

- [8] KOCAREV M, KHALID F, KHATOON F, et al. Neuraxial labor analgesia: a focused narrative review of the 2017 literature [J]. *Curr Opin Anaesthesiol*, 2018, 31(3): 251-257.
- [9] KESAVAN R, RAJAN S, KUMAR L. Effect and Safety of labor epidural analgesia with intermittent boluses of 0.1% bupivacaine with fentanyl on fetal and maternal outcomes and wellbeing [J]. *Anesth Essays Res*, 2018, 12(4): 769-773. DOI: 10.4103/aer.AER\_168\_18
- [10] 陈宇毅, 廖瑜, 肖小敏. 胎盘缺氧诱导因子表达及绒毛血管变化与胎儿窘迫的关系 [J]. 暨南大学学报(自然科学与医学版), 2017, 38(4): 337-342.
- [11] 熊雨美, 王萍, 杨好妹, 等. 脐血高迁移率族蛋白-1、低氧诱导因子-1 $\alpha$ 、神经元特异性烯醇酶及脐动脉血气分析评价新生儿窒息的临床研究 [J]. 中国临床医生杂志, 2017, 45(4): 98-100.
- [12] GINOSAR Y, NADJARI M, HOFFMAN A, et al. Antepartum continuous epidural ropivacaine therapy reduces uterine artery vascular resistance in pre-eclampsia: a randomized, dose-ranging, placebo-controlled study [J]. *Br J Anaesth*, 2009, 102(3): 369-378.
- [13] SAMANTA S, JAIN K, BHARDWAJ N, et al. Labor analgesia in parturients of fetal growth restriction having raised umbilical doppler vascular indices [J]. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol*, 2018, 34(1): 11-17.
- [14] 岳本明, 邹翠兰, 刘兴会, 等. 超声多普勒对胎儿宫内缺氧的评价 [J]. 华西医学, 2005, 20(1): 187-188.
- [15] REYNOLDS F. Changes in doppler velocimetry of uterine arteries during labour analgesia [J]. *Br J Anaesth*, 2007, 98(2): 274, 274-275.
- [16] WANG TT, SUN S, HUANG SQ. Effects of epidural labor analgesia with low concentrations of local anesthetics on obstetric outcomes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials [J]. *Anesth Analg*, 2017, 124(5): 1571-1580.

(收稿日期: 2019-05-20, 修回日期: 2019-07-09)

doi: 10.3969/j.issn.1009-6469.2020.10.018

◇ 临床医学 ◇

## 甲型 H1N1 流感 73 例 T 淋巴细胞亚群分析

虎维东<sup>1</sup>, 张静<sup>2</sup>, 王小军<sup>1</sup>, 赵燕霞<sup>1</sup>, 杨晓丽<sup>1</sup>, 胡建明<sup>3</sup>

作者单位: <sup>1</sup>甘肃省人民医院呼吸与危重症医学科, 甘肃 兰州 730000; <sup>2</sup>兰州大学第二医院核磁共振科, 甘肃 兰州 730030; <sup>3</sup>兰州大学第一医院呼吸科, 甘肃 兰州 730000

基金项目: 甘肃省科技支撑社会发展类项目(1011FKCA100)

**摘要:** 目的 检测甲型 H1N1 流感病人外周血 T 淋巴细胞亚群的变化, 探讨甲型 H1N1 流感对其细胞免疫功能的影响。方法 总结 2009 年 11 月 5 日至 2017 年 1 月 15 日甘肃省人民医院及兰州大学第二医院所收治的 73 例临床资料完整且没有基础免疫疾病的甲型 H1N1 流感病人血清总 T 淋巴细胞、CD4 抗原阳性的 T 淋巴细胞(CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞)、CD8 抗原阳性的 T 淋巴细胞(CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞)活性的变化规律。结果 甲型 H1N1 流感病人 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞在诊断初期即已升高(42.27±11.13)cells/ul, 并在恢复期基本恢复正常(29.26±12.99)cells/ul; 总 T 淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞则在诊断初期有不同程度下降(44.09±13.51)、(47.27±7.73)cells/ul, 并随病情好转逐渐恢复, CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞与 CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞比值在病程中没有统计学差异差异无统计学意义( $F=0.294, 0.415, 0.618; P=0.892, 0.106, 0.082$ ), 但随病情好转有升高趋势。结论 甲型 H1N1 流感病人免疫功能低下。**关键词:** 流感, 人; 流感病毒 A 型, H1N1 亚型; CD4 阳性 T 淋巴细胞; CD8 阳性 T 淋巴细胞; T 淋巴细胞亚群

## T cell immunity analysis in patients with influenza A virus subtype H1N1

HU Weidong<sup>1</sup>, ZHANG Jing<sup>2</sup>, WANG Xiaojun<sup>1</sup>, ZHAO Yanxia<sup>1</sup>, YANG Xiaoli<sup>1</sup>, HU Jianming<sup>3</sup>

Author Affiliations: <sup>1</sup>Department of respiratory and critical care medicine, Gansu Provincial Hospital, Lanzhou, Gansu 730000, China; <sup>2</sup>Department of Nuclear magnetic resonance, Second Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730030, China; <sup>3</sup>Department of Respiratory, The First Hospital of Lanzhou University, Lanzhou, Gansu 730000, China

**Abstract: Objective** To probe into the possible impact on T cell immunity in patients with A H1N1 influenza. **Methods** The changes of CD4 antigen positive T lymphocytes (CD4<sup>+</sup>T cells), CD8 antigen positive T lymphocytes (CD8<sup>+</sup>T cells) and CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> in 73 patients with A H1N1 influenza with complete clinical data and no underlying immune diseases were analyzed. From November 5, 2009 to January 15, 2017, the patients in Gansu Provincial People's Hospital and the Second Hospital of Lanzhou University

were treated. **Results** CD8<sup>+</sup> T lymphocytes in patients with influenza A (H1N1) increased at the early stage of diagnosis (42.27±11.13 cells/uL), and returned to normal in the recovery period (29.26±12.99 cells/uL); the total T lymphocytes and CD4<sup>+</sup> T lymphocytes decreased to varying degrees (44.09±13.51 cells/uL, 47.27±7.73 cells/uL, respectively), and gradually recovered with the improvement of the disease. There was no significant difference between the two groups ( $F=0.294, 0.415, 0.618; P=0.892, 0.106, 0.082$ ), but it increased with the improvement of the disease. **Conclusion** T cell immunity are impaired in patients with a H1N1 influenza.

**Key words:** Influenza, human; Influenza A virus, H1N1 subtype; CD4-positive T-lymphocytes; CD8-positive T-lymphocytes; T cell immunity

2009年6月11日世界卫生组织已宣布对甲型H1N1流感的警戒级别升至6级,意味着甲型H1N1流感的世界性大流行已形成<sup>[1-3]</sup>。本研究分析了2009年11月以来在甘肃省人民医院、兰州大学第二医院收治的甲型H1N1流感病人外周血中T淋巴细胞亚群相关指标的改变。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料** 选取2009年11月5日至2017年1月15日甘肃省人民医院及兰州大学第二医院所收治的73例甲型H1N1流感病人,年龄(50.09±23.35)岁,所有病例符合中国卫生部疾病控制司发布的《甲型H1N1流感诊疗方案(2009年第三版)》<sup>[4]</sup>。病人或其近亲属知情同意,本研究符合《世界医学协会赫尔辛基宣言》相关要求。

**1.2 诊断依据** 依据《甲型H1N1流感诊疗方案(2009年第三版)》<sup>[4-5]</sup>诊断。

**1.3 检测方法** 所有病例均在诊断初期(病人发热、咳嗽、咳痰、乏力、全身酸痛等症状明显,胸片或CT示双肺出现新的浸润性病且进展迅速),入院后病人体温达38.5℃以上时采血;缓解期(病人发热、咳嗽、咳痰、乏力、全身酸痛等明显缓解,胸片或CT示双肺浸润性病开始吸收)体温降至正常的第5~7天采血;以及恢复期(症状消失,胸片或CT示双肺浸润性病大部分吸收)病变大部分吸收后1周内采血,均为空腹采血,血液离体2h内进行总T淋巴细胞、CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞、CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的检测。

**1.4 试剂和仪器** T淋巴细胞亚群采用结合三色荧光素的免疫单克隆抗体直接标记后(试剂盒为美国R&D-T-SUBSET),用多参数流式细胞仪,CELL-QUEST流式数据获取与分析软件检测。

**1.5 统计学方法** 73例甲型H1N1流感病例资料均使用SPSS 10.0软件进行录入,计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用单因素方差分析,组间两两比较采用LSD-*t*检验。

## 2 结果

甲型H1N1流感病人T淋巴细胞亚群变化情况的比较在甲型H1N1流感病程诊断初期即有相当部

分病人CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞开始升高,至缓解期、恢复期时逐渐降低;诊断初期与恢复期相比差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),而诊断初期与缓解期、缓解期和恢复期则差异无统计学意义( $P > 0.05$ );病程中总T淋巴细胞在诊断初期有不同程度下降,随病情好转逐渐回升,并且诊断初期和恢复期差异有统计学意义( $P < 0.05$ );CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞变化趋势和总T淋巴细胞相似,但诊断初期、缓解期、恢复期之间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。甲型H1N1流感病人CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞/CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞变化情况的比较:CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞与CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞比值在诊断初期、缓解期、恢复期差异无统计学意义( $P > 0.05$ ),但可以发现在恢复期有升高的趋势。见表1。

表1 甲型H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>流感73例病程中T淋巴细胞亚群的变化情况/ $\bar{x} \pm s$

病程	总T细胞 (cells/ul)	CD4 <sup>+</sup> T细胞 (cells/ul)	CD8 <sup>+</sup> T细胞 (cells/ul)	CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup>
诊断初期	44.09±13.51	47.27±7.73	42.27±11.13	1.33±0.39
缓解期	51.09±12.99	46.91±7.44	38.36±12.17	1.33±0.39
恢复期	61.91±12.1	50.55±12.84	29.26±12.99	1.73±0.79
F 值	5.617	0.018	3.247	0.508
P 值	0.004	0.930	0.017	0.027

## 3 讨论

甲型H1N1流感是一种新的传染病,该病传染性强,人类对它尚未完全认识<sup>[6]</sup>。在正常机体内,淋巴细胞亚群之间以及与其他免疫细胞之间,在数量上保持着一定的比例,如果免疫细胞种类比例失调或者细胞亚群比例失调,体内免疫功能则发生紊乱,将导致疾病的发生,特别是感染性疾病或自身免疫病<sup>[7-9]</sup>。T淋巴细胞是介导细胞免疫的主要细胞,根据其表面标志细胞黏附分子的不同,T淋巴细胞可分为CD4<sup>+</sup>细胞和CD8<sup>+</sup>细胞两大亚群<sup>[10-11]</sup>。在正常情况下,T淋巴细胞亚群相互作用,平衡、稳定地调节维持机体的免疫功能<sup>[12-13]</sup>。CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞又称辅助性T淋巴细胞,能促进B细胞、T淋巴细胞和其他免疫细胞的增殖与分化,协调免疫细胞间的相互作用<sup>[13]</sup>。

CD8<sup>+</sup>细胞按其功能可分为细胞毒性T淋巴细胞和抑制性T淋巴细胞<sup>[14]</sup>,其中细胞毒性T淋巴细胞为主要部分,与抗病毒免疫、抗肿瘤免疫以及对移植物的移植排斥反应有关,是抗病毒感染的主要效应细胞;抑制性T淋巴细胞可抑制免疫应答的活化期,其功能变化是引起各种免疫功能异常的重要原因。CD3<sup>+</sup>则代表着T淋巴细胞总数,一般为CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>细胞之和,CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值的动态恒定可以维持细胞免疫反应的平衡<sup>[15-16]</sup>。通过检测T淋巴细胞亚群可以间接反映细胞免疫功能的状况<sup>[17-18]</sup>。

本研究通过对甲型H1N1流感病人外周血T淋巴细胞亚群的测定,发现在病程诊断初期即有相当部分病人CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞开始升高,可能与病毒感染后机体的免疫应答有关。同时与Powell等<sup>[19]</sup>的研究结果一致,发现在抗甲流病毒感染的免疫过程中,CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞的数量达峰后,CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞数仍持续增多,并且在疾病过程中,数量的降低比CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞要慢。可能是由于CD4<sup>+</sup>T和CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞执行着不同的功能,受不同的机制调节所致。诊断初期总T淋巴细胞下降,至缓解期、恢复期时逐渐恢复;CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞的变化趋势和总T淋巴细胞相似;CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞与CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞比值虽然在诊断初期、缓解期、恢复期没有统计学上的差异,但可以发现在恢复期有升高的趋势。甲型H1N1流感病人发病初期CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞的升高,CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞、总T淋巴细胞及CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞与CD8<sup>+</sup>T淋巴细胞比值的降低,说明病人机体细胞免疫水平降低,这就可以解释为什么甲型H1N1流感病人容易反复发生肺部感染,进一步加重病情。

### 参考文献

- [1] SANCHO BA, TERES MO, CUENCA SM, et al. Human case of swine influenza A (H<sub>1</sub>N<sub>1</sub>), Aragon, Spain, November 2008 [J]. *Euro Surveill*, 2009, 14(7): 19120.
- [2] TSOUICALAS G, SGANTZOS M. The 2009 influenza A virus subtype H1N1 pandemic, a glance from Greece [J]. *Infez Med*, 2016, 24(4): 259-264.
- [3] YOU HL, HUANG CC, CHEN CJ, et al. Anti-pandemic influenza A (H1N1) virus potential of catechin and gallic acid [J]. *J Chin Med Assoc*, 2018, 81(5): 458-468.
- [4] 中华人民共和国卫生部. 甲型H1N1流感诊疗方案(2009年第三版) [J]. *中华危重症医学杂志(电子版)*, 2009, 2(1): 19-24. DOI: 10.3969/j.issn.1674-6880.2009.01.005.
- [5] MEHTA K, GONEAU LW, WONG J, et al. Zoonotic influenza and human health - part 2: clinical features, diagnosis, treatment, and prevention strategies [J]. *Curr Infect Dis Rep*, 2018, 20(10): 38.
- [6] BISWAS D, DUTTA M, SARMAH K, et al. Genetic characterisation of influenza A (H1N1) pdm09 viruses circulating in Assam, Northeast India during 2009-2015 [J]. *Indian J Med Microbiol*, 2019, 37(1): 42-49.
- [7] MONDINI G, BRAGA PE, LOPES MH, et al. Prospective cohort studies to evaluate the safety and immunogenicity of the 2013, 2014, and 2015 seasonal influenza vaccines produced by Instituto Butantan [J]. *Rev Inst Med Trop Sao Paulo*, 2018, 60: e37. DOI: 10.1590/S1678-9946201860037.
- [8] NEUHAUS V, CHICHESTER JA, EBENSEN T, et al. A new adjuvanted nanoparticle-based H1N1 influenza vaccine induced antigen-specific local mucosal and systemic immune responses after administration into the lung [J]. *Vaccine*, 2014, 32(26): 3216-3222.
- [9] AMER A, FISCHER H, LI X, et al. Possible Impact of Yearly Childhood Vaccination With Trivalent Inactivated Influenza Vaccine (TIV) on the Immune Response to the Pandemic Strain H1N1 [J]. *Clin Pediatr (Phila)*, 2016, 55(3): 245-250.
- [10] KÄRHUS LL, GUNNES N, STØRDAL K, et al. Influenza and risk of later celiac disease: a cohort study of 2.6 million people [J]. *Scand J Gastroenterol*, 2018, 53(1): 15-23.
- [11] GONZALEZ Y, JUÁREZ E, CARRANZA C, et al. Diminished effector and memory CD8<sup>+</sup> circulating T lymphocytes in patients with severe influenza caused by the AH1N1 pdm09 virus [J]. *Virology*, 2017, 500: 139-148.
- [12] 王全, 夏雯, 雷其红, 等. 南京地区儿童甲型H1N1流感(重症)61例临床分析 [J]. *安徽医药*, 2011, 15(6): 738-740.
- [13] GRAY JI, WESTERHOF LM, MACLEOD MKL. The roles of resident, central and effector memory CD4<sup>+</sup>T-cells in protective immunity following infection or vaccination [J]. *Immunology*, 2018, 154(4): 574-581.
- [14] LAPUENTE D, STORCKSDIECK GENANNT BONSMANN M, MAASKE A, et al. IL-1 $\beta$  as mucosal vaccine adjuvant: the specific induction of tissue-resident memory T cells improves the hetero-subtypic immunity against influenza A viruses [J]. *Mucosal Immunol*, 2018, 11(4): 1265-1278.
- [15] BRUNO G, SARACINO A, MONNO L, et al. The Revival of an "Old" Marker: CD4/CD8 Ratio [J]. *AIDS Rev*, 2017, 19(2): 81-88.
- [16] 苏倩, 熊自忠. 甲型H1N1流感简介 [J]. *安徽医药*, 2009, 13(8): 1007-1008.
- [17] 李天生, 邱志峰, 王爱霞, 等. T淋巴细胞激活亚群在HIV感染中的变化及其临床意义 [J]. *中华传染病杂志*, 2002, 20(4): 199-202.
- [18] TAN S, ZHANG S, WU B, et al. Hemagglutinin-specific CD4<sup>+</sup>T-cell responses following 2009-pH1N1 inactivated split-vaccine inoculation in humans [J]. *Vaccine*, 2017, 35(42): 5644-5652.
- [19] POWELL TJ, BROWN DM, HOLLENBAUGH JA, et al. CD8<sup>+</sup>T cells responding to influenza infection reach and persist at higher numbers than CD4<sup>+</sup>T cells independently of precursor frequency [J]. *Clinical Immunology*, 2004, 113(1): 89-100.

(收稿日期: 2019-03-28, 修回日期: 2019-07-19)