

• 论 著 •

不同临床分型的 COVID-19 患者外周血免疫细胞水平分析*

许 娇,尚鹏程,毕 雷,李青峰[△]

(成都市公共卫生临床医疗中心,四川成都 610000)

摘 要:目的 分析新型冠状病毒肺炎(COVID-19)不同临床分型患者外周血免疫细胞水平,为 COVID-19 的诊疗工作提供数据支持。**方法** 回顾分析 2020 年 1 月 18 日至 2 月 20 日在该中心治疗的 94 例 COVID-19 患者的临床资料。依据患者的临床分型将患者分为轻型和普通型组(轻普型组)68 例,重型和危重型组(重危型组)26 例。选取同期体检健康人员 50 例作为对照组。分析外周血不同免疫细胞在 3 组研究对象间的差异。采用受试者工作特曲线(ROC 曲线)评价外周血免疫细胞、中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)、中性粒细胞/CD8⁺ T 淋巴细胞比值(N8R)以及中性粒细胞/CD4⁺ T 淋巴细胞比值(N4R)对 COVID-19 患者临床分型的诊断价值。**结果** COVID-19 患者的中性粒细胞和单核细胞水平高于对照组,而淋巴细胞水平则明显低于对照组($P<0.05$);重危型组患者外周血 CD3⁺ T 细胞、CD3⁺ CD4⁺ T 细胞、CD3⁺ CD8⁺ T 细胞水平均低于轻普型组患者($P<0.05$)。ROC 曲线分析显示,各指标诊断 COVID-19 患者临床分型的曲线下面积(AUC)由大到小依次为 N4R>NLR>CD3⁺ CD4⁺ T 细胞>淋巴细胞>CD3⁺ T 细胞>N8R>CD3⁺ CD8⁺ T 细胞>中性粒细胞。**结论** COVID-19 患者的外周血淋巴细胞数量降低,且重症患者淋巴细胞水平显著低于轻症患者;外周血免疫细胞的检测水平可用于 COVID-19 患者临床分型的辅助诊断。

关键词:新型冠状病毒肺炎; 淋巴细胞; 临床分型

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2020.20.009

中图法分类号:R446.6

文章编号:1673-4130(2020)20-2469-04

文献标识码:A

Analysis of peripheral blood immune cells in COVID-19 patients with different clinical types*

XU Jiao, SHANG Pengcheng, BI Lei, LI Qingfeng[△]

(Public Health Clinical Center of Chengdu, Chengdu, Sichuan 610000, China)

Abstract: Objective To analyze the levels of peripheral blood immune cells in patients with different clinical subtypes of Corona Virus Disease 2019 (COVID-19), so as to provide data support for the diagnosis and treatment of COVID-19. **Methods** The clinical data of 94 patients with COVID-19 treated in Public Health Clinical Medical Center of Chengdu from January 18, 2020 to February 20, 2020 were retrospectively analyzed. The mild patients were selected as mild group ($n=68$), and critical patient were selected as critical group ($n=26$). In addition, 50 healthy people were selected as control group. The differences of different peripheral blood immune cells in different groups were compared. The ROC curve was used to evaluate the predictive value of neutrophil lymphocyte ratio (NLR), neutrophil/CD8⁺ T lymphocyte ratio (N8R) and neutrophil/CD4⁺ T lymphocyte ratio (N4R) in patients with severe COVID-19. **Results** The number of neutrophils and monocytes in peripheral blood of COVID-19 patients was significantly higher than the control group ($P<0.05$), while the number of lymphocytes was significantly lower than the control group ($P<0.05$). The numbers of CD3⁺ T cells, CD3⁺ CD4⁺ T cells and CD3⁺ CD8⁺ T cells in critical group were significantly lower than those of mild group ($P<0.05$), while the N4R, NLR and N8R of critical group were higher than those of mild group ($P<0.05$). The ROC analysis of the prognostic factors of COVID-19 showed that the AUC was N4R>NLR>CD3⁺ CD4⁺ T cells>CD3⁺ T cells>N8R>CD3⁺ CD8⁺ T cells>neutrophils. **Conclusion** The number of peripheral blood lymphocytes in COVID-19 patients has decreased, which of severe patients has been lower than that of mild patients. N4R, NLR and the lymphocyte counts can be used as predictors of severe COVID-19.

* 基金项目:四川省科技厅重点研发项目(2020YFS0004)。

作者简介:许娇,女,主管技师,主要从事临床检验研究。 [△] 通信作者, E-mail: shangpc@163.com。

本文引用格式:许娇,尚鹏程,毕雷,等. 不同临床分型的 COVID-19 患者外周血免疫细胞水平分析[J]. 国际检验医学杂志, 2020, 41(20):

Key words: Corona Virus Disease 2019; SARS-CoV-2; lymphocyte; clinical classification

新型冠状病毒肺炎(COVID-19)是一种由 β -冠状病毒感染引起的主要表现为呼吸道感染症状的新型传染病^[1]。目前已在全球多个国家和地区暴发,全国粗死亡率为 2.3%^[2]。新型冠状病毒(SARS-CoV-2)的基因序列及其 S 蛋白结构已被科学家发现,但由于其流行时间短和传播力强等因素使得学者们对该病毒的致病机制还未全面掌握。现阶段 COVID-19 治疗的工作重心是减少重症患者的发生率和病死率。本研究通过回顾本中心收治的 COVID-19 患者临床资料,分析患者外周血各类免疫细胞水平的变化,以期 COVID-19 特别是重症患者的诊疗提供依据。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2020 年 1 月 18 日至 2 月 20 日在本中心治疗的 94 例 COVID-19 患者为研究对象。选取同期体检健康人员 50 例作为对照组。收集患者的病历相关信息,包括流行病学、人口学、临床分型以及血常规和淋巴细胞亚群检测结果。COVID-19 患者的临床分型参照《新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)》^[3]。依据患者的临床分型将患者分为轻型和普通型组(轻普型组)68 例,重型和危重型组(重危型组)26 例。3 组研究对象一般资料比较见表 1。

表 1 3 组研究对象的一般资料比较

组别	<i>n</i>	男/女 (<i>n</i> / <i>n</i>)	年龄 ($\bar{x} \pm s$, 岁)	湖北/武汉人员 接触史[<i>n</i> (%)]
对照组	50	28/22	42.6 $\pm$ 18.6	0(0.0)
轻普型组	68	34/34	47.6 $\pm$ 19.4	30(44.1)
重危型组	26	17/9	58.5 $\pm$ 15.2	18(69.2)
<i>P</i>		0.399 0	0.001 3	<0.000 1

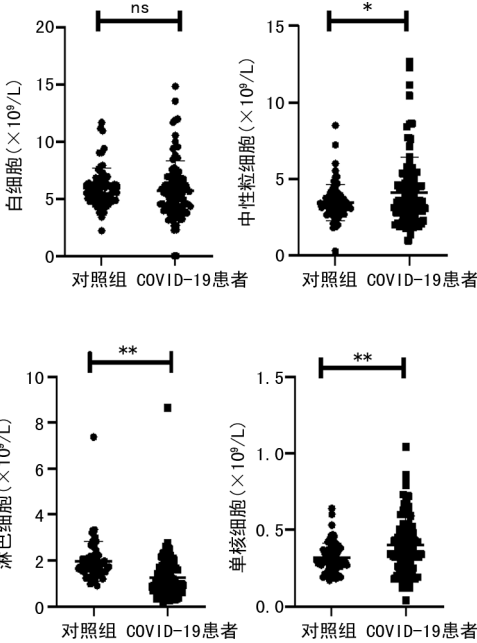
1.2 方法 SARS-CoV-2 由成都市疾病预防控制中心采用 RT-PCR 法按照相关规范进行实验室确认。血常规检测采用深圳迈瑞全自动血液分析仪 6900 及其配套试剂进行检测,淋巴细胞亚群检测采用美国贝克曼流式细胞仪 DxFLeX 及其四色检测试剂盒进行检测。上述检测过程按照实验室作业指导书进行。

1.3 统计学处理 采用 Graphpad Prism 8.0 软件对数据进行分析。计数资料采用百分数表示,组间比较采用 χ^2 检验。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用方差分析,组间两两比较采用 LSD-*t* 检验。通过受试者工作特征曲线(ROC 曲线)评估所选参数对 COVID-19 重症病例的诊断价值。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 COVID-19 患者与对照组白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞水平的比较 COVID-19 患者与对照组白细胞计数比较,差异无统计学意义($t =$

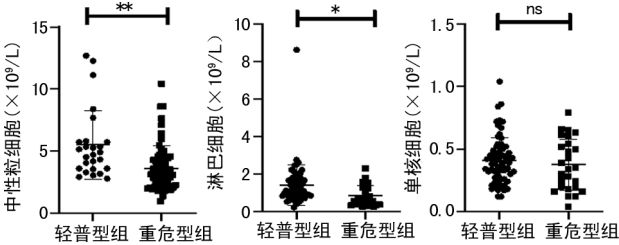
0.567, $P > 0.05$);而 COVID-19 患者的中性粒细胞和单核细胞水平均高于对照组,差异均有统计学意义($t = 2.210, 3.376, P < 0.05$)。而 COVID-19 患者淋巴细胞则明显低于对照组($t = 4.785, P < 0.05$)。见图 1。



注:ns 表示差异无统计学意义,* $P < 0.05$,** $P < 0.001$ 。

图 1 COVID-19 患者与对照组白细胞、中性粒细胞、淋巴细胞、单核细胞水平的比较

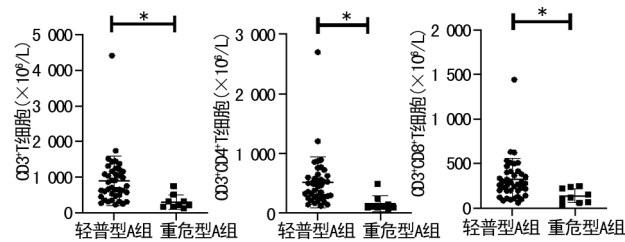
2.2 轻普型组与重危型组中性粒细胞、淋巴细胞以及单核细胞水平的比较 轻普型组与重危型组间单核细胞水平比较,差异无统计学意义($t = 0.786, P > 0.05$);重危型组中性粒细胞与淋巴细胞水平低于轻普型组,差异有统计学意义($t = 3.900, 2.566, P < 0.05$)。见图 2。



注:ns 表示差异无统计学意义,* $P < 0.05$,** $P < 0.001$ 。

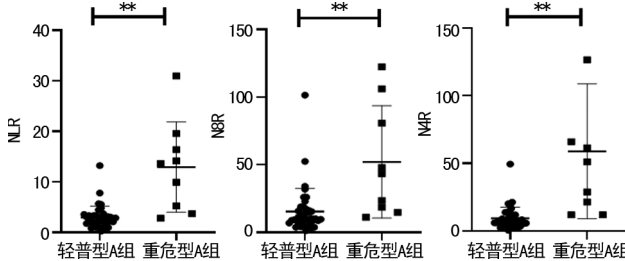
图 2 轻普型组与重危型组中性粒细胞、淋巴细胞以及单核细胞水平的比较

2.3 不同型别 COVID-19 患者外周血淋巴细胞亚群水平的比较 94 例患者中只有 49 例收集到入院时的淋巴细胞亚群检测结果。按照临床分型分为轻普型 A 组 40 例和重危型 A 组 9 例。结果显示,重危型 A 组 CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞以及 CD3⁺CD8⁺T 细胞水平明显低于轻普型 A 组,差异均有统计学意义($t = 2.510, 2.444, 2.248, P < 0.05$)。见图 3。



注：* $P<0.05$ 。
图 3 轻普型 A 组和重危型 A 组外周血淋巴细胞亚群水平的比较

2.4 轻普型 A 组和重危型 A 组中性粒细胞/淋巴细胞比值(NLR)、中性粒细胞/CD3⁺ T 淋巴细胞比值(N8R)以及中性粒细胞/CD4⁺ T 淋巴细胞比值(N4R)的比较 结果显示,重危型 A 组 NLR、N8R 以及 N4R 均明显高于轻普型 A 组,差异均有统计学意义($t=6.423, 4.287, 6.143, P<0.05$)。见图 4。



注：* * $P<0.001$ 。
图 4 轻普型 A 组和重危型 A 组 NLR、N8R 以及 N4R 水平的比较

2.5 ROC 曲线分析 采用 ROC 曲线分析各指标对 COVID-19 患者临床分型的诊断价值。结果显示,各指标曲线下面积(AUC)由大到小依次为 N4R>NLR>CD3⁺CD4⁺ T 细胞>淋巴细胞>CD3⁺ T 细胞>N8R>CD3⁺CD8⁺ T 细胞>中性粒细胞,见表 2。

表 2 各指标对 COVID-19 患者临床分型的诊断价值			
指标	AUC	95%CI	P
中性粒细胞	0.761 1	0.614 3~0.9079	0.015 2
淋巴细胞	0.911 1	0.792 4~1.000 0	0.000 1
CD3 ⁺ T 细胞	0.877 8	0.754 1~1.000 0	0.000 4
CD3 ⁺ CD4 ⁺ T 细胞	0.912 5	0.793 9~1.000 0	0.000 1
CD3 ⁺ CD8 ⁺ T 细胞	0.809 7	0.676 9~0.942 5	0.004 0
NLR	0.916 7	0.815 0~1.000 0	0.000 1
N8R	0.858 3	0.738 7~0.978 0	0.000 9
N4R	0.938 9	0.861 8~1.000 0	<0.000 1

3 讨 论

COVID-19 是一种传染力极强的肺炎,而目前,研究者们对 SARS-CoV-2 以及感染宿主后发生免疫应答反应的机制了解有限。通过对临床资料的回顾分析能够发现 COVID-19 的临床特征,可以为该病的防治提供线索。本研究通过分析成都地区 COVID-19 患者的临床资料发现,重症患者中男性明显多于女性,且重危型组患者年龄高于轻普型组患者,结果与

多篇报道相似^[4-5],这些结果均提示老年男性是发生重症 COVID-19 的高危人群,因此,对这部分人群重点干预可有效降低 COVID-19 的重症率和病死率。

本研究重点分析了 COVID-19 患者外周血常见免疫细胞表达水平,结果显示,COVID-19 患者白细胞计数与对照组比较,差异无统计学意义($P>0.05$),而淋巴细胞数量明显降低,中性粒细胞以及单核细胞数量较对照组升高($P<0.05$)。比较轻普型组和重危型组患者外周血中性粒细胞、淋巴细胞以及单核细胞水平时,发现重危型组患者的淋巴细胞数量低于轻普型组患者($P<0.05$),提示淋巴细胞水平与疾病的严重程度可能具有一定相关性,淋巴细胞直接或者间接受到 SARS-CoV-2 的感染和攻击。关于严重急性呼吸综合征(SARS)的研究也观察到,SARS 冠状病毒可感染患者淋巴细胞,对患者免疫功能造成损伤^[6-7]。有学者对中东呼吸综合征(MERS)研究后发现,MERS 冠状病毒(MERS-CoV)可以直接感染树突状细胞、巨噬细胞以及 T 淋巴细胞等多种免疫细胞^[8-9],在 SARS 患者中则发现病毒通过改变抗原提呈细胞的功能以及损伤树突状细胞的迁移来诱导 T 细胞的功能缺陷^[10],SARS-CoV-2 引起淋巴细胞降低的具体机制还有待进一步的研究。

本研究对 COVID-19 患者外周血淋巴细胞亚群水平进行分析,结果显示,重危型 A 组患者的 CD3⁺ T 淋巴细胞、CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞以及 CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞水平均低于轻普型 A 组患者($P<0.05$)。CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞是人体内主要的具有病毒杀伤功能的免疫细胞,其数量减少往往表示患者的细胞免疫功能受损,COVID-19 重症患者 CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞水平降低提示重症患者的细胞免疫功能较差,其具体机制还有待研究。CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞则是免疫系统的重要调节细胞,其各种功能是通过分泌细胞因子来实现的,CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞水平降低可能因为病毒导致体内细胞因子的大量产生,而引起 CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞的过度消耗。细胞因子水平升高甚至细胞因子风暴在 SARS-CoV 或者 MERS-CoV 感染引起的急性肺损伤中已得到了证实^[11-12],COVID-19 患者细胞因子水平及其与 CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞水平之间的关系还有待进一步的研究和证实。在分析轻普型 A 组和重危型 A 组患者 NLR、N8R 以及 N4R 水平时发现,重危型 A 组患者的 3 个指标水平均显著高于轻普型 A 组患者($P<0.05$),与患者外周血 CD3⁺CD4⁺ T 淋巴细胞以及 CD3⁺CD8⁺ T 淋巴细胞水平的表达相反,但 4 种指标均能反映重症患者与轻症患者之间的差异^[13-14]。NLR、N8R 以及 N4R 与 COVID-19 患者病情轻重程度的关系有待进一步研究和阐述。

本研究采用 ROC 曲线分析了中性粒细胞、淋巴细胞、CD3⁺ T 细胞、CD3⁺CD4⁺ T 细胞、CD3⁺CD8⁺ T

细胞、N4R、NLR、N8R 对 COVID-19 患者临床分型的诊断价值,结果显示 N4R、NLR 以及淋巴细胞水平均有较好的检验效能,说明以上指标可辅助诊断 COVID-19 轻型患者和重型患者。

4 结 论

COVID-19 患者的外周血淋巴细胞数量降低,且重症患者淋巴细胞水平显著低于轻症患者;外周血免疫细胞的检测水平可用于 COVID-19 患者临床分型的辅助诊断。

参考文献

[1] 张伟,潘纯,宋青.危重症新型冠状病毒肺炎呼吸治疗过程中应关注的问题[J].解放军医学杂志,2020,45(3):236-240.

[2] 中国疾病预防控制中心新型冠状病毒肺炎应急响应机制流行病学组.新型冠状病毒肺炎流行病学特征分析[J].中华流行病学杂志,2020,41(2):145-151.

[3] 中华人民共和国国家卫生健康委员会,国家中医药管理局.关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知(国卫办医函〔2020〕145号)[EB/OL].(2020-02-18)[2020-03-05].http://www.gov.cn/zhengce/zhengceku/2020-02/19/content_5480948.htm.

[4] HUANG C, WANG Y, LI X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China[J]. Lancet, 2020, 395(10223):497-506.

[5] WANG D, HU B, HU C, et al. Clinical Characteristics of 138 Hospitalized Patients With 2019 Novel Coronavirus-Infected Pneumonia in Wuhan, China[J]. JAMA, 2020, 323(11):1061-1069.

[6] LI T, QIU Z, ZHANG L, et al. Significant changes of peripheral T lymphocyte subsets in patients with severe acute respiratory syndrome[J]. J Infect Dis, 2004, 189(4):648-651.

[7] WONG R S, WU A, TO K F, et al. Haematological manifestations in patients with severe acute respiratory syn-

drome: retrospective analysis[J]. BMJ, 2003, 326(7403):1358-1362.

[8] CHU H, ZHOU J, WONG B H, et al. Productive replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus in monocyte-derived dendritic cells modulates innate immune response[J]. Virology, 2014, 454:197-205.

[9] CHU H, ZHOU J, WONG B H, et al. Middle East Respiratory Syndrome Coronavirus Efficiently Infects Human Primary T Lymphocytes and Activates the Extrinsic and Intrinsic Apoptosis Pathways[J]. J Infect Dis, 2016, 213(6):904-914.

[10] ZHAO J, ZHAO J, LEGGE K, et al. Age-related increases in PGD(2) expression impair respiratory DC migration, resulting in diminished T cell responses upon respiratory virus infection in mice[J]. J Clin Invest, 2011, 121(12):4921-4930.

[11] ZHOU J, CHU H, LI C, et al. Active replication of Middle East respiratory syndrome coronavirus and aberrant induction of inflammatory cytokines and chemokines in human macrophages: implications for pathogenesis[J]. J Infect Dis, 2014, 209(9):1331-1342.

[12] KONG S L, CHUI P, LIM B, et al. Elucidating the molecular physiopathology of acute respiratory distress syndrome in severe acute respiratory syndrome patients[J]. Virus Res, 2009, 145(2):260-269.

[13] LIU J, LIU Y, XIANG P, et al. Neutrophil-to-lymphocyte ratio predicts severe illness patients with 2019 coronavirus disease in the early Stage[J]. J Transl Med, 2020, 18(1):206.

[14] LIU J, LI S, LIU J, et al. Longitudinal characteristics of lymphocyte responses and cytokine profiles in the peripheral blood of SARS-CoV-2 infected patients[J]. EBio-Medicine, 2020, 55:102763.

(收稿日期:2020-03-20 修回日期:2020-06-16)

(上接第 2468 页)

[15] 李友琼,黄慧嫔,阳文辉,等.广西地区血红蛋白 New York (Hb New York)的血液学和分子特征[J].中华血液学杂志,2013,34(8):696-699.

[16] 杜若甫.中国人群体遗传学[M].北京:科学出版社,2004.

[17] 林敏.中国广东省东部地区的血红蛋白病的分子流行病学调查[D].广州:南方医科大学,2013.

[18] WONG S C, TESANOVIC M, POON M C. Detection of 2 abnormal-hemoglobins, hb manitoba and hb g-coushatta, during analysis for glycohemoglobin (a1c) by high-

performance liquid-chromatography[J]. Clin Chem, 1991, 37(8):1456-1459.

[19] LEE S T, KIM M S, CHOI D Y, et al. Incidence of variant hemoglobin (Hb) and increased fetal Hb concentrations and their effect on HbA(1c) measurement in a Korean population[J]. Clin Chem, 2006, 52(7):1445-1446.

[20] 梁军,赵和秀.异常血红蛋白病致血小板假性增高 1 例[J].检验医学与临床,2009,6(1):61.

(收稿日期:2020-01-02 修回日期:2020-04-15)