

DOI: 10.3969/j.issn.1005-8982.2021.16.001
文章编号: 1005-8982 (2021) 16-0001-06

专家述评

创新免疫状态评估体系的建立 及其在疾病诊疗中的应用*

李先亮, 贾亚男, 王若麟, 贺强

(首都医科大学附属北京朝阳医院 肝胆胰脾外科, 北京 100020)

摘要: 过去几十年, 免疫学领域解决了如何抑制免疫力和提高免疫状态的技术积累和突破, 随之带来亟需解决的问题是如何评估免疫力, 如何建立免疫力评估标准体系, 这将是免疫学领域下一个必须攻克挑战。通过淋巴细胞亚群分析、细胞因子分析和基因水平的检测手段都可能在一定程度上反映个体免疫状态, 但是在临床上, 这些诊断技术很少能带来实质性的诊断和治疗价值。该文创立了基于阴阳平衡理论指导的分析淋巴细胞亚群的免疫评估和评分体系, 不仅能够量化免疫力水平, 而且可以指导肝移植患者免疫抑制药物管理, 监测肿瘤患者免疫力变化趋势、自身免疫性疾病的诊断等。

关键词: 免疫状态评估评分体系; 免疫力; 器官移植; 自身免疫性疾病; 肿瘤

中图分类号: R730.3; R617

文献标识码: A

Research progress in novel approaches to immune status evaluation and their application in clinical practice*

Xian-liang Li, Ya-nan Jia, Ruo-lin Wang, Qiang He

(Department of Hepatobiliary, Pancreatic, and Splenic Surgery, Beijing Chao-Yang Hospital,
Capital Medical University, Beijing 100020, China)

Abstract: In the past few decades, the field of immunology has achieved a breakthrough in technical facets of how to suppress immunity or increase immune status. The subsequent challenges to overcome are how to evaluate the immunity and to establish a standard system for evaluating immunity. Analysis of lymphocyte subsets and cytokines as well as detection means at the gene level may reflect individual immune status to a certain extent, but these techniques are hardly of substantial value for diagnosis and treatment in clinical practice. We have established an immune evaluation method and scoring system for analysis of lymphocyte subsets based on the theory of Yin-Yang balance, which can not only quantify the level of immunity, but also guide the management of immunosuppressive drugs for patients with liver transplantation, monitor the changing trend of immunity for patients with tumors, and facilitate the diagnosis of autoimmune diseases.

Keywords: immune status evaluation; immunity; organ transplantation; autoimmune disease; tumor

1960年PETER MEDAWAR等因为在获得性免疫耐受研究中的突出贡献, 获得诺贝尔生理学或医学奖。其研究奠定了器官移植抑制排斥反应研究的基础, 使免疫抑制剂的研究在上个世纪突飞

猛进, 出现环孢霉素和他克莫司等一系列卓越的能够抑制免疫力的药物。2011年免疫细胞治疗肿瘤的研究颁给RALPH STEINMAN等科学家, 让肿瘤患者的免疫细胞治疗从实验室走到临床应用阶

收稿日期: 2021-07-20

* 基金项目: 国家自然科学基金面上项目(No: 81571554, 81471590, 81273270)

段。2018年JAMES ALLISON等因为对免疫检查点抑制剂的研究，获得诺贝尔生理学或医学奖。

免疫系统是人体健康的基本保障，90%的疾病与免疫力相关。这些重要的学术研究成果让临床专家和学者们可以随意地抑制或增加免疫力，使其有了更强大的战胜疾病的武器。但是学术界和临床专家面临的下一个重要挑战和亟需回答的问题就是如何量化评估免疫力，如何建立免疫力评估标准体系。

1 血常规指标对免疫力评估的价值

临床上，白细胞计数常被用于基础的免疫状态评估，特别是指导肿瘤患者放化疗。但笔者分析数据后发现健康人群和肿瘤患者的白细胞计数基本一致，这与大家普遍认知的肿瘤患者免疫降低是矛盾的。白细胞可反映骨髓增殖状态，而不是大家所熟知的免疫力水平。

在血常规指标里，淋巴细胞绝对值和淋巴细胞百分比是反映免疫状态的基础指标，可以用来评估肿瘤患者的免疫水平。笔者的研究数据显示，健康成人淋巴细胞百分比(LY%)为35%(正常值为20%~50%)，淋巴细胞绝对值(LY)为2 200个/ μl ，而肿瘤患者分别为24.5%和1 640个/ μl 。1/3肿瘤患者LY%低于正常值下限，1/3低于正常值平均值，1/3维持在正常高水平。这3个1/3初步反映了肿瘤患者的免疫状态。恶液质状态的肿瘤晚期患者上述指标显著降低，这就是免疫状态衰竭的表现。即便肿瘤患者白细胞正常，但只要LY%和LY显著降低，就要警惕短期内临床死亡的情况，笔者在胆管癌的研究中再次证实了该指标对于预后的价值^[1]。

几乎所有的肿瘤患者均有整体免疫力降低的改变，如乳腺癌、肺癌、泌尿系肿瘤、胃肠癌、肝胆胰腺肿瘤和妇科肿瘤等。而外科手术后，患者免疫力水平会进一步降低，甚至在术后1个月，多数患者免疫力指标无法恢复到术前水平。一项发表在《新英格兰医学杂志》上的研究显示，对激素受体阳性、人表皮生长因子受体2阴性，未转移到腋窝淋巴结的乳腺癌患者来说，在9年的随访期中，接受化疗与未接受化疗患者的生存率几乎没有差异^[2]。其中一个原因可能是乳腺癌术后免疫

力恢复最快，1个月左右可恢复到正常水平。而一项对欧洲12个国家13 000例结肠癌患者的研究表明，某些分期的结肠癌患者术后常规化疗从6个月降至3个月，生存率一致，耐受性更好，这可能是免疫力恢复起到重要作用^[3]。

2 淋巴细胞亚群检测对免疫状态评估的价值

国内很多医院近几年开展了淋巴细胞亚群检测，常见的有CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞、B细胞、NK细胞等指标。这些淋巴细胞亚群检测常存在如下几个问题：①备检的细胞亚群选择没有内在逻辑性，无法统一分析解读；②单独解读的淋巴细胞亚群临床指导意义不强，与疾病状态和治疗效果无明显相关性；③分析了淋巴细胞亚群数量，但没有考虑淋巴细胞功能因素；④根据厂家推荐的检测方法，多采用饱和荧光抗体染色全血细胞，这样操作过程便捷，但是可能会导致数据失真，特别是对小比例细胞亚群，数据会有较大误差。

T细胞是人体抵御外界抗原最主要的免疫细胞之一，其中CD4⁺T细胞是免疫系统的重要辅助细胞。CD4⁺T细胞水平的变化曾经被认为可反映器官移植患者的免疫状态，因此很多器官移植中心监测该指标来指导免疫药物调节。但越来越多的研究证明，CD4⁺T细胞水平不能反映急性排斥反应的发生，也不能用于指导免疫抑制药物调节，但是显著降低的CD4⁺T细胞水平可以预测机会感染^[4]。

为监测器官移植患者的免疫状态，美国食品药品监督管理局曾经批准过一个免疫状态评估的试剂盒(ImmuKnow)，即直接对CD4⁺T细胞的ATP水平进行检测，其理论依据是ATP水平反映了T细胞的功能状态。

BERGLUND等^[5]在针对362例器官移植患者的研究中，采用ImmuKnow来评估移植患者感染和排斥反应的相对风险及短期死亡率。此外，其他学者也将该方案应用于器官移植术后感染发生的预测中，并证实其有效性^[6-8]。不过更多的研究数据证实，该检测方法在预测机会感染方面可能有一定价值；但在预测急性排斥反应方面，还没有令人信服的证据^[9-10]。

3 细胞因子、抗体等检测对免疫状态评估的价值

Th1 和 Th2 细胞因子参与供体细胞的免疫应答, Th1 细胞产生 IL-2、IL-12 和 IFN- γ , 可激活细胞免疫反应; Th2 细胞产生 IL-4、IL-5、IL-6 和 IL-10。笔者推断通过检测 IL-2 和 IFN- γ 等参与机体免疫反应的细胞因子, 可在某种程度上预测移植术后急性排斥反应的发生。

一项针对 56 例肾移植患者的研究发现, 移植术后 14 d 内发生急性排斥反应患者的 IL-2 和 IFN- γ 水平明显高于无急性排斥患者^[11]。POSSELT 等^[12]对肌酐升高但活检无排斥反应的肾移植受者和经病理证实为排斥反应的肾移植受者的外周血 T 淋巴细胞 CD69 进行了分析, 发现肾移植排斥反应患者的 CD69 细胞百分率均显著升高, 外周血 T 细胞上表达的 CD69 与肾移植受者发生急性排斥反应密切相关。

而另一项对 17 个国家 33 个中心的 3 980 例非致敏首次肾移植受者的研究发现, 移植前血清可溶性 CD30 水平高的患者移植后出现肾损伤, 因此其可作为器官移植后免疫状态监测的可靠指标之一^[13]。该检测容易操作, 需要的样本量极少, 但是只有少量研究证明其在预测感染方面的价值^[14]。

B 细胞介导的体液免疫也参与肝移植术后急性排斥反应, 且往往与 T 细胞介导的排斥反应同时存在。ZHANG 等^[15]在一项研究中认为, 供者特异性抗体、急性体液排斥反应的产生与早期移植物功能障碍有相关性, 而移植后抗人类白细胞抗原抗体的前瞻性监测可辅助气道高反应性的诊断和分类, 有助于识别有早期移植物功能障碍风险的患者。这些研究在肾移植方面应用比较常见, 而肝移植方面也逐渐受到重视^[16]。

4 基因检测分析在免疫状态监测中的价值

调节性 T 细胞 (Treg 细胞) 在抑制免疫方面发挥重要作用, 且 Treg 细胞能特异性地表达 FOXP₃ 基因。MUTHUKUMAR 等^[17]检测肾移植术后发生急性排斥反应、慢性排斥反应及未发生术后排斥反应患者尿液中 FOXP₃ mRNA 后发现, 急性排斥反应患者 FOXP₃ mRNA 表达与活检时测得的血肌酐水平呈负相关, 而在慢性移植物肾病或活检结果正常的

患者中, FOXP₃ mRNA 表达与血清肌酐无相关性。以 FOXP₃ mRNA 的最佳截断值 3.46 来预测急性排斥反应逆转的敏感性为 90%, 特异性为 73%, 因此可以认为尿 FOXP₃ mRNA 检测可作为提高肾移植急性排斥反应预后预测准确性的无创性手段。

免疫力评估主要是关于免疫细胞数量和功能的总体评判分析。而免疫细胞功能, 特别是 T 细胞功能与 T 细胞受体 (T lymphocyte receptor, TCR) 的表型有很大的相关性。法国南特研究中心十几年前研究调节性细胞表面的 TCR 表型, 并将 TCR 表型用于鉴定供体特异性的调节性细胞^[18]。不同的疾病类型会导致不同的免疫细胞 TCR 表型变化, 因此理论上可以用于疾病的定性诊断。这是一个创新理念, 值得深入研究其临床应用价值。

单细胞转录组测序技术的飞速发展作为细胞分辨率刻画和解析免疫、肿瘤等疾病提供了强有力的技术手段。国内学者在基于单细胞数据分析细胞的相互作用和动态关系方面做了方法学研究, 然后利用这些生物信息方法解读肿瘤免疫微环境的单细胞转录本数据^[19-20]。其发现不同组织部位、不同肿瘤的免疫细胞在组成、亚型、功能方面不同, 进而发现肿瘤免疫的新靶点及与临床预后相关的生物标志物, 对肿瘤微环境的系统性单细胞分析提供了新模式^[19-20]。

5 创新免疫状态评估体系的建立及其临床应用价值

本研究团队一直在移植免疫和肿瘤免疫领域进行研究, 摸索总结出一系列免疫评估的技术方法和心得体会。免疫系统发挥作用需要不同的淋巴细胞亚群协同配合, 不仅需要数量比例上的适应, 而且需要在功能上互相牵制影响。什么是正常的免疫力呢? 笔者认为正常的免疫力水平, 应该是免疫调节能力和免疫效应能力的高水平平衡。免疫调节能力和免疫效应能力就像阴阳两极, 在变化中不停地寻求互动和平衡。

免疫系统的平衡在细胞水平上表现为几个方面:

- ①调节性细胞与效应性细胞需要保持一定的平衡;
- ②T 细胞和树突细胞的数量和功能需要保持平衡;
- ③CD4⁺细胞和 CD8⁺ T 细胞需要维持平衡;
- ④T 细胞、B 细胞及 NK 细胞的比例和功能需要保持平衡;

⑤CD4⁺细胞或CD8⁺T细胞亚群内部调节性细胞和效应细胞需要维持平衡。如果上述平衡能够维持在高水平,那么这个个体的免疫状态一定是健康的。

笔者利用流式细胞仪逻辑性地选择淋巴细胞亚群,通过分析淋巴细胞的功能和数量,建立统

一的数学算法模型,形成一个最终的免疫评分。因此推出一个成功应用于临床的免疫监测评估体系,即铭道全面免疫状态评估分析技术(MICA)和铭道免疫量化评分体系(MISS)(见图1),这是能够客观量化检测者免疫力的一个创新性技术。

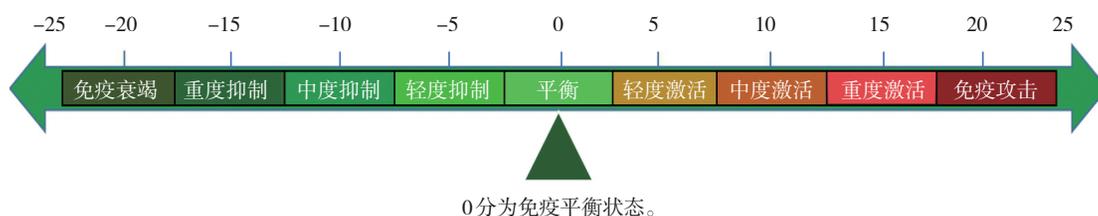


图1 MISS免疫评分尺

目前, MICA+MISS 免疫状态评估体系已有近万例次的临床验证。MICA+MISS 免疫状态评估体系报告涵盖淋巴细胞亚群数量、功能及客观评分。MICA+MISS 免疫状态评估体系有十大应用场景: ①可量化定义亚健康人群, 进行以免疫为中心的主动健康管理; ②联合常规体检, 形成免疫体检和常规体检双保险的精准健康状态评估; ③通过MISS 预测肿瘤患病高风险, 指导肿瘤相关的深度筛查, 将肿瘤的早查、早治提前到肿瘤早防; ④针对肿瘤放化疗效果和免疫评估敏感性, 指导肿瘤放化疗和免疫靶向药物选择; ⑤建立以免疫为核心的肿瘤绿色治疗模式, 制订肿瘤个体化治疗方案; ⑥指导器官移植患者免疫药物管理, 做到个体化免疫抑制调节^[21-24]; ⑦改变自身免疫性疾病的治疗方向, 通过免疫评估指导该疾病的治疗走向; ⑧指导评估免疫健康产品和项目的效果, 量化评估健康管理过程; ⑨评估人群免疫衰老状态, 进行抗衰老和保健治疗的检测; ⑩为细胞治疗项目提供治疗前后的疗效观察和指导建议。

MICA 体系涉及T淋巴细胞、T辅助/诱导淋巴细胞、T抑制/毒性淋巴细胞、T辅助/诱导淋巴细胞与T抑制/毒性淋巴细胞比例等60项淋巴细胞亚群的绝对值和相对值数据, 分别赋予这些淋巴细胞亚群不同的权重。将健康人群的免疫评分设为0分, 负分过低和正分过高分别代表免疫抑制和免疫水平激活^[25-26]。

寇建涛等^[27]对在首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科进行肝移植手术的238例患者的回顾性分析中证实, MICA 免疫状态分析和MISS 免疫

评分能够反映肝移植患者免疫状态, 对肝移植术后急性排斥反应及术后感染的发生有一定预测价值, 可用于指导肝移植患者术后个体化管理, 在一定程度上填补了肝移植术后免疫状态评估的空白, 具有一定的临床价值, 其多中心的大规模临床试验正在推进中。

在肿瘤患者的评估中, 笔者发现近90%肿瘤患者MISS 评分为负分, 提示肿瘤患者免疫状态普遍下降。而MISS 免疫评分<-20分的肿瘤患者, 处于明显的免疫衰竭状态, 如果不能及时改善免疫状态, 将会迅速进入临床濒死状态。因此首都医科大学附属北京朝阳医院肝胆胰脾外科对免疫评分<-15分的肿瘤患者, 不建议进行过度的放化疗, 甚至停止放化疗, 防止免疫系统崩溃。而通过监测免疫评分, 可以指导免疫细胞治疗, 不仅可以根据免疫失衡的具体情况, 选择不同的治疗细胞, 而且可以观察免疫细胞治疗后免疫系统的反应效果。

传统理论认为自身免疫性疾病是免疫细胞激活, 攻击自身组织导致疾病状态。在本评估体系中, 笔者发现部分自身免疫性疾病患者存在显著的免疫细胞亚群降低, 部分细胞亚群会代偿性激活, 导致疾病攻击状态。因此对这类免疫状态的患者补充降低的免疫细胞亚群, 提高整体免疫水平达到高水平的平衡, 可以为疾病治疗带来突破。在对研究数据进行分析后笔者发现, 通过免疫细胞治疗, 针对免疫降低后代偿性激活的自身免疫性疾病患者, 可以取得显著疗效甚至治愈的效果, 这些案例包括常见的过敏、湿疹、哮喘、强制性

脊柱炎等。

亚健康人群是健康管理的重要人群, 70% 中国人口处于亚健康状态。而世界卫生组织将工作倦怠定义为一种疾病状态, 其主要症状是感觉能量消耗或疲惫, 心理上对工作保持距离或对工作感到消极和愤怒, 工作效能感降低, 这就是人们常说的亚健康状态, 其将于 2022 年 1 月进入国际疾病分类列表。

而亚健康的定义可以从免疫评分入手, 在本评估体系中, MISS 免疫评分 < -3 分, 或者 > 3 分的人群, 即使常规体检正常, 也是亚健康人群, 可以针对性地进行主动健康管理。免疫负分的人群, 因为免疫力下降会带来肿瘤高发趋势, 因此需要针对肿瘤进行深度筛查。而免疫正分的人群, 因为免疫力激活结合自身的健康状态, 需要针对自身免疫性疾病进行深度检测, 这样可以提前发现潜伏的疾病。

免疫评估的研究未来会愈来愈多, 并催生出更多的免疫检测评估产品和技术, 一定会带来更大的临床应用价值和转化机会。免疫系统很复杂, 是网络状立体协调的机制, 因此学者们可以利用先进的免疫技术手段, 结合哲学角度的整体思维, 创造出适合整体或者个性化的创新性免疫评估方案。

参 考 文 献 :

- [1] 李瀚, 吕少诚, 贾亚男, 等. 中性粒细胞/淋巴细胞比值与可切除远端胆管癌远期预后的相关性研究[J]. 解放军医学院学报, 2020, 41(10): 959-962.
- [2] GROTHEY A, SOBRERO A F, SHIELDS A F, et al. Duration of adjuvant chemotherapy for stage III colon cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 378(13): 1177-1188.
- [3] SPARANO J A, GRAY R J, MAKOWER D F, et al. Adjuvant chemotherapy guided by a 21-gene expression assay in breast cancer[J]. *N Engl J Med*, 2018, 379(2): 111-121.
- [4] FERNÁNDEZ-RUIZ M, KUMAR D, HUMAR A. Clinical immune-monitoring strategies for predicting infection risk in solid organ transplantation[J]. *Clinical Translational Immunology*, 2014, 3: e12.
- [5] BERGLUND D, BENGTESSON M, BIGLARNIA A, et al. Screening of mortality in transplant patients using an assay for immune function[J]. *Transplant immunology*, 2011, 24(4): 246-250.
- [6] KOWALSKI R J, POST D R, MANNON R B, et al. Assessing relative risks of infection and rejection: a meta-analysis using an immune function assay[J]. *Transplantation*, 2006, 82(5): 663-668.
- [7] XUE F, ZHANG J J, HAN L Z, et al. Immune cell functional assay in monitoring of adult liver transplantation recipients with infection[J]. *Transplantation*, 2010, 89(5): 620-626.
- [8] 黄小慧, 张英才, 朱曙光, 等. Cylex ImmuKnow 免疫细胞功能检测在肝移植术后监测中的应用[J]. 中华肝脏外科手术学电子杂志, 2016, 5(5): 311-314.
- [9] QUAGLIA M, CENA T, FENOGLIO R, et al. Immune function assay (immunknow) drop over first 6 months after renal transplant: a predictor of opportunistic viral infections[J]. *Transplantation proceedings*, 2014, 46(7): 2220-2223.
- [10] LING X T, XIONG J, LIANG W H, et al. Can immune cell function assay identify patients at risk of infection or rejection? A meta-analysis[J]. *Transplantation*, 2012, 93(7): 737-743.
- [11] AMIRZARGAR A, LESSANPEZESHKI M, FATHI A, et al. TH1/TH2 cytokine analysis in Iranian renal transplant recipients[J]. *Transplantation Proceedings*, 2005, 37(7): 2985-2987.
- [12] POSSELT A M, VINCENTI F, BEDOLLI M, et al. CD69 expression on peripheral CD8 T cells correlates with acute rejection in renal transplant recipients[J]. *Transplantation*, 2003, 76(1): 190-195.
- [13] SUESAL C, PELZL S, OPELZET G, et al. Strong human leukocyte antigen matching effect in nonsensitized kidney recipients with high pretransplant soluble CD30[J]. *Transplantation*, 2003, 76(8): 1231-1232.
- [14] UEMURA T, RILEY T R, KHAN A, et al. Immune functional assay for immunosuppressive management in post-transplant malignancy[J]. *Clin Transplant*, 2011, 25(1): E32-E37.
- [15] ZHANG, Q H, LIANG L W, GJERTSON D W, et al. Development of posttransplant antidonor HLA antibodies is associated with acute humoral rejection and early graft dysfunction[J]. *Transplantation*, 2005, 79(5): 591-598.
- [16] 李先亮, 刘向军, 姚远. 供体特异性抗体检测在肝移植中的作用[J]. 实用器官移植电子杂志, 2018, 6(4): 322-325.
- [17] MUTHUKUMAR T, DADHANIA D, DING R, et al. Messenger RNA for FOXP3 in the urine of renal-allograft recipients[J]. *The New England Journal of Medicine*, 2005, 353(22): 2342-2351.
- [18] PICARDA E, BÉZIE S, VENTURI V, et al. MHC-derived allopeptide activates TCR-biased CD8⁺ Tregs and suppresses organ rejection[J]. *J Clin Invest*, 2014, 124(6): 2497-2512.
- [19] GUO X Y, ZHANG Y Y, ZHENG L T, et al. Global characterization of T cells in non-small-cell lung cancer by single-cell sequencing[J]. *Nat Med*, 2018, 24(7): 978-985.
- [20] ZHANG L, YU X, ZHENG L T, et al. Lineage tracking reveals dynamic relationships of T cells in colorectal cancer[J]. *Nature*, 2018, 564(7735): 268-272.
- [21] LEVITSKY J. Next level of immunosuppression: drug/immune monitoring[J]. *Liver Transpl*, 2011, 17(3): S60-S65.
- [22] NANKIVELL B J, P'NG C H, O'CONNELL P J, et al.

- Calcineurin Inhibitor nephrotoxicity through the lens of longitudinal histology: comparison of cyclosporine and tacrolimus eras[J]. *Transplantation*, 2016, 100(8): 1723-1731.
- [23] BUELL J F, GROSS T G, WOODLE E S, et al. Malignancy after transplantation[J]. *Transplantation*, 2005, 80 (2): S254-S264.
- [24] KASISKE B L, MATTOS A D, FLECHNER S M, et al. Mammalian target of rapamycin inhibitor dyslipidemia in kidney transplant recipients[J]. *American Journal of Transplantation*, 2008, 8(7): 1384-1392.
- [25] van GELDER T, van SCHAIK R H, HESSELINK D A. Pharmacogenetics and immunosuppressive drugs in solid organ transplantation[J]. *Nat Rev Nephrol*, 2014, 10(12): 725-731.
- [26] SOOD S, TESTRO A G. Immune monitoring post liver transplant[J]. *World J Transplant*, 2014, 4(1): 30-39.
- [27] 寇建涛, 李先亮, 朱继巧, 等. 自创免疫状态量化评分标准评估肝移植受者术后免疫状态的可行性分析[J]. *中华器官移植杂志*, 2020, 41(6): 362-366.

(童颖丹 编辑)

本文引用格式: 李先亮, 贾亚男, 王若麟, 等. 创新免疫状态评估体系的建立及其在疾病诊疗中的应用[J]. *中国现代医学杂志*, 2021, 31(16): 1-6.

Cite this article as: LI X L, JIA Y N, WANG R L, et al. Research progress in novel approaches to immune status evaluation and their application in clinical practice[J]. *China Journal of Modern Medicine*, 2021, 31(16): 1-6.