

• 论 著 •

喘息性肺炎患儿全血中 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞的表达研究*

黄永洪¹, 康 颖^{2△}, 韩登科³, 陈 琼³

(1. 中山市港口医院内科, 广东中山 528447; 2. 广东药科大学附属第一医院儿科, 广州 510080;

3. 中山市人民医院检验科, 广东中山 528403)

摘 要:目的 探讨喘息性肺炎患儿全血中 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞的表达及意义。方法 选取 2013—2016 年在中山市人民医院确诊为喘息性肺炎患儿 36 例作为喘息性肺炎组, 另选取同期来该院体检健康儿童 36 例作为对照组, 采用流式细胞仪检测分析两组全血中 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞的表达, 并做 ROC 曲线进行结果分析。结果 喘息性肺炎组 CD3⁺ T 淋巴细胞、CD3⁺ CD8⁺ T 淋巴细胞、CD28⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ CD28⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ CD28⁻ T 淋巴细胞、CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺ 自然杀伤细胞、CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺ 自然杀伤细胞、CD3⁺ CD4⁺ / CD3⁺ CD8⁺ 与对照组比较, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。ROC 曲线统计结果显示, 流式细胞仪检测 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞各参数均有较高的灵敏度。结论 喘息性肺炎患儿存在免疫功能障碍, 免疫功能的改变与喘息性肺炎发生相关, 对喘息性肺炎患儿进行免疫功能检测具有重要的临床意义。

关键词:喘息性; 肺炎; 应用价值; ROC 曲线

DOI: 10.3969/j.issn.1673-4130.2017.17.012

文献标识码: A

文章编号: 1673-4130(2017)17-2365-03

Study on the peripheral blood T lymphocyte subsets and natural killer cell in children with asthmatic pneumonia*

HUANG Yonghong¹, KANG Ying^{2△}, HAN Dengke³, CHEN Qiong³

(1. Department of Internal Medicine, Gangkou Hospital of Zhongshan City, Guangdong, Zhongshan 528447,

China; 2. Department of Pediatrics, the First Hospital Affiliated to Guangdong

Pharmaceutical University, Guangzhou, Guangdong 510080, China; 3. Department of Clinical

Laboratory, People's Hospital of Zhongshan City, Zhongshan, Guangdong 528403, China)

Abstract: Objective To explore the expression and significance of peripheral blood T lymphocyte subgroups and natural killer cell in children with asthmatic pneumonia. **Methods** From 2013 to 2016, asthmatic children with pneumonia were enrolled in the study as asthmatic pneumonia group (36 cases) and 36 cases medical health children as control group at the same time in Zhongshan City people's hospital. Flow cytometry was used to test analysis of two groups of T lymphocyte subsets and natural killer cell in serum and the expression of CD28, CD56, using ROC curve analysis results. **Results** Asthmatic pneumonia group compared with control group, the difference of CD3⁺ and CD3⁺ CD8⁺, CD28⁺, CD8⁺ CD28⁺, CD8⁺ CD28⁻, CD3⁻ CD16⁺ CD56⁺ and CD3⁺ CD16⁺ CD56⁺, CD3⁺ CD4⁺ / CD3⁺ CD8⁺ was statistically significant ($P < 0.05$). According to the results of flow parameters have higher sensitivity by the ROC curve statistics. **Conclusion** Asthmatic pneumonia children have immune dysfunction, immune function changes associate with asthmatic, which is of great clinical significance to carry out immune function detection for children with asthmatic pneumonia.

Key words: asthmatic; pneumonia; application value; receiver operating characteristic curve

喘息性肺炎是婴幼儿期最常见的呼吸道疾病, 有 75% 的喘息性肺炎会发展为哮喘, 而 90% 以上哮喘患者 3 岁前开始喘息^[1]。近年来, 儿童哮喘的发病率呈上升趋势, 如何对喘息性肺炎进行早发现治疗, 预防其发展成哮喘具有重要的指导意义。本研究旨在分析喘息性肺炎的免疫功能变化情况, 为临床早期诊断、治疗提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 回顾性分析 2013—2016 年在中山市人民医院儿科确诊为喘息性肺炎患儿共 36 例作为喘息性肺炎组, 其中男 25 例, 女 11 例。入选标准: (1) 根据第 7 版实用儿科学诊断标准, 主要表现为咳嗽、发热、气促、肺部可闻及湿啰音和(或)喘鸣音、胸片提示肺纹理增粗、肺部有点状或小斑片状影; (2) 近 2 个月没有接受免疫抑制剂或糖皮质激素治疗; (3) 患儿无其他慢性感染性或先天性疾病。另选取同期来本院入学体

检健康儿童 36 例作为对照组, 男 21 例, 女 15 例。

1.2 方法 采取两组儿童空腹用乙二胺四乙酸钠抗凝全血 2 mL, 用花清藻红素-5 (PE-CY5) 标记 CD3⁺ 抗体, 异硫氰酸荧光素 (FIFC) 标记 CD4⁺ 抗体, 藻红胺 (PE) 标记 CD8⁺ 抗体、CD16⁺ CD56⁺ 抗体。各取 100 μ L 全血, 加入不同荧光素标记的抗体, 混匀后避光室温孵育 20 min, 各加入 300 μ L 溶血素, 避光放置 15 min, 红细胞充分溶解, 加入磷酸盐缓冲液 (PBS) 2 mL 洗涤, 1 500 r/min 离心 5 min, 弃上清液后加 PBS 缓冲液 500 μ L, 摇匀, 制成单细胞悬液, 采用 Counter EpicsXL-MCL 流式细胞仪 (美国 Beckman Coulter 公司) 进行检测, 试剂盒由法国 Beckman 公司提供, 严格按说明书进行操作。

1.3 统计学处理 采用 SPSS22.0 统计软件, 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义, 并用 ROC 曲线分析, 统计分析各指标在喘息性肺炎中的预测价值。

* 基金项目: 广东省中山市医学科研基金项目 (2015J012)。

作者简介: 黄永洪, 男, 主治医师, 主要从事呼吸内科研究。△ 通信作者, E-mail: kangyinger@126.com。

2 结 果

- 2.1 喘息性肺炎组与对照组 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞各指标比较 见表 1。
- 2.2 受试者 ROC 曲线在喘息性肺炎组预测价值 喘息性肺

炎各参数的 ROC 曲线,见图 1(见《国际检验医学杂志》网站主页“论文附件”)。各参数在喘息性肺炎组中预测价值的比较,见表 2。

表 1 两组 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞各指标比较(̄x±s,%)

组别	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD28 ⁺	CD8 ⁺ CD28 ⁺
喘息性肺炎组	58.59±9.01	34.13±7.23	17.68±5.56	46.37±9.77	10.96±4.93
对照组	69.58±3.67	34.13±5.02	24.42±2.60	52.09±5.7	12.83±1.91
P	0.000	0.736	0.000	0.015	0.046

续表 1 两组 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞各指标比较(̄x±s,%)

组别	CD8 ⁺ CD28 ⁻	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺
喘息性肺炎组	6.78±3.90	8.80±6.06	0.66±0.43	2.08±0.94
对照组	11.61±2.17	13.67±4.11	3.97±3.34	1.42±0.26
P	0.000	0.007	0.000	0.002

表 2 各参数在喘息性肺炎组中预测价值的比较

项目	95%CI	曲线下面积	标准误	P	灵敏度(%)	特异度(%)	约登指数
CD3 ⁺	0.700~1.000	0.857	0.080	0.000	95.2	80.0	0.752
CD3 ⁺ CD8 ⁺	0.735~0.995	0.865	0.066	0.000	90.5	73.3	0.638
CD28 ⁺	0.552~0.931	0.741	0.097	0.150	90.5	60.0	0.505
CD8 ⁺ CD28 ⁺	0.493~0.901	0.697	0.104	0.470	99.0	53.3	0.533
CD8 ⁺ CD28 ⁻	0.747~1.000	0.890	0.073	0.000	95.2	86.7	0.819
CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	0.580~0.953	0.767	0.095	0.007	90.5	66.7	0.572
CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺	0.719~0.985	0.852	0.068	0.000	76.2	99.0	0.762
CD3 ⁺ CD4 ⁺ /CD3 ⁺ CD8 ⁺	0.041~0.352	0.197	0.790	0.002	23.8	26.7	0.495

3 讨 论

喘息性肺炎是常见的儿科疾病,发病原因最主要是呼吸道感染。病毒感染后机体产生大量的细胞因子和趋化因子,启动免疫应答,同时受损的上皮细胞和抗病毒反应会引发呼吸道水肿、血管通透性增高和黏液分泌增多,导致气道狭窄和通气功能障碍,引起喘息发作^[2-3]。婴幼儿喘息性肺炎病情严重,如何在发病早期及时诊断治疗显得至关重要。

机体淋巴细胞亚群主要包括 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞、自然杀伤细胞,它们相互协调、制约,共同维持机体免疫稳态,当机体受感染时,淋巴细胞亚群的数量或功能发生改变,机体就会出现免疫紊乱,从而引起疾病的发生与发展^[4-5]。T 淋巴细胞按照表面分化抗原分为 CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞和 CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞,当 CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞受刺激后,大量增殖分化成 Th1、Th2 淋巴细胞,具有广泛的免疫应答正调节作用,反映机体免疫调控情况。Th1 介导细胞免疫过程,Th2 参与体液免疫过程。CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞为抑制/杀伤性 T 淋巴细胞,多表达在 Ts 和 Tc 淋巴细胞上,Ts 淋巴细胞对免疫应答起负调节作用,具有抑制机体免疫应答或细胞毒的功能^[1,6]。正常情况下,CD4⁺ T 淋巴细胞与 CD8⁺ T 淋巴细胞相互制约,产生适度的免疫应答,既能清除异物,又不损伤机体自身组织,使机体免疫功能处于动态平衡状态^[4]。CD28⁺ T 淋巴细胞分为细胞毒 T 淋巴细胞(CD8⁺CD28⁺ T 淋巴细胞)和 T

抑制细胞(CD8⁺CD28⁻ T 淋巴细胞)。CD8⁺CD28⁺ T 淋巴细胞直接对病毒和病毒感染靶细胞发挥作用,CD8⁺CD28⁻ T 淋巴细胞直接抑制 Th 淋巴细胞,对免疫功能起负调节作用^[1]。自然杀伤细胞是机体固有免疫的一部分,可直接杀伤病原体或被感染的靶细胞,也可通过调节机体的免疫功能,促进 Th1 淋巴细胞介导细胞免疫^[7]。自然杀伤细胞表面特征性分子是 CD3⁻CD16⁺CD56⁺,病毒感染时自然杀伤细胞活化是第一道防御屏障^[8]。本研究结果显示中,喘息性肺炎组全血中 CD3⁺ T 淋巴细胞、CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞、CD28⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺CD28⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺CD28⁻ T 淋巴细胞、CD3⁺CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞、CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞水平低于对照组。喘息性肺炎中,CD3⁺CD8⁺和 CD8⁺CD28⁻减低,使抑制 T 淋巴细胞功能下降,对机体的负调节功能就减弱,使机体细胞免疫功能下降,出现机体清除过敏源的能力减弱。而 CD8⁺CD28⁺ T 淋巴细胞、CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞、CD3⁺CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞表达下降,机体直接识别和杀伤病毒细胞或病毒感染靶细胞的能力减弱,进一步损伤机体的免疫功能,导致机体出现细胞免疫和体液免疫功能紊乱^[1,9]。ROC 结果显示,CD3⁺ T 淋巴细胞、CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞、CD28⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺CD28⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺CD28⁻ T 淋巴细胞、CD3⁺CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞、CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞在喘息性(下转第 2370 页)

参考文献

- [1] Fowlkes A, Steffens A, Temte J, et al. Incidence of medically attended influenza during pandemic and post-pandemic seasons through the Influenza Incidence Surveillance Project, 2009-13 [J]. *Lancet Respir Med*, 2015, 3(9):709-718.
- [2] 冯录召, 余宏杰, 杨维中. 流感大流行的疾病负担和经济影响研究进展[J]. *中华流行病学杂志*, 2007, 28(4):405-407.
- [3] 韩卫宁, 许元根. 甲型流感病毒与免疫[J]. *国际病毒学杂志*, 2007, 14(5):153-157.
- [4] Tamura K, Stecher G, Peterson D, et al. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 6. 0 [J]. *Mol Biol Evol*, 2013, 30(12):2725-2729.
- [5] Glaser F, Pupko T, Paz I, et al. ConSurf: identification of functional regions in proteins by surface-mapping of phylogenetic information [J]. *Bioinformatics*, 2003, 19(1):163-164.
- [6] Nelson MI, Edelman L, Spiro DJ, et al. Molecular epidemiology of A/H3N2 and A/H1N1 influenza virus during a single epidemic season in the United States [J]. *PLoS Pathog*, 2008, 4(8):1000133.
- [7] Eshaghi A, Duvvuri VR, Li A, et al. Genetic characterization of seasonal influenza A (H3N2) viruses in Ontario during 2010-2011 influenza season: high prevalence of mutations at antigenic sites [J]. *Influenza Other Respir Viruses*, 2014, 8(2):250-257.
- [8] Pan Y, Shi W, Yang P, et al. Genetic variation in the hemagglutinin of A(H1N1) 09pdm and A(H3N2) influenza viruses in the Beijing area from 2009 to 2014 [J]. *Clin Lab*, 2015, 61(3/4):289-297.
- [9] Zhong J, Liang L, Huang P, et al. Genetic mutations in in-

fluenza H3N2 viruses from a 2012 epidemic in Southern China [J]. *Virol J*, 2013, 10(1):345.

- [10] Rambaut A, Pybus OG, Nelson MI, et al. The genomic and epidemiological dynamics of human influenza A virus [J]. *Nature*, 2008, 453(7195):615-619.
- [11] 邵惠训. 流感疫苗的现状与未来 [J]. *国际病毒学杂志*, 2010, 17(4):110-115.
- [12] 张莉, 杨鹏, 张代涛, 等. 2010-2011 年北京市四次甲型 H1N1 流感病毒抗体水平动态变化分析 [J]. *国际病毒学杂志*, 2011, 18(6):191-192.
- [13] 张奕, 潘阳, 杨鹏, 等. 2014-2015 年北京市流行性感冒流行季严重急性呼吸道感染病例的临床特征及发生不良结局的危险因素分析 [J]. *疾病监测*, 2015, 30(12):1028-1032.
- [14] Broberg E, Snacken R, Adlhoch C, et al. Start of the 2014/15 influenza season in Europe: drifted influenza A (H3N2) viruses circulate as dominant subtype [J]. *Euro Surveill*, 2015, 20(4):124-125.
- [15] Hammond A, Gusbi N, Sosa P, et al. Review of the 2014-2015 influenza season in the northern hemisphere [J]. *Wkly Epidemiol Rec*, 2015, 90(23):281-296.
- [16] Haveri A, Ikonen N, Julkunen I, et al. Reduced cross-protection against influenza A (H3N2) subgroup 3C. 2a and 3C. 3a viruses among healthcare workers vaccinated with 2013/14 seasonal influenza vaccine [J]. *Euro Surveill*, 2015, 20(5):21028.

(收稿日期:2017-02-04 修回日期:2017-04-04)



(上接第 2366 页)

肺炎诊断中灵敏度较高,因此,以上几个项目可作为喘息性肺炎诊断的可靠指标。

综上所述,喘息性肺炎患儿感染后,病原体及其代谢产物使机体出现免疫功能紊乱,早诊断早治疗,能够及时纠正免疫失衡,减少哮喘的发生,因此,检测 T 淋巴细胞亚群和自然杀伤细胞可作为诊断和了解病情的重要指标。

参考文献

- [1] 柴少卿, 季伟. 喘息性肺炎患儿外周血中共刺激分子 CD28 及淋巴细胞亚群的变化 [J]. *内蒙古医学杂志*, 2010, 42(12):1425-1428.
- [2] 冯英, 罗征秀, 符州, 等. 社区获得性肺炎婴幼儿喘息与病原体检出关系分析 [J]. *临床儿科杂志*, 2013, 31(11):1042-1045.
- [3] 王旭艳. 喘息与社区获得性肺炎患儿病原体关系研究 [J]. *陕西医学杂志*, 2015, 44(1):15-17.
- [4] 龙思琪, 马莉, 陈敏, 等. 婴幼儿重症和非重症肺炎淋巴细胞亚群的差异分析 [J]. *中国免疫学杂志*, 2016, 32(3):

401-404.

- [5] 朱晓华, 陈强, 柯江维, 等. 支气管肺炎患儿免疫功能变化的临床分析 [J]. *中国当代儿科杂志*, 2013, 15(3):175-178.
- [6] 曲辉, 曲艳, 任立红. 呼吸道感染后慢性咳嗽儿童免疫功能的研究 [J]. *中国医师进修杂志*, 2012, 35(22):61-62.
- [7] Thaver D, Zaidi AK. Burden of neonatal infections in developing countries a review of evidence from Community-Based studies [J]. *Ped Infect Dis*, 2009, 28(1):3-9.
- [8] 黄赛虎, 华军. 小儿乙型流感病毒肺炎免疫特点分析 [J]. *儿科药理学杂志*, 2014, 20(11):20-22.
- [9] 罗柳. 肺炎支原体感染伴喘息患儿免疫功能变化的研究 [J]. *中国现代医药杂志*, 2013, 15(6):36-38.

(收稿日期:2017-03-02 修回日期:2017-05-01)

