

终末期肾病患者腹膜透析和血液透析对 NK 细胞和 T 细胞亚群的影响

孙建洁, 陈超, 石峰, 麦李明, 姚素花

中国石油天然气集团公司中心医院肾内科, 河北 廊坊 065000

摘要: **目的** 探讨终末期肾病(ESRD)患者腹膜透析(PD)和血液透析(HD)对自然杀伤(NK)细胞和 T 细胞亚群的影响。**方法** 2013 年 1 月至 12 月诊治的 25 例 ESRD 患者中 PD 组 13 例, HD 组 12 例。分别比较两组患者透析前、透析后 6 个月及 12 个月时, 患者 NK 细胞和 T 细胞亚群的变化。**结果** (1) PD 治疗组: PD 后 6、12 个月 CD3⁺、CD4⁺、CD4/CD8 较透析前均升高(P 均 < 0.05); PD 后 12 个月 CD3⁺、CD4⁺ 均高于 PD 后 6 个月(P 均 < 0.05), 但 CD4/CD8 无明显变化($P > 0.05$)。PD 后 6 个月与透析前、PD 后 12 个月相比, CD8⁺ 无统计学差异($P > 0.05$)。NK 细胞(CD16⁺/CD56⁺) 百分比在 PD 后 6、12 个月较透析前均降低(P 均 < 0.05), 且 PD 后 12 个月低于 PD 后 6 个月($P < 0.05$)。(2) HD 治疗组: HD 后 6、12 个月 CD3⁺、CD4⁺、CD4/CD8 与透析前相比均升高(P 均 < 0.05), CD8⁺ 无变化($P > 0.05$); HD 后 12 个月与 HD 后 6 个月相比 CD3⁺ 下降($P < 0.05$), CD4⁺、CD4/CD8 无变化(P 均 > 0.05); NK 细胞百分比在 HD 后 6 个月与透析前相比无差异($P > 0.05$); HD 后 12 个月较透析前及 HD 后 6 个月均降低(P 均 < 0.05)。**结论** PD 治疗对 ESRD 患者 T 细胞免疫功能的抑制低于 HD 治疗, 两种透析方法对 NK 细胞活性的降低无差别。

关键词: 终末期肾病; 腹膜透析; 血液透析; 自然杀伤细胞; T 细胞亚群

中图分类号: R 692.5 文献标识码: A 文章编号: 1674-8182(2015)05-0548-03

The influences of peritoneal dialysis and hemodialysis on NK cells and T cell subsets in patients with end-stage renal disease

SUN Jian-jie, CHEN Chao, SHI Feng, MAI Li-ming, YAO Su-hua

Department of Nephrology, China National Petroleum Corporation Central Hospital, Langfang, Hebei 065000, China

Abstract: Objective To investigate the influences of peritoneal dialysis (PD) versus hemodialysis (HD) on natural killer (NK) cells and T cell subsets in patients with end-stage renal disease (ESRD). **Methods** From January 2013 to December 2013, twenty-five patients with ESRD were divided into PD group ($n = 13$) and HD group ($n = 12$) according to dialysis methods. The changes of NK cells and T cell subsets before dialysis and 6, 12 months after dialysis were compared. **Results** In PD group, CD3⁺, CD4⁺, CD4/CD8 at 6 and 12 months after PD raised significantly compared with pre-dialysis (all $P < 0.05$); CD3⁺, CD4⁺ at 12 months after PD were higher than those at 6 months after PD (all $P < 0.05$), but CD4/CD8 remained unchanged ($P > 0.05$); the CD8⁺ among pre-dialysis, 6 and 12 months after dialysis were similar ($P > 0.05$). The percentages of NK cells (CD16⁺/CD56⁺) at 6 and 12 months after PD decreased compared with pre-dialysis (all $P < 0.05$), and it of 12 months after dialysis was lower than that of 6 months ($P < 0.05$). In HD group, CD3⁺, CD4⁺, CD4/CD8 at 6 and 12 months after HD raised significantly compared with pre-dialysis (all $P < 0.05$), while CD8⁺ remained unchanged ($P > 0.05$). Compared with 6 months after HD, CD3⁺ of 12 months after HD decreased ($P < 0.05$), while CD4⁺, CD4/CD8 remained unchanged (all $P > 0.05$). The percentage of NK cells at 6 months after dialysis was similar to pre-HD ($P > 0.05$), but it of 12 months after HD was lower than those of pre-dialysis and 6 months after HD (all $P < 0.05$). **Conclusion** The suppressive effect of PD on T cell immunologic functions is lower than that of HD, while PD and HD induced lowering of NK cells activity is similar in ESRD patients.

Key words: End-stage renal disease; Peritoneal dialysis; Hemodialysis; Natural killer cell; T cells subsets

终末期肾病(end-stage renal disease, ESRD)是慢

性肾脏病(chronic kidney disease, CKD)的病程之一。ESRD 通过腹膜透析(peritoneal dialysis, PD)或血液透析(hemodialysis, HD)进行治疗,同时应用促红细

胞生成素 (erythropoietin, EPO) 促进患者红细胞生成^[1]。本研究采用流式细胞技术,探讨 ESRD 患者进行 PD 和 HD 治疗对其 NK 细胞和 T 细胞亚群的影响,现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2013 年 1 月至 2013 年 12 月共 25 例 ESRD 患者[肾小球滤过率(GFR) < 10 ml/min]每隔 1 天行血液维持性透析。男 15 例,女 10 例。其中,动脉性高血压 5 例,肾小球肾炎 10 例,肾囊肿病 10 例;伴 2 型糖尿病 10 例。根据美国肾脏病基金会制定的肾脏疾病预后质量倡议 (KDOQI)^[2],所有研究对象患有 CKD,预测 GFR < 10 ml/min,并且 1 周 3 次行 PD 或 HD 维持治疗。25 例中 PD 组 13 例,HD 组 12 例。入选标准:年龄 > 18 周岁,确诊为 CKD 患者,同时透析充分,近 1 个月没有感染,检测前至少 4 周能进行稳定的临床和功能状态检测。排除标准:(1)心血管疾病,器质性心脏病;(2)肝脏疾病或其他免疫性疾病;(3)神经肌肉疾病;(4)有胸部或腹部手术史;(5)胸膜疾病;(6)感染或营养不良;(7)恶病质[体质指数(BMI) < 18 kg/m²];(8)未行免疫治疗。本研究经医院伦理委员会批准。所有患者均签署知情同意书。

1.2 透析充分的定义 无尿毒症症状,无水肿,良好的血压控制,正常的神经传导速度,未用 EPO 时红细胞压积(Hct) > 25%^[3]。

1.3 标本收集 透析置管前、透析后 6 个月、透析后 12 个月采血,置入含 EDTA(乙二胺四乙酸二钠)的试管中。采血时间为早上 8:00~9:00。2 h 内进行实验检测。

1.4 自然杀伤(NK)细胞(CD16⁺/CD56⁺)和 T 细胞亚群的检测 5 支流式试管标为 1~5,分别置入 100 μl EDTA 血,轻轻混匀,分别加入 20 μl 双标 Iso-type Control(Mouse IgG1/IgG2a)、CD3/CD19、CD3/CD4、CD3/CD8、CD3/CD16⁺ CD56 荧光抗体。室温避光保存 20 min。取出试管分别加入 10 倍稀释了的 1 × FACS Lysing Solution 红细胞裂解液 2 ml,涡旋混匀,室温避光反应至管内透明。300 g 离心 5 min,弃上清。PBS 缓冲液继续冲洗 2 遍。上机分析。

1.5 统计学方法 流式细胞仪采集和分析数据均用 Cellquest 软件,结果以 CD3、CD4、CD8、CD16 阳性细胞数占总的淋巴细胞的百分比表示,并计算 CD4/CD8。采用 SPSS 11.0 统计软件包进行统计分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较使用独立样本 *t* 检验;

不同时间的比较采用方差分析,多重比较采用 *q* 检验。*P* < 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PD 组和 HD 组透析前相关指标比较 PD 组和 HD 组透析前有关临床资料相比,差异均无统计学意义(*P* 均 > 0.05)。见表 1。

2.2 ESRD 患者 PD 治疗和 HD 治疗后各免疫细胞状态

2.2.1 PD 治疗组 PD 后 6、12 个月 CD3⁺、CD4⁺、CD4/CD8 均较透析前升高(*P* 均 < 0.05);PD 后 12 个月 CD3⁺、CD4⁺ 均高于 PD 后 6 个月(*P* 均 < 0.05),但 CD4/CD8 无明显变化(*P* > 0.05)。PD 后 6 个月与透析前、PD 后 12 个月相比,CD8⁺ 无统计学差异(*P* > 0.05)。NK 细胞百分比在 PD 后 6、12 个月较透析前均降低(*P* 均 < 0.05),PD 后 12 个月低于 PD 后 6 个月(*P* < 0.05)。见表 2。

2.2.2 HD 治疗组 HD 后 6、12 个月分别与透析前相比 CD3⁺、CD4⁺、CD4/CD8 均升高(*P* 均 < 0.05),CD8⁺ 无变化(*P* > 0.05);HD 后 12 个月与 HD 后 6 个月相比 CD3⁺ 下降(*P* < 0.05),CD4⁺、CD4/CD8 无变化(*P* > 0.05);NK 细胞百分比在 HD 后 6 个月与透析前相比无差异(*P* > 0.05);HD 后 12 个月与透析前相比降低(*P* < 0.05);HD 后 12 个月较透析前、HD 后 6 个月均降低(*P* 均 < 0.05)。见表 2。

2.2.3 两组透析前后免疫细胞差值变化 透析前,PD 和 HD 组的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4/CD8、CD16⁺/CD56⁺ 无明显差异(*P* 均 > 0.05)。透析前与透析后 12 个月之差值来看,淋巴细胞减少总的差别不大。与 HD 组比,PD 组 CD4⁺ 下降较多(*P* < 0.05),CD8⁺、CD4/CD8 下降较少(*P* 均 < 0.05),CD16⁺/CD56⁺ 差别不大(*P* > 0.05)。见表 2。

表 1 两组患者透析前临床各项指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	PD(<i>n</i> = 13)	HD(<i>n</i> = 12)	<i>P</i> 值
年龄(岁)	52.0 ± 11.0	56.0 ± 12.0	>0.05
身高(cm)	161.0 ± 0.3	167.0 ± 0.2	>0.05
Hct(%)	37.0 ± 3.0	37.0 ± 4.0	>0.05
尿素氮(mg/dl)	141.0 ± 26.0	142.0 ± 25.0	>0.05
血肌酐(mg/dl)	10.0 ± 2.0	10.0 ± 2.0	>0.05
血钾(mg/dl)	5.5 ± 0.5	6.0 ± 0.6	>0.05
血钙(mg/dl)	10.0 ± 0.5	9.0 ± 0.7	>0.05
体重(kg)	74.0 ± 12.0	73.0 ± 12.0	>0.05
BMI(kg/m ²)	26.0 ± 3.0	25.0 ± 4.0	>0.05
mMRC(acc)	2.0 ± 0.8	2.1 ± 0.7	>0.05

注:Hct:红细胞压积;mMRC:改良的英国医学研究委员会呼吸困难量表。

表 2 两组 ESRD 患者透析前后各免疫细胞状态 ($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4/CD8	CD16 ⁺ /CD56 ⁺ (%)
PD	透析前	55.74 ± 3.58	31.64 ± 2.58	23.27 ± 2.19	1.38 ± 0.15	20.81 ± 2.33
	6 个月	62.32 ± 2.79 [*]	35.54 ± 2.19 [*]	23.23 ± 1.88	1.55 ± 0.16 [*]	18.75 ± 3.77 [*]
	12 个月	60.54 ± 3.55 ^{*#}	35.67 ± 2.77 [*]	23.15 ± 2.21	1.57 ± 0.21 [*]	15.74 ± 3.81 ^{*#}
	透析前后差值 ^a	4.81 ± 1.46	4.02 ± 1.24	0.21 ± 1.01	0.20 ± 0.08	4.87 ± 1.58
HD	透析前	58.90 ± 2.10	34.70 ± 1.70	24.80 ± 1.30	2.30 ± 1.11	20.12 ± 7.13
	6 个月	67.06 ± 7.24 [*]	38.79 ± 5.34 [*]	24.45 ± 7.26	2.53 ± 0.53 [*]	20.31 ± 6.19
	12 个月	61.44 ± 3.45 ^{*#}	36.51 ± 2.67 [*]	22.25 ± 2.11	2.65 ± 1.10 [*]	15.84 ± 3.91 ^{*#}
	透析前后差值 ^a	2.87 ± 1.34	1.96 ± 1.18 [△]	2.57 ± 0.67 [△]	0.82 ± 0.05 [△]	4.92 ± 1.91

注:与透析前相比,^{*} $P < 0.05$;与透析后 6 个月相比,[#] $P < 0.05$;与 PD 组相比,[△] $P < 0.05$;^a透析前后差值:指透析前与透析后 12 个月的差值。

3 讨论

ESRD 患者经 PD 或 HD 治疗,T 细胞免疫功能受抑制,NK 细胞活性降低,增加了 HD 患者肿瘤的易感性。Zaza 等^[4]的研究结果提示,HD 患者与非透析 CKD 患者相比,呈现出不同的免疫模式。基因中的一些编码为参与细胞毒性效应的淋巴细胞的增殖/激活和免疫-炎症性反应中重要的生物分子。Meijers 等^[5]认为,尿毒症引起 ESRD 患者的 T 细胞过早老化。Mansouri 等^[6]通过研究 CKD 与健康人的 T 细胞的刺激增殖反应,认为 T 细胞不能产生细胞因子。因此,T 细胞免疫功能受到抑制。贾保祥等^[7]的研究结果显示,HD 治疗患者 NK 细胞活性程度高于正常人。因此,PD 或 HD 均降低患者的免疫功能。

本研究显示,PD 及 HD 治疗后较透析前 CD3⁺ 细胞百分比升高,与 Mansouri 等^[6]的研究结果相似。CD4⁺ 较透析前升高,与 Lang 等^[8]的研究结果相似,可能是由于 ESRD 患者 Th 细胞增殖分化增多之故。CD4⁺ 细胞可有效消除细胞内的病原体,并有促炎作用,产生免疫球蛋白。CKD 中,CD4⁺ CD25⁺ Foxp3 的 T 细胞过度活化,但功能受损^[9]。较透析前相比,CD8⁺ 细胞百分比变化不明显。CD8⁺ T 细胞主要负责清除靶细胞。因此,PD 或 HD 对 CD8⁺ 细胞数量影响不大。

Heaf 等^[10]20 年的回顾性研究表明,PD 患者的存活率高于 HD 患者,且不是由于透析原因导致,而是由于透析方式导致。本研究结果亦显示,PD 治疗对 T 细胞免疫功能的抑制比 HD 低。

综上所述,ESRD 患者行 PD 或 HD 治疗,可使 T 细胞免疫功能受抑制,透析过程未能有效地改善患者 T 细胞免疫功能,且降低了 NK 细胞活性;但 PD 治疗对 T 细胞免疫功能的抑制比 HD 轻,NK 细胞活性降

低两种透析方式则无差别。

参考文献

- [1] Craig RG. Periodontal therapy is associated with decreased risk of developing end-stage renal disease-A study using the Taiwan National Health Insurance Database[J]. J Evid Based Dent Pract, 2014, 14(2):62-64.
- [2] Slinin Y, Guo H, Gilbertson DT, et al. Meeting KDOQI guideline goals at hemodialysis initiation and survival during the first year [J]. Clin J Am Soc Nephrol, 2010, 5(9):1574-1581.
- [3] 陈胜芳, 崔春黎, 马骏, 等. 血清 NT-pro-BNP 水平与腹膜透析患者营养状况和残余肾功能及透析充分性的关系[J]. 同济大学学报(医学版), 2012, 33(4):63-67, 99.
- [4] Zaza G, Granata S, Rascio F, et al. A specific immune transcriptomic profile discriminates chronic kidney disease patients in predialysis from hemodialyzed patients[J]. BMC Med Genomics, 2013, 6:17.
- [5] Meijers RW, Litjens NH, de Wit EA, et al. Uremia causes premature ageing of the T cell compartment in end-stage renal disease patients [J]. Immun Ageing, 2012, 9(1):19.
- [6] Mansouri L, Paulsson JM, Moshfegh A, et al. Leukocyte proliferation and immune modulator production in patients with chronic kidney disease[J]. PLoS One, 2013, 8(8):e73141.
- [7] 贾保祥, 武俊杰, 刘宏, 等. 化学发光法检测血液透析患者细胞免疫功能的研究[J]. 中华器官移植杂志, 1995, 16(4):172-173, 190.
- [8] Lang CL, Wang MH, Hung KY, et al. Correlation of interleukin-17-producing effector memory T cells and CD4⁺ CD25⁺ Foxp3 regulatory T cells with the phosphate levels in chronic hemodialysis patients [J]. ScientificWorldJournal, 2014, 2014:593170.
- [9] Hendriks TK, van Gurp EAFJ, Mol WM, et al. End-stage renal failure and regulatory activities of CD4⁺ CD25^{bright} FoxP3⁺ T-cells [J]. Nephrol Dial Transplant, 2009, 24(6):1969-1978.
- [10] Heaf JG, Wehberg S. Relative survival of peritoneal dialysis and haemodialysis patients; effect of cohort and mode of dialysis initiation [J]. PLoS One, 2014, 9(3):e90119.

收稿日期:2015-01-09 修回日期:2015-03-05 编辑:王国品