

## 2009年秋冬季某部甲型 H1N1 患者流感淋巴细胞亚群分析

杨红 潘兴南 许正锯 徐涛 杨环文

**【摘要】 目的** 观察海西地区某部甲型 H1N1 流感患者 T 淋巴细胞亚群变化,探讨甲型 H1N1 感染与机体细胞免疫的关系。**方法** 应用《甲型 H1N1 流感病例个案调查表》调查 45 例以流感样症状为主要表现的患者,采用 RT-PCR 法对咽拭子标本中甲型 H1N1 流感病毒核酸进行检测,采用流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群,并观察磷酸肌酸激酶(CK)、C 反应蛋白的变化。**结果** 与健康人比较,甲型 H1N1 流感患者  $CD4^+$  T 淋巴细胞百分比及  $CD4^+$  T/ $CD8^+$  T 比值均明显降低(分别为  $P < 0.001$ 、 $P < 0.05$ );而  $CD8^+$  T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞百分比与健康人比较,差异无统计学意义;急性期 C 反应蛋白轻度增高(77.77%)、CK 增高(40%),但随着病情恢复迅速下降。**结论** 甲型 H1N1 流感患者  $CD4^+$  T 淋巴细胞免疫功能低下。病程早期 CK、C 反应蛋白升高,与急性炎症反应有关。

**【关键词】** 流感病毒 A 型, H1N1 亚型; T 淋巴细胞亚群;  $CD4^+$  T 淋巴细胞; C 反应蛋白; 磷酸肌酸激酶

**Analysis on T lymphocyte subsets in patients with H1N1 influenza A among a military unit in the autumn-winter period of 2009** YANG Hong, PAN Xing-nan, XU Zheng-jun, XU Tao, YANG Huan-wen. Liver Diseases Center of Nanjing Command, 180 Hospital of PLA, Quanzhou 362000, China

Corresponding author: YANG Hong, Email: 8181685@163.com

**【Abstract】 Objective** To investigate the changes of T lymphocyte subsets in patients with H1N1 influenza A among a military unit and discuss the relationships between H1N1 influenza A virus infection and cellular immunity system. **Methods** Total of 45 cases with flu-like symptoms were assessed with personality investigation for H1N1 influenza A, and the nucleic acid of H1N1 influenza A virus in the secretion were detected by RT-PCR. T lymphocyte subsets of peripheral blood were measured by flow cytometry, phosphocreatine kinase (CK) and C-reactive protein (CRP) were examined simultaneously. **Results** Compared with healthy people, H1N1 influenza A patients showed low percentage of  $CD4^+$  T lymphocytes and  $CD4^+$  T/ $CD8^+$  T ratio

( $P < 0.001$  and  $P < 0.05$ , respectively), while the percentage of  $CD8^+$  T lymphocytes, B lymphocytes and nature kill cells had no significant differences. The levels of CRP and CK increased in the acute phase and decreased rapidly after recovery.

**Conclusions** H1N1 Influenza A infection can weaken the  $CD4^+$  T lymphocytes immunity function. The levels of CRP and CK increased in acute phase of H1N1 influenza A infection, which may be related to acute inflammatory reaction.

**【Key words】** H1N1 Influenza A; T lymphocyte subsets;  $CD4^+$  T lymphocytes; C-reactive protein; Phosphocreatine kinase

自2009年3月墨西哥报告首例甲型H1N1流感以来,疫情迅速蔓延到全球。在我国,甲型H1N1流感早期呈散发流行,进入秋冬季后,不断出现群体性暴发流行。本文通过对甲型H1N1患者外周血T淋巴细胞亚群的检测,旨在探讨甲型H1N1与细胞免疫功能的关系。

## 资料与方法

### 一、研究对象

2009年11月至2009年12月海西地区某部陆续出现流感样症状的患者,其中45例体温达 $39.0 \sim 40.4^{\circ}\text{C}$ ,收住本院隔离病房。按照《甲型H1N1流感流行病学调查和暴发疫情处理技术指南(试行)》<sup>[1]</sup>对每例患者进行流行病学调查,填写《甲型H1N1流感病例个案调查表》。患者均为男性,平均年龄( $23.0 \pm 4.5$ )岁;均无特殊基础性疾病。对照组26例,来自健康体检人员,均为男性,平均年龄( $24.0 \pm 2.5$ )岁,均无特殊基础性疾病。两组研究对象的年龄及性别分布差别无统计学意义。

### 二、标本采集及检测方法

1. 常规检查:包括血常规、尿常规、便常规、生化、C反应蛋白、血沉、胸部X线平片等。

2. T淋巴细胞亚群测定:随机抽取甲型H1N1患者26例,采用四色流式细胞仪对甲型H1N1患者及健康人进行T淋巴细胞亚群检测,仪器及相应试剂均购自美国BD FACscalibur公司。

3. RT-PCR法检测甲型H1N1流感病毒核酸:随机抽取7例患者,按照《甲型H1N1流感检测方案(第1版)》要求采集咽拭子标本,置于密封的塑料管中, $4^{\circ}\text{C}$ 冷藏,24 h内送检,由解放军第175医院(国家流感病毒网络实验室)采用RT-PCR法检测甲型H1N1流感病毒核酸。

4. 诊断标准和治疗方法:依据卫生部颁布的《甲型H1N1流感诊疗方案(第3版)》<sup>[2]</sup>进行诊断和治疗。

### 三、统计学处理

采用SPSS 13.0统计软件,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 $t$ 检验进行数据分析, $P < 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

## 结 果

### 一、流行病学调查

传染源为确诊的甲型 H1N1 流感患者。由于天气寒冷、房间通风差,有近距离接触,会餐、集会、集体居住等密切接触史。当时部队尚未普及注射甲型 H1N1 流感疫苗。

### 二、临床特点

1. 症状:急性起病,同一单位患者均在 1~3 d 内相继发病。甲型 H1N1 流感表现为发热、头痛、头晕、咽部不适、干咳、咯少量黄黏痰;高热前无明显发冷,其中 37 例无鼻塞、流涕、打喷嚏等卡他症状;患者发热时均伴有全身酸痛,其中体温达 40.0℃ 者 11 例,同时伴有明显的全身酸痛。

2. 体征:急性热病面容,大部分患者有鼻咽部黏膜充血,扁桃体轻度肿大,咽后壁可见散在的淋巴滤泡增生,浅表淋巴结无肿大。肺部体征多不明显,部分患者双肺呼吸音粗。

### 三、实验室检查结果

1. 血常规:红细胞、血小板等计数均正常,其中白细胞总数降低者 19 例(42.22%),淋巴细胞计数降低者( $< 4.0 \times 10^9/L$ )17 例(37.77%)。

2. T 淋巴细胞亚群变化:与健康人比较,甲型 H1N1 流感患者 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞百分比及 CD4<sup>+</sup> T/CD8<sup>+</sup> T 比值均明显降低(分别为  $P < 0.001$  和  $P < 0.05$ );而 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞百分比与健康人比较,差异无统计学意义,见表 1。

表 1 甲型 H1N1 流感患者与健康人外周血淋巴细胞亚群百分比

组别	例数	T 淋巴细胞 ( $\bar{x} \pm s$ )	CD4 <sup>+</sup> T 细胞 ( $\bar{x} \pm s$ )	CD8 <sup>+</sup> T 细胞 ( $\bar{x} \pm s$ )	CD4 <sup>+</sup> T/CD8 <sup>+</sup> T	B 淋巴细胞 ( $\bar{x} \pm s$ )	NK 细胞( $\bar{x} \pm s$ )
流感患者	26	63.3 ± 9.6	33.8 ± 6.9 <sup>a</sup>	28.0 ± 8.8	1.4 ± 0.6 <sup>b</sup>	15.8 ± 5.2	19.4 ± 6.9
健康对照	26	69.5 ± 14.5	45.5 ± 14.5	27.0 ± 14.0	1.7 ± 0.5	15.5 ± 9.5	16.0 ± 11.0

注:与健康对照组比较<sup>a</sup> $P < 0.001$ ,<sup>b</sup> $P < 0.05$

3. 生化指标:急性期 19 例(42.22%)患者 CK 升高(204~767 U/L),其余指标基本正常;恢复期迅速下降,1 周内恢复正常。

4. C 反应蛋白:甲型 H1N1 流感患者急性期 C 反应蛋白轻度增高(11~60 mg/L)40 例(88.88%),恢复期迅速下降,1 周内恢复正常。

5. 胸部 X 线平片:均未见明显异常。

6. 病原学检查:7 例患者咽拭子 H1N1 流感病毒 RNA 检测结果均为阳性。

### 四、诊断及治疗经过

诊断:甲型 H1N1 流感。45 例患者均给予隔离、磷酸奥司他韦(上海罗氏制药有限公司产品)治疗 5 d,同时给予感冒灵冲剂、静脉补液、止咳药、咳脓痰者加口服氧氟沙星等治疗,体温多在 2~3 d 恢复正常;全身酸痛、咽痛、咳嗽 5~8 d 后



逐渐恢复。

磷酸奥司他韦治疗时,其中4例服用第1片磷酸奥司他韦后出现恶心、呕吐,1例解稀水样便,给予胃复安和蒙脱石散等对症治疗后,次日继续服药症状消失。其余40例未出现不良反应。

治疗5~7 d后各项检测复查均恢复正常。

## 讨 论

目前流行的甲型 H1N1 流感病毒是不同种属基因重排后产生的新型甲型 H1N1 流感病毒,由于人群对新病毒缺乏免疫力,故普遍易感<sup>[3]</sup>,极易引起暴发流行。军营在传染病防治方面有其特殊性,集体、封闭式管理的生活方式给传染病的迅速传播提供了有利条件<sup>[4]</sup>。2009年11月我国卫生部通报,在流感发病人群中,甲型 H1N1 流感占89.4%,甲型 H1N1 流感病毒已成为当前流感的绝对优势病毒。本组随机抽取7例患者的咽拭子进行甲型 H1N1 流感病毒的 RNA 检测,结果均为阳性。血常规检测其中白细胞总数降低和淋巴细胞计数降低等也符合甲型 H1N1 流感诊断。

甲型 H1N1 流感症状和普通季节性流感相似,表现为流感样症状,包括发热、咽痛、流涕、鼻塞、咳嗽、咯痰、头痛、全身酸痛、乏力,部分病例出现呕吐和(或)腹泻,少数病例仅有轻微的上呼吸道症状,无发热。体征主要包括咽部充血和扁桃体肿大,可发生肺炎等并发症。本组病例均为青壮年,临床表现与季节性流感基本相似,从临床角度不易区分是甲型 H1N1 流感还是季节性流感,只能从病原学和流行病学来寻找诊断依据<sup>[5]</sup>。

病毒一般具有较强的免疫原性,可诱导机体产生免疫应答。人体免疫系统中重要的一部分是由 T 淋巴细胞各亚群的比例来进行调节和维持的。现已发现越来越多的疾病发生和发展与 T 淋巴细胞亚群变化有关<sup>[6]</sup>。正常情况下,机体内的 CD4<sup>+</sup> 细胞主要包括辅助性/诱导性细胞(Th/Ti),CD8<sup>+</sup> T 细胞包括抑制性/杀伤性细胞(Ts/Tc),CD3<sup>+</sup> T 细胞水平反映成熟的总淋巴细胞水平<sup>[7]</sup>,CD4<sup>+</sup> T 细胞能产生多种细胞因子,在机体抗微生物包括抗细菌、病毒等过程中发挥重要作用。CD4<sup>+</sup> T 细胞下降,必将影响机体抗感染能力<sup>[8]</sup>。研究发现本组病例测得 T 淋巴细胞亚群中 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞百分比明显下降(33.81%),CD4<sup>+</sup> T/CD8<sup>+</sup> T 比值也明显低于健康人组;这可能是因为甲型 H1N1 流感病毒可非选择性的抑制外周血 T 淋巴细胞,使 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞绝对值降低,提示甲型 H1N1 流感病毒可抑制机体细胞免疫<sup>[9]</sup>,直接损坏机体的免疫功能,引起继发感染<sup>[10]</sup>。而 CD8<sup>+</sup> T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、NK 细胞百分比与健康人组比较,无显著性差异( $P > 0.05$ )。

本组病例在入院时测得 CRP 普遍增高,治疗5 d后随病情缓解,很快恢复正常。王怀莲等<sup>[11]</sup>指出 A 型流感病毒感染者在合并发热、呼吸道症状时 CRP 更容易显示为高值。CRP 是肝脏合成的一种急性时相反应蛋白,由细胞因子如白细胞介素6所诱导,在炎症或组织损伤时升高,疾病缓解时又迅速恢复<sup>[12]</sup>。本组患者因甲型 H1N1 病毒感染,直接诱导细胞因子和急性期蛋白的产生。另外高热造

成机体无氧酵解,大量酸性产物堆积,加重器官代谢紊乱和功能不足,从而使各种酶释放入血,使血中CK值升高。甲型H1N1病毒感染造成CK升高、CRP升高,与急性炎症反应有关。据报道,甲型H1N1流感病例轻、重症患者均可见CRP增高,尤以重症患者明显。重症和危重症患者均可见CK增高,提示CK可作为重症预测因素之一<sup>[13]</sup>。在疾病过程中观察该指标变化,可以正确判断病情。

甲型H1N1流感病毒对神经氨酸酶抑制剂奥司他韦敏感,在疾病发作48 h内应用可减少重症病例和缩短症状持续时间,甚至在疾病发作48 h后应用也可以降低病死率<sup>[14]</sup>。文献报道少于1%的患者需停药。肾功能损害者应用须十分谨慎<sup>[14]</sup>。常见不良反应有局部鼻腔反应、腹泻、恶心、头痛、支气管炎、咳嗽等不良反应,胃肠道反应在进食后可以缓解。另外,极少数老年人可出现气管痉挛、呼吸困难、皮疹、荨麻疹、口咽部水肿等严重不良反应<sup>[15]</sup>。本组病例研究显示奥司他韦有较好的耐受性,仅出现胃肠道反应5例。4例服用磷酸奥司他韦第一片后出现恶心、呕吐,1例出现稀水样便,给予胃复安、蒙脱石散等对症治疗后症状消失,继续服用磷酸奥司他韦,未见其他不良反应。

## 参 考 文 献

- 1 中华人民共和国卫生部. 甲型H1N1流感流行病学调查和暴发疫情处理技术指南(试行). [2009-05-27]. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohjbyfkzj/s3578/200905/40900.htm>.
- 2 中华人民共和国卫生部. 甲型H1N1流感诊疗方案(2009年第3版). [2009-10-13]. <http://www.moh.gov.cn/publicfiles/business/htmlfiles/mohyzs/s3586/200910/43111.htm>.
- 3 赵云虹,崔文玉,闫世明,等. 25例甲型H1N1流行性感冒患者的临床分析. 中华传染病杂志,2010,28(5):313-315.
- 4 涂波,姜天俊,闫慧颖,等. 军人甲型H1N1流感273例临床特点分析. 人民军医,2010,53(2):93-94.
- 5 张常然,张武军,廖忠敬,等. 甲型H1N1流感感染的临床特点分析. 中华医院感染学杂志,2009,19(23):3188-3189.
- 6 尹焯标,张复春,唐小平,等. 93例传染性非典型肺炎患者外周血T淋巴细胞亚群变化及临床意义. 中华结核和呼吸杂志,2003,26(6):343-346.
- 7 高海兵,许利军,潘晨,等. 慢性乙型肝炎病毒感染者外周血细胞亚群及细胞的特点及意义. 中华实验和临床感染病杂志(电子版),2009,3(1):13-19.
- 8 国家SARS防治紧急科技行动北京组. SARS患者T细胞和免疫球蛋白动态变化的研究. 中华医学杂志,2003,83(12):1014-1017.
- 9 王剑超,张永为,马春芳,等. 甲型H1N1流感病例的血液学特点及临床分析. 中华临床感染病杂志,2010,3(1):19-22.
- 10 李凌华,胡凤玉,陈万山,等. 广州市某医院甲型H1N1流感186例临床分析. 中华临床感染病杂志,2010,3(1):26-28.
- 11 王怀莲,李敏. 小儿流感病毒感染后C-反应蛋白和Serum amyloid A变化的比较. 中国医药导报,2008,5(2):43.
- 12 陈锋,江训良,杨良,等. 全血CRP、WBC、N的联合检测在小儿呼吸道感染中的应用. 湖南师范大学学报(医学版),2009,6(2):17-19.
- 13 喻剑华,过建春,苟运浩,等. 杭州市某医院甲型H1N1流感220例临床分析. 中华临床感染病杂志,2010,3(1):23-25.
- 14 徐艳利,陈志海,肖江,等. 甲型H1N1流感非干预及应用奥司他韦治疗对照研究. 北京医学,2010,32(3):176-178.
- 15 中华医学会呼吸病学会. 流行性感冒临床诊断和治疗指南(草案). 中华结核和呼吸杂志,2002,25(2):66-68.

(收稿日期:2010-03-16)

(本文编辑:孙荣华)

杨红,潘兴南,许正锯,等. 2009年秋冬季某部甲型H1N1患者流感淋巴细胞亚群分析[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志:电子版,2010,4(4):424-428.