

论著·临床研究

T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞联合心肌酶在 EV71 型手足口病患儿童不同病情变化中的应用研究^{*}

邓罗华,方代华[△],刘 洋,陈娜云
(徐州市儿童医院输血科,江苏徐州 221006)

摘要:**目的** 探讨 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞联合心肌酶在 EV71 型手足口病患儿童不同病情变化中的应用。**方法** 收集 2016 年 1 月至 2017 年 5 月该院收治的 80 例 EV71 型手足口病患儿童,按病情程度分为普通组 48 例和重症组 32 例,同期选择 80 例健康体检儿童作为对照组。采集各组静脉血,离心分离血清进行检测。对比三组外周血 T 淋巴细胞亚群指标(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)水平,B 淋巴细胞指标(B、CD19⁺、CD20⁺)水平,心肌酶指标肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)和谷草转氨酶(AST)水平。**结果** 普通组、重症组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均明显低于对照组,重症组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均明显低于普通组,差异均有统计学意义($P<0.05$);普通组、重症组 B、CD19⁺、CD20⁺ 水平均明显高于对照组,重症组 B、CD19⁺、CD20⁺ 水平均明显高于普通组,差异均有统计意义($P<0.05$);普通组、重症组 CK、CK-MB、AST、LDH 水平均明显高于对照组,重症组 CK、CK-MB、AST、LDH 水平均明显高于普通组,差异均有统计意义($P<0.05$)。**结论** T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞联合心肌酶检测有助于判断 EV71 型手足口病患儿童病情程度,可为治疗效果及预后提供依据,通过对心肌酶谱的检测可观察患儿的心肌损害情况,可减少心肌并发症。

关键词: T 淋巴细胞; B 淋巴细胞; 心肌酶; 手足口病
DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2018.17.021 **中图法分类号:**R446.11
文章编号:1673-4130(2018)17-2152-04 **文献标识码:**A

Application of T lymphocyte and B lymphocyte combined with myocardial enzymes in different disease states of children with EV71 hand foot and mouth disease^{*}

DENG Luohua, FANG Daihua[△], LIU Yang, CHEN Nayun

(Department of Blood Transfusion, Xuzhou Children's Hospital, Xuzhou, Jiangsu 221006, China)

Abstract: Objective To research the application of T lymphocyte and B lymphocyte combined with myocardial enzymes in different disease states of children with hand-foot-mouth disease infected by EV71. **Methods** 80 cases of children with hand-foot-mouth disease infected by EV71 who received therapy from January 2016 to May 2017 in the hospital were selected as research objects. According to the degree of illness divided into general group($n=48$) and severe group($n=32$). At the same time, 80 normal physical examination children were selected as control group. The peripheral blood T lymphocyte subsets (CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺, CD4⁺/CD8⁺) level, B lymphocyte (B, CD19⁺, CD20⁺ lymphocyte level), myocardial enzyme index of creatine kinase (CK), creatine kinase isoenzyme (CK-MB), lactate dehydrogenase (LDH) and aspartate aminotransferase (AST) levels were compared three groups. **Results** The levels of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in the general group and severe group were significantly lower than those in the control group. The levels of CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ and CD4⁺/CD8⁺ in severe group were significantly lower than those in the general group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$); The levels of B, CD19⁺ and CD20⁺ in the general group and severe group were significantly higher than those in the control group; The levels of B, CD19⁺ and CD20⁺ in the severe group were significantly higher than those in the general group, and the difference was statistically significant ($P<0.05$); The levels of CK, CK-MB, AST and LDH in the general group and severe group were significantly higher than those in the control group; The levels of CK, CK-MB, AST and LDH in the severe

^{*} 基金项目:徐州市科技局资助项目(XZZD1368)。
作者简介:邓罗华,男,主管技师,主要从事凝血功能及细胞免疫方向研究。 [△] 通信作者:E-mail: xudanhopeful@163.com。
本文引用格式:邓罗华,方代华,刘洋,等. T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞联合心肌酶在 EV71 型手足口病患儿童不同病情变化中的应用研究[J]. 国际检验医学杂志,2018,39(17):2152-2155.

group were significantly higher than those in the general group,and the difference was statistically significant ($P<0.05$). **Conclusion** T lymphocyte and B lymphocyte combined with myocardial enzyme detection can help to determine the severity of EV71 hand-foot-mouth disease in children,which can provide basis for treatment effect and prognosis. The myocardial damage in children can be observed through the detection of myocardial enzyme spectrum,and the myocardial complications can be reduced.

Key words: T lymphocyte,B lymphocyte,myocardial enzymes,hand-foot-mouth disease

手足口病由多种肠道病毒引起,传播速度及传染性均较强。发病对象主要是 5 岁以下的儿童,临床症状为发热、口痛、厌食,患儿手足、口腔、肛周出现斑丘疹和疱疹,重症患儿病情发展较迅速,对患儿的日常生活及健康成长带来严重的影响^[1]。基础研究表明^[2],引起该病发生的肠道病毒较多,其中肠道病毒 71 型(EV71)是最为常见的病原体,具有嗜神经性,可使患儿出现脑膜炎、脑脊髓炎、肺水肿、循环障碍等疾病一系列并发症,严重的会导致患儿死亡,而幸存者也常留有神经系统后遗症。由于其发病机制目前还不明确,对于该病的治疗无特效的方法,因此,早期准确的诊断及有效的治疗具有重要的意义^[3]。近年来,随着学者的不断研究发现^[4],T 淋巴细胞、B 淋巴细胞和心肌酶在 EV71 型手足口病的表达在该病的发生、发展中起着重要的作用,对其的评价可进一步了解疾病变化。本研究旨在探讨 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞联合心肌酶在 EV71 型手足口病患儿不同病情变化中的应用。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2016 年 1 月至 2017 年 5 月本院收治的 80 例 EV71 型手足口病患儿,均符合《手足口病诊治指南》诊断标准^[5]。纳入标准:外周血检测 EV71-RNA 为阳性者;无先天性心脏病;肝肾功能无异常者;无脑病或脑炎者;近期末使用糖皮质激素治疗;无肿瘤疾病;无家族性疾病史;无其他感染疾病。排除标准:患有精神疾病;病程超过 3 d;家长不配合研究;近期使用过免疫抑制剂。本研究家属及患者均签署知情同意书,且经医院伦理委员会许可。按病情程度分为普通组和重症组,普通组 48 例,其中男 27 例,女 21 例,年龄 1~5 岁,平均(2.32±1.32)岁;重

症组 32 例,其中男 18 例,女 14 例,年龄 1~5 岁,平均(3.80±1.34)岁。同期选择 80 例健康体检儿童作为对照组,其中男 45 例,女 35 例,年龄 1~5 岁,平均(3.27±1.31)岁。比较各组年龄、性别等差异无统计学意义($P>0.05$),存在可比性。

1.2 方法 分别于清晨空腹采集各组 EDTA-K₂ 静脉血,采用全血检测,加入 3 种抗体 19 μL 于抗凝管中后,将其放置于避光环境下孵育,25 min 后,加入 200 μL 溶血素于管中,放置于室温下避光静置 15 min,采用 FACS Calibur 四色流式细胞仪(美国 BD 公司)检测 T 淋巴细胞亚群(CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺)、B 淋巴细胞(B、CD19⁺、CD20⁺)水平,试剂盒均为美国 Invitrogen 公司生产;采用日立 7600 型全自动生化分析仪检测心肌酶指标肌酸激酶(CK)、肌酸激酶同工酶(CK-MB)、乳酸脱氢酶(LDH)和谷草转氨酶(AST)水平,CK、CK-MB 试剂盒购自上海盈科医学生物科技有限公司,LDH 试剂盒购自上海高踪医疗器械科技有限公司;AST 试剂盒购自上海正康生物科技有限公司。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件对文中所得数据进行统计学分析,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,两组间比较采用 *t* 检验,多组间比较采用单因素方差分析;计数资料用率(%)表示,组间比较采用 χ^2 检验;以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 三组外周血 T 淋巴细胞亚群水平比较 普通组、重症组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均明显低于对照组,且重症组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 水平均明显低于普通组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 1。

表 1 三组外周血 T 淋巴细胞亚群水平比较($\bar{x} \pm s$,%)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	80	67.20±7.39	37.46±6.28	28.91±6.24	1.34±0.32
普通组	48	66.28±7.01*	29.12±4.19*	27.05±6.37*	1.30±0.29*
重症组	32	20.16±5.26*#	15.28±2.97*#	13.18±3.96*#	0.89±0.13*#
<i>F</i>		585.938	211.969	84.520	30.561
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

注:与对照组比较,* $P<0.05$,与普通组比较,# $P<0.05$

2.2 三组 B 淋巴细胞水平比较 普通组、重症组 B、CD19⁺、CD20⁺ 水平均明显高于对照组,且重症组 B、

CD19⁺、CD20⁺ 水平均明显高于普通组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 2。

2.3 三组心肌酶指标水平比较 普通组、重症组 CK、CK-MB、AST、LDH 水平均明显高于对照组, 且重症组 CK、CK-MB、AST、LDH 水平均显著高于普通组, 差异均有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

2.4 手足口病的相关临床信息及实验室指标因素分析 将手足口病患儿 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、B、CD19⁺、CD20⁺ 及 CK、CK-MB、AST、LDH 指标录入 Excel, 导入 SPSS 19.0 后, 经 Pearson 相关分析, 显示 CD3⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺、CD20⁺ 与手

足口病呈负相关($P<0.05$); B、CK-MB、LDH 与手足口病呈正相关($P<0.05$)。详见表 4。

表 2 三组 B 淋巴细胞水平比较($\bar{x}\pm s, \%$)

组别	<i>n</i>	B	CD19 ⁺	CD20 ⁺
对照组	80	14.90±3.48	8.18±3.15	0.28±0.07
普通组	48	30.17±5.17 [*]	20.63±5.06 [*]	14.16±2.03 [*]
重症组	32	42.63±6.28 ^{*#}	41.26±6.58 ^{*#}	30.41±1.90 ^{*#}
<i>F</i>		443.041	596.851	5563.043
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000

注: 与对照组比较, ^{*} $P<0.05$, 与普通组比较, [#] $P<0.05$

表 3 三组心肌酶指标水平比较($\bar{x}\pm s, U/L$)

组别	<i>n</i>	CK	CK-MB	AST	LDH
对照组	80	71.02±10.23	19.46±2.78	26.39±4.26	276.38±34.92
普通组	48	85.27±12.52 [*]	23.17±3.06 [*]	31.56±6.19 [*]	350.16±40.21 [*]
重症组	32	102.36±15.73 ^{*#}	30.75±5.26 ^{*#}	39.60±6.32 ^{*#}	415.29±42.75 ^{*#}
<i>F</i>		78.794	120.171	71.153	164.591
<i>P</i>		0.000	0.000	0.000	0.000

注: 与对照组比较, ^{*} $P<0.05$, 与普通组比较, [#] $P<0.05$

表 4 手足口病的相关临床信息及实验室指标因素分析

项目	<i>r</i>	<i>P</i>
CD3 ⁺	0.335	0.006
CD4 ⁺	-0.431	0.189
CD8 ⁺	-0.138	0.008
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.080	0.097
B	-0.236	0.003
CD19 ⁺	0.315	0.003
CD20 ⁺	0.375	0.004
CK	-0.159	0.067
CK-MB	0.146	0.037
AST	-0.123	0.025
LDH	-0.169	0.033

3 讨 论

手足口病是一种威胁患儿生命的疾病, 主要通过粪-口及飞沫途径传播, 自 1997 年来在全球范围流行暴发, 造成了数百万人死亡, 已成为一个公众的健康问题, 引起了广泛的关注^[6]。以往大量研究发现^[7-8], EV71 型手足口病在婴幼儿的发病率较高, 3 岁以下发病率更高, 且病情发展快速, 病情普通的患儿可出现疱疹性咽喉炎, 重症的患儿可出现肺出血、脑干脑炎、心肺功能衰竭等症状, 这与婴幼儿免疫机制尚未发育完全有关。由于早期临床症状不具有典型, 容易出现误诊或漏诊, 从而使患儿错过了最佳的治疗时机^[9]。在 LI 等^[10]的研究中表明, 体内的某些炎症因子会因 EV71 而呈异常高表达, 如 IFN- γ 、Th2 等, 其

与病情的发展程度及预后存在相关性。

研究表明^[11], EV71 型手足口病可导致患儿免疫功能出现紊乱, 激发体内异常的免疫应激状态, 从而诱导该病的发生发展。T 淋巴细胞在免疫应答过程中具有至关重要的作用^[12]。包括多个细胞亚群, CD3⁺ 是主要表达在 T 细胞表面, 可分为 CD3⁺、CD4⁺ 细胞和 CD3⁺、CD8⁺ 细胞两大类, 其中 CD3⁺、CD4⁺ 为 T 辅助细胞, Th1 细胞辅助机体的病毒和肿瘤的免疫反应, Th2 参与过敏疾病或寄生虫感染的免疫反应^[13]。CD3⁺、CD8⁺ 是细胞毒性 T 细胞, 是细胞免疫反应的主要执行者, 其活化后可有效清除 EV71 病毒^[14]。CD4⁺ 是免疫辅助性细胞, 可促进体液免疫和细胞免疫, CD8⁺ 主要发挥/抑制毒性细胞作用, 可抑制免疫反应^[15]。在正常的情况下, CD4⁺、CD8⁺ 两个亚群的数量是保持稳定和相互协调的, 可维持机体的免疫功能稳定, 当受到病毒感染时, T 淋巴细胞的亚群数量会出现异常下降, 破坏了机体免疫应答的稳定状态^[16]。朱政等^[17]认为, CD4⁺ 和 CD8⁺ 与该病的预后存在密切的关系。临床表明, CD4⁺ 和 CD8⁺ 数量的减少可促进 B 细胞分化及抑制 T 细胞活化等功能减弱, 严重影响机体的免疫平衡, 造成组织损伤^[18]。本研究显示, 普通组、重症组 T 淋巴细胞亚群 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 及 B 淋巴细胞亚群 B、CD19⁺、CD20⁺ 均显著低于正常婴幼儿, 且重症组 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺ 及 B、CD19⁺、CD20⁺ 均显著低于普通组。说明了 EV71 型病毒会影响 T 淋巴细胞亚群, 使其比例降低, 随着病情的加重 T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞比例进一步降低。

目前普遍认为^[19],EV71 型病毒和通过血液循环对心肌细胞进行直接作用,从而造成心肌损伤。病毒的毒素可产生细胞炎性反应,使心肌细胞坏死,T 淋巴细胞所受到的损伤也会加剧心肌细胞损害。也有学者通过对 EV71 型手足口病患儿研究发现,其心肌细胞未出现显著改变,认为 EV71 型病毒不可直接对心肌细胞造成损害,这可能是 EV71 型病毒通过对患儿的中枢神经系统影响,使大量的儿茶酚胺物质释放,从而持续增加心脏负荷,导致心功能受损。国内外研究表明^[20],由 EV71 型病毒感染的患儿极易出现病毒性心肌损伤,对心肌酶谱检测可判断其心肌功能。其中 CK-MB 在心肌细胞中含量最高,对判断心肌损伤具有高特异性,正常情况下含量降低。本研究显示,普通组和重症组患儿均存在不同程度的心肌损伤,普通组、重症组 CK、CK-MB、AST、LDH 水平均显著高于对照组,重症组 CK、CK-MB、AST、LDH 水平均显著高于普通组。说明了病情程度与心肌损害之间呈正相关,这可能是 EV71 型病毒通过对机体免疫答应造成损伤后而对心肌造成损伤。

4 结 论

T 淋巴细胞和 B 淋巴细胞联合心肌酶检测有助于判断 EV71 型手足口病患儿病情程度,可为治疗效果及预后提供依据,通过对心肌酶谱的检测可观察患儿的心肌损害情况,可减少心肌并发症。

参考文献

- [1] 符青松,黄循斌.外周血 T 淋巴细胞亚群在 EV71 型手足口病患者病情判断中的价值[J].中国医药导报,2016,13(4):113-116.
- [2] SHANG W, QIAN S, FANG L, et al. Association study of inflammatory cytokine and chemokine expression in hand foot and mouth disease[J]. Oncotarget, 2017, 8(45): 79425-79432.
- [3] 曹建伟,丁俊彩,刘迪辉,等. CD19⁺、CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞对儿童重症手足口病的预警作用[J]. 现代诊断与治疗, 2015, 26(23): 5370-5371.
- [4] ZHU F, JIANG Z, LI H W. Intestinal probiotics in relieving clinical symptoms of severe hand, foot, and mouth disease and potential mechanism analysis[J]. Eur Rev Med Pharmacol Sci, 2017, 21(18): 4214-4218.
- [5] 张雪芹. 肠道病毒 71 型手足口病患儿心肌酶谱及 C 反应蛋白的检测及意义[J]. 世界最新医学信息文摘, 2015, 15(5): 15-16.
- [6] MENG J, YAO Z, HE Y, et al. Long non-coding RNA expression profiles in different severity EV71-infected hand foot and mouth disease patients[J]. Biochem Biophys Res Commun, 2017, 493(4): 1594-1600.
- [7] 黄玲玲,王宁玲. 辅助性 T 淋巴细胞相关细胞因子在手足口病中的变化[J]. 山西医药杂志, 2016, 45(13): 1522-

- 1524.
- [8] LI J, SHAN R B, LIU R H, et al. Association between S100B gene polymorphisms and hand, foot and mouth disease caused by enterovirus 71 infection[J]. Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi, 2017, 19(8): 904-907.
- [9] 陈杰,武玲. 手足口病患儿外周血 T 淋巴细胞亚群及免疫球蛋白水平检测结果分析[J]. 检验医学与临床, 2014, 11(10): 1369-1370, 1372.
- [10] LI Y, ZHAI S, LI M, et al. Polymorphisms of TLR7 rs3853839 and rs179010 are associated with susceptibility to and severity of hand, foot and mouth disease caused by enterovirus 71 in male children[J]. Xi Bao Yu Fen Zi Mian Yi Xue Za Zhi, 2017, 33(7): 953-958.
- [11] 周仁希,吴亦栋,陈刚. 手足口病 EV71 型患儿血清心肌酶谱的变化及临床意义[J]. 浙江中西医结合杂志, 2014, 24(7): 593-595.
- [12] LI J, WANG J, XU C, et al. Hand, foot, and mouth disease in mainland China before it was listed as category C disease in May, 2008[J]. Lancet Infect Dis, 2017, 17(10): 1017-1018.
- [13] 陆媚婷,陈素萍,黎阳. 肠道病毒 71 型感染致手足口病患儿外周血 B 细胞及 T 淋巴细胞亚群的检测价值[J]. 数理医药学杂志, 2017, 30(3): 375-376.
- [14] ZHANG J, JIN Y, SUN J L, et al. Clinical stages and outcomes of severe cases on hand, foot and mouth disease[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2017, 38(5): 651-655.
- [15] 王军,邓慧玲,袁娟,等. 淋巴细胞亚群失衡与 EV71 型手足口病重症化的相关性[J]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2017, 11(02): 156-161.
- [16] ZHENG Y M, CHANG Z R, JIANG L L, et al. Severe cases with hand, foot and mouth disease: data based on national pilot hand, foot and mouth disease surveillance system[J]. Zhonghua Liu Xing Bing Xue Za Zhi, 2017, 38(6): 759-762.
- [17] 朱政,郭喜玲,唐震,等. EV71 型手足口病患儿血清 Th1/Th2 细胞因子水平分析[J]. 江苏预防医学, 2013, 24(3): 6-8.
- [18] LEI Z X, LI B T, LI H A, et al. Relationship between catecholamine level and gene polymorphism of $\beta 1$ adrenergic receptor G1165C in children with EV71 infection in hand foot and mouth disease[J]. Asian Pac J Trop Med, 2017, 10(5): 473-477.
- [19] 张寿斌,黄呈辉,李涛,等. EV71 病毒引起手足口病患儿免疫状态变化分析[J]. 中国医药科学, 2015, 5(9): 49-51.
- [20] ZHU L, LI W, QI G, et al. The immune mechanism of intestinal tract Toll-like receptor in mediating EV71 virus type severe hand-foot-and-mouth disease and the MAPK pathway[J]. Exp Ther Med, 2017, 13(5): 2263-2266.