

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2015.12.011

CHC 患者外周血 T 细胞免疫功能与丙型肝炎病毒表达的关系*

栗群英,梁明莉,陈莉,吴丽娟[△],刘毓刚,刘彤,谢静,胡宗海,曲远青
(成都军区总医院实验医学中心/高湿医学全军重点实验室,四川成都 610083)

[摘要] **目的** 探讨慢性丙型肝炎(CHC)患者外周血 T 细胞免疫功能与丙型肝炎病毒(HCV)复制及核心抗原(HCV-cAg)表达的关系。**方法** 采用流式细胞术、荧光定量 PCR 和 ELISA 对 63 例健康体检者(对照组)和 85 例 CHC 患者(CHC 组)的外周血 T 淋巴细胞亚群、血清 HCV-RNA 和 HCV-cAg 进行测定。**结果** CHC 组总 T 细胞、T4 细胞、T8 细胞、双阴性细胞(DNT)、双阳性细胞(DPT)水平依次为(67.37±10.43)%、(37.11±10.28)%、(21.63±8.87)%、(7.80±4.57)%、(0.20±0.29)%,T4/T8 比值为(2.18±1.26)%,绝对水平依次为(0.70±0.44)×10⁹/L、(0.37±0.22)×10⁹/L、(0.22±0.17)×10⁹/L、(0.08±0.06)×10⁹/L 和(0.19±0.68)×10⁷/L;CHC 患者 T8 细胞水平显著减少($P<0.01$),致使 T4/T8 比值升高($P<0.05$);CHC 患者总 T 细胞、T4 细胞、T8 细胞和 DNT 的绝对值均显著减少($P<0.05$);HCV-RNA 和 HCV-cAg 阳性时,T4 细胞和 DNT 水平显著升高($P<0.05$)。**结论** CHC 患者 HCV 复制表达时,患者 T 细胞亚群存在明显异常,T 细胞免疫功能低下或免疫耐受是 CHC 迁延难愈的重要原因。

[关键词] 丙型肝炎;T 细胞亚群;流式细胞术;聚合酶链反应
[中图分类号] R446.63 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-8348(2015)12-1620-03

Relationship between immune function of T cells in peripheral blood and expression of hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis C*

Li Qunying, Liang Mingli, Chen Li, Wu Lijuan[△], Liu Yugang, Liu Tong, Xie Jing, Hu Zonghai, Qu Yuanqing
(Center of Clinical Laboratory Medicine, General Hospital of Chengdu Military Region/ PLA Key Laboratory of High Humidity Medicine, Chengdu, Sichuan 610083, China)

[Abstract] **Objective** To explore the relationship between the immune function of T cells in peripheral blood with the virus replication and hepatitis C virus(HCV)-cAg expression in the patients with chronic hepatitis C(CHC). **Methods** Peripheral blood T lymphocytes subpopulation, HCV-RNA and HCV core antigen (HCV-cAg) in 63 healthy people undergoing the physical examination (control group) and 85 cases of CHC(CHC group) were analyzed by the flow cytometry, real-time PCR and ELISA, respectively. **Results** The percentages of total T cells, T4 cells, T8 cells, double negative T cells (DNT) and double positive T cells (DPT) in the CHC group were (67.37±10.43)%, (37.11±10.28)%, (21.63±8.87)%, (7.80±4.57)% and (0.20±0.29)%, respectively, the absolute contents were in turn (0.70±0.44)×10⁹/L, (0.37±0.22)×10⁹/L, (0.22±0.17)×10⁹/L, (0.08±0.06)×10⁹/L and (0.19±0.68)×10⁷/L, respectively. The ratio of T4/T8 was (2.18±1.26)%. The results indicated that the percentage of T8 cells in the CHC patients was decreased obviously($P<0.01$), which resulted in the ratio of T4/T8 raising($P<0.05$); meanwhile, the absolute contents of the total T cells, T4 cells, T8 cells and DNT were all decreased obviously($P<0.05$); moreover, the percentage of T4 cells and DNT in the patients with HCV-RNA positive and HCV-cAg positive was significantly increased ($P<0.05$). **Conclusion** When HCV replicating in the patients with CHC, the T lymphocyte subpopulation has obvious abnormality. The low immune function or immune tolerance of T cells may be the important cause of recurrence and incurability of CHC.

[Key words] hepatitis C; T-lymphocyte subsets; flow cytometry; polymerase chain reaction

慢性丙型肝炎(chronic hepatitis C, CHC)是由丙型肝炎病毒(hepatitis C virus, HCV)感染引起的一种复杂的病理过程。中国普通人群抗-HCV 阳性检出率达 3.2%,约 80%的 HCV 感染者发展为慢性肝炎,进行性肝脏损害、纤维化及肝硬化,15%发展为肝癌,已严重危害人民的生命健康^[1]。细胞免疫功能异常可能是造成病毒持续感染的主要原因之一,尤其是 T 淋巴细胞数量和功能的异常^[2]。但对双阴性细胞(double negative T cell, DNT)和双阳性细胞(double positive T cell, DPT)的研究国内相关报道尚少。本文对 HCV 感染患者外周血 T 淋巴细胞亚群、DNT、DPT 及血清中 HCV-RNA、HCV 核

心抗原(HCV-cAg)的检测,探讨 CHC 患者的免疫功能改变,为临床患者的发病机制、病情判断、疗效监测及防治提供理论依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选择 2012 年 1 月至 2013 年 1 月本院收治的 CHC 患者 97 例,诊断标准符合 2000 年(西安)全国第 10 次病毒性肝炎及肝病学术会议修订的《病毒性肝炎防治方案》^[3],排除自身免疫性疾病、艾滋病、梅毒及其他型肝炎患者 12 例,入选 CHC 组 85 例,男 41 例,女 44 例,年龄 19~80 岁,平均 52.87 岁。根据 HCV 感染者血清中 HCV-cAg 检出模式分为

* 基金项目:国家自然科学基金青年基金资助项目(81301445)。 作者简介:栗群英(1958—),副主任技师,大学本科,主要从事细胞免疫学研究。 △ 通讯作者, Tel: (028)86571052; Email: wulijuan1638@126.com。

2 组,即 HCV-cAg 阴性组和 HCV-cAg 阳性组;根据 HCV 感染者血清中 HCV-RNA 载量水平,分为 3 组,即 RNA 阴性组($<10^3$ copy/mL)、低拷贝组($10^3\sim10^4$ copy/mL)和高拷贝组($10^5\sim10^8$ copy/mL)。对照组为同期体检人群中被证实的健康个体 63 例,所有纳入者均无慢性疾病及 1 个月内无急性疾病,男 33 例,女 30 例,年龄 1~77 岁,平均 48.00 岁,性别及年龄与 CHC 组比较,差异无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂 T 淋巴细胞亚群、DNT 及 DPT 的检测试剂包括同型对照抗体 IgG1-FITC/IgG1-PE/IgG1-PC5、测定抗体 CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PC5、标本预处理试剂、鞘液等均为美国 BECKMAN-COULTER 公司产品,仪器为美国 BECKMAN-COULTER 公司 XL4-MCL 型流式细胞仪。HCV-cAg 检测试剂由山东莱博生物科技有限公司提供,仪器为上海热电仪器公司生产 Multiskan-Mk3 型酶标仪及上海新波公司 EGATE2310 型洗板机。HCV-RNA 检测试剂由中山大学达安基因股份有限公司提供,仪器为该公司的 DA7600 型核酸扩增仪。

1.2.2 流式 T 淋巴细胞亚群检测 以乙二胺四乙酸二钾

(EDTA-K₂)抗凝管(紫头真空采血管)采集患者静脉血约 2 mL,立即检验;采用双平台法三色流式细胞术、SSC/FSC 设门淋巴细胞,分析总 T 细胞(CD3⁺)、T4 细胞(CD3⁺ CD4⁺)、T8 细胞(CD3⁺ CD8⁺)、DNT(CD3⁺ CD4⁻ CD8⁻)、DPT(CD3⁺ CD4⁺ CD8⁺)、NK 细胞(CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺)的水平和绝对值,并计算 T4/T8 细胞比值。具体检测方法见参考文献[4]执行。

1.2.3 抗-HCV、HCV-cAg 及 HCV-RNA 载量检测 采用 ELISA 法检测抗-HCV、HCV-cAg;采用荧光定量 PCR 法检测 HCV-RNA 载量,均严格按照试剂说明书步骤进行。

1.3 统计学处理 数据采用 SPSS18.0 统计软件进行分析,计量资料用 $\bar{x}\pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料用率表示,组间比较采用方差分析,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 两组对象外周血 T 细胞亚群水平的比较 与对照组比较,CHC 组患者 T8 细胞比例明显减少($P<0.01$),T4/T8 比值升高($P<0.01$);总 T 细胞、T4 细胞、T8 细胞和 DNT 绝对值明显减少($P<0.01$),见表 1、2。

表 1 两组对象外周血 T 细胞亚群水平比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	总 T 细胞	T4 细胞	T8 细胞	T4/T8	DNT	DPT
对照组	63	68.94±6.01	35.13±4.86	25.64±3.76	1.35±0.25	7.20±2.62	0.15±0.17
CHC 组	85	67.37±10.43	37.11±10.28	21.63±8.87 ^a	2.18±1.26 ^a	7.80±4.57	0.20±0.29

^a: $P<0.01$,与对照组比较。

表 2 两组对象外周血 T 细胞亚群绝对值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	总 T 细胞($\times 10^9$ /L)	T4 细胞($\times 10^9$ /L)	T8 细胞($\times 10^9$ /L)	DNT($\times 10^9$ /L)	DPT($\times 10^7$ /L)
对照组	63	1.14±0.43	0.57±0.22	0.44±0.18	0.13±0.07	0.22±0.27
CHC 组	85	0.70±0.44 ^a	0.37±0.22 ^a	0.22±0.17 ^a	0.08±0.06 ^a	0.19±0.68

^a: $P<0.01$,与对照组比较。

表 3 各组血清不同 HCV-cAg 检出模式及其外周血 T 细胞亚群水平比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	总 T 细胞	T4 细胞	T8 细胞	T4/T8	DNT	DPT
对照组	63	68.94±6.01	35.13±4.86	25.64±3.76	1.35±0.25	7.20±2.62	0.15±0.17
HCV-cAg 阴性组	65	67.71±10.54	36.78±10.59	21.42±9.25 ^b	2.18±1.38 ^b	7.46±4.21	0.22±0.32
HCV-cAg 阳性组	19	66.46±10.49	38.29±9.62 ^a	18.02±7.37 ^b	2.22±0.80 ^b	9.06±5.71 ^a	0.16±0.11
RNA 阴性组	23	65.32±9.64 ^a	37.64±11.48	18.04±7.53 ^b	2.56±1.56 ^b	7.00±3.70	0.16±0.13
低拷贝组	17	66.71±9.59	39.01±11.15 ^a	20.82±9.50 ^{bd}	2.39±1.50 ^b	6.98±5.66 ^d	0.36±0.53 ^{be}
高拷贝组	30	68.61±10.01	37.67±7.48 ^a	21.87±7.60 ^{bd}	1.86±0.76 ^{bcd}	8.16±4.50 ^d	0.17±0.21

^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,与对照组比较;^c: $P<0.05$,与 RNA 阴性组比较;^d: $P<0.05$,^e: $P<0.01$,与 HCV-cAg 阳性组比较。

表 4 各组血清不同 HCV-cAg 检出模式及其外周血淋巴细胞亚群绝对值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	总 T 细胞($\times 10^9$ /L)	T4 细胞($\times 10^9$ /L)	T8 细胞($\times 10^9$ /L)	DNT($\times 10^9$ /L)	DPT($\times 10^7$ /L)
对照组	63	1.14±0.43	0.57±0.22	0.44±0.18	0.13±0.07	0.22±0.27
HCV-cAg 阴性组	65	0.69±0.45 ^b	0.37±0.23 ^b	0.22±0.18 ^b	0.08±0.07 ^b	0.21±0.78
HCV-cAg 阳性组	19	0.72±0.41 ^b	0.37±0.20 ^b	0.20±0.12 ^b	0.09±0.05 ^a	0.11±0.16
RNA 阴性组	23	0.72±0.41 ^b	0.37±0.20 ^b	0.20±0.12 ^b	0.09±0.05 ^a	0.11±0.16
低拷贝组	17	0.84±0.56 ^{acd}	0.48±0.32 ^{bcd}	0.23±0.17 ^{bd}	0.08±0.08 ^a	0.51±0.14
高拷贝组	30	0.77±0.45 ^{bcd}	0.39±0.20 ^{bd}	0.26±0.18 ^{bcd}	0.09±0.06 ^b	0.17±0.35

^a: $P<0.05$,^b: $P<0.01$,与对照组比较;^c: $P<0.05$,与 RNA 阴性组比较;^d: $P<0.05$,与 HCV-cAg 阳性组比较。

2.2 各组对象不同 HCV-cAg 检出模式及其外周血 T 细胞亚群的比较 与对照组比较,HCV-cAg 阴性组和 HCV-cAg 阳性组的 T8 细胞水平及绝对值均明显减少($P<0.01$),T4/T8 比值均明显升高($P<0.01$);总 T 细胞、T4 细胞、T8 细胞和 DNT 的绝对值均明显减少($P<0.05$);HCV-cAg 阳性组和 HCV-RNA 阳性高拷贝组,T4 细胞及 DNT 水平均显著增加($P<0.05$);RNA 阴性组,低拷贝组和高拷贝组的 T8 细胞水平及绝对值均明显减少($P<0.01$),T4/T8 比值均明显增加($P<0.01$),总 T 细胞、T4 细胞和 DNT 的绝对水平均显著减少($P<0.05$)。85 例 CHC 患者中,1 例未检测 HCV-cAg,15 例未检测 HCV-RNA。见表 3、4。

3 讨 论

HCV 感染引起机体细胞免疫系统改变是医学界关注的热点,T 淋巴细胞作为机体主要免疫细胞在 HCV 感染中所起的作用更是倍受国内外学者青睐。HCV 感染机体导致 CHC 发生,引起体内 T 细胞免疫功能改变,探讨 T 细胞变化与体内 HCV 表达之间的关系,对于 CHC 治疗流程的建立尤为重要。研究证实,病原体进入机体后将引发一系列的免疫效应,免疫效应主要是由 T 细胞不同亚群发挥功能而实现。正常情况下,T4 和 T8 细胞相互诱导、相互制约,形成 T 细胞网络以调节免疫功能和维持免疫稳态,任何一种 T 细胞亚群的水平改变,都将导致免疫功能状态的改变^[5-6]。

HCV 感染引起患者细胞免疫应答中,T4 细胞、T8 细胞及 DNT 都起着重要的作用。目前一般认为 T4 细胞主要对 HCV 抗原产生应答,激活的 T4 细胞以释放 IL-2,促进 B 细胞分化产生相应抗体抵御 HCV 的入侵^[7];T8 细胞主要作用是清除感染病毒,但是执行清除任务是对被感染的靶细胞和病毒一起执行清除处理的,因而在清除病毒的同时会造成肝细胞损伤,为引起肝脏炎症的主要淋巴细胞^[8];DNT 是近年来新发现的一群免疫调节性 T 细胞,具有免疫抑制功能,通过清除同种同源性 T8 细胞和产生白细胞介素 4(IL-4)和 IL-10 等途径发挥抑制性免疫调节作用^[6]。

本研究显示,CHC 患者外周血的 T8 细胞水平及总 T 细胞、T4 细胞、T8 细胞和 DNT 的绝对值均明显低于对照组($P<0.01$),T4/T8 比值则明显高于对照组($P<0.01$)。CHC 患者 T8 细胞比例下降,不利于产生强的特异性细胞病毒 T 淋巴细胞反应,提示特异性抗病毒免疫功能不能达到有效地清除病毒的水平,造成病毒持续复制,病情迁延,同时加重了丙型肝炎慢性化趋势,与金波等^[9]的报道一致。本研究中,根据 CHC 患者血清 HCV-cAg 检出不同模式,对病毒与细胞免疫功能变迁之间的关系进行了调查,发现 HCV-cAg 阳性组 T4 细胞及 DNT 所占比例明显高于对照组($P<0.05$),提示血液中 DNT 细胞异常增高可能参与 CHC 的发生、发展过程,与梁骑等^[10]的报道一致。本研究推测 DNT 细胞升高旨在抑制 T8 细胞,使机体杀病毒细胞免疫功能降低,导致病毒持续感染(感染慢性化),患者病情加重;另一原因可能是感染 HCV 后,T8 细胞聚集肝组织杀病毒导致血液中的 T8 细胞急剧减少,DNT 加速增生对 T8 细胞减少进行补偿。但是,对慢性 HCV 感染者而言,截至目前 DNT 升高的确切作用与机制仍然不明。考虑到 HCV-cAg 是 HCV 感染者体内出现的早期感染性标志^[11],HCV-cAg 阳性检出可能是 HCV 反复感染的原因之一。本文进一步研究了病毒复制程度与细胞免疫功能的关系,发现低拷贝组的 T4 细胞及 DPT 所占比例明显高于对照组($P<0.01$),提示 DPT 的异常表达可能参与 CHC 的发生、发展过程,与

Nascimbeni 等^[12]关于 HCV 感染者往往有 DPT 在血液和肝脏中比例升高的报道一致,推测 DPT 在 T 淋巴细胞中的比例增高与 DNT 增高原因相同,但 DPT 增高的确切作用机制目前仍然不清。低拷贝组和高拷贝组与 RNA 阴性组 T 细胞亚群绝对值比较,差异有统计学意义($P<0.05$),但前二者比较差异无统计学意义($P>0.05$),说明 CHC 患者的免疫功能与血清 HCV-RNA 的表达有显著相关性,而与病毒载量水平高低无相关性,因此 CHC 患者血清 HCV-RNA 表达可能是 HCV 持续感染和免疫耐受的重要原因之一。张武英等^[13]则认为 CHC 患者 HCV-RNA 的表达水平升高,可能是导致 T 淋巴细胞应答能力下降的重要原因。而 HCV-RNA 高表达和低表达的 CHC 患者均较 HCV-cAg 阳性的 CHC 患者 T8 细胞下降幅度更低,这可能提示 HCV 反复感染较 HCV-RNA 拷贝数对 T8 抑制作用更明显,更易导致慢性化。在大多数 HCV 感染慢性化患者中,HCV-RNA 水平降低是逐渐呈现的,最后趋于稳定,晚期患者 HCV-RNA 水平很低,甚至无法测出来;HCV-RNA 易被血细胞中的 RNA 酶降解,如果被检标本保存不当(例如反复冻融)也将出现阴性检测结果;HCV-RNA 还受进食的影响,易与血中脂质及脂蛋白结合,降低检出率^[11]。

综上所述,HCV 感染可导致感染者细胞免疫功能改变,CHC 患者 HCV 感染后在体内表达程度不同,其 T 淋巴细胞各亚群存在的紊乱程度也不同;HCV-cAg 阳性检出可能是 HCV 反复感染的原因之一,HCV-RNA 表达可能是 HCV 持续感染和免疫耐受的重要原因之一,而 HCV 持续感染是丙型肝炎迁延不愈的重要原因^[14];HCV 反复感染和持续感染患者的淋巴细胞亚群发生变化,加重了丙型肝炎的慢性化。流式细胞学技术检测 T 淋巴细胞亚群有助于临床 CHC 患者的诊断、病情判断及疗效监测。

参考文献

[1] 成军. 丙型肝炎病毒致病的分子生物学机制[J]. 解放军医学杂志,2003,28(1):23-27.
[2] 陈淑兰,边静,张峰,等. 慢性丙型肝炎患者的细胞免疫功能[J]. 医学研究与教育,2009,26(6):8-10.
[3] 中华医学会传染病与寄生虫病学分会,肝病学分会. 病毒性肝炎防治方案[J]. 传染病信息,2000,13(4):141-150.
[4] 吴丽娟. 临床流式细胞学检验技术[M]. 北京:人民军医出版社,2010:78-124.
[5] 张丁丁,钟冬梅. 抗核小体抗体在系统性红斑狼疮中的应用[J]. 中国现代医生,2009,47(23):23-24.
[6] Pradhan VD,Patwardhan MM,Ghosh K. Anti-nucleosome antibodies as a disease marker in systemic lupus erythematosus and its correlation with disease activity and other auto antibodies [J]. Indian J Dermatol Venereol Leprol,2010,76(2):145-149.
[7] Ulsenheimer A,Gerlach JT,Gruener NH,et al. Detection of functionally altered hepatitis C virus-specific CD4 T cells in acute and chronic hepatitis C[J]. Hepatology, 2003,37(5):1189-1198.
[8] Manfras BJ,Weidenhach H,Beckh KH,et al. Oligoclonal CD8(+)T-cell expansion in patients with chronic hepatitis C is associated with liver pathology and poor response to interferon-alpha therapy[J]. J Clin Immunol,2004,24 (3):258-2571.
[9] 金波,王慧芳,王福生,等. 慢性丙型肝炎(下转第 1625 页)

例;(2)肺复张的过程在时间上有一定的持续性,在不同时间段使肺泡得到逐渐的开放,在较长的屏气时间下,肺泡稳定性在较长的屏气时间下通过肺复张得到增加,随着肺的气道阻力下降,保持开放状态,增加了肺的顺应增加,而改善了肺的顺应性,利于进一步改善氧合,纠正组织缺氧^[10-12]。

本文中,ARDS 患者血流动力学指标监测显示患者 CI、CO 值正常,但是 EVLWI 值较正常值高,表明两组患者心功能正常,但存在非心源性水肿症状,原因可能由于腹部外伤患者创伤容易发生细菌移位以及肠道功能紊乱,导致患者体内的各种体液因子以肺部作为靶器官所引起。观察者采用控制液体输注、注射小剂量利尿剂等措施维持患者液体负平衡,结果显示患者 EVLWI 值下降更明显,肺水肿症状改善显著,肺功能改善效果明显,平均通气时间更短,可明显降低呼吸机支持强度,表明维持液体负平衡对腹部外伤并 ARDS 患者有积极意义^[13-15]。可能有如下原因:(1)液体负平衡时,患者液体出量大于进量,使患者体内多余水分明显减少,使肺水肿症状得到有效控制;(2)肺水肿症状改善后,肺部环境不利于细菌生长,肺部感染可得到明显控制,加强了患者的抗感染能力;(3)液体负平衡可降低 $P(A-a)O_2$, 提高氧分压,使机制氧合指数提高,改善患者肺间质,可恢复肺泡弹性;(4)液体负平衡还可使患者血浆蛋白水平相对增加,肺血管吸入血管外液体增多,肺间质胶体物质沉积减少,有效保护肺间质结构的完整性,有利于肺功能改善。本文中,液体负平衡的程度对腹部损伤并 ARDS 患者的肺功能影响未进行分析,有待进一步研究。

综上所述,腹部损伤并 ARDS 治疗中,保持患者液体负平衡,可降低呼吸机的支持强度,缩短呼吸机的使用时间,改善肺部感染及氧合,对患者肺功能保护较好,值得临床推广使用。

参考文献

- [1] 吴慧慧. 液体负平衡对腹部外伤并 ARDS 肺功能保护的临床研究[J]. 临床肺科杂志, 2013, 18(9): 1579-1581.
- [2] 谢慧玲. 急性呼吸窘迫综合征患者液体管理体会[J]. 广东医学, 2012, 33(22): 3463-3464.
- [3] 邹锐. 急性呼吸窘迫综合征 40 例治疗体会[J]. 吉林医学, 2013, 34(17): 3389-3390.
- [4] 章富莲. 新液体管理方法的研究与护理对 ARDS 患者机械通气的影响[J]. 护士进修杂志, 2010, 25(15): 1428-1429.
- [5] 黄会英, 李晓民. 急性肺损伤及急性呼吸窘迫综合征的护理进展[J]. 护理研究, 2009, 23(9): 2449-2451.

- [6] Benenson R. Effect s of a pneumonia clinical pathway on time to antibiotic treatment, length of stay, and mortality [J]. Acad Emerg Med, 2012, 6(12): 1243-1248.
- [7] Peeters D, Peters IR, Helps CR, et al. Distinct tissue cytokine and chemokine mRNA expression in canine sino-nasal aspergillosis and idiopathic lymphoplasmacytic rhinitis [J]. Vet Immunol Immunopathol, 2011, 117(3): 95-105.
- [8] Huang Y, Yang Y, Chen Q, et al. Pulmonary acute respiratory distress syndrome: positive end-expiratory pressure titration needs stress index[J]. J Surg Res, 2013, 185(1): 347-352.
- [9] Richard JC, Maggiore SM, Jonson B, et al. Influence of tidal volume on alveolar recruitment: respective role of PEEP and a recruitment maneuver[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2011, 163(7): 1609-1613.
- [10] Gattinoni L, Pelosi P, Suter PM, et al. Acute respiratory distress syndrome caused by pulmonary and extra pulmonary disease different syndromes[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2013, 158(1): 3-11.
- [11] Matthay MA, Zimmerman GA. Acute lung injury and the acute respiratory distree syndrome: for degades of inquiry into pathogenesis and rational management[J]. Am J Respir Cell Mol Biol, 2012, 33(4): 319-327.
- [12] Liu KD, Glidden DV, Eisner MD, et al. Predictive and pathogenetic value of plasma biomarkers for acute kidney injury in patients with acute lung injury[J]. Crit Care Med, 2012, 35(12): 2755-2761.
- [13] Peng Y, Yuan Z, Li H. Removal of inflammatory cytokines and endotoxin by veno-venous continuous renal replacement therapy for burned patients with sepsis[J]. Burns, 2010, 31(5): 623-628.
- [14] Reade MC, Milbrandt EB. Is there evidence to support a phase trial of inhaled corticosteroids in the treatment of incipient and persistent ARDS[J]. Crit Care Resusc, 2010, 9(3): 276-285.
- [15] Mingarro I, Lukovic D, Vilar M, et al. Synthetic pulmonary surfactant preparations: new developments and future trends[J]. Curr Med Chem, 2012, 15(4): 393-403.

(收稿日期: 2014-10-14 修回日期: 2015-01-26)

(上接第 1622 页)

- 患者 I 型树突状细胞、淋巴细胞亚群的特点及临床意义 [J]. 传染病信息, 2008, 21(2): 115-118.
- [10] 梁骑, 焦艳梅, 计云霞, 等. 慢性丙型肝炎患者 IDNT 细胞及 T 细胞亚群的研究[J]. 首都医科大学学报, 2012, 33(2): 214-217.
- [11] 买制刚. 丙型肝炎临床检验技术现状与发展[J]. 中国卫生检验杂志, 2008, 18(1): 190-192.
- [12] Nascimbeni M, Pol S, Saunier B. Distinct $CD4^+ CD8^+$ double-positive T cells in the blood and liver of patients during chronic hepatitis B and C[J]. PLoS One, 2011, 6

(5): 1-8.

- [13] 张武英, 龙列明, 冯冰, 等. 慢性丙型肝炎患者病毒载量与 T 细胞免疫功能关系分析[J]. 广东医学, 2010, 31(21): 2827-2828.
- [14] Kanto T, Inoue M, Miyazaki M, et al. Impaired function of dendritic cells circulating in patients infected with hepatitis C virus who have persistently normal alanine aminotransferase levels[J]. Intervirology, 2006, 49(1/2): 58-63.

(收稿日期: 2014-11-10 修回日期: 2015-01-20)