

• 论 著 •

儿童脑炎免疫功能检测分析及临床应用*

宋贤响, 方代华, 张林美

(江苏省徐州市儿童医院检验科 221006)

摘要:目的 观察脑炎患儿自身免疫功能的变化,探讨其免疫功能与病因的关系。方法 选取 145 例脑炎住院患儿,根据临床表现分为轻症组 97 例,重症组 48 例;另外又根据感染源不同分为病毒性脑炎组 99 例,化脓性脑膜炎组 46 例。选择同期该院 30 例体检健康儿童作为对照组,采用流式细胞仪(FCM)进行 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4/CD8⁺ 比值)、B 淋巴细胞亚群细胞(CD19⁺)、NK 淋巴细胞亚群(CD16⁺ CD56⁺)检测;采用免疫比浊法检测补体 C3、C4 及抗体 IgA、IgG、IgM。结果 脑炎组淋巴细胞亚群检测结果与对照组比较,差异有统计学意义($P < 0.05$)。病毒性脑炎组 CD3⁺、CD4⁺、CD19⁺ 的分子表达水平较化脓性脑膜炎组低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。病毒性脑炎组 C3、C4、IgA 的表达水平较化脓性脑膜炎组减低,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结论 中枢神经系统感染儿童体液及细胞免疫功能均有不同程度受损,存在免疫功能下降的现象。

关键词:儿童脑炎; 免疫功能检测; 体液免疫; 细胞免疫

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2017.03.012

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2017)03-0321-03

Analysis of immune function examination in child encephalitis and its clinical application*

SONG Xianxiang, FANG Daihua, ZHANG Linmei

(Department of Clinical Laboratory, Xuzhou Municipal Children's Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract: **Objective** To observe the change of immune function in child encephalitis, and to explore its relationship with etiology. **Methods** One hundred and forty-five children inpatients with encephalitis were selected and divided into mild group (97 cases) and severe group (48 cases) according to the clinical manifestations; in addition which were divided into the viral encephalitis group (99 cases) and purulent meningitis group (46 cases) according to different infection sources. Contemporaneous 30 healthy children undergoing physical examination were selected as the control group. The T lymphocyte subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4/CD8⁺ ratio), B lymphocyte subsets (CD19⁺) and NK lymphocyte subsets (CD16⁺ CD56⁺) were determined by flow cytometry (FCM). C3, C4 and antibody IgA, IgG and IgM were tested by immune turbidity method. **Results** The lymphocyte subsets detection results had statistical difference between the encephalitis group and control group ($P < 0.05$). The molecular expression levels of CD3⁺, CD4⁺ and CD19⁺ in the viral encephalitis group was lower than those in the purulent meningitis, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). The expression levels of C3, C4 and IgA in the viral encephalitis group were lower than those in the purulent meningitis group, the difference was statistically significant ($P < 0.05$). **Conclusion** The humoral and cellular immune function in children patients with central nervous system infection has varying degrees of damage and the immune function decrease phenomenon exists.

Key words: child encephalitis; detection of immune function; humoral immunity; cellular immunity

中枢神经系统感染(CNS)是儿童神经系统最常见的疾病, CNS 病死率、致残率较高^[1-6]。近年研究显示儿童脑炎发病率有增高趋势^[7-8]。儿童脑炎临床表现复杂,根据病史及一些辅助检查可以进行初步诊断是否颅内感染,使用流式细胞仪(FCM)对细胞免疫的检测和各种补体抗体的检测,可提高诊断水平,能有效的指导临床治疗。CNS 发生、发展与机体的免疫功能状态存在一定关系,机体由于病原体感染而活化部分 T 细胞而产生特定的细胞因子,可能会导致中枢神经系统的损伤^[9]。通过对本院 CNS 患儿淋巴细胞亚群及免疫球蛋白及补体检测结果分析,探讨 CNS 患儿机体免疫功能状况。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2015 年 1—12 月脑炎住院患儿 145 例(脑炎组),其中男 82 例,女 63 例,年龄 0~12 岁,平均年龄(4.6±2.0)岁。根据临床表现分为重症组 48 例(不包括死亡病例)和轻症组 97 例;根据感染源不同分为化脓性脑膜炎组

46 例,病毒性脑炎组 99 例,诊断标准参照文献^[10-11],另外选择同期本院 30 例体检健康儿童作为对照组,其中男 18 例,女 12 例,年龄 1~12 岁,平均年龄(5.3±2.0)岁。各组间性别和年龄比较差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 方法 研究对象采集全血 0.5 mL,肝素抗凝,应用 FCM 检测其 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺)、辅助/诱导 T 淋巴细胞(CD3⁺ CD4⁺)、抑制/杀伤 T 淋巴细胞(CD3⁺ CD8⁺)、Th/Ts(CD4⁺/CD8⁺)、B 淋巴细胞亚群(CD19⁺)、NK 淋巴细胞亚群(CD3⁺ CD16⁺ 56⁺)表达水平;同时抽取静脉血 2 mL,分离血清,应用全自动生化分析仪以免疫比浊法检测血清补体 C3、C4,抗体 IgM、IgA、IgG。

1.3 仪器与试剂 美国 BD 公司提供 BD FACSCantoTM II 流式细胞仪及试剂;日本株式会社日立高新技术公司提供日立 7600 全自动生化分析仪;上海科华生物有限公司提供 7600 生化分析仪试剂。

* 基金项目:江苏省徐州市社会发展科技计划项目(XZZD1368)。

作者简介:宋贤响,男,副主任技师,主要从事免疫与病原生物学研究。

1.4 统计学处理 采用 SPSS17.0 统计软件进行分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,各组间比较采用单因素方差分析,两组间比较采用 t 检验,取检验水准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 各组淋巴细胞亚群分子表达水平比较 脑炎组淋巴细胞亚群分子表达水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$);重症组淋巴细胞亚群分子表达水平与轻症组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 1。

2.2 各组体液免疫表达水平比较 脑炎组 C3、C4、IgA、IgG、IgM 体液免疫表达水平与对照组比较,差异有统计学意义

($P<0.05$),见表 2。

2.3 两组淋巴细胞亚群分子表达水平比较 病毒性脑炎组 CD3⁺、CD3⁺CD4⁺、CD19⁺ 的分子表达水平较化脓性脑膜炎组低,差异有统计学意义($P<0.05$);脑炎组淋巴细胞亚群分子表达水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 3。

2.4 两组体液免疫表达水平比较 病毒性脑炎组 C3、C4、IgA 表达水平较化脓性脑膜炎组低,差异有统计学意义($P<0.05$);脑炎组体液免疫表达水平与对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$),见表 4。

表 1 各组淋巴细胞亚群检测结果比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD19 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)
脑炎组							
轻症组	97	59.23±8.11 [*]	30.21±9.27 [*]	29.32±8.6 [*]	1.17±0.39 [*]	31.37±6.79 [*]	9.34±7.19 [*]
重症组	48	54.34±7.19 ^{*#}	20.26±8.16 ^{*#}	33.24±8.39 ^{*#}	0.71±0.41 ^{*#}	44.24±6.25 ^{*#}	6.49±5.43 ^{*#}
对照组	30	67.41±8.57	38.64±9.31	26.37±8.86	1.55±0.36	23.14±4.68	17.63±4.12

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;重症组与轻症组比较,[#] $P<0.05$ 。

表 2 各组体液免疫检测结果比较($\bar{x} \pm s$,g/L)

组别	<i>n</i>	C3	C4	IgA	IgG	IgM
脑炎组						
轻症组	97	1.55±0.19 [*]	0.55±0.10 [*]	2.02±0.54 [*]	14.15±1.24 [*]	1.85±0.55 [*]
重症组	48	1.61±0.19 ^{*#}	0.61±0.08 ^{*#}	2.11±0.32 ^{*#}	14.52±1.37 ^{*#}	1.92±0.43 ^{*#}
对照组	30	1.24±0.61	0.36±0.11	1.59±0.52	9.01±1.98	1.19±0.55

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;重症组与轻症组比较,[#] $P>0.05$ 。

表 3 各组淋巴细胞亚群分子表达水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD19 ⁺ (%)	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺ (%)
脑炎组							
化脓性脑膜炎组	46	62.23±8.11 [*]	34.21±9.27 [*]	29.32±8.61 [*]	1.15±0.39 [*]	32.37±6.79 [*]	11.34±7.19 [*]
病毒性脑炎组	99	56.34±7.19 ^{*#}	29.26±8.16 ^{*#}	28.84±8.39 [*]	1.08±0.41 [*]	27.24±6.25 ^{*#}	10.49±5.43 [*]
对照组	30	67.41±8.57	38.64±9.31	26.37±8.86	1.55±0.36	23.14±4.68	17.63±4.12

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与化脓性脑膜炎组比较,[#] $P<0.05$ 。

表 4 两组体液免疫表达水平比较($\bar{x} \pm s$,g/L)

组别	<i>n</i>	C3	C4	IgA	IgG	IgM
脑炎组						
化脓性脑膜炎组	46	1.65±0.67 [*]	0.68±0.15 [*]	2.34±0.67 [*]	14.24±1.52 [*]	1.87±0.69 [*]
病毒性脑炎组	99	1.49±0.23 ^{*#}	0.52±0.37 ^{*#}	1.84±0.13 ^{*#}	14.87±1.85 [*]	1.91±0.48 [*]
对照组	30	1.24±0.61	0.36±0.11	1.59±0.52	9.01±1.98	1.19±0.55

注:与对照组比较,^{*} $P<0.05$;与化脓性脑膜炎组比较,[#] $P<0.05$ 。

3 讨 论

人体免疫系统包括细胞免疫和体液免疫,现常采用 FCM 检测血液淋巴细胞中 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 评价机体免疫水平。CD4⁺ 是评价免疫分泌功能的指标,CD8⁺ 是衡量细胞免疫杀伤功能,造成组织损伤的指标。CD4⁺/CD8⁺ 比值下降或倒置提示机体免疫功能受损。CNS 是病毒或细菌的侵袭力和患者的免疫力两方面因素决定的。本研究通过外周血淋巴细胞亚群及体液免疫检测结果的分析显示,脑炎患者 CD4⁺/CD8⁺ 比值倒置,与徐森懋等^[12] 报道结果一致。脑炎患者的 IgA、C3、C4、IgG 表达与对照组比较差异有统计学意义

($P<0.05$)。可见脑炎儿童存在免疫功能的改变,颅内感染患儿检测细胞及体液免疫功能可为临床感染性脑炎患儿治疗及鉴别细菌或病毒感染提供了一定的理论依据。

本研究脑炎组淋巴细胞亚群分子表达水平与对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。有研究表明 NK 淋巴细胞亚群在机体抗病毒的早期起重要作用,但病原感染可致 NK 淋巴细胞活性及数量降低^[13-14]。重症组 CD19⁺ 的分子表达水平最高,说明 B 淋巴细胞升高明显,可能是病原感染改变了宿主细胞膜抗原,病原抗原与宿主细胞的交叉免疫反应,细胞毒性 T 淋巴细胞导致病原感染的自体细胞溶解后的产物可作为抗原

刺激 B 细胞增殖。化脓性脑膜炎组淋巴细胞亚群分子表达水平与病毒性脑炎组比较差异有统计学意义($P<0.05$)。病毒性脑炎组患儿外周血中性粒细胞 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD19^+$ 的表达水平低于化脓性脑膜炎组,差异有统计学意义($P<0.05$),提示病毒性感染引起 T 淋巴细胞及 B 淋巴细胞亚群数量与功能减低。也有研究报道 T 淋巴细胞是主导机体免疫功能最主要的免疫细胞之一,在病毒感染时有异常改变,外周血 T 淋巴细胞常降低^[15-16]。

$CD4^+$ T 淋巴细胞是细胞免疫的主要效应细胞,而 $CD8^+$ T 淋巴细胞在体液免疫中发挥重要的作用^[17]。本研究显示化脓性脑膜炎组与病毒性脑炎组间体液免疫分子表达水平比较差异有统计学意义($P<0.05$),其中病毒性脑炎组 IgA 较化脓性脑膜炎组低,差异有统计学意义($P<0.05$),表明病毒性脑炎组患儿体液免疫存在功能障碍,与农少云等^[18]报道结果一致。化脓性脑膜炎组补体 C3 和 C4 表达水平与病毒性脑炎组和对照组比较差异有统计学意义($P<0.05$),与刘俊英等^[19]报道结果一致。免疫功能检测来鉴别脑炎是细菌或病毒感染具有一定临床意义,本研究结果提示脑炎患儿存在着免疫功能下降,这种紊乱可导致脑炎迁延不愈,提示脑炎患儿进行治疗时加用免疫增强剂疗效可能会更好。

参考文献

[1] 王新佳. 小儿脑炎[J]. 中国医刊, 2011, 46(11): 11-14.
[2] 刘晴肖, 黄志军. 神经节苷脂联合更昔洛韦治疗小儿病毒性脑炎疗效分析[J]. 中国当代医药, 2011, 18(23): 7576.
[3] 李子恒. 纳洛酮联合更昔洛韦治疗小儿病毒性脑炎临床疗效探讨[J]. 中国医学工程, 2013, 21(1): 137.
[4] Sejvtr JJ. The evolving epidemiology of viral encephalitis [J]. *Curtopin Neurol*, 2006, 19(4): 350-357.
[5] Wang T, Rumbaugh JA, Nath A. Viruses and the brain: From inflammation to dementia [J]. *Clin Sci (Lond)*, 2006, 110(4): 393-407.
[6] Riancho J, Delgado M, Sedano MJ, et al. Herpes simplex encephalitis: clinical presentation, neurological sequelae and new prognostic factors: ten years of experience [J]. *Neurol Sci*, 2013, 34(10): 1879-1881.
[7] Hinson VK, Tyor WR. Update of viral encephalitis; In-

flammatory diseases [J]. *Curr Opin Neurol*, 2001, 14(1): 369-374.
[8] Yoge R, Guzman-cottrill J. Bacterial meningitis in children: critical review of current concepts [J]. *Drugs*, 2005, 22(8): 1097-1112.
[9] Whitey RJ, Gnann JW. Viral encephalitis: familiar infection - emerging pathogen [J]. *Lancet*, 2002, 359(9305): 507.
[10] 诸福棠. 实用儿科学 [M]. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 915-916.
[11] 胡亚美, 江载芳, 诸福棠. 实用儿科学 [M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 759-769.
[12] 徐森懋, 黄亚玲. 儿童病毒性脑炎外周血淋巴细胞亚群研究 [J]. *中国医药科学*, 2014, 24(1): 14-17.
[13] Amadei B, Urbani S, Cazaly A, et al. Activation of natural killer cells during acute infection with hepatitis C virus [J]. *Gastroenterology*, 2010, 138(4): 1536-1545.
[14] 魏田力, 侯安存, 杭敏. 病毒性肺炎患儿外周血自然杀伤细胞核淋巴细胞亚群变化 [J]. *实用儿科杂志*, 2010, 25(22): 1728-1730.
[15] Kreijtz JH, Fouchier RA, Rimmelzwaan GF. Immune responses to influenza virus infection. [J]. *Vir Res*, 2011, 162(1/2): 19-30.
[16] 毛会军, 陈戴红, 张敏, 等. H7N9 禽流感患者外周血 T 淋巴细胞亚群的分析及意义 [J]. *检验医学*, 2013, 28(9): 758-761.
[17] 张丽, 曾汝良. 某地区吸毒者 HIV 感染状况调查及细胞免疫功能分析 [J]. *国际检验医学杂志*, 2012, 33(6): 724-725.
[18] 农少云, 梁娟英, 杨晓泉, 等. 手足口病患儿外周血 T 淋巴细胞亚群及免疫球蛋白检测的意义 [J]. *检验医学与临床*, 2012, 9(11): 1287-1288.
[19] 刘俊英, 刘冬青, 南静, 等. 中枢神经系统感染患儿脑脊液和血清 S-100b 蛋白及补体 C3、C4 联合检测的临床意义 [J]. *临床儿科杂志*, 2006, 12(2): 990-992.

(收稿日期: 2016-08-03 修回日期: 2016-10-26)

(上接第 320 页)

院肠杆菌科细菌质粒介导的喹诺酮耐药机制研究 [J]. *中华检验医学杂志*, 2008, 31(9): 969-974.
[10] 姜梅杰, 包健, 孙树玲. 肺炎克雷伯菌质粒介导的喹诺酮类耐药基因的研究 [J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志 (电子版)*, 2012, 6(6): 74-77.
[11] 李玉珍, 杨银梅, 汪云霞, 等. 阿米卡星耐药鲍曼不动杆菌 $aac(6')-Ib$ 和 $aac(6')-Ib-cr$ 基因的研究 [J]. *热带医学杂志*, 2014, 14(3): 293-295.
[12] 何超, 廖灿. 高分辨溶解曲线分析技术及其在遗传学中的应用 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2012, 20(4): 1-3.
[13] 张薇, 马云霞, 周永安. 高分辨溶解曲线技术快速检测

Leber 遗传性视神经病变 11778 致病突变位点 [J]. *中国优生与遗传杂志*, 2012, 20(7): 27-28.

[14] 陈晓晴, 余玲玲, 王慧燕, 等. 高分辨溶解曲线技术检测 HLA-G14bp 插入/缺失突变方法的建立及初步应用 [J]. *中国卫生检验杂志*, 2014, 20(5): 719-722.

(收稿日期: 2016-09-12 修回日期: 2016-11-02)

