

·论著·

RSV 感染患儿外周血 CD₄⁺ CD₄₅RO⁺ CD₄₅RA⁺ 表达变化的研究

张艳敏,雷春莲,成革胜,杨玉琮

(西安交通大学第一医院儿科,陕西·西安 710061)

[摘要] 目的 探讨下呼吸道感染呼吸道合胞病毒(RSV)患儿外周血辅助性 T 淋巴细胞(CD₄⁺),原始 T 细胞(CD₄₅RA⁺),记忆性 T 细胞(CD₄₅RO⁺)表达的变化。方法 用单克隆抗体免疫荧光标记,流式细胞仪检测 30 例 RSV 下呼吸道感染患儿急性期外周血单个核细胞(PBMCs)CD₄⁺,CD₄₅RA⁺ 细胞,其中 11 例同时检测 CD₄₅RO⁺ 细胞,同期检测 9 例年龄、性别无差异的健康儿为对照。结果 RSV 下呼吸道感染组患儿 CD₄⁺ 为 (32.74 ± 10.60)%,明显低于对照组 (40.76 ± 6.82)%,2 组有显著性差异 (P < 0.05)。RSV 下呼吸道感染组 CD₄₅RA⁺ 细胞为 (80.65 ± 10.35)%,比对照组 (67.43 ± 7.54)% 明显升高,有显著性差异 (P < 0.01)。RSV 下呼吸道感染组 CD₄₅RO⁺ 细胞比对照组降低,但无统计学意义 (P > 0.05)。结论 RSV 感染急性期存在免疫功能紊乱,外周血 CD₄⁺,CD₄₅RO⁺ 下降,而 CD₄₅RA⁺ 明显增加,这可能是 CD₄₅RO⁺ 向呼吸道迁移的结果。

[关键词] 呼吸道合胞病毒;辅助性 T 细胞亚群;CD45;儿童

[中图分类号] R373.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008 - 8830(2001)03 - 0260 - 02

Expression of CD₄₅RA⁺ and CD₄₅RO⁺ in PBMCs of Infants with RSV LRTIs

ZHANG Yan-Min, LEI Chun-Lian, CHENG Ge-Sheng, et al.

Department of Pediatrics, First Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an 710061, China

Abstract: **Objective** To study the expression of CD₄⁺ (helper T lymphocyte), CD₄₅RA⁺ and CD₄₅RO⁺ in PBMCs of infants with RSV LRTIs. **Methods** CD₄⁺ and CD₄₅RA⁺ were detected in 30 patients with RSV LRTIs and CD₄₅RO⁺ in PBMCs was also assayed except for CD₄⁺ and CD₄₅RO⁺ in 11 of them with the flow cytometric analysis. Nine healthy children were used as the controls. **Results** In RSV infants, CD₄⁺ cells [(32.74 ± 10.60)%] decreased and CD₄₅RA⁺ [(80.65 ± 10.35)%] increased compared with the controls [(40.76 ± 6.82)% and (67.34 ± 7.54)%, respectively] (P < 0.01). CD₄₅RO⁺ cells also decreased, but not significantly. **Conclusions** There is a disorder of immune function in PBMCs in infants with RSV.

Key words: RSV; T-help lymphocyte; CD₄₅; Child

呼吸道合胞病毒(Respiratory Syncytial Virus, RSV)是婴幼儿下呼吸道感染的最重要病原,尤其是6个月以下的小婴儿,感染后常发生严重的毛细支气管炎和肺炎,且与婴幼儿哮喘关系密切,其发病机制为 RSV 感染后的免疫功能紊乱^[1]。RSV 感染的

免疫应答十分复杂,T 淋巴细胞在 RSV 感染的免疫应答中发挥重要作用。为探讨辅助性 T 淋巴细胞(CD₄⁺),记忆性 T 细胞(CD₄₅RO⁺),原始 T 细胞(CD₄₅RA⁺) 在 RSV 下呼吸道感染的免疫应答中表达的变化,本文对 RSV 下呼吸道感染患儿外周血

[收稿日期] 2000 - 07 - 16; [修回日期] 2000 - 09 - 28
[基金项目] 本课题受陕西省卫生厅资助,(NO:97062)
[作者简介] 张艳敏(1964 -),女,硕士,主治医师。

CD₄,CD₄₅RA⁺,CD₄₅RO⁺表达进行了研究。

1 对象与方法

1.1 对象

实验组:30例,男20例,女10例。年龄:40d至2岁8个月,平均8个月。其中毛细支气管炎14例,支气管肺炎16例。全部病例为急性发病,病史在1周以内,鼻咽部脱落细胞经APAAP法检测RSV抗原阳性,既往无过敏性疾病病史。对照组:正常健康婴儿9例,男5例,女4例,年龄3个月至1.4岁,平均8个月,年龄、性别与实验组无统计学差异。

1.2 方法

患儿住院当日采用APAAP法(解放军二六二医院试剂盒)检测鼻咽部脱落细胞RSV抗原,阳性者次日晨抽抗凝静脉血3ml。标本中加红细胞破碎液6ml,混匀、静置清亮后2000r/min离心10min,弃上清,重复上述过程1次,获PBMCs。调PBMCs细胞浓度为1×10⁶/ml,分别置4个试管中,在4个试管中分别加入CD₄,CD₄₅RA(Immunotec),CD₄,CD₄₅RO(IQ products)双色免疫荧光双标单克隆抗体及阴性对照20ul,放置于4℃冰箱20min,离心弃上清。各加1mlPBS洗涤,离心弃上清后,加甲醛PBS固定。流式细胞仪检测。

1.3 统计学处理

检测数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验进行统计学处理。

2 结果

2.1 外周血CD₄⁺及CD₄₅RA⁺检测结果

RSV感染组与对照组比较CD₄⁺明显降低,CD₄₅RA⁺细胞RSV感染组则明显升高, P 均<0.01,见表1。

表1 CD₄⁺及CD₄₅RA⁺检测结果

Table 1 Results of CD₄⁺ and CD₄₅RA⁺ in PBMCs ($\bar{x} \pm s$, %)

组别	例数	CD ₄ ⁺	CD ₄₅ RA ⁺
对照组	9	40.76 ±6.82	67.43 ±7.54
RSV组	30	32.74 ±10.60 ^a	80.65 ±10.35 ^a

注:a与对照组比较 $P < 0.01$

2.2 CD₄₅RO⁺检测结果

RSV感染组病例中CD₄₅RO⁺虽有下降,但与

对照组比较差异不显著, $P > 0.05$,见表2。

表2 CD₄₅RO⁺检测结果

Table 2 Results of CD₄₅RO⁺ in PBMCs ($\bar{x} \pm s$, %)

组别	例数	CD ₄₅ RO ⁺
对照组	9	14.54 ±6.17
RSV组	11	10.98 ±3.22

3 讨论

呼吸道合胞病毒属副粘病毒科,肺炎病毒属,是有包膜的单链负股RNA病毒,自1956年首次从患感冒的黑猩猩鼻咽分泌物中分离出后,发现人类对RSV普遍易感,小儿自出生到2岁时,约有95%被感染过。特别是近年来国内外研究证实,RSV是婴幼儿下呼吸道感染病毒病原菌的第一位。更重要的是,婴儿期严重的RSV感染后的2~7年,易出现反复的喘息,甚至哮喘。其发病机制被认为与RSV感染造成呼吸道上皮细胞损伤、免疫功能紊乱、气道的神经调控失调有关^[1]。国内外学者在对RSV感染的免疫学研究发现,RSV感染后,外周血淋巴细胞的表型比率发生改变,CD₄降低,且降低程度与气道的炎症反应程度成正相关^[1],CD₈上升,CD₄/CD₈比值异常,尸检时发现,呼吸道有大量的CD₄渗出。本研究结果显示,RSV感染患儿外周血CD₄较正常对照组明显降低,与报道基本一致。但也有不同报道,认为CD₄不降低,甚至升高,这可能与选择的病例的严重程度不同及时间不同有关。

CD₄₅是广泛存在于白细胞膜表面的膜蛋白,被称为白细胞膜共同抗原。CD₄₅RA⁺和CD₄₅RO⁺是CD₄₅分子中有临床意义的两种分子。CD₄₅RA⁺细胞代表未经刺激的原始T细胞,其表面粘附分子表达低下,缺乏定向移动能力,仅能成活数日,对再次抗原刺激无反应。CD₄₅RO⁺细胞代表已经抗原刺激而分化的功能细胞,称为记忆性T细胞,其表面粘附分子表达强,能直接向抗原部位移行,寿命可长达数月甚至数年,当再次抗原刺激时,即刻发生强烈的免疫反应^[2]。对RSV感染后外周血CD₄₅RA⁺,CD₄₅RO⁺的表达国内尚无报道。本组实验结果表明,RSV下呼吸道感染患儿外周血CD₄₅RA⁺细胞较对照组明显升高,而CD₄₅RO⁺细胞则低于对照组,但无统计学差异。显示RSV下呼吸道感染患儿

(下转第264页)

阳性患儿中白细胞数增高与正常的比较也无显著意义。提示感染个体 G-CSF 水平与外周血白细胞计数相关不明显。感染所产生的 G-CSF 在特异性诱导骨髓产生粒细胞快速生长分裂时,又激活中性粒细胞,促其向炎症部位趋化聚集。增强对病原的调理和吞噬功能,加强抗体依赖的细胞毒介导的细胞毒作用^[5]。此时,G-CSF 不只是感染指标,而以一种细胞因子参与机体非特异免疫反应。这效应使重组人 G-CSF 应用于反复感染者的治疗^[6]。异常高浓度 G-CSF 又将成为炎症损伤的因素之一。

已证实细菌及其毒素是刺激和调节 G-CSF 产生的主要物质。当病原微生物及其产物被清除后 24~48 h,G-CSF 水平即降至正常,效应细胞的增强与激活过程终止^[7]。本资料 G-CSF 和/或 CRP 阳性的 50 例患儿复查结果 CRP 全部转阴性,G-CSF 仍有 16 例持续阳性。其中 2 例入院前病程已达 2 个月之久。提示病程长短并不影响 G-CSF 阳性率,在感染尚未控制或再复感染时 G-CSF 可能持续阳性。

本组 G-CSF 阳性中 3 岁内婴幼儿 72 例占 68.6%,显示婴幼儿较高 G-CSF 阳性趋势。婴幼儿高 G-CSF 阳性率的原因尚不清楚,是否可能:婴幼儿机体对病原的反应强烈,G-CSF 增高明显;婴幼儿期免疫功能发育不成熟,易较早期合并细菌感染而

刺激 G-CSF 高浓度。由于较高水平的 G-CSF 免疫诱导,临床不能单依赖 G-CSF 阳性滥用抗生素,应结合临床和病原学检查综合判断。

[参 考 文 献]

- [1] 吴瑞萍,胡亚美,江载芳. 实用儿科学 [M]. 第 6 版. 北京:人民卫生出版社,1996, 1132 - 1146.
- [2] Metcalf D. The molecular biology and function of the granulocyte-macrophage colony-stimulating factors [J]. Blood, 1986, 67(2): 257 - 267.
- [3] Unkila KL, Kallio MJ, Eskola J, et al. Serum C-reactive protein, erythrocyte sedimentation rate, and white blood cell count in acute hematogenous osteomyelitis of children [J]. Pediatrics, 1994, 93(1): 59 - 62.
- [4] 朱菁,范永琛. 粒细胞集落刺激因子的研究及临床应用 [J]. 天津医药,1996, 24(3): 190 - 192.
- [5] Roilides E, Walsh TJ, Pizzo PA, et al. Granulocyte colony-stimulating factors enhances the phagocytic and bactericidal activity of normal and defective human neutrophils [J]. J Infect Dis, 1991, 163(3): 579 - 583.
- [6] Kawakami M, Tsutsumi H, Kumakawa T, et al. Serum granulocyte colony-stimulating factor in patients with repeated infection [J]. Am J Hematol, 1992, 41(3): 190 - 193.
- [7] Metcalf D. The role of the colony-stimulating factors in resistance to acute infections [J]. Immunol Cell Biol, 1987, 65(1): 35 - 43.

(本文编辑:曹励之)

(上接第 261 页)

免疫功能较低,或为 CD₄₅RO⁺ 细胞在 RSV 感染时向呼吸道移行,从而导致在外周血下降的结果。

CD₄ 根据其分泌的细胞因子不同而分为 T_{H1}, T_{H2} 亚群。T_{H1} 主要分泌 IL-2, IFN- γ , 介导细胞免疫。T_{H2} 主要分泌 IL-4, IL-6, IL-10 等细胞因子,介导体液免疫。余传霖等认为 T_{H1} 表达 CD₄₅RA, T_{H2} 表达 CD₄₅RO^[3], 实验证明 CD₄₅RO⁺ 细胞是产生 IL-4 的主要细胞^[4,5], 而 IL-4 可激活 B 细胞,产生 IgE,称为 T_{H2} 样反应。RSV 感染患儿引起反复喘息与其特异性 IgE 密切相关。CD₄₅RA⁺ 细胞则无此功能。本组实验结果表明 CD₄₅RO⁺ 低于对照组,可能存在 CD₄₅RO⁺ 细胞在 RSV 感染时向呼吸道移行,在呼吸道发挥 T_{H2} 样作用,导致喘息发作。

本研究证实:RSV 感染患儿外周血中存在免疫功能紊乱,CD₄ 降低,CD₄₅RA⁺ 的表达增强,而 CD₄₅

RO⁺ 的表达稍有下降,可能存在 CD₄₅RO⁺ 细胞在 RSV 感染时向呼吸道移行。

[参 考 文 献]

- [1] Welliver RC. Immunologic mechanisms of virus-induced wheezing and asthma [J]. J Pediatr, 1999, 135(2 pt 2): 14 - 20.
- [2] 杨锡强. 免疫学与儿科临床 [J]. 中国实用儿科杂志,2000, 15(4): 250 - 251.
- [3] 余传霖,叶天星,陆德源,等. 现代医学免疫学 [M]. 上海:上海医科大学出版社,1998, 38.
- [4] 王江滨,王玉珊,杨贵珍. IL-4 在诱导 CD₄, CD₄₅RA⁺ 和 CD₄₅RO⁺ T 细胞向 IL-4 产生细胞分化过程中的效应 [J]. 中国免疫杂志,1997, 13(1): 10 - 13.
- [5] Fowell D, Mcknight AJ, Powrie F, et al. Subsets of CD₄⁺ T cells and their roles in the induction and prevention of autoimmunity [J]. Immunol Rev, 1991, 123(1): 37 - 64.

(本文编辑:曹励之)