

· 临床论著 ·

甲型 H1N1 流感危重症患者淋巴细胞亚群和 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的检测及其意义

徐娟 颜学兵 周培培 赵力 孟雷

【摘要】 目的 观察甲型 H1N1 流感(甲流)危重症患者外周血白细胞(WBC)、淋巴细胞(L)、中性粒细胞(N)、淋巴细胞亚群及 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞的变化,探讨外周血淋巴细胞亚群及 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞在危重症甲流发病机制中的作用。**方法** 对 8 例甲流危重症患者和 10 例健康对照外周血 WBC 进行检测,并用流式细胞术对其淋巴细胞亚群及 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞进行检测。**结果** 患病初 WBC 正常者 5 例,降低者 3 例,以 L 降低为主,最低达 $0.60 \times 10^9/L$ 。病程中 8 例患者 WBC 和 N 均明显升高,WBC 最高达 $36.42 \times 10^9/L$,N 最高达 $33.27 \times 10^9/L$;甲流危重症患者 CD3⁺ (55.13 ± 16.16)%、CD4⁺ (27.25 ± 9.51)% 显著低于正常对照组 ($P < 0.05$);B 细胞(CD19)、NK (CD16⁺ CD56⁺)细胞、CD8⁺ 及 CD4/CD8 比例较健康对照组下降,但差异无统计学意义;患者 CD4⁺ CD25^{high} CD127^{Low} T 细胞 (1.81 ± 1.25)% 稍低于与健康对照组,差异无统计学意义 ($P > 0.05$);但 8 例甲流危重症中有 6 例孕妇,1 例死亡患者的 CD4⁺ CD25^{high} CD127^{Low} T 细胞含量为本研究中最高。**结论** 甲流危重症患者外周血 CD3⁺、CD4⁺ 细胞数量显著降低、CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞及 CD4/CD8 下降,提示细胞免疫异常可能在甲流危重症的发病机制中起重要作用;淋巴细胞亚群及 CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞数量的检测可作为监测甲流患者免疫功能的指标,对于患者的治疗和预后具有重要的参考价值。

【关键词】 流感;流感病毒 A 型,H1N1 亚型;危重症;淋巴细胞亚群;CD4⁺ CD25⁺ 调节性 T 细胞

Lymphocyte subpopulation and CD4⁺ CD25⁺ Treg signature analysis of patients with severe influenza A (H1N1) virus infection XU Juan, YAN Xue-bing, ZHOU Pei-pei, ZHAO Li, MENG Lei. Department of Infectious Diseases, The First Affiliated Hospital of Xuzhou Medical College, Xuzhou 221002, China
Corresponding author: YAN Xue-bing, Email: yxbxuzhou@126.com

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2011.01.005

基金项目:江苏省卫生厅课题项目(H2008026);江苏省高校自然科学基金(08KJB320017);2008年江苏省高校“青蓝工程”中青年学术带头人培养基金

作者单位:221002 徐州市,徐州医学院附属医院感染病科(徐娟、颜学兵、周培培),呼吸科(赵力),重症医学科(孟雷)

通讯作者:颜学兵,Email:yxbxuzhou@126.com

【Abstract】 Objective To observe the changes of white blood cells (WBC), lymphocyte (L), neutrophilic leukocyte (N), lymphocyte subpopulation (including T, B lymphocyte, NK cells) and $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells in patients with severe influenza A (H1N1) virus infection. To investigate the role of peripheral blood lymphocyte subpopulation and $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells in the pathogenesis of patients with severe H1N1 virus infection. **Methods** The white blood cells were assayed in 8 patients with severe H1N1 virus infection and 10 normal control (NC), T lymphocyte subpopulation and $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells population in peripheral blood were also assayed by flow cytometry. **Results** In the initiation of the disease, 5 patients' white blood cells counts were normal and 3 patients' were low. The lymphocyte decreased significantly, the minimum was $0.60 \times 10^9/L$. In the course of the disease, eight patients' white blood cells counts and neutrophilic leukocyte counts increased significantly, the maximum of WBC counts was $36.42 \times 10^9/L$, the maximum of neutrophilic leukocyte counts was $33.27 \times 10^9/L$. The levels of $CD3^+$ (55.13 ± 16.16)% and $CD4^+$ (27.25 ± 9.51)% in severe patients were significantly lower than that in NC ($P < 0.05$). B lymphocyte ($CD19$), NK cells ($CD16^+CD56^+$), $CD8^+$ cells and $CD4/CD8$ in severe patients were also lower than that in NC, but there were no significant differences ($P > 0.05$). $CD4^+CD25^{high}CD127^{Low}$ T cells in severe patients (1.81 ± 1.25)% were slightly lower than that in NC, but the differences were not significant in statistics ($P > 0.05$). There were 6 pregnant women and 1 death patient among the 8 patients, the death one had the highest level of $CD4^+CD25^{high}CD127^{Low}$ T cells. **Conclusions** $CD3^+$, $CD4^+$, $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells and $CD4/CD8$ decrease in severe patients, which suggest that the abnormality of cellular immunity might play important role in the pathogenesis of severe H1N1 virus infection; T lymphocyte subpopulation and $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells can be an index in monitoring patients' immunity condition, treatment and prognosis.

【Key words】 Influenza; Influenza A virus, H1N1 subtype; Severe illness; Lymphocyte subpopulation; $CD4^+CD25^+$ regulatory T cells

2009年6月11日世界卫生组织(World Health Organization, WHO)将流感大流行警告级别提高为6级,宣布新的流感大流行开始^[1]。引起这次大流行的毒株为一种新型甲型H1N1流感病毒(甲流),甲型流感病毒属于正黏病毒科,甲型流感病毒属^[2]。目前可通过检测甲流病毒基因来协助诊断,但其发病机制尚不清楚。如何合理的治疗仍然是医学界面临的重大挑战,对其发病机制进行研究是当前亟需解决的重要课题。甲流早期表现为流感样症状,主要表现为发热、咳嗽、呼吸困难等。少数甲流危重症患者全身中毒症状重,易并发多器官功能不全或衰竭,病情进展迅速,病死率高。

甲流的临床特点及治疗经验提示过度的免疫应答反应在危重症甲流的发病机制中发挥重要作用,机体的免疫功能状况也是决定甲流病情发展和预后的重要因素。淋巴细胞亚群是反映机体免疫功能的重要指标之一,而 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞是迄今为止所发现的最重要的免疫抑制细胞,几乎抑制所有的免疫反应。目前危重症甲流患者的免疫发病机制尚不清楚。本研究对危重症甲流患者淋巴细胞亚群和 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞进行了监测,旨在了解此次流行甲流危重症患者的 T 淋巴细胞亚群及 B 细胞、NK 细胞、 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞的含量,为阐明甲流危重症的免疫发病机制及指导临床合理用药提供理论依据。

资料和方法

一、研究对象

8 例甲流危重患者均为 2009 年 11 月 24 日至 2010 年 1 月 25 日在徐州医学院附属医院住院患者,其中男性 1 例、女性 7 例,7 例女性中含孕妇 6 例,另 1 例患者为乳腺癌手术后化疗并发甲流,经抢救无效死亡。年龄在 24~61 岁,平均年龄 (33.0 ± 16.3) 岁。所有病例均为徐州市疾病预防控制中心咽拭子甲型 H1N1 流感病毒核酸检测阳性。取同期本院医务人员 10 例作为健康对照,所有患者既往身体健康,均无其他基础病,并排除合并细菌感染。其中男性 2 例,女性 8 例,年龄在 24~56 岁,平均年龄 (34.0 ± 13.3) 岁。两组研究对象一般资料无显著差异 ($P > 0.05$)。

二、诊断标准

根据《甲型 H1N1 流感诊疗方案(2009 年第 3 版)》^[3],出现以下情况之一者为重症病例:(1)持续高热 > 3 d。(2)剧烈咳嗽,咳脓痰、血痰或胸痛。(3)呼吸频率快,呼吸困难,口唇发绀。(4)神志改变:反应迟钝、嗜睡、躁动、惊厥等。(5)严重呕吐、腹泻,出现脱水表现。(6)影像学检查有肺炎征象。(7)肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)等心肌酶水平迅速增高。(8)原有基础疾病明显加重。出现以下情况之一者为危重病例:(1)呼吸衰竭。(2)感染中毒性休克。(3)多脏器功能不全。(4)出现其他需进行监护治疗的严重临床情况。

三、标本的收集与处理

8 例甲流危重症患者及 10 例健康体检者分别采外周血 2 ml 用肝素抗凝,分别用流式细胞术进行 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞和 T 淋巴细胞亚群的检测。同时各采患者和正常对照组外周血 1 ml 查血常规,用全自动血细胞计数仪检测外周血白细胞(white blood cell, WBC)、淋巴细胞(lymphocyte, L)和中性粒细胞(neutrophilic granulocyte, N),进行外周血白细胞计数及分类。

四、淋巴细胞亚群的检测

流式细胞仪, FACS 溶血素, $CD4$ -FITC/ $CD8$ -PE/ $CD3$ -PerCP 三色及 $CD3$ -FITC/ $CD(16+56)$ -PE 两色, $CD3$ -FITC/ $CD19$ -PerCP 两色荧光标记单克隆抗体均购自美国 Becton Dickinson(BD)公司。取 100 μ l 抗凝血,分别置于 2 支空白流式离心管中,1 支加入 $CD4$ -FITC/ $CD8$ -PE/ $CD3$ -PerCP 20 μ l,另 1 支分别加入 $CD3$ -

FITC/CD16⁺CD56-PE 和 CD3-FITC/CD19-PerCP 各 20 μ l, 室温避光孵育 20 min 后, 加入 FACS 溶血素 450 μ l, 充分混匀, 室温暗处反应 10 min, PBS 洗涤 2 次, 沉淀用 200 μ l PBS 悬浮, 运用流式细胞术进行检测。

五、CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的检测

流式细胞仪, FACS 溶血素、PE-CY5 标记的抗-CD4、FITC 标记的抗-CD25 和 PE 标记的抗-CD127 均购于美国 BD 公司。采全血 1 ml, 肝素抗凝。在空白流式离心管中分别加入 PE-CY5 标记的抗-CD4、FITC 标记的抗-CD25 和 PE 标记的抗-CD127 各 10 μ l, 每管加入抗凝血 50 μ l, 振荡混匀, 室温暗处反应 20 min 后, 加入 FACS 溶血素 300 μ l, 充分混匀, 室温暗处反应 10 min, 1400 r/min 离心 5 min, 1 ml 的 PBS 洗涤 1 次, 沉淀用 200 μ l PBS 悬浮, 上流式细胞仪检测。

六、统计学处理

采用 SPSS 13.0 统计软件进行统计学分析, 数值以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间计量资料比较采用 ANOVA 方差分析, 两两比较采用独立样本 *t* 检验, 以 $P < 0.05$ 为组间差异具有统计学意义。

结 果

一、甲型 H1N1 流感危重患者外周血细胞变化

入院时 8 例患者中 WBC 正常者 5 例; WBC $< 4.00 \times 10^9/L$ 者 3 例, 以 L 减少为主, 最低达 $0.60 \times 10^9/L$, 明显低于正常对照组, 差异具有统计学意义 ($P < 0.05$)。病程中 WBC 及 N 均有不同程度增高, 明显高于健康对照组 ($P < 0.05$), 而 L 与患者病初相比未明显增加, 仍低于健康对照组 ($P < 0.05$), 见表 1 和图 1。其中 1 例死亡病例 WBC 最高达 $36.42 \times 10^9/L$, N 最高达 $33.27 \times 10^9/L$, 此患者为乳腺癌术后化疗并发甲流, 治疗过程中发生了溶血性葡萄球菌引起的继发性肺炎及败血症, 虽经过积极抢救但最终发生了肺、心、肾多器官功能衰竭而死亡。

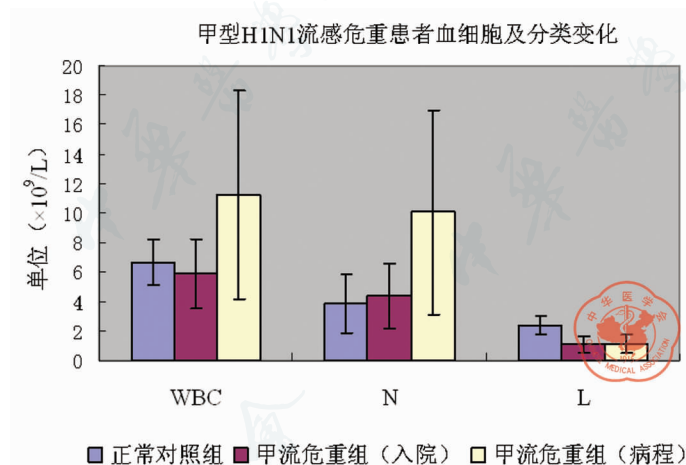


图1 甲型 H1N1 流感危重患者与对照组外周血白细胞及分类变化

表1 甲型 H1N1 流感危重症患者与对照组外周血白细胞及分类比较($\bar{x} \pm s$)

	例数	WBC($\times 10^9$)	N($\times 10^9$)	L($\times 10^9$)
对照组	10	6.73 \pm 1.22 ^c	3.83 \pm 0.70 ^c	2.26 \pm 0.70 ^{bc}
甲流危重组(入院时)	8	5.92 \pm 2.35 ^c	4.36 \pm 2.17 ^c	1.11 \pm 0.60 ^a
甲流危重组(病程中)	8	11.39 \pm 7.01 ^{ab}	9.54 \pm 6.98 ^{ab}	1.07 \pm 0.63 ^a
F		4.51	5.39	15.67
P		< 0.05	< 0.01	< 0.01

注:与对照组比较,^a $P < 0.05$;与甲流危重组(入院时)比较,^b $P < 0.05$;与甲流危重组(病程中)比较,^c $P < 0.05$

二、甲型 H1N1 流感危重症患者外周血淋巴细胞亚群变化

与健康对照组相比较,甲流危重症患者的 CD3⁺、CD4⁺明显低于对照组($P < 0.05$);B 淋巴细胞(CD19)、自然杀伤性细胞(NK:CD16⁺CD56⁺)、细胞毒性 T 细胞(CTL)及 CD4/CD8 比例低于对照组,但差异均无统计学意义,见表 2,甲型 H1N1 流感危重症患者淋巴细胞亚群流式细胞检测结果见图 2。

表2 甲型 H1N1 流感危重症患者淋巴细胞亚群的变化[($\bar{x} \pm s$), %]

组别	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4/CD8	CD19	CD16 ⁺ CD56 ⁺
正常对照组	70.20 \pm 6.29	39.60 \pm 8.03	26.00 \pm 5.83	26.00 \pm 5.83	11.90 \pm 2.60	12.90 \pm 4.72
甲型流感危重组	55.13 \pm 16.16	27.25 \pm 9.51	24.25 \pm 10.29	1.29 \pm 0.56	10.75 \pm 4.59	10.88 \pm 8.43
P	< 0.05	< 0.01	> 0.05	> 0.05	> 0.05	> 0.05

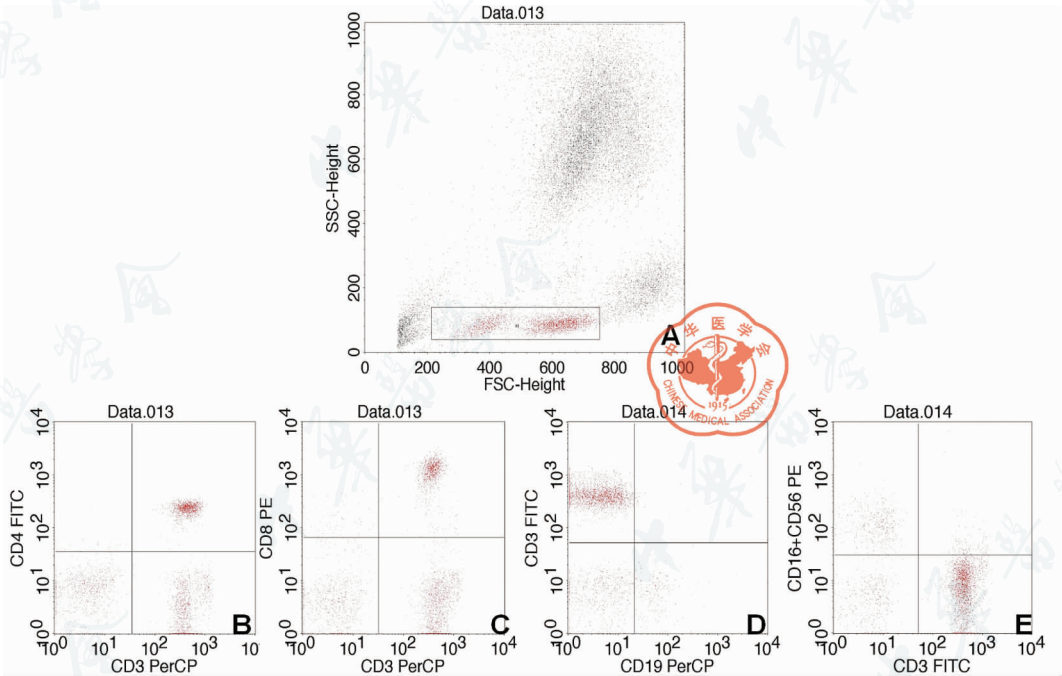


图2 甲型 H1N1 流感危重症患者淋巴细胞亚群流式图

注:A:细胞分布;B:CD3⁺CD4⁺T 淋巴细胞含量 31.1%;C:CD3⁺CD8⁺T 淋巴细胞含量 39.2%;D:CD19⁺B 细胞含量 5.0%;E:CD16⁺CD56⁺NK 细胞含量 10.3%

三、甲型 H1N1 流感危重症患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞水平

不同标记方法显示的甲型 H1N1 流感危重症患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞:CD4⁺CD25⁺、CD4⁺CD25^{High}、CD4⁺CD25^{High}CD127^{Low} T 细胞均低于对照组,差异无统计学意义,见表3,但8例中含有孕妇6例,其中有5例 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞均低于对照组,仅1例高于对照组。1例死亡患者 CD4⁺CD25^{high}CD127^{Low} T 细胞升高达 3.81%,见表4。甲型 H1N1 流感危重症患者(死亡病例) CD4⁺CD25^{high}CD127^{Low} T 细胞流式检测结果见图3。

表3 甲型 H1N1 流感危重症患者及对照组 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞变化[($\bar{x} \pm s$), %]

组别	例数	CD4 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ^{high}	CD4 ⁺ CD25 ^{high} CD127 ^{Low}
正常对照组	10	42.41 ± 8.24	5.79 ± 1.16	4.51 ± 3.44	2.41 ± 0.88
甲型流感危重组	8	33.95 ± 8.86 ^a	5.58 ± 4.45	2.54 ± 1.88	1.81 ± 1.25

注:与对照组比较, ^aP < 0.05

表4 甲型 H1N1 流感危重症患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞不同标记检测结果(%)

项目	CD4 ⁺ CD25 ⁺	CD4 ⁺ CD25 ^{High}	CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ^{Low}
病例1 ^a	7.75	4.52	3.81
病例2	3.13	0.84	0.72
病例3	2.26	4.22	3.21
病例4 ^b	4.62	1.47	1.13
病例5	14.95	0.59	0.54
病例6	1.38	0.93	0.64
病例7	7.53	5.29	2.25
病例8	3.04	2.42	2.19

注:^a为死亡病例,^b为男性患者,余患者均为孕妇患者

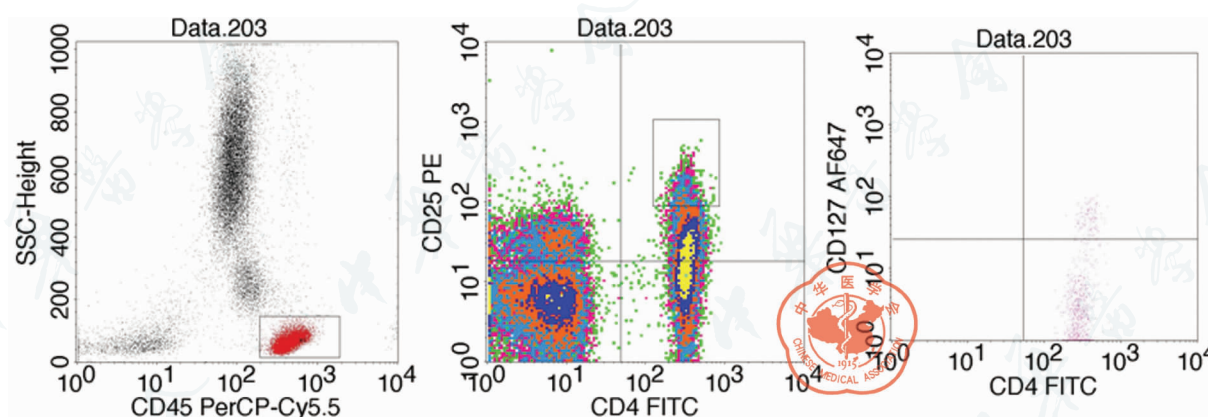


图3 甲型 H1N1 流感危重症患者(死亡)CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞流式图

注:CD4⁺CD25^{high}CD127^{low}含量 3.81%

讨 论

自 2009 年 4 月在全球发生大流行的甲型流感,多数患者病情较轻,少数危重

症进展迅速,病死率高^[4],其发病机制尚不完全清楚,目前认为可能与两方面因素有关,即甲型 H1N1 病毒直接损伤和由病毒启动的免疫损伤。外周血淋巴细胞主要包括 CD19、CD3、CD4、CD8、NK 细胞,以及这些免疫细胞之间的平衡,尤其是 T 辅助/诱导细胞亚群($CD3^+CD4^+$)和 T 抑制/细胞毒亚群($CD3^+CD8^+$)平衡具有维持机体免疫稳定,执行免疫防御、免疫监视功能,一旦这些细胞功能和数量发生变化,则可能发生免疫紊乱,而免疫功能的异常与病情轻重有一定关系。B 细胞(CD19)的主要功能是接受抗原提呈细胞的抗原产生抗体,承担机体的体液免疫; $CD16^+CD56^+$ (NK)细胞是机体非特异免疫中是最主要细胞,在机体早期抗病毒感染免疫过程中起重要作用;特异性 $CD8^+$ 细胞毒性 T 细胞(CTL)是机体最终清除病毒的主要细胞。危重症甲流患者外周血 WBC 降低,主要以淋巴细胞降低为主,进一步用流式细胞术对外周血淋巴细胞进行分析,发现危重症患者外周血 B 细胞、NK 细胞、CTL 均较健康对照组低,但差异无统计学意义,CD3、CD4 则明显低于对照组($P < 0.05$)。CD4 是机体的免疫中枢,CD4 数量不足和功能下降,可以导致机体的体液免疫和细胞免疫功能降低,提示危重症患者机体免疫相对不足。

危重症甲型流感患者外周血 CD4 细胞明显减少,推测可能原因有:(1)体内淋巴细胞重新分布,H1N1 病毒感染后机体内的淋巴细胞通过血液侵入肺部,导致血液中淋巴细胞数量相对减少。(2)甲型 H1N1 流感病毒可以诱导淋巴细胞发生凋亡^[5],尤其可以诱导 CD4 发生凋亡。(3)甲型 H1N1 流感病毒直接破坏 CD4,类似于 HIV 感染。变异后产生的新型甲型 H1N1 流感病毒可能直接侵犯外周血淋巴细胞,并在其中复制,造成淋巴细胞功能及数量上的破坏^[6]。(4)甲型 H1N1 流感病毒对于骨髓干细胞具有一定的抑制作用,导致外周血细胞减少,但危重症甲流患者外周血红细胞及血小板并未减少,而血小板增高常见,故甲型 H1N1 流感病毒可能是选择性抑制骨髓淋巴干细胞;另外甲型 H1N1 流感病毒还可能改变宿主骨髓造血微环境^[7]。危重症甲型流感患者外周血淋巴细胞,主要是 CD4 变化的具体机制有待于进一步研究。入院后患者 WBC 和 N 逐渐增高可能由于本组病例均为危重症患者,治疗过程中均采用剂量不等的激素,导致外周血 WBC 升高;危重症患者后期发生了第二次肺炎或继发肺部感染^[8]。

$CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞是一群具有免疫负调控功能的 T 细胞亚群,通过抑制其他免疫效应细胞的激活和增殖,可防止免疫过激或者自身免疫现象的发生。 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞大量累积致使 CTL 活性降低和 Th 产生 IL-2 能力下降,从而使 CTL 启动的机体抗感染能力降低。 $CD25^{high}$ 是 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞功能性标志物之一。应用流式细胞术可将人外周血中 $CD4^+CD25^+$ T 细胞分成 $CD4^+CD25^{Low}$ 和 $CD4^+CD25^{high}$ 两种亚群,只有 $CD4^+CD25^{high}$ T 细胞才具有免疫调节功能, $CD4^+CD25^{Low}$ 只在效应 T 细胞表面短暂表达,无调节能力,因此检测 $CD4^+CD25^{high}$ T 细胞占 $CD4^+$ 淋巴细胞的比例可以真实了解体内有调节活性的 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞的数量。Seddiki 等^[9]发现 CD127 可以帮助识别 $CD4^+$

CD25⁺调节性 T 细胞与活化的 T 细胞, CD4⁺细胞活化后高表达 CD127 (CD4⁺CD25⁺CD127^{high}), 而真正的调节性 T 细胞仅表达较低的 CD127 (CD4⁺CD25⁺CD127^{Low})。因此, 在 CD4⁺CD25⁺基础上联合 CD127 抗原可以更好地识别人 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞。

本研究用 CD4⁺CD25⁺CD127^{Low}检测了 8 例危重症患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞含量, 较对照组低, 虽无统计学意义 ($P > 0.05$), 但可能由于与本研究含有 6 例孕妇有关^[10], 因为正常妊娠早、中、晚期孕妇外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞数均明显高于正常非妊娠组。6 例孕妇患者中除 1 例高于对照组外, 其他 5 例均低于对照组, 且 8 例危重症患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞数量较对照组低, 提示危重症患者由于具有免疫抑制作用的 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞减少, 从而导致机体免疫处于相对过激或亢进状态^[4]。甲流患者的病理改变: 病初为弥漫性炎症和咽喉、气管及支气管水肿细胞浸润, 纤毛柱状上皮脱落, 后期发生坏死性气管支气管炎支气管黏膜的溃疡和脱落, 肺泡毛细血管充血, 肺泡内出血, 肺泡腔隙充填, 肺泡内壁衬有无非细胞透明膜, 间质炎症, 肺泡破坏。外周血淋巴细胞减少, 尤其是 CD4 和 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的减少可能是危重症患者免疫损伤的病理基础。

本研究中 1 例死亡患者, 其外周血中 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞含量为本组研究者最高, 达 3.81%。患者为乳腺癌术后化疗并发甲型流感, 治疗过程中发生了溶血性葡萄球菌引起的继发性肺炎及败血症, 虽经过积极抢救, 但最终发生了肺、心、肾功能衰竭而死亡, 提示由于化疗后机体免疫功能处于高度抑制状态, 从而并发了甲流, 也并发了危重症患者常见的球菌引起的继发性肺炎和败血症。

危重症患者治疗尚存在一定的争议, 部分学者主张治疗过程中运用激素或者丙种球蛋白。有研究发现, 激素和丙种球蛋白主要是通过抑制自身免疫细胞过度活化而发挥暂时的免疫调节作用^[11]; 日本学者的研究表明丙种球蛋白可能通过 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞发挥免疫抑制作用^[12]; 同时体外试验显示丙种球蛋白可以直接诱导 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的增殖和活化。初步研究表明危重症甲流患者外周血 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞减少, 故运用激素和丙种球蛋白可以激活 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的功能, 从而发挥抑制危重症甲流免疫过激, 对于控制病情有重要意义。由于危重症甲流患者 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞的减少, 机体处于免疫过激状态, 运用细胞免疫增强剂治疗对于部分患者不利。

淋巴细胞亚群及 CD4⁺CD25⁺调节性 T 细胞数量的检测可作为监测甲型 H1N1 流感患者免疫功能的指标, 对于患者的治疗和预后有一定意义。本研究以辅助性 T 细胞 (Th 细胞) 为主的 CD3⁺CD4⁺细胞减少较为明显, 以细胞毒性 T 细胞 (Tc 细胞) 为主的 CD3⁺CD8⁺细胞群比例在正常范围内, 说明 T 淋巴细胞的降低主要为 Th 细胞降低, CD4/CD8 与对照组比较无明显差异, 则表明 Th 和 Tc 细胞基本趋于平衡, 说明患者能够在一定范围内控制免疫反应和维持免疫自稳。

本研究结果与部分文献报道结果存在一定的差异^[13], 可能由于传染病防治

法的相关管理法规:本院只能收治危重症患者,所以病例数量有限且入选患者均为危重症患者,不包括普通甲流患者。研究虽然发现 CD19、CD8、NK 细胞, T 辅助/诱导细胞亚群($CD3^+CD4^+$)和 T 抑制/细胞毒亚群($CD3^+CD8^+$)比例较对照组低,无统计学意义,如果条件允许可进一步扩大标本量继续研究。

参 考 文 献

- 1 Zarocostas J. World Health Organization declares A (H1N1) influenza pandemic. BMJ, 2009, 338: b2425.
- 2 CDC. Surveillance for pediatric deaths associated with 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection United States, April-August 2009. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2009, 58(34): 914-947.
- 3 中华人民共和国卫生部. 甲型 H1N1 流感治疗方案(2009 试用版第 3 版). 中华临床感染病杂志, 2009, 2(5): 257-259.
- 4 Novel swine-origin influenza A (H1N1) virus investigation team. Emergence of a novel swine-origin influenza A (H1N1) virus in humans. N Engl J Med, 2009, 360(25): 2605-2615.
- 5 张衡, 王革非, 高媛丽, 等. H1N1 亚型流感病毒诱导外周血单个核细胞凋亡研究. 生物化学与生物物理进展, 2009, 6(6): 770-775.
- 6 Nichols JE, Niles JA, Roberts NJ Jr. Human lymphocyte apoptosis after exposure to influenza A virus. J Virol, 2001, 75(13): 5921-5929.
- 7 Kharfan-Dabaja MA, Velez A, Richards K, et al. Influenza A/pandemic 2009/H1N1 in the setting of allogeneic hematopoietic cell transplantation: a potentially catastrophic problem in a vulnerable population. Int J Hematol, 2010, 91(1): 124-127.
- 8 World Health Organization. Clinical features of severe cases of pandemic influenza [EB/OL]. [2009-12-10]. http://www.who.int/csr/disease/swineflu/notes/h1n1_clinical_features_20091016/en/index.html.
- 9 Seddiki N, Santner-Nanan B, Martinson J, et al. Expression of interleukin (IL)-2 and IL-7 receptors discriminates between human regulatory and activated T cells. J Exp Med, 2006, 203(7): 1693-1700.
- 10 Jamieson DJ, Honein MA, Rasmussen SA, et al. H1N1 2009 influenza virus infection during pregnancy in the USA. Lancet, 2009, 374(9688): 451-458.
- 11 Arnold DM, Kelton JG. Current options for the treatment of idiopathic thrombocytopenic purpura. Semin Hematol, 2007, 44(4 Suppl 5): S12-S23.
- 12 Yu J, Heck S, Patel V, et al. Defective circulating CD25 regulatory T cells in patients with chronic immune thrombocytopenic purpura. Blood, 2008, 112(4): 1325-1328.
- 13 喻剑华, 过建春, 荀运浩, 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.

(收稿日期:2010-07-08)

(本文编辑:孙荣华)

徐娟, 颜学兵, 周培培, 等. 甲型 H1N1 流感危重症患者淋巴细胞亚群和 $CD4^+CD25^+$ 调节性 T 细胞的检测及其意义[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2011, 5(1): 27-35.