医院收治的 150 例原发性肾病综合征(PNS)患儿为研究对象, 将其纳入观察组, 随后将其分为激素敏感组 112 例、激素耐药组(RNS 患儿) 38 例。另选取同期在南京医科大学附属逸夫医院进行健康体检儿童 60 例为对照组。测定所有研究对象的外周血簇状分化抗原(CD) 3^+ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、调节性 T 细胞(Treg)水平, 并分析不同组别之间的差异。结果: 观察组患儿与对照组 $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 、Treg 水平比较, 观察组均高于对照组; 治疗前以及治疗后, 激素敏感组与激素耐药组患儿 $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 、Treg 水平比较, 激素耐药组均高于激素敏感组; 与同组治疗前比较, 观察组、激素敏感组、激素耐药组患儿治疗后 $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 、Treg 水平均降低; 以上差异均具有统计学意义($P < 0.05$)。而 $CD4^+$ 在各组间、组内的比较中, 差异均无统计学意义($P > 0.05$)。结论: $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 、Treg 水平同 PNS、RNS 的发生发展呈现密切的关系, 在临床工作中, 可以通过监测其水平变化来评估患儿病情进展或治疗效果。

[关键词] 难治性肾病综合征; 外周血 T 淋巴细胞亚群; 原发性肾病综合征; 儿童

[中图分类号] R 726.9 **[文献标识码]** B

原发性肾病综合征(primary nephrotic syndrome, PNS)是一种以肾小球滤过功能障碍为特征的肾脏疾病, 表现为大量蛋白尿、低白蛋白血症等, 其病理机制主要涉及肾小球毛细血管壁的免疫介导损伤, 导致毛细血管壁增厚、孔隙率改变, 从而影响蛋白质的过滤^[1]。相关统计结果显示, PNS 好发于儿童, 且其中约 85% 仅为微小病变型, 通过应用糖皮质激素治疗后, 其临床疗效较为优异, 但剩余患儿则可进展为难治性肾病综合征(refractory nephrotic syndrome, RNS), 其具体可分为类固醇依赖性、类固醇抵抗性和复发性肾病综合征^[2]。从病理学角度来看, RNS 可视为 PNS 的一种临床进展形态, 两者在病理机制上具有共同点, 均涉及肾小球滤过屏障的损伤和免疫功能异常, 然而, 在治疗应答和临床管理方面, RNS 则存在更大的挑战, 通常需要更复杂的治疗策略和管理方法^[3]。目前, 临床上对于 RNS 的发病机制仍不明确, 但通常认为免疫功能紊乱是最主要的影响因素, 且也有文献指出, RNS 患儿与 T 淋巴细胞亚群之间存在密切联系, 但不同文献间存在一定矛盾, 尚未形成较为统一的定论^[4]。基于上述背景, 本研究选取南京医科大学附属逸夫医院的 PNS 患儿为研究对象, 探

究此类患儿病情发生发展、转归中, T 淋巴细胞亚群的分布变化及临床意义。

1 资料与对象

1.1 一般资料

选取 2020 年 5 月至 2023 年 5 月南京医科大学附属逸夫医院收治的 150 例 PNS 患儿为研究对象, 将其纳入观察组, 随后根据《2016 年儿童激素敏感、复发/依赖肾病综合征诊治循证指南》^[5] 将其分为激素敏感组 112 例、激素耐药组(RNS 患儿) 38 例, 并选取同期在南京医科大学附属逸夫医院进行健康体检儿童 60 例为对照组。(1) 观察组男 86 例、女 64 例; 年龄 2~13 岁, 平均(6.34±2.51)岁; 病程 1~18 个月, 平均(9.32±2.64)个月; 体质量 15~22 kg, 平均(17.87±2.96) kg, 身高 95~154 cm, 平均(108.33±6.53) cm。①激素敏感组男 64 例、女 48 例; 年龄 2~13 岁, 平均(6.25±2.42)岁; 病程 1~18 个月, 平均(9.25±2.58)个月; 体质量 15~22 kg, 平均(17.84±2.87) kg。身高 95~154 cm, 平均(108.28±6.43) cm。②激素耐药组男 22 例、女 16 例; 年龄 2~13 岁, 平均(6.38±2.48)岁;

[收稿日期] 2023-11-02

[作者简介] 李红叶, 女, 副主任医师, 主要研究方向是儿童肾脏病及儿童呼吸哮喘疾病。

[*通信作者] 张小田 (E-mail: zxt870818@163.com)

病程 1~18 个月，平均 (9.22 ± 2.55) 个月；体质量 15~22 kg，平均 (17.86 ± 2.84) kg；身高 95~154 cm，平均 (108.36 ± 6.48) cm。(2) 对照组男 34 例、女 26 例；年龄 2~13 岁，平均 (6.38 ± 2.54) 岁；体质量 15~22 kg，平均 (17.82 ± 2.91) kg；身高 95~156 cm，平均 (108.45 ± 6.57) cm。各组的一般资料比较，差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)，具有可比性。

1.2 纳入与排除标准

1.2.1 纳入标准 (1) 观察组患儿均符合原发性肾病综合症相关诊断标准^[5]；(2) 所有研究对象家属均知晓本研究并同意参与；(3) 研究对象临床资料完整。

1.2.2 排除标准 (1) 合并其他重大疾病，如癌症、乙型肝炎、严重烧伤等；(2) 合并凝血功能障碍、全身感染性疾病等；(3) 合并免疫系统疾病。

1.3 治疗方法

观察组患儿在入院后均应用醋酸泼尼松片 (上海上药信谊药厂有限公司，国药准字 H31020675) 治疗，口服，每日 1 次，每次 2 mg · kg⁻¹ · d⁻¹，连续用药 6 周后，将剂量降至隔日 1.5 mg · kg⁻¹ · d⁻¹，以 6 个月作为 1 个治疗周期，共治疗 1 个周期；其中，激素耐药组再加用 0.1 mg · kg⁻¹ 他克莫司 (杭州中美华东制药有限公司，国药准字 H20094027)，每日 2 次，并在 1 周后取血查血药浓度，并根据结果对用量进行调整，至少用药 3 个月。

1.4 T 淋巴细胞亚群水平检验

采集所有研究对象的清晨空腹静脉血 3 mL 进行检验，观察组分别在治疗前、治疗 6 个月后各取血 1 次，

血液样本以 LC-4012 离心机进行离心，离心参数设置为：转速 3000 r · min⁻¹、半径 10 cm、时间 10 min，对分离后的血液样本，将上清液弃去，以 Attune NxT 流式细胞仪检测外周血簇状分化抗原 (cluster of differentiation, CD) 3⁺、CD4⁺、CD8⁺、调节性 T 细胞 (regulatory T cells, Treg) 水平。

1.5 统计学方法

采用 SPSS 20.0 软件进行数据处理，符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示，采用 t 检验，计数资料用百分比表示，采用 χ^2 检验， $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

(1) 观察组患儿与对照组外周血 CD3⁺、CD8⁺、Treg 水平比较，观察组均高于对照组，差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)，而 CD4⁺ 比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；(2) 治疗前以及治疗后，激素敏感组患儿与激素耐药组外周血 CD3⁺、CD8⁺、Treg 水平比较，激素耐药组均高于激素敏感组，差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)，而 CD4⁺ 比较，差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；

(3) 与治疗前比较，观察组患儿治疗后 CD3⁺、CD8⁺、Treg 水平均降低，差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)，而 CD4⁺ 治疗前后差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；(4) 与同组治疗前比较，激素敏感组、激素耐药组患儿治疗后 CD3⁺、CD8⁺、Treg 水平均降低，差异均具有统计学意义 ($P < 0.05$)，而 CD4⁺ 治疗前后差异无统计学意义 ($P > 0.05$)；见表 1。

表 1 各组研究对象治疗前后淋巴细胞亚群水平比较

($\bar{x} \pm s$, %)

| 组别 | n | 时间 | CD3 ⁺ | CD4 ⁺ | CD8 ⁺ | Treg |
|-------|-----|-----|----------------------------|------------------|----------------------------|---------------------------|
| 对照组 | 60 | - | 68.14 ± 4.95 | 40.11 ± 5.04 | 24.92 ± 4.84 | 5.24 ± 1.46 |
| 观察组 | 150 | 治疗前 | 74.32 ± 4.18 ^a | 40.97 ± 4.86 | 29.14 ± 4.76 ^a | 7.95 ± 1.72 ^a |
| | | 治疗后 | 68.03 ± 4.85 ^c | 39.92 ± 4.92 | 26.71 ± 4.83 ^c | 5.16 ± 1.31 ^c |
| 激素敏感组 | 112 | 治疗前 | 71.54 ± 6.72 | 40.76 ± 6.48 | 28.05 ± 4.08 | 6.79 ± 1.16 |
| | | 治疗后 | 60.27 ± 5.86 ^c | 39.04 ± 4.93 | 23.42 ± 3.07 ^c | 4.88 ± 0.97 ^c |
| 激素耐药组 | 38 | 治疗前 | 84.36 ± 8.29 ^b | 41.53 ± 5.86 | 31.74 ± 4.93 ^b | 8.11 ± 1.14 ^b |
| | | 治疗后 | 73.68 ± 9.08 ^{bc} | 40.15 ± 5.18 | 28.79 ± 3.72 ^{bc} | 6.53 ± 1.17 ^{bc} |

注：CD—簇状分化抗原；Treg—调节性 T 细胞。

与对照组比较，^a $P < 0.05$ ；与激素敏感组同时间比较，^b $P < 0.05$ ；与同组治疗前比较，^c $P < 0.05$ 。

3 讨论

RNS 在儿科患者中的具体病理机制尚未完全阐明，但通常被认为是一个涉及多个病理生理过程的复杂情况。其中，肾小球基底膜 (glomerular basement membrane, GBM) 的结构变化是病理过程的一个重要方面。正常情况下，GBM 是肾小球滤过屏障的关键组成部分，具有特定的厚度和成分，包括主要的蛋白质如 IV 型胶原、层粘连蛋白、肾小球肽和纤维连接蛋白^[6]。而在 RNS 中，在细胞因子和趋化因子，如细胞因子如转化生长因子 β、

肿瘤坏死因子 α 和白细胞介素等作用下，激活炎症通路，使肾小球内的间质细胞活化和增生，从而合成和分泌额外的基质组分，如 IV 型胶原和纤维连接蛋白，导致 GBM 的结构和厚度改变，进而影响其对蛋白质特别是白蛋白的滤过能力，导致蛋白尿^[7]。然而，RNS 患儿中的损伤不仅限于 GBM 的结构改变。肾小球内皮细胞和足细胞也受到影响，内皮细胞的损伤可能导致滤过屏障的通透性增加，允许更多的蛋白质通过；足细胞的损伤或功能障碍进一步加剧了滤过屏障的损伤，导致大量蛋白尿

的出现^[8]。

目前临床多认为RNS的一个核心特征是异常的免疫反应。T淋巴细胞亚群是免疫机制中影响RNS发生发展的另一关键因素,在本研究中,笔者比较了PNS患儿与正常儿童的外周血CD3⁺、CD8⁺、Treg水平,发现PNS患儿的显著升高,并在经过治疗后,显著降低($P < 0.05$),这也证明了PNS与T淋巴细胞亚群之间存在密切联系。PNS患儿中CD3⁺、CD8⁺、Treg细胞水平升高反映了疾病中复杂的免疫调节异常,涉及细胞介导的免疫反应和免疫耐受的失衡。CD3⁺的升高提示成熟T细胞的总体活化增加,这可能源于肾小球的炎症刺激或自身免疫反应的激活,导致针对肾脏特异性或非特异性抗原的免疫应答增强^[9]。这种T细胞活化不仅促进炎症因子和细胞毒性分子的释放,加剧肾脏的病理损伤,还可能通过细胞因子网络影响肾小球的滤过功能,从而导致蛋白尿的产生。CD8⁺T细胞,作为主要的细胞毒性T细胞,其在PNS中的升高可能与对肾脏损伤区域的免疫应答有关。这些细胞通过释放穿孔素、颗粒酶B和Fas配体等介导靶细胞凋亡的效应分子,参与肾脏炎症和组织损伤的病理过程^[10]。Treg在PNS中的增多可能是机体试图抑制持续的免疫活化和炎症反应的一种自我调节机制,Treg细胞能通过分泌转化生长因子- β 和白细胞介素-10等免疫抑制性细胞因子,调节免疫反应,维持免疫耐受。在PNS的背景下,Treg细胞的增多可能反映了对慢性炎症状态的反应,试图限制过度免疫反应对肾脏的进一步损害^[11]。

本研究中RNS患儿外周血CD3⁺、CD8⁺、Treg水平显著高于非RNS患儿($P < 0.05$),这可能是由于RNS对常规治疗的抵抗性或频繁复发的特点,使得可伴随更加持续和慢性的免疫激活,这种长期的免疫应答可能导致更多的CD3⁺、CD8⁺持续活化和增殖,与非RNS患儿相比,这种情况则更为明显^[12]。而RNS患儿中CD8⁺水平的升高,也反映了更加强烈的细胞毒性反应,这是主要为RNS中肾脏的持续损伤和炎症状态导致的,这种状态需求致使更多的CD8⁺参与免疫调节和炎症反应,以及通过增加Treg细胞来抑制过度的炎症反应和维持免疫稳态。另外,本研究中,无论是RNS患儿还是非RNS患儿,CD4⁺水平均无变化,通过对一些文献查阅,笔者认可其原因可能是由于CD4⁺主要负责调节免疫反应,包括激活其他免疫细胞如B细胞和CD8⁺T细胞,因此其主要功能是调节而非直接攻击或响应,故水平保持在较为稳定水平^[13]。本研究结果中,激素敏感组、激素耐药组患儿在经过6个月的治疗后,其CD3⁺、CD8⁺、Treg水平,结果中,激素敏感组CD3⁺、CD8⁺、Treg平均回到正常水平,但激素耐药组CD3⁺、CD8⁺、Treg水平仍显著呈较高水平,

接近激素敏感组治疗前水平($P < 0.05$),这说明,对于此类患儿需要进行更为长期、规律的治疗。

综上所述,CD3⁺、CD8⁺、Treg水平同PNS、RNS的发生发展呈现密切的关系,在临床工作中,可以通过监测其水平变化来评估患儿病情进展或治疗效果。

[参考文献]

- [1] 刘君晗,关凤军,程巾,等. 激素敏感型肾病综合征患儿记忆T淋巴细胞亚群精细分型的临床意义[J]. 实用医学杂志, 2023, 39(4): 436-441.
- [2] 陆虎林,陈燕,杨勇,等. 体液免疫和细胞免疫在肾病综合征患者免疫发病机制的作用及对疗效的预测[J]. 中国中西医结合肾病杂志, 2023, 24(10): 910-912.
- [3] 童利红. 血清中免疫球蛋白A免疫球蛋白G免疫球蛋白M及 β 2-微球蛋白预测妊娠期肾病综合征患者妊娠结局的价值[J]. 中国妇幼保健, 2022, 37(20): 3743-3746.
- [4] 宋尧,郭恒,张超,等. 原发性肾病综合征患者免疫抑制剂的药物相互作用筛查[J]. 中南药学, 2021, 19(2): 297-301.
- [5] 中华医学会儿科学分会肾脏学组. 儿童激素敏感、复发/依赖肾病综合征诊治循证指南(2016)[J]. 中华儿科杂志, 2017, 55(10): 729-734.
- [6] 朱剑红. 环磷酰胺联合利妥昔单抗注射液治疗儿童难治性肾病综合征的临床疗效及其对肾功能、免疫功能的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2022, 15(6): 159-161.
- [7] 刘宇萌,安东. 淋巴细胞亚群检测在肾病综合征患儿免疫功能评价中的意义[J]. 中华全科医学, 2022, 20(4): 661-664, 672.
- [8] 肖婷,刘沧桑,蒋亚芬. 贝前列素钠联合免疫抑制剂治疗肾病综合征临床效果及对血清 β 2-微球蛋白、纤溶指标、凝血指标的影响[J]. 临床合理用药杂志, 2022, 15(17): 87-90.
- [9] ZHANG W, ZHANG Y, KANG L, et al. Retinal and choroidal thickness in paediatric patients with hypoalbuminaemia caused by nephrotic syndrome[J]. BMC Ophthalmology, 2019, 19(1): 12-18.
- [10] 车欣,杨慧,苗春生. 血清免疫球蛋白及补体检测水平在肾病综合征诊断中的作用研究[J]. 中国实用医药, 2023, 18(8): 76-78.
- [11] VOS E, KOSTER-KAMPHUIS L, NICOLE C, et al. Preparing for a kidney transplant: Medical nephrectomy in children with nephrotic syndrome[J]. Pediatric Transplantation, 2020, 12(5): 13703.
- [12] 黄敏,王晓霞,王晓春,等. 极低剂量利妥昔单抗治疗原发性难治性肾病综合征的疗效及对肾功能、免疫球蛋白、Toll样受体的影响[J]. 临床肾脏病杂志, 2022, 22(10): 827-833.
- [13] 赵云娟. 血清免疫球蛋白、补体C3水平与原发肾病综合征患儿疾病复发的相关性分析[J]. 中国民康医学, 2022, 34(23): 69-71.