

· 论 著 · DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2022.17.015

各型支气管肺炎患儿淋巴细胞亚群的变化及价值

黄晓茹, 陈 杭, 林 珊, 张忠龙

福建医科大学附属福州儿童医院检验科, 福建福州 350005

摘要:目的 探讨不同类型支气管肺炎患儿外周血淋巴细胞亚群及血小板压积(PCT)的变化及临床价值。方法 选取2019年8月至2021年8月在该院诊断为支气管肺炎的患儿173例为感染组,再按所感染病原体的种类分为细菌组30例、肺炎支原体组30例、病毒组30例、2种病原体组73例和3种病原体组10例,同时选取在该院进行健康体检的健康儿童30例作为对照组。检测各组在感染早期时的淋巴细胞亚群水平和PCT。结果 与对照组比较,感染组 $CD3^+$ T细胞、 $CD8^+$ T细胞明显降低, $CD4^+/CD8^+$ 、 $CD19^+$ B细胞、PCT升高,差异有统计学意义($P < 0.05$), $CD4^+$ T细胞、 $CD16^+56^+$ NK细胞差异无统计学意义($P > 0.05$)。细菌组、肺炎支原体组、病毒组、2种病原体组和3种病原体组均可见不同程度的淋巴细胞亚群、PCT变化。 $CD4^+/CD8^+$ 、PCT在诊断支气管肺炎的受试者工作特征曲线下面积分别为0.653、0.671。结论 支气管肺炎患儿存在一定程度的机体免疫功能失调状况及PCT的变化,且感染的病原体不同,其细胞免疫和PCT具有不同的特点,故可通过对外周血淋巴细胞亚群及PCT检测来鉴别和诊断支气管肺炎的病原体,指导临床治疗、控制患儿病情及缩短病程。

关键词:淋巴细胞亚群; 血小板压积; 儿童; 支气管肺炎

中图分类号:R725.6

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2022)17-2366-04

Changes and value of lymphocyte subsets in children with various types of bronchopneumonia

HUANG Xiaoru, CHEN Hang, LIN Shan, ZHANG Zhonglong

Department of Clinical Laboratory, Fuzhou Children's Hospital Affiliated to Fujian Medical University, Fuzhou, Fujian 350005, China

Abstract: Objective To investigate the changes and clinical value of peripheral blood lymphocyte subsets and platelet count (PCT) in children with different types of bronchopneumonia. **Methods** A total of 173 children with bronchopneumonia diagnosed in the hospital from August 2019 to August 2021 were selected as the infection group, and then divided into 30 cases in the bacterial group, 30 cases in the Mycoplasma pneumoniae group, 30 cases in the virus group, 73 cases in the two pathogen group and 10 cases in the three pathogen group. The lymphocyte subsets levels and PCT in each group at the early stage of infection were detected. **Results** Compared with the control group, the $CD3^+$ T cells and $CD8^+$ T cells in the infection group were significantly decreased, while the $CD4^+/CD8^+$, $CD19^+$ B cells, and PCT were increased, and the difference was statistically significant ($P < 0.05$). There was no significant difference in $CD4^+$ T cells, $CD16^+56^+$ NK cells ($P > 0.05$). There were different levels of lymphocyte subsets and PCT in the bacteria group, the Mycoplasma pneumoniae group, the virus group, the two pathogen group and the three pathogen group. The areas under the receiver operating characteristic curve of $CD4^+/CD8^+$ and PCT in the diagnosis of bronchopneumonia were 0.653 and 0.671, respectively. **Conclusion** Children with bronchopneumonia have a certain degree of immune dysfunction and changes in PCT, and the pathogens of infection are different, and their cellular immunity and PCT have different characteristics. Therefore, the pathogens of bronchopneumonia can be identified and diagnosed through the detection of peripheral blood lymphocyte subsets and PCT, so as to guide clinical treatment, control the disease and shorten the course of the disease.

Key words: lymphocyte subsets; platelet count; children; bronchopneumonia

支气管肺炎是累及支气管壁和肺泡的炎症,为儿童时期最常见的呼吸系统疾病,2~3岁儿童多发^[1]。

引起支气管肺炎的病因主要有细菌、病毒和肺炎支原体,其中引起支气管肺炎的病毒主要有呼吸道合胞病

毒、腺病毒、流感病毒和副流感病毒等；细菌主要有肺炎链球菌、金黄色葡萄球菌、流感嗜血杆菌等。淋巴细胞亚群是机体免疫防御体系中的重要组成部分，可反映机体细胞免疫和体液免疫水平，其变化与感染性疾病类型和程度有关^[2-3]。本研究通过对不同类型支气管肺炎的外周淋巴细胞亚群、血小板压积(PCT)等的变化作回顾性分析，探讨淋巴细胞亚群、PCT 变化在患儿支气管肺炎的病因诊断中的临床价值。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2019 年 8 月至 2021 年 8 月在福建医科大学附属福州儿童医院诊断为支气管肺炎的患儿 173 例作为感染组，再按照其所感染病原体的种类分为细菌组 30 例、肺炎支原体组 30 例、病毒组 30 例、2 种病原体组 73 例和 3 种病原体组 10 例。同时选取在本院进行健康体检的健康儿童 30 例作为对照组。各组研究对象的一般资料比较，差异无统计学意义($P>0.05$)，具有可比性，见表 1。纳入标准：(1)结合临床症状及血常规、影像学等相关检查，符合《儿科学》^[4]中支气管肺炎诊断标准；(2)细菌组经咽拭子或痰标本培养出致病菌，肺炎支原体及病毒相关检测均为阴性；(3)肺炎支原体组的血清肺炎支原体免疫球蛋白(Ig)M 抗体阳性，细菌及病毒相关检测均为阴性；(4)病毒组血清相关特异性 IgM 抗体或咽拭子 13 种呼吸道病原体核酸检测阳性，细菌及肺炎支原体相关检测均为阴性；(5)2 种病原体组同时检出 2 种类型病原体，包括细菌和肺炎支原体相关检测均为阳性，病毒为阴性或细菌和病毒相关检测均为阳性，肺炎支原体为阴性或肺炎支原体和病毒相关检测均为阳性，细菌为阴性这 3 种情况；(6)3 种病原体组同时检出 3 种类型病原体，即细菌、肺炎支原体和病毒相关检测均为阳性。排除标准：(1)其他呼吸道感染性疾病，如急性扁桃体炎、支气管炎、肺炎等；(2)合并其他部位感染；(3)合并其他严重脏器病变；(4)自身免疫性疾病或者免疫缺陷病；(5)过敏性疾病。

表 1 各组研究对象的一般资料比较

组别	n	男(n)	女(n)	年龄($\bar{x}\pm s$,岁)
感染组	173	116	57	3.46±0.96
细菌组	30	21	9	2.94±0.04
肺炎支原体组	30	20	10	3.51±0.74
病毒组	30	20	10	3.06±0.88
2 种病原体组	73	48	25	3.79±0.14
3 种病原体组	10	7	3	3.67±0.46
对照组	30	18	12	4.53±0.21

1.2 仪器与试剂 VITEK 2 Compact 全自动微生物鉴定及药敏分析系统，以及相关配套试剂购自中国

梅里埃诊断产品(上海)有限公司；生物荧光显微镜、试剂购自西班牙比尔塞有限公司；Hema9600 基因扩增仪购自珠海黑马医学仪器有限公司；3500DX 基因分析仪购自美国 ABI 公司；FACS Calibur 型流式细胞仪及相关配套试剂购自美国 BD 公司；全自动血液分析仪及相关配套试剂购自法国 ABX 公司。

1.3 方法

1.3.1 PCT 检测 采集研究对象静脉血 2 mL，采用乙二胺四乙酸二钾抗凝，通过电阻抗法检测 PCT。

1.3.2 间接免疫荧光法 取 15 μ L 血清、15 μ L PBS 和 150 μ L 吸附剂于离心管中，混匀，以 13 000 r/min 离心 10 min，取上清液加入载玻片孔中，37 $^{\circ}$ C 温育 90 min，洗片，每孔加入 15 $^{\circ}$ C 抗人 IgM FITC 结合物，37 $^{\circ}$ C 温育 30 min，洗片，加入封闭介质置于生物荧光显微镜下观察。

1.3.3 PCR 毛细电泳片段分析法 采集患儿咽拭子标本，通过 PCR 毛细电泳片段分析法检测病毒的核酸序列。按照 13 种呼吸道病原体多重检测试剂盒的使用说明书，对咽拭子标本进行标本前处理、核酸提取、实时荧光定量 PCR 扩增、毛细电泳仪荧光信号强度的测量、PCR 产物的毛细电泳分离等步骤的处理。

1.3.4 淋巴细胞亚群检测 按照淋巴细胞亚群检测试剂盒使用说明书，取 12 μ L 荧光标记抗体于流式细胞仪专用 TruCONT 管中，加入 50 μ L 全血，混匀，室温暗处放置 15 min，加入 450 μ L 10%FACS 溶血素，混匀，室温暗处放置 15 min。采用美国 BD 公司 FACS Calibur 型流式细胞仪进行检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS23.0 软件进行数据处理和分析，呈正态分布的计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 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，采用受试者工作特征(ROC)曲线检测不同指标对支气管肺炎的诊断价值。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组淋巴细胞亚群比较 各组支气管肺炎患儿 CD3⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺、CD16⁺56⁺ NK 细胞、CD19⁺B 细胞比较，差异有统计学意义($P<0.05$)，CD4⁺T 细胞比较差异无统计学意义($P>0.05$)。与对照组比较，感染组、细菌组、病毒组、2 种病原体组、3 种病原体组 CD3⁺T 细胞降低($P<0.05$)；感染组、细菌组、病毒组、肺炎支原体组、2 种病原体组、3 种病原体组 CD8⁺T 细胞降低($P<0.05$)；细菌组 CD4⁺T 细胞升高($P<0.05$)；感染组、细菌组、病毒组、肺炎支原体组 CD4⁺/CD8⁺升高($P<0.05$)；细菌组、病毒组 CD16⁺56⁺ NK 细胞降低($P<0.05$)；感染组、细菌组、病毒组、2 种病原体组、3 种病原体组 CD19⁺B 细胞升高($P<0.05$)。见表 2。

表 2 各组淋巴细胞亚群比较($\bar{x} \pm s$)

组别	n	CD3 ⁺ T 细胞 (%)	CD8 ⁺ T 细胞 (%)	CD4 ⁺ T 细胞 (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD16 ⁺ 56 ⁺ NK 细胞 (%)	CD19 ⁺ B 细胞 (%)
对照组	30	69.87±3.89	28.00±4.30	37.33±4.37	1.38±0.36	8.60±3.23	17.96±4.12
感染组	173	63.92±10.84 ^a	23.46±7.85 ^a	37.25±9.76	1.79±0.81 ^a	7.78±5.51	25.10±11.27 ^a
细菌组	30	64.17±11.05 ^a	20.40±6.51 ^a	41.33±9.17 ^a	2.23±0.89 ^a	5.00±3.28 ^a	27.70±11.79 ^a
肺炎支原体组	30	65.70±8.77	23.20±6.60 ^a	38.00±7.27	1.78±0.64 ^a	9.63±6.22	21.70±8.25
病毒组	30	60.83±12.30 ^a	21.77±5.69 ^a	37.07±10.83	1.82±0.77 ^a	7.20±5.31 ^a	28.93±12.80 ^a
2 种病原体组	73	65.25±10.45 ^a	25.70±8.99 ^a	35.94±9.87	1.61±0.81	8.37±5.44	23.01±10.60 ^a
3 种病原体组	10	60.80±11.87 ^a	23.10±8.90 ^a	35.30±11.36	1.72±0.80	8.70±7.41	27.10±11.86 ^a
F		2.894	4.704	1.650	4.491	2.937	4.450
P		0.015	<0.001	0.149	0.001	0.014	0.001

注:与对照组比较,^aP<0.05。

2.2 各组 PCT 比较 各组 PCT 比较,差异有统计学意义(P<0.05),与对照组比较,感染组、细菌组、病毒组、2 种病原体组 PCT 升高(P<0.05)。见表 3。

表 3 各组 PCT 比较($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	n	PCT
对照组	30	0.25±0.04
感染组	173	0.31±0.11 ^a
细菌组	30	0.36±0.12 ^a
肺炎支原体组	30	0.28±0.08
病毒组	30	0.30±0.10 ^a
2 种病原体组	73	0.31±0.11 ^a
3 种病原体组	10	0.29±0.08
F		3.946
P		0.002

注:与对照组比较,^aP<0.05。

2.3 CD4⁺/CD8⁺、PCT 在支气管肺炎中的诊断价值 绘制 CD4⁺/CD8⁺、PCT 在支气管肺炎中的 ROC 曲线,CD4⁺/CD8⁺、PCT 曲线下面积(AUC)分别为 0.653、0.671。当 CD4⁺/CD8⁺ 最佳临界值为 1.80 时,灵敏度和特异度分别为 45.7%、90.0%;当 PCT 的最佳临界值为 0.282% 时,灵敏度和特异度分别为 56.0%、88.9%。见表 4。

表 4 CD4⁺/CD8⁺、PCT 在支气管肺炎中的诊断价值

指标	AUC	最佳临界值	灵敏度(%)	特异度(%)
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	0.653	1.80	45.7	90.0
PCT	0.671	0.282%	56.0	88.9

3 讨论

有研究表明,儿童的免疫系统发育尚未健全,免疫功能不完善或免疫功能低下是其重要原因^[5-7]。机体的免疫平衡状态是依赖于各淋巴细胞亚群间的相互制约、协调,形成适应性免疫应答^[8-10]。机体的适应

性免疫应答含有细胞免疫和体液免疫两种,参与细胞免疫的主要效应细胞包括表达 CD4⁺ 的辅助性 T 细胞(Th)和 CD8⁺ 的细胞毒性 T 细胞(CTL)。Th 通过分泌各种细胞因子活化 B 细胞、自然杀伤细胞等,起到对机体的免疫保护^[11]。CTL 可特异性直接杀伤靶细胞或杀灭靶细胞内的病原体^[12],对机体免疫功能起到抑制作用^[13]。CD4⁺/CD8⁺ 反映机体的免疫功能状态,其比值降低提示细胞免疫功能抑制^[14]。而参与体液免疫的主要效应细胞是表达 CD19⁺ 的 B 淋巴细胞,通过产生 IgG、IgA 和 IgM 等抗体抗感染^[15-17]。表达 CD16⁺56⁺ 的自然杀伤细胞无需抗原预先致敏即可杀伤感染细胞,参与机体的固有免疫应答^[18]。

本研究通过对 173 例支气管肺炎患儿的外周血淋巴细胞亚群的测定与分析,可以看出,与对照组比较,感染组的 CD3⁺T 细胞降低,说明支气管肺炎患儿的机体免疫功能低下,而各组 CD8⁺T 细胞均有不同程度的降低,CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺B 细胞均有不同程度的升高,说明支气管肺炎患儿在病原体入侵后机体处于一种应激状态,细胞免疫反应增强,是机体抵抗病原体入侵的自然反应。单一类型病原体感染,即细菌组、肺炎支原体组和病毒组的 CD4⁺/CD8⁺ 较对照组明显升高,而 2 种病原体组的 CD4⁺/CD8⁺ 却无明显变化,说明可考虑用 CD4⁺/CD8⁺ 初步判断是单一类型病原体感染,还是同时感染 2 种类型病原体。对于单一类型病原体感染者,肺炎支原体组的 CD3⁺T 细胞、CD19⁺B 细胞较对照组无明显变化,而细菌组和病毒组的 CD3⁺T 细胞较对照组降低,CD19⁺B 细胞较对照组升高,说明可考虑用 CD3⁺T 细胞和 CD19⁺B 细胞鉴别肺炎支原体组、细菌组和病毒组;细菌组与病毒组较对照组的 CD3⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 CD16⁺56⁺NK 细胞均降低,CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺B 细胞均升高,同时细菌组的 CD4⁺T 细胞却明显升高,而病毒组无明显变化,说明可考虑用 CD4⁺T 细胞鉴

别细菌组和病毒组。

PCT 是由血小板计数和平均血小板体积经过计算获得^[19],反映血小板体积在单位体积全血中所占的比例,并且大血小板的活性更高,可以反映血小板活化程度^[20]。本研究结果表明,2 种病原体组与 3 种病原体组的外周血淋巴细胞亚群的变化较对照组相似,但是 2 种病原体组的 PCT 较对照组明显升高,而 3 种病原体组却无明显变化。由于 3 种病原体组的病例数不多,能否使用 PCT 这一指标来鉴别 2 种病原体组与 3 种病原体组,有待进一步积累完善数据。

另外,本研究探讨了 CD4⁺/CD8⁺与 PCT 在支气管肺炎中的诊断价值。从绘制的 ROC 曲线中可以看出,CD4⁺/CD8⁺、PCT 的 AUC 分别为 0.653、0.671,表明二者对患儿支气管肺炎具有一定的诊断价值。当 CD4⁺/CD8⁺、PCT 的最佳临界值分别为 1.80、0.282%时,其灵敏度均不高,但是二者的特异度较高。

支气管肺炎患儿存在一定程度的机体免疫功能失调及 PCT 的变化,且感染的病原体不同,其细胞免疫和 PCT 具有不同的特点,故可通过对外周血淋巴细胞亚群及 PCT 检测来鉴别和诊断支气管肺炎的病原体,在疾病早期辅助指导临床治疗,使病情发展到控制,缩短患儿病程。

参考文献

[1] SHIELDS R K, NGUYEN M H, CHEN L, et al. Pneumonia and renal replacement therapy are risk factors for ceftazidime-avibactam treatment failures and resistance among patients with carbapenem-resistant enterobacteriaceae infections[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2018, 62(5): e02497-17.

[2] 李太生. T 淋巴细胞亚群和病毒感染[J]. *中华内科杂志*, 2011, 50(12): 995-998.

[3] 丁林, 季伟, 孙慧明. T 淋巴细胞亚群及过敏原与婴幼儿肺炎支原体感染伴喘息的关系[J]. *中国当代儿科杂志*, 2016, 18(12): 1254-1258.

[4] 沈晓明, 王卫平. *儿科学*[M]. 7 版. 北京: 人民卫生出版社, 2012.

[5] 肖凌云, 慕珂珂, 魏晓杰. 支气管肺炎患儿 T 淋巴细胞和 NK 细胞水平与疾病严重程度关系[J]. *实验与检验医学*, 2021, 39(2): 417-428.

[6] TOSIEK M J, GRUBER A D, BADER S R, et al. CD4⁺

CD25⁺ Foxp3⁺ regulatory T cells are dispensable for controlling CD8⁺ T cell-mediated lung inflammation[J]. *J Immunol*, 2011, 186(11): 6106-6118.

[7] 闵兰芳, 万凤国, 邵雪军, 等. hMPV 支气管肺炎患儿淋巴细胞亚群的变化及其意义[J]. *中国热带医学*, 2009, 9(9): 1786-1786.

[8] 郑晓莉, 薛丽华. 肺炎患儿外周血超敏 C 反应蛋白、降钙素原及细胞免疫指标变化及意义[J]. *临床儿科杂志*, 2013, 31(1): 22-25.

[9] 吴玉芹, 殷峥, 杜琨, 等. 血清超敏 C-反应蛋白、红细胞沉降率、白细胞水平检测在小儿支气管肺炎中的应用价值[J]. *中国妇幼保健*, 2018, 33(24): 193-196.

[10] 甄乾娜, 张磊, 王兴斌. 外周血 T 淋巴细胞亚群和细胞因子在儿童肺炎支原体肺炎诊断中的意义[J]. *检验医学与临床*, 2017, 14(8): 1060-1062.

[11] 郝丽, 郑成中. 新生儿感染 T 淋巴细胞亚群及细胞因子变化分析[J]. *临床儿科杂志*, 2014, 32(9): 825-828.

[12] 金伯泉. *医学免疫学*[M]. 5 版. 北京: 人民卫生出版社, 2011.

[13] 孙林春, 张利, 张兰芳, 等. 儿童支气管肺炎患者病程各阶段细胞免疫和体液免疫的改变及临床意义[J]. *国际检验医学杂志*, 2014, 35(6): 695-702.

[14] ZHU F, WEI H, LI W. Significance of serum procalcitonin levels in differential diagnosis of pediatric pneumonia[J]. *Cell Biophys*, 2015, 73(3): 619-622.

[15] 王蕾, 张正银, 程环. 儿童支气管肺炎患儿体液免疫、细胞免疫功能变化及临床意义[J]. *国际免疫学杂志*, 2019, 42(2): 152-156.

[16] HUENECKE S, FRYNS E, WITTEKINDT B, et al. Percentiles of lymphocyte subsets in preterm infants according to gestational age compared to children and adolescents[J]. *Scand J Immunol*, 2016, 84(5): 291-298.

[17] 秦莉. 免疫球蛋白在儿科的应用[J]. *中外医疗*, 2012, 31(34): 179-180.

[18] 肖体先, 张冠南, 邱志峰, 等. 结直肠癌患者外周血 T 淋巴细胞亚群的研究[J]. *中华内科杂志*, 2019, 58(6): 453-455.

[19] 肖胜军. 260 例小儿支气管肺炎血小板参数的变化[J]. *血栓与止血学*, 2007, 13(2): 68-70.

[20] 杨玲, 李秀娟, 蔡建兴, 等. 肺炎支原体感染患儿炎症因子及血小板参数的变化意义[J]. *医学检验与临床*, 2020, 31(11): 16-19.

(收稿日期: 2021-11-16 修回日期: 2022-05-12)