

新型冠状病毒肺炎患者外周血淋巴细胞及其亚群检测的临床意义

刘艳霞, 区静怡, 黄颖, 陈星, 陈意珊, 江鸿雅, 石亚玲

(广州市第八人民医院检验科, 广州 510440)

摘要: **目的** 探讨外周血淋巴细胞及其亚群在新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 患者中的应用价值。**方法** 选取2020年2月14日~3月11日收治于广州市第八人民医院的216例 COVID-19 患者为研究对象, 其中普通组194例, 重型组15例, 危重组7例, 检测各组的白细胞计数、淋巴细胞计数和淋巴细胞亚群计数并进行比较。**结果** 重型组、危重组的淋巴细胞计数、T淋巴细胞计数、CD4⁺T淋巴细胞计数、CD8⁺T淋巴细胞计数和B淋巴细胞计数低于普通组, 差异具有统计学意义 ($Z = -12.114 \sim -3.376, P < 0.05$)。危重组的淋巴细胞计数、T淋巴细胞计数、CD4⁺T淋巴细胞计数和NK细胞计数低于重型组, 差异具有统计学意义 ($Z = -3.986 \sim -1.975, P < 0.05$)。**结论** 对 COVID-19 患者外周血淋巴细胞及淋巴细胞亚群进行分析, 在反映 COVID-19 患者机体免疫系统受损程度及评估病情方面具有一定的临床应用价值。

关键词: 淋巴细胞; 淋巴细胞亚群; 新型冠状病毒肺炎

中图分类号: R373.1; R446.62 文献标识码: A 文章编号: 1671-7414 (2020) 04-094-04

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2020.04.023

Clinical Significance of Detection of Peripheral Blood Lymphocyte and Its Subgroups in Patients with Coronavirus Disease 2019

LIU Yan-xia, OU Jing-yi, HUANG Ying, CHEN Xing, CHEN Yi-shan, JIANG Hong-ya, SHI Ya-ling

(Department of Clinical Laboratory, the Eighth People's Hospital of Guangzhou City, Guangzhou 510440, China)

Abstract: **Objective** To explore the application value of peripheral blood lymphocytes and lymphocyte subsets in patients with COVID-19. **Methods** 216 patients with COVID-19 admitted to the Eighth People's Hospital of Guangzhou from February 14 to March 11, 2020 were selected as the research object. There were 194 cases in the ordinary pneumonia group, 15 cases in the severe pneumonia group and 7 cases in the critical severe group. White blood cell count, lymphocyte count and lymphocyte subgroup count of each group were detected and compared. **Results** The results of the lymphocyte count, T lymphocyte count, CD4⁺T lymphocyte count, CD8⁺T lymphocyte count and B lymphocyte count in severe pneumonia group and critical severe group were lower than ordinary pneumonia group, the differences were statistically significant ($Z = -12.114 \sim -3.376, P < 0.05$). The results of the lymphocyte count, T lymphocyte count, CD4⁺T lymphocyte count and NK cell count in the critical severe group were lower than those in the severe pneumonia group, the differences were statistically significant ($Z = -3.986 \sim -1.975, P < 0.05$). **Conclusion** Analysis of peripheral blood lymphocytes and lymphocyte subsets of patients with COVID-19 has certain clinical application value in reflecting the degree of immune system damage and evaluating the disease condition.

Keywords: lymphocyte; lymphocyte subgroup; COVID-19

新型冠状病毒肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 是 2019 年底新发现的传染病, 根据世界卫生组织 (WHO) 报道, 2019 年 12 月获悉湖北省武汉市出现不明原因肺炎病例, 中国宣布该不明原因肺炎的病原体为新型冠状病毒。COVID-19 临床症状以发热、干咳、乏力为主要表现, 少数患者伴有鼻塞、流涕、咽痛等症状, 严重者可出现呼吸困难, 甚至危及生命。目前 COVID-19 的

诊断手段主要有病原学核酸检测。2020 年 3 月 3 日新型冠状病毒 (2019-nCoV) 特异性抗体也纳入确诊的标准, 包括了 IgM 和 IgG 在内的全部新型冠状病毒抗体特异性抗体, 既具有 IgM 抗体检测早期诊断的优势, 又具有检测 IgG 抗体既往感染的特点^[1]。截至文章投稿前, 尚未有针对性的治疗方案用于临床, 对治疗密切相关的实验室检查指标也在研究中。近年来, 许多研究报道显示淋巴细胞亚群与呼

作者简介: 刘艳霞 (1987-), 女, 本科, 检验技师, 研究方向: 医学检验, E-mail: 987798630@qq.com。

通讯作者: 石亚玲, 女, 主任检验技师, 研究方向: 医学检验, E-mail: 13798066558@126.com。

吸系统疾病的发生发展之间存在着密切的关联^[2-3]。本研究通过对216例COVID-19患者外周血淋巴细胞及其亚群进行分析,探讨两者在COVID-19患者中的临床应用价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 2020年2月14日~3月11日收治于广州市第八人民医院的216例COVID-19患者,其中普通组194例(男性88例,年龄15~91岁;女性106例,年龄16~82岁),重型组15例(男性11例,年龄52~91岁;女性4例,年龄50~63岁),危重组7例(男性5例,年龄42~83岁;女性2例,年龄56~85岁)。诊断依据国家卫生健康委员会《关于印发新型冠状病毒肺炎诊疗方案(试行第六版)的通知》^[4],COVID-19确诊依据为新型冠状病毒核酸检测阳性,或病毒基因测序结果与已知的新型冠状病毒高度同源。分型标准为:普通型:具有发热、呼吸道等症状,影像学可见肺炎表现。重型需符合下列任何一项:出现气促,RR ≥ 30次/分;静息状态下,指氧饱和度 ≤ 93%;动脉血氧分压(PaO₂)/吸氧浓度(FiO₂) ≤ 300mmHg;肺部影像学显示24~48h内病灶明显进展 >50%者。危重型需符合以下情况之一:出现呼吸衰竭,且需要机械通气;出现休克;并发其他器官功能衰竭需ICU监护治疗。

1.2 仪器与试剂 白细胞分类计数采用希森美康的SYSMEX XN B3全自动血细胞分析仪及其配套试剂。淋巴细胞亚群的检测采用美国BD公司的FACS Canto II Plus型流式细胞分析仪、FACS溶血素、淋巴细胞亚群检测试剂盒(流式细胞仪法-6色)

及TruCOUNT绝对计数管。

1.3 方法

1.3.1 样本采集:研究对象可能重复检测,每份样本作为独立样本检测,本次研究的样本总数共计1080份,其中799份标本作白细胞与淋巴细胞计数检测,281份标本作淋巴细胞亚群样本检测。部分研究对象未行B淋巴细胞和NK细胞检测。故B淋巴细胞和NK细胞的样本数为普通组86份,重型组12份,危重组21份。具体方法是空腹抽取静脉血3ml于EDTA-K₂抗凝管中备用。

1.3.2 白细胞与淋巴细胞的检测:SYSMEX XN B3全自动血细胞分析仪上机检测。

1.3.3 淋巴细胞亚群的检测:取抗凝标本50μl,放入TruCOUNT绝对计数管,加入淋巴细胞亚群检测试剂(流式细胞仪法-6色)荧光标记抗体,振荡混匀后,常温避光孵育15min,分别加入450μl FACS溶血素(1X),振荡混匀,常温避光静置10min,于BD FACS Canto II Plus型流式细胞分析仪上机检测。

1.4 统计学分析 采用SPSS 26.0软件进行统计分析,数据为非正态分布,采用中位数(四分位数)表示,组间比较采用Mann-Whitney U检验, P < 0.05为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 COVID-19患者外周血淋巴细胞计数比较 见表1。COVID-19患者外周血淋巴细胞计数结果为普通组 > 重型组 > 危重组,组间比较差异具有统计学意义(P < 0.01)。白细胞计数结果为普通组 < 重型组 < 危重组,危重组与重型组、普通组比较,差异具有统计学意义(P < 0.01)。

表1 COVID-19患者外周血白细胞计数与淋巴细胞计数结果比较

项目	A (n=610)	B (n=97)	C (n=92)	A vs B		A vs C		B vs C	
				Z	P	Z	P	Z	P
淋巴细胞计 (×10 ⁹ /L)	1.62 (1.31, 2.0)	1.01 (0.80, 1.27)	0.81 (0.57, 1.04)	-10.329	0.000	-12.114	0.000	-3.739	0.000
白细胞计数 (×10 ⁹ /L)	5.6 (4.6, 6.7)	5.8 (4.3, 7.8)	13.0 (9.7, 18.9)	1.712	0.087	13.613	0.000	9.005	0.000

注: A表示普通组, B表示重型组, C表示危重组。正常参考范围: 淋巴细胞计数 1.1~3.2 × 10⁹/L, 白细胞计数 3.5~9.5 × 10⁹/L。

2.2 COVID-19患者的外周血淋巴细胞亚群水平比较

2.2.1 COVID-19患者的外周血T淋巴细胞计数、CD4⁺T淋巴细胞计数和CD8⁺T淋巴细胞计数比较: 见表2。结果为普通组 > 重型组 > 危重组, 重型

组、危重组与普通组比较, 差异具有统计学意义(P < 0.01); 重型组与危重组比较(除外CD8⁺T淋巴细胞计数 P > 0.05), 差异具有统计学意义(P < 0.05)。

表2 COVID-19患者外周血T淋巴细胞亚群水平比较

项目	A (n=239)	B (n=21)	C (n=21)	A vs B		A vs C		B vs C	
				Z	P	Z	P	Z	P
T淋巴细胞计数 (个/μl)	1062 (886, 1299)	587 (468, 708)	424 (236, 604)	-6.311	0.000	-6.840	0.000	-2.152	0.031
CD4 ⁺ T淋巴计数 (个/μl)	619 (460, 728)	334 (233, 416)	243 (165, 314)	-5.973	0.000	-6.479	0.000	-1.975	0.048
CD8 ⁺ T淋巴计数 (个/μL)	378 (299, 516)	204 (152, 274)	139 (56, 248)	-5.784	0.000	-6.059	0.000	-1.849	0.064

注: A表示普通组, B表示重型组, C表示危重组。正常参考范围: T淋巴细胞计数 955~2 860个/μl, CD4⁺T淋巴计数 550~1 440个/μl, CD8⁺T淋巴计数 320 ~ 1 250个/μl。

2.2.2 B淋巴细胞计数结果：见表3。为普通组 > 危重组 > 重型组，重型组、危重组与普通组比较，差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。NK 细胞计数结

果为普通组 > 重型组 > 危重组，危重组与重型组、普通组比较，差异具有统计学意义 ($P < 0.01$)。

表3 COVID-19患者外周血B淋巴细胞和NK细胞水平比较

项目	A (n=86)	B (n=12)	C (n=21)	A vs B		A vs C		B vs C	
				Z	P	Z	P	Z	P
B淋巴细胞计数(个/ μl)	177 (114, 219)	67 (41, 141)	73 (50, 96)	-3.376	0.001	-4.339	0.000	0.000	1.000
NK细胞计数(个/ μl)	212 (135, 305)	170 (120, 233)	52 (32, 73)	-1.337	0.181	-5.847	0.000	-3.986	0.000

注：A表示普通组，B表示重型组，C表示危重组。正常参考范围：B淋巴细胞计数90~560个/ μl ，NK细胞计数150~1100个/ μl 。

3 讨论

新型冠状病毒肺炎 (COVID-19) 是尚未完全被认识的新发传染病，其传染性强，人群普遍易感。目前，核酸检测是确诊 COVID-19 的主要手段，实验室检查和影像学分析是疾病进展和疗效评估的辅助参考。淋巴细胞是机体免疫应答功能的重要细胞成分，按其发生迁移、表面分子和功能的不同，可分为T淋巴细胞、B淋巴细胞和自然杀伤(NK)细胞。淋巴细胞亚群是细胞免疫和体液免疫功能的重要指标，它能总体反映机体的免疫功能、状态和平衡水平，与多种疾病的发生发展存在密切的联系。

大部分重症急性呼吸综合征 (SARS) 患者的淋巴细胞会减少，新型冠状病毒 (2019-nCoV) 与蝙蝠 SARS 同源性达 85% 以上，也有研究推测 2019-nCoV 可能通过破坏免疫系统导致淋巴细胞减少^[5]。有研究者提出，淋巴细胞减少在并发 MODS 的患者持续存在；48 h 时循环淋巴细胞低于 $0.5 \times 10^9 / \text{L}$ 患者病死率高达 45%，提示淋巴细胞数量可预测病情严重程度和预后^[6]。表1结果显示，COVID-19 患者的外周血淋巴细胞计数水平均出现不同程度的降低，危重组淋巴细胞计数结果明显低于重症组与普通组 ($P < 0.01$)。结合本次研究结果与患者的临床表现，对比相关研究结论，可以推断淋巴细胞计数在预测 COVID-19 患者病情进展方面具有一定的应用价值。有文献报道 COVID-19 早期白细胞计数减少或正常，随着病情进展中性粒细胞数量增多，淋巴细胞进行性减少，在并发细菌感染时 WBC 增高更明显^[7]。本研究白细胞计数在危重组中升高明显 ($P < 0.01$)，重型组和普通组变化和差异并不明显 ($P > 0.05$)，原因可能是由于危重组患者并发细菌感染或病情加重所致 (病历显示危重症患者中有 4 例并发细菌感染，7 例伴有器官功能衰竭)。

随着流式细胞术的发展，淋巴细胞亚群分析已广泛应用于临床，在免疫功能评估方面起到不可或缺的作用。T 淋巴细胞有不同功能的亚群， CD4^+ T 细胞可协助体液和细胞的免疫功能，发挥对

抗细胞内病原体感染作用， CD8^+ T 细胞作为抑制细胞能够抑制 B 细胞产生的抗体。在受到病毒感染时，受到机体变应原的刺激可导致 CD3^+ T 细胞、 CD4^+ T 细胞水平异常，反映了机体 T 淋巴细胞亚群的紊乱状态，一定程度上间接反映了机体细胞免疫功能的情况^[8]。有文献报道，淋巴细胞减少症与高致病性引起的冠状病毒相关^[9]。还有报道提出，在 COVID-19 患者中，T 淋巴细胞计数显著减少，存活者 T 淋巴细胞似乎功能衰竭^[10]。由表2结果可见，COVID-19 患者的 T 淋巴细胞、 CD4^+ T 淋巴细胞与 CD8^+ T 淋巴细胞的绝对值计数处于较低水平，以危重组的下降幅度最大。由此可见，T 淋巴细胞及其亚群计数水平降低的程度随病情的加重而增加，该结果与国内外类似研究相符，提示 T 淋巴细胞及其亚群的计数水平高低与 COVID-19 患者病情轻重存在相关性，外周血 T 淋巴细胞及其亚群计数水平可作为 COVID-19 患者病情评估的一个指标。

B 淋巴细胞是参与获得性体液免疫应答的主要细胞，在抗原刺激和 Th 细胞辅助下，B 淋巴细胞分化为浆细胞，产生抗体，行使体液免疫功能。表3结果可见，普通组 B 淋巴细胞绝对计数基本处于健康人群的参考范围内，而重型组与危重组的 B 淋巴细胞水平远低于普通组 ($P < 0.01$)。由此推断在 COVID-19 患者中，B 淋巴细胞也可能存在损伤或者是被消耗。然而，B 细胞主要通过产生免疫球蛋白 IgG, IgM 和 IgA 等参与体液免疫，COVID-19 患者中 B 淋巴细胞的计数与体液免疫功能的关系、特异性免疫球蛋白产生的时间和效价、对疾病的诊疗和预后判断有待进一步研究。

自然杀伤细胞 (NK) 是不同于 T、B 淋巴细胞的大颗粒淋巴细胞，可以释放多种细胞因子，对机体免疫功能进行调节，增强机体早期抗感染免疫能力。有研究指出，外周血自然杀伤细胞数量可用于预测全身性感染患者预后的情况^[11]。本研究中，外周血 NK 细胞计数水平在 COVID-19 患者中也出现不同程度的降低，危重组降低最为显著。因此 NK 细胞水平可考虑作为 COVID-19 患者 (下转 105 页)