

• 临床检验研究论著 •

三种病毒感染所致淋巴细胞及 T 细胞亚群改变的分析

黄伏生¹, 陈进², 尹艳先³, 吴业勤¹, 薛寒¹

(1. 武汉大学中南医院检验科, 湖北武汉 430071; 2. 武汉大学人民医院检验科, 湖北武汉 430071;
3. 武汉大学中南医院感染科, 湖北武汉 430071)

摘要:目的 观察分析 EB 病毒(EBV)、巨细胞病毒(CMV)和 H1N1 病毒感染者外周血白细胞(WBC)数量和形态变化, 比较不同类型异型淋巴细胞分布及其与 T 细胞亚群变化的关系。方法 对 3 种不同病毒感染者进行 WBC 计数和分类计数以及异型淋巴细胞观察。对异型淋巴细胞增高者进行 T 细胞亚群测定并进行比较分析, 并与同期健康体检者(对照组)进行比较。结果

3 种病毒感染者的外周 WBC 数量和中性粒细胞、淋巴细胞分类以及异型淋巴细胞计数与对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 3 种病毒感染者的异型淋巴细胞分布均以 II 型为主, 但 CMV 与 H1N1 病毒感染者的异型淋巴细胞分布比 EBV 感染者离散程度高; 3 种病毒感染者 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞数量与对照组比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$); 3 种病毒感染者与对照组 CD8⁺ T 细胞数量比较, 差异均有统计学意义($P < 0.05$), 且 EBV 与 CMV、H1N1 组间比较, 差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 3 种病毒感染者异型淋巴细胞都有不同程度增高, 但以 EBV 感染者增高明显; 3 种病毒感染者都有不同程度免疫功能紊乱, 但以 EBV 感染者最明显。外周血异型淋巴细胞增高与机体免疫系统反应程度有关。

关键词: 淋巴细胞; T 淋巴细胞亚群; 巨细胞病毒感染; 疱疹病毒 4 型, 人

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2012.22.006

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2012)22-2703-03

Analysis of lymphocytes and the T-cells subsets changes caused by three kinds of virus infection

Huang Fusheng¹, Chen Jin², Yin Yanxian³, Wu Yeqin¹, Xue Han¹

(1. Department of Clinical Laboratory, Wuhan University zhongnan hospital, Wuhan, Hubei 430071, China;
2. Department of Clinical Laboratory, Renmin Hospital of Wuhan University, Wuhan, Hubei 430071, China;
3. Department of Infectious Diseases, Wuhan University zhongnan hospital, Wuhan, Hubei 430071, China)

Abstract: Objective To Observe and analyze quantity and morphological changes of peripheral blood leukocyte in patients infected with the EBV, CMV or H1N1 viruses, compare the distribution of atypical lymphocytes and its changes in correlation with T lymphocyte subsets. **Methods** WBC count and classification and atypical lymphocyte observation were performed in patients infected with the three virus. For patients whose atypical lymphocytes increased determination and comparative analysis of T-cell subsets were conducted. **Results** Compared with the control group, peripheral white blood cell count, neutrophils, lymphocytes, and atypical lymphocyte classification count in patient with three kinds of viral infection were significantly different($P < 0.05$). The distribution of atypical lymphocytes in patient infected with three viruses were mainly type II, but the distribution of atypical lymphocytes in patient infected with CMV AND the H1N1 virus were more discrete than with EBV. There were significant difference($P < 0.05$) in CD3⁺ and CD4⁺ T cell between patients infected with three kinds of virus and control group. It was the same($P < 0.05$) in CD8⁺ T cell between patients infected with three kinds of virus and control group, in which there was significant difference in comparison between EBV and CMV, H1N1 virus($P < 0.05$). **Conclusion** The atypical lymphocytes caused by three kinds virus infection could increase to varying degrees, but in patient with EBV infection could increase more significantly. And patients infected with three kinds of virus might have a different degree of immune dysfunction, but there could be a higher degree with EBV infection than the other two infections. There could be a correlation between the increased count of atypical lymphocytes in peripheral blood and the degree of immune system response.

Key words: lymphocytes; T-lymphocyte subsets; cytomegalovirus infections; Herpesvirus 4, human

病毒感染可导致人体外周血淋巴细胞数量和形态改变, 但对于不同病毒感染所致的外周血淋巴细胞改变程度是否一致, 目前报道较少^[1,2]。EB 病毒(EBV)、巨细胞病毒(CMV)等感染均可导致外周血中不同程度出现异型淋巴细胞, 其中最具代表性的是 EBV 引起的传染性单核细胞增多症等^[1]。近年来国际上暴发的甲型 H1N1 病毒感染患者外周血中异型淋巴细胞及 T 细胞亚群改变情况目前报到较少^[3-5]。为此, 本研究从 2009 年 10 月至 2011 年 9 月, 对本院 EBV、CMV 和 H1N1 病毒感染确诊患者的外周血异型淋巴细胞进行观察, 并分析比较异型淋巴增高及其与 T 细胞亚群改变的关系。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集本院的 EBV 阳性患者 57 例(EBV 组),

年龄 2~16 岁, 其中男 32 例, 女 25 例; CMV 阳性患者 41 例(CMV 组), 年龄 3~15 岁, 其中男 24 例, 女 17 例; 经湖北省疾病预防控制中心确诊的 H1N1 流感患者 49 例(N1H1 组), 年龄 2~18 岁, 其中男 28 例, 女 21 例; 对照组为健康体检人员 50 例, 年龄 2~17 岁, 其中男 30 例, 女 20 例。

1.2 仪器与试剂 CD-3700 血液分析仪及配套试剂、质控物(批号: 341 575~341 579, 美国 Abbott); 瑞氏-姬姆萨染色液(台湾贝索); FACSCount 流式细胞仪及其配套试剂(美国 BD)。

1.3 方法

1.3.1 取患者和健康者静脉血 3 mL 加入 EDTA-K₂ 抗凝管混匀, 于 CD-3700 血液分析仪进行白细胞(WBC)等指标测定,

同时进行血液涂片,经瑞氏-姬姆萨染色后采用油镜分类,每份标本观察 200 个 WBC,同时记录并参照第 4 版全国统编本科教材《临床检验基础》标准对异型淋巴细胞形态进行分型:即 I 型(空泡型、浆细胞型)、II 型(不规则型、单核细胞型)和 III 型(幼稚型)。

1.3.2 比较患者与健康者 WBC 计数和分类计数结果,包括中性粒细胞(N%)、淋巴细胞(L%)、单核细胞(M%)、嗜酸性粒细胞(E%)、嗜碱性粒细胞(B%)、异型淋巴细胞(异淋%)。同时对 3 组患者 I、II、III 型异型淋巴细胞分型的结果进行比较分析。

1.3.3 分别对 3 种病毒感染患者和健康者进行外周血 T 细胞亚群检测,取 EDTA-K₂ 抗凝外周血,采用单克隆抗体免疫荧光标记法,在流式细胞仪上测定 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞

和计算 CD4⁺/CD8⁺ 比值,并将各组值进行比较分析。

1.4 统计学处理 采用 SPSS11.5 软件进行统计学处理,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 I、II、III 型异型淋巴细胞的形态学特征,见图 1。

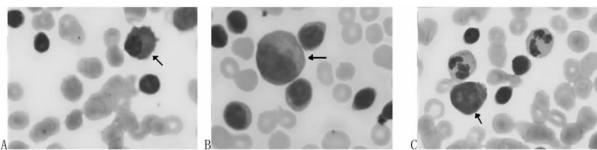
2.2 EBV、CMV 和 H1N1 阳性患者外周血 WBC 计数与分类计数结果与对照组比较,见表 1。

2.3 EBV、CMV 和 H1N1 病毒感染患者的异型淋巴细胞分型分布,见表 2。3 种病毒感染患者的异型淋巴细胞增高均以 II 型为主,其中 EBV 组明显高于 CMV 组和 H1N1 组($P < 0.05$),但 CMV 组与 H1N1 组之间比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。说明 EBV 感染患者的异型淋巴细胞反应最明显。

表 1 4 组外周 WBC 计数与分类计数结果比较($\bar{x} \pm s$)

分组	n	WBC($\times 10^9/L$)	分类计数					
			N(%)	L(%)	M(%)	E(%)	B(%)	异型淋巴细胞(%)
EBV 组	57	4.51 \pm 2.03 [*]	43.4 \pm 12.0 [*]	33.7 \pm 9.6 [*]	6.3 \pm 1.4	1.4 \pm 1.2	1.1 \pm 0.9	15.4 \pm 3.8 [*]
CMV 组	41	4.43 \pm 1.96 [*]	52.4 \pm 10.2 [*]	27.4 \pm 7.4 [*]	4.6 \pm 1.1	1.6 \pm 1.0	0.9 \pm 0.8	11.2 \pm 2.9 ^{*△}
H1N1 组	49	5.17 \pm 1.83 [*]	54.3 \pm 11.4 [*]	28.1 \pm 8.8 [*]	5.5 \pm 1.3	1.3 \pm 1.1	1.2 \pm 1.0	10.8 \pm 3.2 ^{*△}
对照组	50	7.63 \pm 2.49	68.3 \pm 8.3	22.6 \pm 6.5	3.2 \pm 1.2	1.2 \pm 0.9	0.6 \pm 0.8	3.5 \pm 2.6

*: $P < 0.05$, 与对照组比较;△: $P < 0.05$, 与 EBV 组比较。



A:箭头所指为 I 型异型淋巴细胞(浆细胞型);B:箭头所指为 II 型异型淋巴细胞(单核细胞型);C:箭头所指为 III 型异型淋巴细胞。

图 1 I ~ III 型异型淋巴细胞形态

表 2 3 种病毒感染患者异型淋巴细胞增高分型分布比较[n(%)]

分组	n	I型	II型	III型
EBV 组	57	5(8.7)	49(86.0)	3(5.3)
CMV 组	41	8(19.5)	28(68.3) [*]	5(12.2)
H1N1 组	49	8(16.1)	33(67.8) [*]	8(16.1)

*: $P < 0.05$, 与 EBV 组比较。

表 3 3 种病毒感染所致 T 细胞亚群改变($\bar{x} \pm s$)

分组	n	CD8 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
EBV 组	57	1 462 \pm 46 [*]	532 \pm 31 [*]	663 \pm 37 [*]	0.80 \pm 0.11 [*]
CMV 组	41	1 417 \pm 49 [*]	526 \pm 33 [*]	517 \pm 29 ^{*△}	1.01 \pm 0.14 ^{*△}
H1N1 组	49	1 396 \pm 51 [*]	530 \pm 24 [*]	524 \pm 35 ^{*△}	1.02 \pm 0.09 ^{*△}
对照组	50	1 293 \pm 38	697 \pm 29	513 \pm 28	1.41 \pm 0.10

*: $P < 0.05$, 与对照组比较;△: $P < 0.05$, 与 EBV 组比较。

2.4 3 种病毒感染患者 T 细胞亚群改变,见表 3。3 种病毒感染均可导致 CD3⁺ T 细胞亚群增高,CD4⁺ T 细胞亚群减低;EBV 感染患者 CD8⁺ T 细胞亚群明显高于 CMV、H1N1 感染患者及健康者。3 种病毒感染患者 CD4⁺/CD8⁺ 比值均低于健康者,其中 EBV 感染患者比 CMV、H1N1 病毒感染患者更低。

3 讨 论

目前认为异型淋巴细胞的产生是由于机体受病毒或某些病原体感染,引起巨噬细胞系统的异常增生。病毒和(或)某些病原体与 B 淋巴细胞受体结合,在不断增殖与复制过程中,被 T 淋巴细胞识别,激发抑制性 T 细胞(Ts/Tc)增殖并自身发生转化,形成细胞毒性效应,这种受刺激后异常增殖的 T 细胞和少量 B 细胞出现在外周血中便形成异型淋巴细胞^[6-7]。因此,很多病毒感染,如 EBV、CMV、柯萨奇 B 组病毒(CVB)、肺炎支原体(MP)感染以及某些炎症、弓形体病、药物过敏、自身免疫性疾病、某些贫血等,都会引起外周血异型淋巴细胞不同程度增多,这种现象临幊上也称之为淋巴细胞类白血病反应。

3 种病毒感染患者 WBC 和淋巴细胞计数结果比较表明,3 种病毒感染患者的异型淋巴细胞均有不同程度增高,其中 EBV 感染患者的异型淋巴细胞比例最高,说明机体淋巴系统对 EBV 刺激反应最强烈,而 H1N1 病毒对机体淋巴系统的刺激不及 EBV 强烈,与 CMV 感染患者相当。从 WBC 总数和分类计数角度分析,3 种病毒感染患者的 WBC 总数均在正常参考范围内,但比同期健康者 WBC 总数低一些,这可能是由于病毒感染破坏了粒细胞所致,这也是导致 WBC 分类计数中淋巴细胞比例增高、中性粒细胞低于健康者的原因之一。

通过对异型淋巴细胞分型分布观察,发现 3 种病毒感染患者的异型淋巴细胞增高均以 II 型(单核细胞型)为主,但 EBV 感染患者主要集中在 II 型(占 86.0%),而在 I 型和 III 型中的分布均较低;CMV 与 H1N1 病毒感染患者的异型淋巴细胞增高虽然也集中在 II 型,但在 I、II、III 型分布中比 EBV 离散一些,这可能与病毒结构不同,进入机体后所激发免疫系统的 T 细胞和 B 细胞异常增生作用有所不同所致^[7]。

3 种病毒感染患者都有不同程度的 T 淋巴细胞亚群的紊乱,主要表现为 CD3⁺ T 细胞增高和 CD4⁺ T 细胞减低,CD4⁺/CD8⁺ 比值降低,尤其是 EBV 感染患者表现突出,不仅有

CD3⁺ T 细胞增高和 CD4⁺ T 细胞减低, 同时还伴随有 CD8⁺ 增高。因此, 导致其 CD4⁺/CD8⁺ 比值比 CMV、H1N1 感染患者下降得更明显, 从而显示外周血异型淋巴细胞越高, 其 T 细胞亚群反应越强烈。由此说明外周血异型淋巴细胞增高与机体免疫功能反应具有一定的相关性。综合本研究的几项实验观察, 尽管 H1N1 病毒是一种新型病毒, 一度引起世界大流行, 但它对机体免疫系统的影响与其他呼吸道病毒感染基本类似^[8-10]。由于本文所涉及的实验有一定的局限性, 对 H1N1 病毒的认识还有待于进一步观察和研究。

参考文献

- [1] 田文侠, 姚忠强, 邢雪梅, 等. 异型淋巴细胞比例与 EB 病毒现症感染相关性分析[J]. 航空航天医药, 2009, 20(1): 31.
- [2] Yamashita N, Kimura H, Morishima T. Virological aspects of Epstein-Barr virus infections[J]. Acta Med Okyama, 2005, 59(6): 239.
- [3] Centers for Disease Control and Prevention. Outbreak of swine-origin influenza A(H1N1) virus infection-Mexico, March-April 2009 [J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2009, 58(17): 467-470.
- [4] Centers for Disease Control and Prevention. Update: infections with a swine origin influenza A(H1N1) virus-United States and other countries[J]. MMWR Morb Mortal Wkly Rep, 2009, 58

(上接第 2702 页)

因多态性的分析丰富了国内群体遗传学的资料, 同时基因型与 HDL-C 水平相关性的发现为阐明 DNase I 导致心肌梗死的发病机制研究提供了线索。

参考文献

- [1] Eulitz D, Mannherz HG. Inhibition of deoxyribonuclease I by actin is to protect cells from premature cell death[J]. Apoptosis, 2007, 12(8): 1511-1521.
- [2] Mannherz H, Peitsch MC, Zanotti S, et al. A new function for an old enzyme: the role of DNase I in apoptosis[J]. Curr Top Microbiol Immunol, 1995, 12(4): 198-161.
- [3] Baranovskii AG, Buneva VN, Nevinsky GA. Human deoxyribonucleases[J]. Biochemistry(Mosc), 2004, 69(6): 587-601.
- [4] Junko F, Hisakasu T, Kaori K, et al. Two deoxyribonuclease I gene polymorphisms and correlation between genotype and its activity in Japanese population[J]. Leg Med, 2007, 9(5): 233-236.
- [5] Fujihara J, Hieda Y, Takayama K, et al. Analysis of genetic polymorphism of deoxyribonuclease I in Ovambo and Turk populations using a genotyping method[J]. Biochem Genet, 2005, 43(11/12): 629-635.
- [6] Kawai Y, Yoshida M, Arakawa K, et al. Diagnostic use of serum deoxyribonuclease I activity as a novel early-phase marker in acute myocardial infarction[J]. Circulation, 2004, 109(20): 2398-2400.
- [7] Yasuda T, Nadano D, Tenjo E, et al. Survey of the association of deoxyribonuclease I polymorphism with disease [J]. Hum Hered, 1993, 43(4): 205-208.
- [8] Tsutsumi S, Asao T, Nagamachi Y, et al. Phenotype 2 of deoxyribonuclease I may be used as a risk factor for gastric carcinoma

(16): 431-433.

- [5] Ho A, Fox R, Seaton RA, et al. Hospitalised adult patients with suspected 2009 H1N1 infection at regional infectious diseases units in Scotland e most had alternative final diagnoses[J]. J Infect, 2010, 60(1): 83-85.
- [6] 王玉兰, 段连宁, 刘晓莉, 等. 异型淋巴细胞在感染性疾病中的观察[J]. 中国实验诊断学, 2007, 11(6): 833-834.
- [7] 刘莹, 曹军皓, 容东宁, 等. 传染性单核细胞增多症异型淋巴细胞数量与 EB 病毒浓度的关系[J]. 实用医学杂志, 2008, 24(20): 3582-3583.
- [8] Cunha BA, Syed U, Mickail N, et al. Rapid clinical diagnosis in fatal swine influenza(H1N1) pneumonia in an adult with negative rapid influenza diagnostic tests(RIDTs): diagnostic swine influenza triad[J]. Heart Lung, 2010, 39(1): 78-86.
- [9] Ellis J, Iturriza M, Allen R, et al. Evaluation of four real-time PCR assays for detection of influenza A(H1N1)v viruses[J]. Euro Surveill, 2009, 14(22): 45-47.
- [10] Cunha BA, Pheres FM, Schoch P. Diagnostic importance of relative lymphopenia as a marker of swine influenza(H1N1) in adults [J]. Clin Infect Dis, 2009, 49(9): 1454-1456.

(收稿日期: 2012-05-09)

[J]. Cancer, 1998, 82(9): 1621-1625.

- [9] Tsutsumi S, Takeshita H, Yasuda T, et al. Association of DNase I phenotype 2 with colorectal carcinoma risk in Japanese populations[J]. Cancer Lett, 2000, 159(1): 109-112.
- [10] Kumamoto T, Kawai Y, Arakawa K, et al. Association of Gln222Arg polymorphism in the deoxyribonuclease I(DNase I) gene with myocardial infarction in Japanese patients[J]. Eur Heart J, 2006, 27(17): 2081-2087.
- [11] Fujihara J, Yasuda T, Shiwaku K, et al. Frequency of a single nucleotide(A2317G) and 56-bp variable number of tandem repeat polymorphisms within the deoxyribonuclease I gene in five ethnic populations[J]. Clin Chem Lab Med, 2006, 44(10): 1188-1191.
- [12] Kousuke F, Yasuyuki K, Michihiko K, et al. Serum deoxyribonuclease I activity can be a useful diagnostic marker for the early diagnosis of unstable angina pectoris or non-ST-segment elevation myocardial infarction[J]. J Cardiol, 2012, 143(8): 78-79.
- [13] Kuribara J, Tada H, Kawai Y, et al. Levels of serum deoxyribonuclease I activity on admission in patients with acute myocardial infarction can be useful in predicting left ventricular enlargement due to remodeling[J]. J Cardiol, 2009, 53(2): 196-203.
- [14] 徐晓萍, 王震炜, 徐磊. 冠心病患者血浆高密度脂蛋白及其亚型的变化分析[J]. 检验医学, 2006, 21(4): 320-323.
- [15] Besler C, Lüscher TF, Landmesser U. Molecular mechanisms of vascular effects of high-density lipoprotein: alterations in cardiovascular disease[J]. EMBO Mol Med, 2012, 4(4): 251-268.
- [16] 吴炯, 郭伟, 潘柏申, 等. 冠状动脉病变时非高密度脂蛋白胆固醇的临床应用[J]. 检验医学, 2006, 21(4): 316-319.

(收稿日期: 2012-05-09)