

# 早期免疫功能麻痹在重症甲型 H1N1 流感中的临床意义

钱永兵 谢晖 田锐 陆健 金卫 王瑞兰

201620 上海,南京医科大学附属上海一院临床医学院危重病科

通讯作者:王瑞兰,Email:wangyusun@hotmail.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2017.07.002

**【摘要】目的** 分析重症甲型 H1N1 流感(甲流)患者的早期免疫学特征,为预测该病的预后提供理论依据。**方法** 采用回顾性分析方法,收集 2015 年 10 月至 2016 年 12 月在南京医科大学附属上海一院临床医学院就诊并确诊为重症甲流的 15 例患者临床资料,根据 28 d 预后分为存活组和死亡组;比较两组间早期临床特征、治疗方案、器官功能、炎症反应和免疫功能状态,通过 Cox 多因素回归法分析免疫功能是否为重症甲流患者 28 d 死亡的独立危险因素。**结果** 15 例重症甲流患者均纳入最终分析。患者早期主要表现为咳嗽(93.3%)、发热(86.7%)、咳痰(80.0%)、气短(73.3%)、肌肉酸痛(40.0%)及乏力(40.0%)等;均给予抗病毒、抗感染、机械通气及抗凝治疗,部分患者使用俯卧位通气、肌松剂或体外膜肺氧合(ECMO)等;患者心、肾功能明显损害;急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)和序贯器官衰竭评分(SOFA)分别为(14.1±6.1)分和(9.6±4.1)分,提示患者病情危重。15 例患者 28 d 死亡 4 例,11 例痊愈出院。与存活组比较,死亡组患者 APACHE II 评分明显升高(分:22.7±3.8 比 11.8±3.8),肌钙蛋白[cTn(μg/L):0.52(0.07, 2.02)比 0.15(0.10, 0.45)]和尿素氮[BUN(mmol/L):11.9(6.7, 29.1)比 3.9(2.7, 6.8)]亦明显升高,而血小板计数(PLT)明显降低( $\times 10^9/L$ :76±33 比 146±49,均  $P<0.05$ )。与存活组相比,死亡组患者入院 24 h 内 C-反应蛋白(CRP)和白细胞介素-6(IL-6)水平显著升高[CRP(mg/L):172.2±88.5 比 74.8±33.1, IL-6(ng/L):283.3(140.1, 711.0)比 18.5(12.7, 71.4),均  $P<0.01$ ];CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T 细胞及自然杀伤细胞(NK 细胞)比例均显著降低(CD3<sup>+</sup>T 细胞:0.348±0.119 比 0.573±0.106, CD4<sup>+</sup>T 细胞:0.135±0.046 比 0.344±0.098, CD8<sup>+</sup>T 细胞:0.089±0.057 比 0.208±0.054, NK 细胞:0.124±0.057 比 0.252±0.182,均  $P<0.05$ ),但 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值、人白细胞 DR 抗原阳性(HLA-DR<sup>+</sup>)T 细胞与存活组比较差异无统计学意义(CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值:1.57±0.26 比 1.83±0.54, HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞:0.035±0.022 比 0.062±0.036,均  $P>0.05$ );死亡组 B 淋巴细胞比例较存活组显著升高(0.477±0.136 比 0.229±0.121,  $P<0.01$ )。Cox 多因素回归分析显示,APACHE II 评分[相对危险度(RR)=20.4, 95% 可信区间(95%CI)=5.3~31.2,  $P=0.017$ ], CD4<sup>+</sup>T 细胞( $RR=11.1$ , 95%CI=5.1~20.0,  $P=0.048$ )和 CD8<sup>+</sup>T 细胞( $RR=9.1$ , 95%CI=4.3~16.7,  $P=0.049$ )是重症甲流患者 28 d 死亡的独立危险因素。**结论** 重症甲流早期即合并免疫功能抑制及剧烈的炎症反应,与疾病预后具有紧密的联系。

**【关键词】** 甲型 H1N1; 免疫功能; 炎症反应; 重症

**基金项目:** 国家自然科学基金(81471891);上海市医药卫生科技发展基金(14411971100)

**Clinical significance of early immunological paralysis in patients with severe H1N1 influenza A** Qian

Yongbing, Xie Hui, Tian Rui, Lu Jian, Jin Wei, Wang Ruilan

Department of Critical Care Medicine, Shanghai General Hospital of Nanjing Medical University, Shanghai 201620, China

Corresponding author: Wang Ruilan, Email: wangyusun@hotmail.com

**【Abstract】Objective** To analysis the immunological characteristics of patients with severe H1N1 influenza A, and to provide theoretical basis for predicting the prognosis of the disease. **Methods** A retrospective analysis was conducted. The clinical data of 15 patients diagnosed with severe H1N1 influenza A and admitted to Shanghai General Hospital of Nanjing Medical University from October 2015 to December 2016 were collected. All the patients were divided into survival and death groups according to 28-day survival. Clinical characteristics, treatment algorithm, organ function, inflammatory reaction and immune cell status were compared, and Cox regression was used to decide the risk factors of 28-day death in patients with severe H1N1 infection A. **Results** All 15 patients with severe H1N1 infection A were enrolled, most of who presented with cough (93.3%), fever (86.7%), sputum production (80.0%), shortness of breath (73.3%), myalgia (40.0%) and fatigue (40.0%). All had been received anti-virus, antibiotics, mechanical ventilation and anti-coagulation therapy; some were treated with prone position, neuromuscular blocker and extracorporeal membrane oxygenation (ECMO). The incidences of acute myocardial and kidney injury were high, and the acute physiology and chronic health evaluation II (APACHE II) score (14.1±6.1) and sequential organ failure assessment (SOFA) score (9.6±4.1) implicated the critical condition. Of 15 patients, 4 patients died in 28 days, while

11 were cured and discharged. Compared with survival group, the patients in death group had higher levels of APACHE II score ( $22.7 \pm 3.8$  vs.  $11.8 \pm 3.8$ ), troponin [cTn ( $\mu\text{g/L}$ ):  $0.52$  ( $0.07, 2.02$ ) vs.  $0.15$  ( $0.10, 0.45$ )] and blood urea nitrogen [BUN ( $\text{mmol/L}$ ):  $11.9$  ( $6.7, 29.1$ ) vs.  $3.9$  ( $2.7, 6.8$ )] and a lower level of blood platelets count [PLT ( $\times 10^9/\text{L}$ ):  $76 \pm 33$  vs.  $146 \pm 49$ , all  $P < 0.05$ ]. The levels of C-reactive protein (CRP) and interleukin-6 (IL-6) within 24 hours of admission in death group were significantly higher than those of survival group [CRP ( $\text{mg/L}$ ):  $172.2 \pm 88.5$  vs.  $74.8 \pm 33.1$ , IL-6 ( $\text{ng/L}$ ):  $283.3$  ( $140.1, 711.0$ ) vs.  $18.5$  ( $12.7, 71.4$ ), both  $P < 0.01$ ]. Compared with survival group, the expressions of CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup> T cells and natural killer cell (NK cell) in death group were significantly decreased (CD3<sup>+</sup> T cell:  $0.348 \pm 0.119$  vs.  $0.573 \pm 0.106$ , CD4<sup>+</sup> T cell:  $0.135 \pm 0.046$  vs.  $0.344 \pm 0.098$ , CD8<sup>+</sup> T cell:  $0.089 \pm 0.057$  vs.  $0.208 \pm 0.054$ , NK cell:  $0.124 \pm 0.057$  vs.  $0.252 \pm 0.182$ , all  $P < 0.05$ ), but there were no significant differences in CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio and human leucocyte antigen-DR positive (HLA-DR<sup>+</sup>) T cell between death group and survival group (CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> ratio:  $1.57 \pm 0.26$  vs.  $1.83 \pm 0.54$ , HLA-DR<sup>+</sup> T cell:  $0.035 \pm 0.022$  vs.  $0.062 \pm 0.036$ , both  $P > 0.05$ ). B lymphocyte in death group was significantly higher than that of survival group ( $0.477 \pm 0.136$  vs.  $0.229 \pm 0.121$ ,  $P < 0.01$ ). Cox regression analysis revealed that APACHE II score [risk ratio (RR) = 20.4, 95% confidence interval (95%CI) = 5.3–31.2,  $P = 0.017$ ], CD4<sup>+</sup> T cell (RR = 11.1, 95%CI = 5.1–20.0,  $P = 0.048$ ) and CD8<sup>+</sup> T cell (RR = 9.1, 95%CI = 4.3–16.7,  $P = 0.049$ ) were independently risk factors of 28-day survival of patients with severe H1N1 influenza A. **Conclusion** Immunological paralysis and severe inflammatory response were early complicated with severe H1N1 influenza A, and these were significantly associated with prognosis.

**【Key words】** H1N1 influenza A; Immune function; Inflammatory response; Critically illness

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81471891); Shanghai Municipal Science and Technology Development Foundation (14411971100)

甲型 H1N1 病毒是一种新型流感病毒,具有易传播性和高致病性,部分患者可迅速发展为严重缺氧,甚至急性呼吸窘迫综合征(ARDS)<sup>[1]</sup>。持续高热、合并心脏疾病、迅速累及心肺肾等器官功能、合并妊娠是重症甲型 H1N1 流感(甲流)患者死亡的高危因素,因此,加强该病的防控尤为重要<sup>[2-3]</sup>。甲流的临床表现及治疗经验均提示免疫应答在疾病的发生发展过程中起着重要的作用,同时机体的免疫状态也决定了疾病的治疗效果<sup>[4]</sup>。因此,本研究通过分析本院重症加强治疗病房(ICU)重症甲流患者的淋巴细胞亚群和炎性因子水平,探讨甲型 H1N1 病毒对患者免疫功能和炎症反应的影响,及其与患者预后的关系和临床意义。

## 1 资料与方法

**1.1 一般资料:**采用回顾性分析方法,选择 2015 年 10 月至 2016 年 12 月南京医科大学附属上海一院临床医学院收治的重症甲流患者 15 例。根据患者 28 d 预后分为存活组和死亡组。

**1.1.1 纳入标准:**经咽拭子反转录-聚合酶链反应(RT-PCR)检测确定为甲型 H1N1 病毒感染,且出现以下症状之一即诊断为重症病例:①持续高热超过 3 d;②剧烈咳嗽,咳脓痰、血痰;③呼吸困难,口唇紫绀;④意识改变:反应迟钝、嗜睡、躁动、惊厥等;⑤严重呕吐、腹泻,出现脱水表现;⑥影像学检查有肺炎征象;⑦心肌损伤标志物迅速增高;⑧原有基础疾病明显加重。如继发呼吸衰竭、脓毒性休克、多器官功能衰竭(MOF)等症状或出现其他需要重症监护的情况,符合危重症甲流诊断标准<sup>[5]</sup>。

**1.1.2 排除标准:**年龄 < 18 岁;既往有严重心肺疾病;合并免疫性疾病或肿瘤病史。

**1.1.3 伦理学:**本研究符合医学伦理学标准,经医院伦理委员会批准(审批号:2016KY155),所有治疗和检测均获得过患者或家属的知情同意。

**1.2 观察指标:**观察两组患者年龄、性别、临床症状(发热、乏力、咳嗽、咳痰、气短、肌肉酸痛等)、是否合并内科疾病、疾病严重程度[急性生理学与慢性健康状况评分系统 II (APACHE II)及序贯器官衰竭评分(SOFA)]。分析两组入院 24 h 内器官功能变化,炎性因子 C-反应蛋白(CRP)、白细胞介素-6(IL-6)和降钙素原(PCT)水平,以及外周血各型免疫细胞表达,包括总 T 细胞、CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值、活化的 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞及自然杀伤细胞(NK 细胞)等。

**1.3 统计学方法:**应用 SPSS 18.0 软件处理数据,先对计量资料进行正态性检验,正态分布计量资料以均数 ± 标准差( $\bar{x} \pm s$ )表示,采用 *t* 检验;非正态分布计量资料以中位数(四分位数)[ $M(Q_L, Q_U)$ ]表示,采用 Mann-Whitney 非参数秩和检验;计数资料采用  $\chi^2$  检验。使用 Cox 多因素回归分析筛选重症甲流患者 28 d 死亡的决定性因素。 $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 患者基本临床特征(表 1):**15 例重症甲流患者中无排除病例,均纳入最终分析,其中男性 9 例,女性 6 例;平均年龄( $53.9 \pm 13.6$ )岁;7 例患者存在慢性阻塞性肺气肿、糖尿病、高血压、肥胖等基

础疾病; APACHE II 评分(14.1±6.1)分, SOFA 评分(9.6±4.1)分; 入院时均存在 ARDS、脓毒性休克甚至 MOF 等临床表现。患者初始症状主要表现为咳嗽(93.3%)、发热(86.7%)、咳痰(80.0%)、气短(73.3%)、肌肉酸痛(40.0%)及乏力(40.0%)等; 入院后均给予奥司他韦抗病毒、莫西沙星联合利奈唑胺抗感染、无创或有创机械通气、低分子肝素抗凝等常规治疗。28 d 存活 11 例, 死亡 4 例; 与存活组相比, 死亡组 APACHE II 评分显著升高( $P < 0.01$ ); 而两组其他临床特征及治疗方案比较差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。

**2.2** 患者入院 24 h 内器官功能变化(表 2): 与存活组比较, 死亡组患者入院 24 h 内血小板计数(PLT)

明显降低, 血尿素氮(BUN)和心肌肌钙蛋白(cTn)均显著升高(均  $P < 0.05$ ); 而两组患者其他血细胞分析、肝功能、肾功能、凝血功能、心功能及血气分析指标差异无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。

**2.3** 患者入院 24 h 内炎症反应和免疫学特征(表 3): 死亡组患者入院 24 h 内 CRP 和 IL-6 水平较存活组明显升高(均  $P < 0.01$ ), 表明重症甲流早期即存在大量炎症因子释放, 加重组织损伤。死亡组 CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup> T 细胞及 NK 细胞比例均较存活组显著下降, B 淋巴细胞比例较存活组显著升高(均  $P < 0.05$ ); 两组 CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> 比值及人白细胞 DR 抗原阳性(HLA-DR<sup>+</sup>) T 细胞比例差异则无统计学意义(均  $P > 0.05$ )。

表 1 重症甲型 H1N1 流感患者临床特征及治疗方案在 28 d 不同预后两组间的比较

临床特征	存活组 (n=11)	死亡组 (n=4)	t/χ <sup>2</sup> 值	P 值	治疗方案 [ % (例) ]				
					存活组 (n=11)	死亡组 (n=4)	χ <sup>2</sup> 值	P 值	
一般资料					治疗方案 [ % (例) ]				
年龄(岁, $\bar{x} \pm s$ )	53.1 ± 13.5	61.2 ± 14.9	0.314	0.767	抗病毒(奥司他韦)	100.0(11)	100.0(4)		
性别(例, 男性/女性)	6/5	2/2	0.475	0.511	抗菌药物	100.0(11)	100.0(4)		
合并内科疾病 [ % (例) ]	36.4(4)	75.0(3)	1.759	0.185	激素	81.8(9)	75.0(3)	0.085	0.770
APACHE II (分, $\bar{x} \pm s$ )	11.8 ± 3.8	22.7 ± 3.8	5.558	0.001	低分子肝素	100.0(11)	100.0(4)		
SOFA (分, $\bar{x} \pm s$ )	8.5 ± 3.4	13.0 ± 4.7	2.065	0.059	免疫球蛋白	36.4(4)	25.0(1)	0.170	0.680
临床症状 [ % (例) ]					乌司他丁	100.0(11)	100.0(4)		
发热	81.8(9)	100.0(4)	0.839	0.360	无创通气	45.5(5)	50.0(2)	1.029	0.310
乏力	27.3(3)	75.0(3)	2.784	0.095	有创通气	54.5(6)	50.0(2)		
咳嗽	100.0(11)	75.0(3)	2.946	0.086	肌松剂	18.2(2)	50.0(2)	1.519	0.218
咳痰	90.9(10)	50.0(2)	3.068	0.080	俯卧位通气	27.3(3)	0(0)	1.364	0.243
气短	63.6(7)	100.0(4)	1.983	0.159	血液滤过	9.1(1)	66.7(2)	3.068	0.080
肌肉酸痛	36.4(4)	50.0(2)	0.227	0.634	ECMO	9.1(1)	25.0(1)	0.642	0.423

注: APACHE II 为急性生理学与慢性健康状况评分系统 II, SOFA 为序贯器官衰竭评分, ECMO 为体外膜肺氧合; 空白代表未测

表 2 重症甲型 H1N1 流感患者入院 24 h 内各器官功能指标在 28 d 不同预后两组间的比较

实验室项目	存活组(n=11)	死亡组(n=4)	t/Z 值	P 值	实验室项目	存活组(n=11)	死亡组(n=4)	t/Z 值	P 值
血细胞分析					凝血功能				
WBC ( $\times 10^9/L$ , $\bar{x} \pm s$ )	8.6 ± 6.7	4.3 ± 3.5	1.200	0.252	PT (s, $\bar{x} \pm s$ )	13.3 ± 1.4	13.0 ± 0.7	0.026	0.980
N ( $\bar{x} \pm s$ )	0.743 ± 0.226	0.833 ± 0.110	0.753	0.485	APTT (s, $\bar{x} \pm s$ )	37.7 ± 12.4	55.2 ± 32.3	1.577	0.139
LYN [ $\times 10^9/L$ , $M(Q_L, Q_U)$ ]	0.64(0.52, 1.23)	0.38(0.17, 2.19)	0.708	0.479	FIB (g/L, $\bar{x} \pm s$ )	4.5 ± 1.4	3.6 ± 1.3	0.092	0.928
PLT ( $\times 10^9/L$ , $\bar{x} \pm s$ )	146 ± 49	76 ± 33	2.616	0.021	D-二聚体 [mg/L, $M(Q_L, Q_U)$ ]	3.64(1.50, 8.45)	5.66(3.62, 11.44)	0.964	0.361
Hb (g/L, $\bar{x} \pm s$ )	123 ± 19	99 ± 32	1.822	0.092	心功能				
肝功能					cTn [ $\mu g/L$ , $M(Q_L, Q_U)$ ]	0.15(0.10, 0.48)	0.52(0.07, 2.02)	2.362	0.018
ALT (U/L, $\bar{x} \pm s$ )	57 ± 39	56 ± 27	0.102	0.921	BNP [ng/L, $M(Q_L, Q_U)$ ]	71.6(36.2, 156.3)	668.5(125.2, 3985.2)	1.697	0.090
AST (U/L, $\bar{x} \pm s$ )	99 ± 47	137 ± 76	1.093	0.294	血气分析				
肾功能					pH 值 ( $\bar{x} \pm s$ )	7.41 ± 0.08	7.18 ± 0.45	1.076	0.303
SCr [ $\mu mol/L$ , $M(Q_L, Q_U)$ ]	56.8(47.0, 67.1)	129.5(51.5, 767.1)	1.273	0.203	PO <sub>2</sub> (mmHg, $\bar{x} \pm s$ )	62 ± 23	99 ± 70	1.078	0.302
BUN [mmol/L, $M(Q_L, Q_U)$ ]	3.9(2.7, 6.8)	11.9(6.7, 29.1)	1.980	0.048	PCO <sub>2</sub> (mmHg, $\bar{x} \pm s$ )	37 ± 12	55 ± 45	0.790	0.445
					BE [mmol/L, $M(Q_L, Q_U)$ ]	2.0(-7.5, 4.9)	-1.9(-8.6, 3.7)	1.012	0.312

注: WBC 为白细胞计数, N 为中性粒细胞比例, LYN 为淋巴细胞计数, PLT 为血小板计数, Hb 为血红蛋白, ALT 为丙氨酸转氨酶, AST 为天门冬氨酸转氨酶, SCr 为血肌酐, BUN 为尿素氮, PT 为凝血酶原时间, APTT 为活化部分凝血活酶时间, FIB 为纤维蛋白原, cTn 为心肌肌钙蛋白, BNP 为 B 型钠尿肽, PO<sub>2</sub> 为血氧分压, PCO<sub>2</sub> 为二氧化碳分压, BE 为剩余碱; 1 mmHg=0.133 kPa



表3 重症甲型H1N1流感患者入院24h内炎症反应及免疫学特征在28d不同预后两组间的比较

项目	存活组(n=11)	死亡组(n=4)	t/Z值	P值
炎症指标( $\bar{x} \pm s$ 或 $M(Q_L, Q_U)$ )				
CRP(mg/L)	74.8 ± 33.1	172.2 ± 88.5	3.231	0.007
IL-6(ng/L)	18.5(12.7, 71.4)	283.3(140.1, 711.0)	2.742	0.006
PCT(ng/L)	1.10(0.19, 6.85)	3.03(1.52, 5.30)	0.653	0.514
免疫学指标( $\bar{x} \pm s$ )				
CD3 <sup>+</sup> T细胞	0.573 ± 0.106	0.348 ± 0.119	2.740	0.017
CD4 <sup>+</sup> T细胞	0.344 ± 0.098	0.135 ± 0.046	3.990	0.002
CD8 <sup>+</sup> T细胞	0.208 ± 0.054	0.089 ± 0.057	3.692	0.003
CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> 比值	1.83 ± 0.54	1.57 ± 0.26	0.898	0.386
HLA-DR <sup>+</sup> T细胞	0.062 ± 0.036	0.035 ± 0.022	9.074	0.183
B淋巴细胞	0.229 ± 0.121	0.477 ± 0.136	3.425	0.005
NK细胞	0.252 ± 0.182	0.124 ± 0.057	2.066	0.049

注:CRP为C-反应蛋白,IL-6为白细胞介素-6,PCT为降钙素原,HLA-DR<sup>+</sup>为人白细胞DR抗原阳性,NK细胞为自然杀伤细胞

2.4 Cox多因素回归分析(表4):将单因素分析中有统计学意义的指标纳入Cox多因素回归分析,结果显示,APACHE II评分及CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T细胞比例是重症甲流患者28d内死亡的独立危险因素(均P<0.05)。

表4 Cox多因素回归分析重症甲型H1N1流感患者28d死亡的独立危险因素

危险因素	RR值	95%CI	P值
APACHE II评分	20.4	5.3 ~ 31.2	0.017
PLT	0.9	0.7 ~ 1.4	0.870
cTn	0.4	0.2 ~ 1.5	0.708
BUN	0.3	0.1 ~ 33.4	0.732
CRP	0.7	0.4 ~ 3.2	0.990
IL-6	1.0	0.8 ~ 1.3	0.867
CD3 <sup>+</sup> T细胞	0.8	0.1 ~ 52.1	0.963
CD4 <sup>+</sup> T细胞	11.1	5.1 ~ 20.0	0.048
CD8 <sup>+</sup> T细胞	9.1	4.3 ~ 16.7	0.049
B淋巴细胞	1.4	0.1 ~ 17.5	0.766
NK细胞	1.2	0.2 ~ 6.2	0.827

注:APACHE II为急性生理学及慢性健康状况评分系统II,PLT为血小板计数,cTn为心肌肌钙蛋白,BUN为尿素氮,CRP为C-反应蛋白,IL-6为白细胞介素-6,NK细胞为自然杀伤细胞,RR为相对危险度,95%CI为95%可信区间

### 3 讨论

自2009年以来,甲型H1N1病毒成为一种新型重组病毒,其传播速度快且重症患者较多,传播途径主要通过飞沫、气溶胶、直接或间接接触传播<sup>[6]</sup>。虽然经过积极的抗病毒、限制性液体复苏、肺保护性通气等综合治疗,重症甲流患者病死率仍高达17%左右<sup>[7-8]</sup>。孙甲君等<sup>[9]</sup>研究结果显示,常规机械通气氧合不佳、持续血流动力学不稳定、急性肾损伤(AKI)及气压伤等是重症甲流患者预后不良的

危险因素。本研究结果显示,死亡组BUN和BNP水平均较存活组明显升高,提示重症甲流患者常合并AKI或心功能不全,预后较差。本研究就重症甲流患者入院时炎症反应和免疫功能进行研究,结果显示CRP和IL-6水平显著升高,T淋巴细胞比例显著下降,而B淋巴细胞比例显著升高。Cox多因素回归分析提示,高APACHE II评分、低CD4<sup>+</sup>和CD8<sup>+</sup>T细胞比例是重症甲流患者28d死亡的独立危险因素。因此,重症甲流患者早期炎症反应强烈,细胞免疫功能受损严重,可导致预后不良。

在重症甲流患者中,细胞因子参与了疾病的发生发展,其中IL-6和肿瘤坏死因子-α(TNF-α)具有重要意义,其表达升高与病情严重程度及患者全身症状显著相关,同时也与甲流患者合并细菌感染显著相关<sup>[10]</sup>。本研究结果显示,死亡组重症甲流患者入院24h内IL-6及CRP水平较存活组显著升高,与国内外研究结果相似<sup>[11-12]</sup>,表明重症甲流早期天然免疫反应强烈,免疫细胞释放大量的促炎介质,进一步加剧了组织损伤<sup>[8]</sup>。

细胞毒性T细胞是一种特异性T细胞,可分泌多种细胞分子参与免疫反应,同时对病毒、肿瘤细胞等抗原物质具有杀伤作用<sup>[13]</sup>。在轻症或重症甲流患者中,淋巴细胞缺乏主要由于辅助性T细胞消耗,然而60%的重症患者细胞毒性T细胞较健康对照者下降<sup>[14]</sup>。淋巴细胞下降的机制主要包括淋巴细胞产生减少、凋亡或坏死增加、淋巴细胞俘获增加等。淋巴细胞缺乏主要与重症甲流患者的病情严重程度呈正相关,约1/3轻症患者亦合并淋巴细胞缺乏<sup>[15]</sup>。本研究结果显示,重症甲流患者死亡组CD3<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>T细胞比例较存活组显著降低,但CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值和HLA-DR<sup>+</sup>T细胞比例与存活组无明显差异,提示辅助性T细胞和细胞毒性T细胞尽管严重受损,但仍趋于自稳,说明患者自身可调控免疫反应强度,并维持免疫稳态。本研究提示,重症甲流患者早期T淋巴细胞发挥的细胞免疫功能受到较大程度的抑制,而B淋巴细胞介导的体液免疫则有增强作用。Rodríguez等<sup>[16]</sup>研究发现,妇女乳头状瘤病毒持续感染者T淋巴细胞被活化;本研究也表明,重症甲流患者死亡组活化的T细胞比例较存活组降低,提示患者外周血淋巴细胞激活,部分发挥了清除H1N1病毒的功能。

NK细胞是机体重要的固有免疫细胞,与抗肿瘤、抗病毒感染和免疫调节有关。Heltzer等<sup>[17]</sup>研

究发现,中、重症甲流儿童患者外周血 NK 细胞比例显著下降,其主要机制为流感病毒感染 NK 细胞后,导致 NK 细胞发生凋亡。本研究结果显示,重症甲流患者死亡组 NK 细胞比例较存活组下降,与上述研究结果相似。在甲流动物实验中, NK 细胞参与控制病毒复制,其表达缺失可显著增加并发症发生率及死亡率<sup>[18]</sup>。NK 细胞主要由 NK p46 受体识别流感病毒凝集素,与感染的细胞相互结合产生杀伤活性,表达  $\gamma$ -干扰素(IFN- $\gamma$ )促进 T 淋巴细胞招募;反之,流感特异性记忆 T 细胞分泌 IL-2 可增强 NK 细胞对流感的作用<sup>[19]</sup>。

综上所述,重症甲流患者早期合并 T 淋巴细胞和 NK 细胞表达下降, CRP、IL-6 等炎性因子表达升高,提示患者早期存在强烈炎症反应的同时合并免疫功能麻痹,因此在临床治疗策略上需要兼顾抗炎反应和免疫调理治疗。加强监测甲流患者淋巴细胞亚群数目及细胞内三磷酸腺苷(ATP)水平<sup>[20]</sup>,有助于判断患者的病情及预后。但本研究病例数较少,且入选患者均为重症患者,不含轻症甲流患者,今后将开展轻症与重症甲流患者早期免疫学特征的比较研究,同时增加时间变化曲线,进一步了解重症甲流患者的免疫学改变,为其治疗策略提供更加详尽的依据。

## 参考文献

- [1] Skarbinski J, Jain S, Bramley A, et al. Hospitalized patients with 2009 pandemic influenza A (H1N1) virus infection in the United States—September–October 2009 [J]. Clin Infect Dis, 2011, 52 Suppl 1: S50–59. DOI: 10.1093/cid/ciq021.
- [2] 刘又宁. 高度重视沉着应对甲型 H1N1 流感的挑战 [J]. 中华结核和呼吸杂志, 2009, 32 (z1): 1–2. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2009.s1.001.
- [3] Liu YN. To pay close attention to and cope imperturbably with H1N1 influenza [J]. Chin J Tuberc Respir Dis, 2009, 32 (z1): 1–2. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1001-0939.2009.s1.001.
- [4] 董旭南, 张南, 徐佩茹, 等. 新疆甲型 H1N1 流感重症病例的临床特征分析 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2011, 18 (1): 25–27. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2011.01.007.
- [5] Dong XN, Zhang N, Xu PR, et al. Analysis of clinical manifestations of severe cases with influenza A H1N1 in Xinjiang [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2011, 18 (1): 25–27. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2011.01.007.
- [6] 王宗义, 胡爱荣, 蒋素文, 等. 轻症和重症甲型 H1N1 流感患者免疫学特征比较分析 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2013, 33 (9): 673–676. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5101.2013.09.007.
- [7] Wang ZY, Hu AR, Jiang SW, et al. Comparative analysis of immunological characteristics of patients with mild and severe influenza A (H1N1) [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2013, 33 (9): 673–676. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-5101.2013.09.007.
- [8] 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]. 中华临床感染病杂志, 2009, 2 (5): 257–259. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2009.05.001.
- [9] National Health Commission of People's Republic of China. Guideline of H1N1 influenza A treatment and diagnosis (3rd ed) [J]. Chin J Clin Infect Dis, 2009, 2 (5): 257–259. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1674-2397.2009.05.001.
- [10] 王莹. 浅议甲型 H1N1 流感的治疗与防控 [J]. 中国中西医结合急救杂志, 2009, 16 (6): 368. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.

2009.06.020.

Wang Y. Commentary on treatment and prevention of H1N1 influenza A [J]. Chin J TCM WM Crit Care, 2009, 16 (6): 368. DOI: 10.3969/j.issn.1008-9691.2009.06.020.

- [7] Kumar A, Zarychanski R, Pinto R, et al. Critically ill patients with 2009 influenza A (H1N1) infection in Canada [J]. JAMA, 2009, 302 (17): 1872–1879. DOI: 10.1001/jama.2009.1496.
- [8] 叶明, 郑俊波, 于凯江, 等. 大剂量乌司他丁治疗甲型 H1N1 流感所致重症肺炎的疗效观察 [J]. 中华危重病急救医学, 2011, 23 (1): 48–49. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.01.014.
- [9] Ye M, Zheng JB, Yu KJ, et al. Effects of high dose ulinastatin treatment in patients with severe pneumonia complicating influenza A H1N1 infection [J]. Chin Crit Care Med, 2011, 23 (1): 48–49. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2011.01.014.
- [10] 孙甲君, 李琛, 吴大玮, 等. 成人甲型 H1N1 流感伴呼吸衰竭 18 例分析 [J]. 中华危重病急救医学, 2010, 22 (3): 156–160. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.03.010.
- [11] Sun JJ, Li C, Wu DW, et al. Eighteen cases analysis of 2009 influenza A H1N1 associated with respiratory failure in adults [J]. Chin Crit Care Med, 2010, 22 (3): 156–160. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.03.010.
- [12] Hayden FG, Fritz R, Lobo MC, et al. Local and systemic cytokine responses during experimental human influenza A virus infection. Relation to symptom formation and host defense [J]. J Clin Invest, 1998, 101 (3): 643–649. DOI: 10.1172/JCI1355.
- [13] Gao R, Bhatnagar J, Blau DM, et al. Cytokine and chemokine profiles in lung tissues from fatal cases of 2009 pandemic influenza A (H1N1): role of the host immune response in pathogenesis [J]. Am J Pathol, 2013, 183 (4): 1258–1268. DOI: 10.1016/j.ajpath.2013.06.023.
- [14] 樊艳, 刘华, 王贤东, 等. 甲型 H1N1 流感重症及危重症患者血清 C-反应蛋白的变化 [J]. 中华危重病急救医学, 2010, 22 (7): 438. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.07.023.
- [15] Fan Y, Liu H, Wang XD, et al. Changes of plasma CRP in critically ill H1N1 influenza A patients [J]. Chin Crit Care Med, 2010, 22 (7): 438. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-0603.2010.07.023.
- [16] 宁书蔚, 臧彬. B 和 T 淋巴细胞活化因子在感染性疾病中的免疫作用 [J]. 实用检验医师杂志, 2016, 8 (2): 106–110. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.013.
- [17] Ning SW, Zang B. Immune effects of B and T lymphocyte attenuator in infectious diseases [J]. Chin J Clin Pathol, 2016, 8 (2): 106–110. DOI: 10.3969/j.issn.1674-7151.2016.02.013.
- [18] Cunha BA, Pherez FM, Schoch P. Diagnostic importance of relative lymphopenia as a marker of swine influenza (H1N1) in adults [J]. Clin Infect Dis, 2009, 49 (9): 1454–1456. DOI: 10.1086/644496.
- [19] Jiang TJ, Zhang JY, Li WG, et al. Preferential loss of Th17 cells is associated with CD4 T cell activation in patients with 2009 pandemic H1N1 swine-origin influenza A infection [J]. Clin Immunol, 2010, 137 (3): 303–310. DOI: 10.1016/j.clim.2010.07.010.
- [20] Rodríguez AC, García-Piñeres AJ, Hildesheim A, et al. Alterations of T-cell surface markers in older women with persistent human papillomavirus infection [J]. Int J Cancer, 2011, 128 (3): 597–607. DOI: 10.1002/ijc.25371.
- [21] Heltzer ML, Coffin SE, Maurer K, et al. Immune dysregulation in severe influenza [J]. J Leukoc Biol, 2009, 85 (6): 1036–1043. DOI: 10.1189/jlb.1108710.
- [22] Mao H, Tu W, Qin G, et al. Influenza virus directly infects human natural killer cells and induces cell apoptosis [J]. J Virol, 2009, 83 (18): 9215–9222. DOI: 10.1128/JVI.00805-09.
- [23] Fox A, Le NM, Horby P, et al. Severe pandemic H1N1 2009 infection is associated with transient NK and T deficiency and aberrant CD8 responses [J]. PLoS One, 2012, 7 (2): e31535. DOI: 10.1371/journal.pone.0031535.
- [24] 王旭珍, 薛武军, 田善训, 等. Cylex ImmuKnow 法检测细胞免疫功能在肾移植后感染诊断中的意义 [J/CD]. 实用器官移植电子杂志, 2013, 1 (3): 134–137. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2013.03.003.
- [25] Wang XZ, Xue WJ, Tian PX, et al. The significance of detecting the cell immune function in diagnosing the infection after renal transplantation using Cylex ImmuKnow assay [J/CD]. Pract J Organ Transplant (Electron Version), 2013, 1 (3): 134–137. DOI: 10.3969/j.issn.2095-5332.2013.03.003.

(收稿日期: 2017-03-07)