

SARS 患者的外周血淋巴细胞及其亚群动态变化

何忠平 董庆鸣 庄辉 宋淑静 刘志英 冯鑫

【摘要】 目的 探索外周血淋巴细胞亚群在严重急性呼吸综合征(SARS)患者病程中的动态变化。方法 采用流式细胞测定法对 240 例确诊为 SARS 患者外周血淋巴细胞及其亚群的绝对计数进行测定,并对不同组别 SARS 患者与正常对照组比较。结果 SARS 患者的淋巴细胞及其亚群(CD45、CD3、CD4、CD8)的绝对计数分别为 1298 ± 785 、 897 ± 606 、 510 ± 372 、 362 ± 263 个/ mm^3 ,明显低于正常对照组(2024 ± 423 、 1391 ± 289 、 795 ± 129 、 551 ± 183 个/ mm^3);重型(极重型)患者(1095 ± 740 、 740 ± 562 、 419 ± 346 、 304 ± 244 个/ mm^3)低于普通型(1404 ± 788 、 991 ± 612 、 564 ± 378 、 396 ± 267 个/ mm^3);死亡组(587 ± 493 、 369 ± 371 、 204 ± 191 、 150 ± 130 个/ mm^3)低于治愈组(1355 ± 776 、 948 ± 603 、 539 ± 375 、 382 ± 263 个/ mm^3);普通型与重型(极重型)以及治愈组与死亡组患者之间淋巴细胞亚群(CD45、CD3、CD4、CD8)绝对计数差异有显著统计学意义($P < 0.01$),但不同组别间 CD4/CD8 比值比差异无显著性($P > 0.05$)。SARS 患者的淋巴细胞亚群(CD45、CD3、CD4、CD8)计数于病程第 1 周即开始下降,第 2 周降至最低水平(977 ± 579 、 641 ± 466 、 360 ± 275 、 270 ± 216 个/ mm^3)然后随病情恢复而逐渐上升。结论 测定 SARS 患者外周血淋巴细胞及其亚群可作为判断病情轻重和疾病预后的方法之一。

【关键词】 严重急性呼吸综合征;淋巴细胞;流式细胞测定

Dynamics of peripheral blood lymphocytes and their subpopulations in patients with severe acute respiratory syndrome HE Zhong-ping*, DONG Qing-ming, ZHUANG Hui, SONG Shu-jing, LIU Zhi-ying, FENG Xin.

*Department of Microbiology, Peking University Health Science Center, Beijing 100083, China

Corresponding author: ZHUANG Hui

【Abstract】 Objective To study on the dynamics of peripheral blood lymphocytes and their subpopulations in patients with severe acute respiratory syndrome. **Methods** Using flow cytometry, the absolute numbers of peripheral blood lymphocytes and their subpopulations in 240 SARS patients (696 specimens) and 51 individuals as controls, were counted and compared. **Results** The absolute numbers of peripheral blood lymphocytes and their subpopulations (CD45, CD3, CD4, CD8) were 1298 ± 785 , 897 ± 606 , 510 ± 372 , $362 \pm 263/\text{mm}^3$, respectively, significantly lower in SARS patients as compared to the normal controls (2024 ± 423 , 1391 ± 289 , 795 ± 129 , $551 \pm 183/\text{mm}^3$). Of SARS patients, severe group (1095 ± 740 , 740 ± 562 , 419 ± 346 , $304 \pm 244/\text{mm}^3$) had lower counts than that of mild group (1404 ± 788 , 991 ± 612 , 564 ± 378 , $396 \pm 267/\text{mm}^3$), and in group with deaths (587 ± 493 , 369 ± 371 , 204 ± 191 , $150 \pm 130/\text{mm}^3$) was lower than that of recovery group (1355 ± 776 , 948 ± 603 , 539 ± 375 , $382 \pm 263/\text{mm}^3$). There were significant differences ($P < 0.01$) for CD45, CD3, CD4, CD8, but with no significant difference ($P > 0.05$) for CD4/CD8 ratio between severe and mild, recovery and death groups. The lymphocytes and their subpopulations (CD45, CD3, CD4, CD8) declined in the 1st week and to the lowest level (977 ± 579 , 641 ± 466 , 360 ± 275 , $270 \pm 216/\text{mm}^3$) in the 2nd week. Then the lymphocytes and their subpopulations gradually increased during the recovery of the disease. **Conclusion** The absolute numbers of peripheral blood lymphocytes and their subpopulations in SARS patients might be used as one of the methods for diagnosis on the severity and prognosis of the disease.

【Key words】 Severe acute respiratory syndrome; Lymphocyte; Flow cytometry

严重急性呼吸综合征(SARS)是由 SARS 冠

病毒(SARS-CoV)引起的^[1-3]。据报道,SARS 患者于急性期外周血淋巴细胞及其亚群计数低下^[4,5],但在 SARS 患者整个病程中淋巴细胞及其亚群的动态变化则未见报道。我们对 240 例不同严重程度、不同病程的 SARS 患者外周血淋巴细胞及其亚群的动

作者单位:100083 北京大学医学部微生物学系(何忠平、庄辉);
北京地坛医院(董庆鸣、宋淑静、刘志英、冯鑫)

通讯作者:庄辉

态变化进行了研究,结果报道如下。

对象与方法

1. 研究对象:为北京地坛医院 2003 年 3 月 26 日至 5 月 31 日收治并临床诊断为 SARS 的 240 例患者,按卫生部颁发的 SARS 诊断标准(试行)诊断,并按北京市 SARS 医疗救治指挥中心颁发的 SARS 危重病例诊断分型标准(试行),将 SARS 患者分为普通型、重型和极重型。所有患者均经间接免疫荧光法(IFA)检测为抗-SARS-CoV IgG 和/或 IgM 阳性。由于极重型 SARS 患者较少,因此,将重型与极重型患者合并为一组,称为重(极重)型。同时选择 51 名北京地坛医院身体健康的医护人员作为正常对照组,其抗-SARS-CoV IgG/IgM 均为阴性。

2. 血液标本采集:对 240 例 SARS 患者按不同病程分别采集 696 份系列血标本,分离血浆和血细胞,分别检测抗-SARS-CoV IgG 和/或 IgM 和淋巴细胞及其亚群。正常对照组取单份血标本,检测项目同 SARS 患者。

3. 抗-SARS-CoV IgG 和/或 IgM 检测:采用德国欧蒙(EUROIMMUN)医学实验诊断有限公司生产的 IFA 检测,严格按说明书操作。

4. 淋巴细胞及其亚群的检测:采用流式细胞术。应用美国 BD 公司四色荧光(FITC、PE、PerCP、APC)抗体标记 T 细胞(CD45、CD3、CD4、CD8)绝对计数试剂盒,具体操作步骤如下:取 EDTA-K3 抗凝血 50 μ l,加入相应的 TrueCount 计数管,混匀,室温避光 15 min,再加入 450 μ l 溶血素(optilyse),混匀,室温避光 20 min,再加入 200 μ l 1% 多聚甲醛固定,混匀,室温避光 1 h,然后在 BD 公司流式细胞仪(FACS Calibur)上检测。

5. 统计学分析:应用 SAS 6.12 统计软件。由于细胞计数结果不符合正态分布,因而采用非参数检验和多元方差分析,数值以均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表

示。

结 果

1. 临床资料:240 例 SARS 患者年龄为 20~88 岁,平均为(39 \pm 14)岁;女性 147 例(61.2%),男性 93 例(38.8%);其中普通型 155 例(64.6%),重型 64 例(26.7%),极重型 21 例(8.7%)。男女比例在各型之间差异无显著性($P = 0.522$)。正常对照组年龄为 20~50 岁,平均为(30 \pm 6)岁,身体健康。

2. SARS 患者淋巴细胞亚群动态变化:由表 1 可见,SARS 患者各淋巴细胞亚群计数于病程第 1 周即开始下降,第 2 周降至更低水平,然后随病程恢复而逐渐上升,但于发病后第 5 周仍低于正常对照组。SARS 患者各淋巴细胞亚群总平均计数(CD45、CD3、CD4 和 CD8)明显低于正常对照组。

3. 不同组别 SARS 患者的淋巴细胞亚群计数比较:普通型 SARS 患者 CD45、CD3、CD4 和 CD8 每周总平均计数分别为 1404 \pm 788、991 \pm 612、564 \pm 378、396 \pm 267 个/ mm^3 ,明显高于重(极重)型 SARS 患者(1095 \pm 740、740 \pm 562、419 \pm 346、304 \pm 244 个/ mm^3)。由表 2 可见,重(极重)型患者于发病后各周淋巴细胞亚群计数均低于普通型。两组均于发病后第 1 周即开始下降,于第 2 周降至更低水平,重(极重)型患者下降更为明显,然后随病情恢复而逐渐上升,但重(极重)型患者较普通型上升缓慢。治愈组 SARS 患者 CD45、CD3、CD4 和 CD8 每周总平均计数分别为 1355 \pm 776、948 \pm 603、539 \pm 375、382 \pm 263 个/ mm^3 ,明显高于死亡组 SARS 患者(587 \pm 493、369 \pm 371、204 \pm 191、150 \pm 130 个/ mm^3)。对 215 例治愈组和 25 例死亡组 SARS 患者的外周血淋巴细胞亚群测定结果见表 2。非参数统计表明,治愈组 SARS 患者各周各细胞计数均高于死亡组,但 CD4/CD8 差异无显著性。

表1 SARS 患者淋巴细胞亚群动态变化情况

组 别	检测例数	淋巴细胞亚群(个/ mm^3 , $\bar{x} \pm s$)					
		CD45	CD3	CD4	CD8	CD4/CD8	
SARS 患者病程(周)	1	126	1057 \pm 512	696 \pm 371	386 \pm 244	290 \pm 153	1.42 \pm 0.72
	2	186	977 \pm 579	641 \pm 466	360 \pm 275	270 \pm 216	1.47 \pm 0.82
	3	163	1403 \pm 835	989 \pm 623	570 \pm 374	389 \pm 269	1.58 \pm 0.73
	4	111	1471 \pm 872	1056 \pm 672	593 \pm 394	435 \pm 328	1.53 \pm 0.66
	5	110	1727 \pm 881	1263 \pm 669	733 \pm 453	483 \pm 274	1.60 \pm 0.66
总平均计数	696	1298 \pm 785*	897 \pm 606*	510 \pm 372*	362 \pm 263*	1.51 \pm 0.73**	
正常对照组	51	2024 \pm 423#	1391 \pm 289#	795 \pm 129#	551 \pm 183#	1.57 \pm 0.44##	

* 与正常对照组比 $P < 0.01$; ** 与正常对照组比 $P < 0.05$; # 与 SARS 患者病程各周比 $P < 0.01$; ## 与 SARS 患者病程各周比 $P < 0.05$

表2 不同组别 SARS 患者淋巴细胞亚群细胞计数动态变化

淋巴细胞亚群 (个/mm ³)	组别*	第 1 周 (n ₁ = 91, n ₂ = 35, n ₃ = 113, n ₄ = 8)	第 2 周 (n ₁ = 118, n ₂ = 68, n ₃ = 158, n ₄ = 19)	第 3 周 (n ₁ = 101, n ₂ = 62, n ₃ = 144, n ₄ = 11)	第 4 周 (n ₁ = 66, n ₂ = 45, n ₃ = 98, n ₄ = 6)	第 5 周 (n ₁ = 60, n ₂ = 50, n ₃ = 100, n ₄ = 4)
CD45	普通型★	1104 ± 520	1123 ± 627	1550 ± 823	1624 ± 828	1922 ± 911
	重(极重)型	936 ± 478	723 ± 366	1162 ± 805	1247 ± 897	1493 ± 791
	治愈组#	1100 ± 518	1039 ± 593	1462 ± 793	1542 ± 857	1802 ± 862
	死亡组	609 ± 201	552 ± 285	742 ± 892	481 ± 470	437 ± 237
CD3	普通型★	737 ± 373	752 ± 514	1101 ± 600	1189 ± 646	1439 ± 688
	重(极重)型	591 ± 350	447 ± 280	805 ± 621	860 ± 669	1052 ± 586
	治愈组#	726 ± 375	688 ± 482	1033 ± 598	1115 ± 664	1324 ± 652
	死亡组	394 ± 193	310 ± 178	521 ± 693	303 ± 264	283 ± 181
CD4	普通型★	418 ± 261	419 ± 303	635 ± 361	661 ± 353	843 ± 485
	重(极重)型	303 ± 167	257 ± 179	463 ± 373	493 ± 432	601 ± 374
	治愈组#	401 ± 248	386 ± 285	596 ± 365	627 ± 390	771 ± 450
	死亡组	223 ± 124	170 ± 104	276 ± 340	185 ± 153	160 ± 111
CD8	普通型★	299 ± 138	319 ± 244	429 ± 264	494 ± 334	532 ± 284
	重(极重)型	269 ± 188	185 ± 118	325 ± 268	347 ± 301	425 ± 252
	治愈组#	302 ± 155	291 ± 226	406 ± 260	462 ± 329	505 ± 268
	死亡组	168 ± 98	133 ± 88	195 ± 216	119 ± 115	116 ± 67
CD4/CD8	普通型▲	1.42 ± 0.59	1.39 ± 0.61	1.61 ± 0.71	1.54 ± 0.65	1.66 ± 0.70
	重(极重)型	1.42 ± 1.00	1.61 ± 1.09	1.53 ± 0.77	1.50 ± 0.67	1.52 ± 0.60
	治愈组△	1.39 ± 0.58	1.44 ± 0.74	1.59 ± 1.70	1.52 ± 0.68	1.62 ± 0.68
	死亡组	1.85 ± 1.85	1.73 ± 1.40	1.41 ± 1.05	1.72 ± 0.49	1.32 ± 0.19

★病程各周与重(极重)型比 $P < 0.01$; ▲病程各周与重(极重)型比 $P > 0.05$; #病程各周与死亡组比 $P < 0.01$; △病程各周与死亡组比 $P > 0.05$ 。n₁:普通型检测例数;n₂:重(极重)型检测例数;n₃:治愈组检测例数;n₄:死亡组总检测例数;*普通型总检测例数为 436 次,重(极重)型总检测例数为 260 次,治愈组总检测例数为 613 次,死亡组总检测例数为 48 次

讨 论

本研究结果表明 SARS 患者的外周血淋巴细胞亚群细胞计数于整个病程均明显低于正常对照组,重(极重)型 SARS 患者低于普通型,死亡组低于治愈组,提示 SARS 患者的细胞免疫功能受到明显损害,尤其是重(极重)型及死亡组损害更为严重。但随着病情恢复,外周血淋巴细胞及其亚群计数逐渐上升。因此,外周血淋巴细胞及其亚群计数的测定可作为病情轻重及预后判断指标之一。同时也提示 SARS 患者的细胞免疫损伤是一过性的,与艾滋病病毒(HIV)造成机体细胞免疫功能持续低下有所不同。

动态测定 SARS 患者的外周血淋巴细胞亚群计数表明,在发病第 1 周淋巴细胞亚群计数即开始下降,于发病第 2 周降至最低水平,然后随病情恢复而上升。提示发病第 2 周是患者最危险时期。根据上述 SARS 患者外周血淋巴细胞亚群的动态变化及临床资料,似可将 SARS 病程分为 3 期,即病毒复制期(第 1 周)、极期(第 2 周)和恢复期(3 周以后)。

目前对 SARS 患者外周血淋巴细胞亚群计数下

降的机理尚不清楚,可能是 SARS-CoV 直接攻击淋巴细胞及其亚群;也可能是由于淋巴细胞亚群在肺部聚集,在补体及抗体依赖细胞介导的细胞毒作用(ADCC)下,导致淋巴细胞耗竭;也可能是 SARS-CoV 的某种成分有骨髓抑制作用导致淋巴细胞亚群明显下降。但其确切机理尚需进一步研究。

参 考 文 献

- 1 Thomas GK, Cynthia SG, Sherif RZ, et al. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med, 2003, 348: 1947-1958.
- 2 Tsang KW, Ho PL, Ooi GC, et al. A cluster of cases of severe acute respiratory syndrome in Hong Kong. N Engl J Med, 2003, 348: 1977-1985.
- 3 Christian D, Stephan G, Wolfgang P, et al. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. N Engl J Med, 2003, 348: 1-10.
- 4 尹焯标,张复春,唐小平,等. 93 例传染性非典型肺炎患者外周血 T 淋巴细胞亚群变化及临床意义. 中华结核和呼吸杂志, 2003, 26: 343-346.
- 5 李太生,邱志峰,韩扬,等. 严重急性呼吸综合征急性期 T 淋巴细胞亚群异常改变. 中华检验医学杂志, 2003, 26: 103-105.

(收稿日期 2003-08-21)

(本文编辑:尹廉)