

## • 临床检验研究论著 •

# 儿童支气管肺炎患者病程各阶段细胞免疫和体液免疫的改变及临床意义

孙林春<sup>1</sup>, 张利<sup>2</sup>, 张兰芳<sup>1</sup>, 胡正<sup>1</sup>

(1. 南京医科大学附属南京儿童医院儿科研究所, 江苏南京 210008;

2. 江苏省中西医结合医院检验科, 江苏南京 210009)

**摘要:** 目的 检测 145 例儿童支气管肺炎患者细胞免疫和体液免疫功能在病程各阶段中的改变, 探讨其临床意义。方法 采用流式细胞术对 145 例支气管肺炎患儿和 50 例健康儿童的外周血 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 和 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞进行检测。用免疫散射浊度法对 145 例支气管肺炎患儿和 50 例健康儿童的血清免疫球蛋白 G(IgG)、免疫球蛋白 A(IgA) 和免疫球蛋白 M(IgM) 进行检测。结果 支气管肺炎患儿发病时外周血 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞的相对计数和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) ; 血清 IgG 和 IgA 均比对照组降低( $P < 0.05$ )。接受 3 d 对症治疗后患儿外周血 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 细胞的相对计数和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值与对照组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ ) ; 血清中 IgG 和 IgA 比对照组降低( $P < 0.05$ )。无临床症状, 遵医嘱结束治疗后患儿外周血 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞的相对计数和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ) ; 血清中 IgG、IgA 和 IgM 与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。结论 支气管肺炎患儿同时存在细胞免疫和体液免疫功能紊乱, 免疫功能处于抑制状态, 合理有效的治疗有助于恢复正常免疫功能。对患儿免疫功能检测可帮助判断病情, 指导治疗和评估预后。

**关键词:** 支气管肺炎; 淋巴细胞亚群; 免疫球蛋白类

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2014.06.018

文献标识码:A

文章编号: 1673-4130(2014)06-0695-02

## Changes and clinical significance of cell immunity and humoral immunity in various stages of child bronchial pneumonia

Sun Linchun<sup>1</sup>, Zhang Li<sup>2</sup>, Zhang Lanfang<sup>1</sup>, Hu Zheng<sup>1</sup>

(1. Nanjing Children's Hospital Affiliated to Nanjing Medical University, Nanjing, Jiangsu 210008, China;

2. Jiangsu Province Hospital on Integration of Chinese and Western Medicine, Nanjing, Jiangsu 210009, China)

**Abstract: Objective** To assay the changes of the cell immunity and humoral immunity function in various stages of child bronchial pneumonia and to investigate their clinical significance. **Methods** The flow cytometry (FCM) was used to detect the peripheral blood CD3<sup>+</sup> (T cells), CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> (Th cells) and CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> (Ts cells) cells in 145 children patients with bronchial pneumonia and 50 healthy children. The immunoturbidimetry was used to assay serum immunoglobulins IgG, IgA and IgM. **Results** The relative counts of CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> cells and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio after onset in the children patients had differences compared with the control( $P < 0.05$ ) ; serum IgG and IgA were decreased compared with the control group( $P < 0.05$ ) . After 3 d symptomatic treatment, the relative counts of CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> cells and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio had statistical differences compared with the control group ( $P < 0.05$ ) ; serum IgG and IgA were decreased compared with the control group( $P < 0.05$ ) . After the end of treatment following the medical orders without symptoms, the patients' CD3<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>, CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> cells, CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio and IgG, IgA and IgM in serum all had no differences compared with the control group( $P < 0.05$ ) . **Conclusion** The dysfunction of both cellular immune and humoral immune function exist in children patients with bronchial pneumonia and their immune function is in depressed state. The rational and effective treatment are conducive to the recovery of normal immune function. Detecting the immune function can help to judge the disease condition and guide the treatment and evaluate the prognosis.

**Key words:** bronchopneumonia; lymphocyte subsets; immunoglobulins

儿童支气管肺炎又称小叶肺炎, 是儿科最常见的疾病之一, 常继发于上呼吸道感染, 炎症向下呼吸道扩散所致, 可由病毒感染引起<sup>[1-4]</sup>。当机体抵抗力下降, 呼吸系统防御功能减弱, 病毒或细菌就可能侵入呼吸系统, 引起支气管肺炎的发生。世界卫生组织的调查报告指出肺炎是全球范围内儿童死亡的首要原因<sup>[5]</sup>。近来有研究表明, 机体免疫功能异常在支气管肺炎发病中起到重要作用, 免疫系统发育不健全、免疫功能不完善或免疫功能低下的儿童容易受到感染<sup>[6-7]</sup>。为验证支气管肺炎患儿是否存在免疫功能异常及在整个病程各阶段中机体免疫功能的变化, 本文对本院 145 例支气管肺炎患儿的免疫情况进行检测。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 2011 年 11 月至 2012 年 11 月期间本院收治的 145 例支气管肺炎住院患者纳入研究范围, 诊断符合《褚福堂实用儿科学》<sup>[8]</sup> 诊断标准。其中男 82 例, 女 63 例, 男女比 1.3 : 1.0, 年龄分布从 1~9 岁。每位患者根据所处的病程阶段分为治疗前组(起病至就医未接受任何治疗), 治疗中组(遵医嘱接受 3 d 对症治疗)和治疗后组(无临床症状遵医嘱结束治疗)。同时选择 50 例本院儿保科健康儿童作为对照组。

**1.2 仪器与试剂** FACSCalibur 型流式细胞仪(美国 BD 公司); 10×溶血素(美国 BD 公司); BN-Prospec 特种蛋白分析仪及配套试剂(德国 SIEMENS 公司)。

**1.3 方法** 细胞免疫检测:抽取 1 mL 外周静脉血置于肝素钠抗凝管 4 ℃保存,24 h 内分析。取 Falcon 试管,分别依次加入 20 L 抗体和 50 L 抗凝全血,震荡混匀后室温避光孵育 15 min。加入 450 L 1×溶血素,涡旋混匀后室温避光孵育 15 min 后 1 600 min 离心 5 min,弃上清液。加入 3 mL 生理盐水,涡旋混匀后 1 600 r/min 离心 5 min,弃上清。加入 0.5 mL 生理盐水,震荡重悬细胞,上机进行淋巴细胞亚群检测。体液免疫检测:空腹抽取 2 mL 外周静脉血置于干燥管内,3 000 r/min 离心 5 min 分离血清,上机检测相应指标。

**1.4 统计学处理** 所有计量数据用  $\bar{x} \pm s$  表示。用 STATA 7.0 软件进行分析,两组间比较用 Student's T 检验。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结 果

**2.1 T 淋巴细胞亚群的检测** 见表 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。治疗前患儿外周血 CD3<sup>+</sup> 细胞和 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 细胞相对计数比对照组降低,CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞相对计数比对照组升高,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值比对照组降低( $P < 0.05$ )。接受 3 d 对症治疗后患儿外周血 CD3<sup>+</sup> 细胞和 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 细胞相对计数比对照组降低( $P < 0.05$ ),CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞相对计数与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值比对照组降低( $P < 0.05$ )。患儿临床症状消失,遵医嘱结束治疗后外周血 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 细胞相对计数和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。支气管肺炎患儿 CD3<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 细胞相对计数和 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值在诊疗过程中逐渐升高,治疗前、后组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 1 各组外周血 T 淋巴细胞亚群检测

组别	n	CD3 <sup>+</sup> (%)	CD3 <sup>+</sup> CD4 <sup>+</sup> (%)	CD3 <sup>+</sup> CD8 <sup>+</sup> (%)	CD4 <sup>+</sup> / CD8 <sup>+</sup>
治疗前组	145	60.3 <sup>*</sup>	37.6 <sup>*</sup>	28 <sup>*</sup>	1.6 <sup>*</sup>
治疗中组	145	65.7 <sup>*</sup>	43.6 <sup>*</sup>	25	1.7 <sup>*</sup>
治疗后组	106 <sup>△</sup>	69.9 <sup>#</sup>	53.0 <sup>#</sup>	22 <sup>#</sup>	2.1 <sup>#</sup>
对照组	50	73.4	55.0	21	2.1

\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; #:  $P < 0.05$ , 与治疗前组比较; △: 39 例患儿在结束治疗后要求退出实验。

**2.2 免疫球蛋白检测** 见表 2(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。治疗前患儿血清免疫球蛋白 G(IgG) 和 IgA 比对照组降低( $P < 0.05$ )。接受 3 d 对症治疗后患儿血清 IgG 和 IgA 比对照组降低( $P < 0.05$ )。患儿临床症状消失,遵医嘱结束治疗后血清 IgG、IgA 和 IgM 与对照组比较差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。整个病程中,患儿血清 IgG、IgA 随着诊疗的进行逐渐升高,治疗前、后组比较差异有统计学意义( $P < 0.05$ )。

表 2 各组免疫球蛋白检测(g/L)

组别	n	IgG	IgA	IgM
治疗前组	145	5.95 <sup>*</sup>	0.61 <sup>*</sup>	1.14
治疗中组	145	6.96	0.82 <sup>*</sup>	1.26
治疗后组	106 <sup>△</sup>	7.67 <sup>#</sup>	0.90 <sup>#</sup>	1.29
对照组	50	7.72	0.95	1.27

\*:  $P < 0.05$ , 与对照组比较; #:  $P < 0.05$ , 与治疗前组比较; △: 39 例患儿在结束治疗后要求退出实验。

## 3 讨 论

支气管肺炎是儿科常见疾病,目前认为支气管肺炎的发病机制是病毒或细菌等病原体直接侵害儿童的呼吸系统并产生一系列的病理变化,从而导致疾病的发生。研究发现儿童的免疫功能在支气管肺炎的发生和发展中起到重要的作用。

人体的免疫功能分为细胞免疫和体液免疫。T 淋巴细胞是细胞免疫的主要效应细胞。按照 T 淋巴细胞的表面分子标记可将其分 CD3<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup> 的辅助性 T 淋巴细胞(Th)和 CD3<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup> 的抑制性 T 淋巴细胞(Ts)。Th 细胞主要通过活化 B 细胞和效应 T 细胞,加强机体的免疫保护功能,而 Ts 淋巴细胞则对机体免疫功能起抑制作用。正常情况下,Th 细胞和 Ts 细胞处于动态平衡的状态,两者比值在一个相对稳定的范围内,共同维持机体正常的细胞免疫功能,否则会出现机体细胞免疫功能紊乱而致病<sup>[9]</sup>。T 淋巴细胞亚群比例失调越严重,机体自身组织损伤越广泛<sup>[10]</sup>。本研究显示,支气管肺炎患儿的 T 淋巴细胞亚群结果异常,总 T 淋巴细胞和 Th 细胞较对照组降低,Ts 细胞较对照组升高,Th 和 Ts 的比值较对照组降低( $P < 0.05$ ),说明 Th 细胞功能减低,Ts 细胞功能增强,由此导致细胞免疫功能处于相对抑制状态,对病原体的抵抗及清除能力减弱,是支气管肺炎发生的危险因素之一。根据患儿的病情合理选择抗菌药物或抗病毒药物,针对高热、咳嗽、气喘等症状进行对症治疗,加强患儿护理之后<sup>[11]</sup>,患儿总 T 淋巴细胞和 Th 细胞数逐渐升高,Ts 细胞数逐渐降低,Th/Ts 比值升高,在治愈后与对照组比较,差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),说明细胞免疫功能恢复正常,治疗有效。

B 淋巴细胞是体液免疫的主要效应细胞,活化的 B 细胞产生抗感染抗体 IgG、IgA 和 IgM<sup>[12]</sup>,在机体抗感染过程中起到重要作用<sup>[13]</sup>。支气管肺炎患儿 IgG 和 IgA 较对照组降低,说明体液免疫功能紊乱,抗感染能力低下。其原因可能是体液免疫中 B 细胞的活化和分泌抗体受 T 细胞的调节,而患儿的细胞免疫功能受损,导致其协助 B 细胞产生抗体的能力减弱,从而使体液中 IgG 和 IgA 含量减低<sup>[14]</sup>;机体在抗感染的过程中要消耗大量的免疫球蛋白,进一步加重了体液免疫功能紊乱。而本研究发现同样是 B 细胞分泌的抗感染抗体, IgM 在该病的治疗前后变化很小,与另一篇同类研究结果一致,分析可能由于 IgM 是初次体液免疫应答中最早产生的抗体,是体液免疫的先头部队,在发病初期含量较高,因此,患儿发病时血清中 IgM 水平无明显下降<sup>[15]</sup>。治愈后各免疫球蛋白均达到对照组水平,说明体液免疫功能恢复,治疗有效。

综上,支气管肺炎患儿存在细胞免疫和体液免疫功能紊乱。对症治疗之后,细胞免疫和体液免疫功能逐渐恢复正常。若能在治疗中积极寻求能改善患儿免疫功能的治疗手段,可能会缩短病程,改善预后和减少危重病例的发生。本研究对支气管肺炎患儿病程各阶段机体免疫功能的变化进行研究,结果有助于全面掌握患者病程中的免疫状况,对该病的治疗和疗效及预后观察有重要的指导意义。

## 参 考 文 献

- [1] Staat MA. Respiratory syncytial virus infections in children[J]. Semin Respir Infect, 2002, 17(1): 15-20.
- [2] 江远长. 小儿呼吸道合胞病毒感染分析[J]. 临床和实验医学杂志, 2006, 5(5): 544-545.
- [3] Welliver RC. Detection, pathogenesis, and therapy of respiratory syncytial virus infections[J]. Clin Microbiol Rev, (下转第 702 页)

及献血招募办法的改进和捐献者淘汰和筛查有关<sup>[6]</sup>。本文中 HBsAg 阳性捐赠者的比例为 1.16% (95% CI: 1.12~1.20), 这远高于亚洲其他国家, 包括日本 (2.78/10 万, 95% CI: 1.78~4.14/10 万)。而在某些流行率低的地区, 如加拿大 1990~2000 年和印度 1997~2002 年, 捐献者血液 HBV 感染的流行也有报道<sup>[11~12]</sup>。因此, 中国普通人口 HBV 高流行率的现象提示这一病原体对于血液供给具有重大风险。

在中国, HCV 感染的流行率高于一些发达国家, 但普通人口 HBV 感染的流行率低于这些国家。在先前的研究中, 中国血液捐献者 HCV 的流行率有报道为介于 0.33%~0.90%<sup>[13~15]</sup>。在本研究中, HCV 流行率显示, 其从 1999 年的 1.14% (95% CI: 0.99~1.31) 降至 2009 年的 0.42% (95% CI: 0.36~0.50)。估计在 1993 年普通中国人口 HCV 的流行率为 3.2%<sup>[16]</sup>, 约比中国血液捐献者的响应值高 6.3 倍。这一差异可能是由于血液捐献者的自我选择或可能反映出捐献者预筛检的效力。

综上所述, 虽然 1999~2009 年血液捐赠者 HBV 和 HCV 的流行趋势有所降低, HBV 感染仍然是血液安全的主要威胁。

## 参考文献

- [1] Su B, Liu L, Wang F, et al. HIV-1 subtype B' dictates the AIDS epidemic among paid blood donors in the Henan and Hubei provinces of China[J]. AIDS, 2003, 17(17): 2515~2520.
- [2] Shepard CW, Finelli L, Alter MJ. Global epidemiology of hepatitis C virus infection[J]. Lancet Infect Dis, 2005, 5(9): 558~567.
- [3] Shang G, Seed CR, Wang F, et al. Residual risk of transfusion-transmitted viral infections in Shenzhen, China, 2001 through 2004[J]. Transfusion, 2007, 47(3): 529~539.
- [4] Shan H, Wang JX, Ren FR, et al. Blood banking in China[J]. Lancet, 2002, 360(9347): 1770~1775.
- [5] Glynn SA, Kleinman SH, Schreiber GB, et al. Trends in incidence and prevalence of major transfusion-transmissible viral infections in US blood donors, 1991 to 1996. Retrovirus Epidemiology Donor Study (REDS)[J]. JAMA, 2000, 284(2): 229~235.
- [6] Liang X, Bi S, Yang W, et al. Epidemiological serosurvey of hepatitis B in China--declining HBV prevalence due to hepatitis B vaccination[J]. Vaccine, 2009, 27(47): 6550~6557.
- [7] He N, Detels R. The HIV epidemic in China: history, response, and challenge[J]. Cell Res, 2005, 15(11/12): 825~832.
- [8] Soldan K, Barbara JA, Ramsay ME, et al. Estimation of the risk of hepatitis B virus, hepatitis C virus and human immunodeficiency virus infectious donations entering the blood supply in England, 1993~2001[J]. Vox Sang, 2003, 84(4): 274~286.
- [9] Zou S, Notari EP, Stramer SL, et al. Patterns of age- and sex-specific prevalence of major blood-borne infections in United States blood donors, 1995 to 2002: American Red Cross blood donor study[J]. Transfusion, 2004, 44(11): 1640~1647.
- [10] Gurrol E, Saban C, Oral O, et al. Trends in hepatitis B and hepatitis C virus among blood donors over 16 years in Turkey[J]. Eur J Epidemiol, 2006, 21(4): 299~305.
- [11] Singh B, Verma M, Verma K. Markers for transfusion-associated hepatitis in north Indian blood donors: prevalence and trends[J]. Jpn J Infect Dis, 2004, 57(2): 49~51.
- [12] Chiavetta JA, Escobar M, Newman A, et al. Incidence and estimated rates of residual risk for HIV, hepatitis C, hepatitis B and human T-cell lymphotropic viruses in blood donors in Canada, 1990~2000[J]. CMAJ, 2003, 69(8): 767~773.
- [13] 赵树铭, 蒋天伦, 黎儒青, 等. 重庆地区无偿献血者丙肝病毒感染及对献血者招募的影响[J]. 中国实验血液学杂志, 2008; 16(3): 676~680.
- [14] 何玲君, 郑朝晖, 林远龙. 无偿献血者丙肝病毒及梅毒感染状况分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2007, 17(5): 938~939.
- [15] Mahfoud Z, Kassak K, Kreidieh K, et al. Distribution of hepatitis C virus genotypes among injecting drug users in Lebanon[J]. Virol J, 2010, 7(1): 96.
- [16] Foroughipour M, Jabbari Azad F, Farid Hosseini R, et al. Outcome of Intravenous Immunoglobulin-Transmitted HTLV-I, Hepatitis B, Hepatitis C, and HIV infections[J]. Iran J Basic Med Sci, 2013, 16(3): 221~224.

(收稿日期: 2013-12-08)

(上接第 696 页)

1988, 1(1): 27~39.

- [4] Chang AB, Yerkovich ST, Gibson PG, et al. Pulmonary innate immunity in children with protracted bacterial bronchitis[J]. J Pediatr, 2012, 161(4): 621~625.
- [5] 谢文华, 张亚娥. 1~5 岁儿童支气管肺炎的临床分析[J]. 吉林医学, 2011, 32(7): 1351~1352.
- [6] Tosiek MJ, Gruber AD, Bader SR, et al. CD4<sup>+</sup> CD25<sup>+</sup> Foxp3<sup>+</sup> regulatory T cells are dispensable for controlling CD8<sup>+</sup> T cell-mediated lung inflammation[J]. J Immunol, 2011, 186(11): 6106~6118.
- [7] Reynolds JH, McDonald G, Alton H, et al. Pneumonia in the immunocompetent patient[J]. Br J Radiol, 2010, 83(996): 998~1009.
- [8] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 北京: 人民卫生出版社, 2005: 1 199~1200.
- [9] Woodland DL. Cell-mediated immunity to respiratory virus infections[J]. Curr Opin Immunol, 2003, 15(4): 430~435.
- [10] Romero-Rojas A, Ponce-Hernández C, Mendoza SE, et al. Immunomodulatory properties of Mycoplasma pulmonis. II. Studies on the mechanisms of immunomodulation[J]. Int Immunopharmacol, 2001, 1(9/10): 1689~1697.
- [11] 罗丽, 袁兆康, 钟荣梅. 临床路径在儿童支气管肺炎治疗中的应用[J]. 南昌大学学报: 医学版, 2012, 52(5): 80~81.
- [12] Youinou P, Hillion S, Jamin C, et al. B lymphocytes on the front line of autoimmunity[J]. Autoimmun Rev, 2006, 5(3): 215~221.
- [13] 秦莉. 免疫球蛋白在儿科的应用[J]. 中外医疗, 2012, 31(34): 179~180.
- [14] 程小丽, 陈葳, 杨玉琼, 等. 支气管肺炎患儿机体免疫功能变化的分析[J]. 免疫学杂志, 2012, 28(6): 506~509.
- [15] 张涛, 廖嘉仪. 反复肺炎婴幼儿血清  $\beta$ -防御素-1 和免疫球蛋白 A、G、M 水平的研究[J]. 中国当代儿科杂志, 2012, 14(6): 431~433.

(收稿日期: 2013-10-28)