

老年新型冠状病毒感染患者外周血淋巴细胞亚群和多种细胞因子水平分析及其临床价值研究

李彬钰^{1a}, 马锡慧^{1a}, 李蕊^{1a}, 米运强², 韩永^{1a}, 孔祥瑞^{1a}, 张彦辉^{1b} (1. 解放军总医院第八医学中心
a. 呼吸与危重症医学部研究所; b. 康复医学科, 北京 100091; 2. 联勤保障部队第984医院检验科, 北京 100094)

摘要: **目的** 探讨淋巴细胞亚群联合多种细胞因子在老年新型冠状病毒感染肺炎 (coronavirus disease 2019, COVID-19) 感染患者疾病进展中的应用价值。 **方法** 选取2022年12月~2023年1月解放军总医院第八医学中心应急病房收治的146例老年COVID-19确诊患者, 根据预后分成两组: 生存组 ($n=127$) 和死亡组 ($n=19$), 另收集老年医学科51例骨质疏松患者作为对照组。比较对照组与新冠组、生存组与死亡组患者的包括T, B和NK等重要淋巴细胞亚群的比例和绝对计数, 以及血浆12项细胞因子 (包括IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, TNF- α , IFN- α 和 IFN- γ) 水平。应用受试者工作特征 (receiver operating characteristic, ROC) 曲线评价其在预测老年COVID-19感染患者预后的价值。 **结果** 与对照组比较: ①新冠组的NK细胞比例降低, B细胞比例升高, 差异有统计学意义 ($Z=-3.386, -4.140, P<0.01$); T, CD8⁺T, CD4⁺T细胞比例差异均无统计学意义 ($Z=-1.244, -1.770, -0.951, 均 P>0.05$)。②新冠组的T, CD8⁺T, CD4⁺T, NK和B细胞绝对数均降低, 差异有统计学意义 ($Z=-9.418\sim-6.539, 均 P<0.01$)。③新冠组的IL-2, IL-6, IL-1 β , IFN- γ , IL-8, IL-17, IL-12p70和IL-10浓度均升高, 差异有统计学意义 ($Z=-8.851\sim-1.986, 均 P<0.05$); IL-5, IFN- α , TNF- α 和IL-4浓度差异均无统计学意义 ($Z=-0.460\sim-0.217, 均 P>0.05$)。与生存组比较: ①死亡组的T, CD8⁺T, CD4⁺T, NK, B细胞比例差异均无统计学意义 ($Z=-1.873\sim-0.422, 均 P>0.05$)。②死亡组的T, CD8⁺T, CD4⁺T细胞绝对数均降低, 差异有统计学意义 ($Z=-2.667, -2.287, -2.556, 均 P<0.05$); NK, B细胞绝对数差异均无统计学意义 ($Z=-1.934, -0.532, 均 P>0.05$)。③死亡组的IL-6, IFN- γ , IL-8, IL-17和IL-10浓度均升高, 差异有统计学意义 ($Z=-4.211\sim-2.655, 均 P<0.05$); IL-5, IFN- α , IL-2, IL-1 β , IL-12p70, TNF- α 和IL-4浓度差异均无统计学意义 ($Z=-1.329\sim-0.279, 均 P>0.05$)。ROC曲线分析淋巴细胞亚群联合细胞因子对老年COVID-19患者的预后预测价值显示: 总T细胞、B细胞和NK细胞数量在预测新冠感染预后的ROC曲线下面积分别为0.94, 0.80和0.93; 其中CD4⁺T细胞CD8⁺T细胞数量在预测COVID-19感染预后的ROC曲线下面积分别为0.93和0.90; 细胞因子中的IL-6, IFN- γ , IL-8, IL-17和IL-10在预测COVID-19感染预后的ROC曲线下面积分别为0.91, 0.71, 0.87, 0.74和0.90; 而联合淋巴细胞亚群和细胞因子在预测新冠感染预后的ROC曲线下面积达到0.99。 **结论** 老年患者在新型冠状病毒感染时免疫呈全面低下状态, 评估免疫状态对疾病诊断、病情观察以及预后等方面具有重要的临床指导意义。

关键词: 老年; 新型冠状病毒肺炎; 淋巴细胞亚群; 细胞因子

中图分类号: R373.1; R446.62 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2024) 02-113-07

doi: 10.3969/j.issn.1671-7414.2024.02.021

Analysis and Clinical Value of Lymphocyte Subsets and Various Cytokines of Peripheral Blood in Elderly Patients with COVID-19

LI Binyu^{1a}, MA Xihui^{1a}, LI Rui^{1a}, MI Yunqiang², HAN Yong^{1a}, KONG Xiangrui^{1a}, ZHANG Yanhui^{1b}

(1a. Institute of Respiratory and Critical Care Medicine; 1b. Rehabilitation Medicine, PLA General Hospital No.8 Medical Center, Beijing 100091, China; 2. Department of Clinical Laboratory, the 984th Hospital of the Joint Logistics Support Force, Beijing 100094, China)

Abstract: Objective To explore the application value of lymphocyte subsets combined with various cytokines in the disease progression of elderly patients with corona virus disease 2019(COVID-19). **Methods** From December 2022 to January 2023, 146 elderly patients with COVID-19 diagnosed in the emergency ward of the Eighth Medical Center of PLA General Hospital were selected and divided into two groups according to the prognosis: 127 cases in the COVID-19 survival group, 19 cases in the COVID-19 death group. In addition, 51 osteoporosis patients in geriatric medicine department were collected as control group.

基金项目: 首都卫生发展科研专项 (项目号: 首发 2022-2-5092): 慢性阻塞性肺疾病患者的免疫功能评估模型的建立。

作者简介: 李彬钰 (1991-) 女, 本科, 技师, 主要研究方向: 临床免疫, E-mail: willyu0616@163.com。

通讯作者: 张彦辉, E-mail: 15210468343@163.com。

The proportion and absolute count of lymphocyte subsets (including T, B and NK cells), and 12 cytokines in plasma (including IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, TNF- α and IFN- γ) were compared between the control group and COVID-19 group, survival group and death group. The receiver operating characteristic (ROC) curve was used to evaluate its prognostic value in elderly patients with COVID-19 infection. **Results** Compared with the control group: ① The proportion of NK cells in COVID-19 group was decreased, while the proportion of B cells was increased, and the differences were statistically significant ($Z=-3.386$, -4.140 , all $P<0.01$). There was no significant difference in the proportion of T, CD8 $^{+}$ T and CD4 $^{+}$ T cells, and the differences were not statistically significant ($Z=-1.244$, -1.770 , -0.951 , all $P>0.05$). ② The absolute numbers of T, CD8 $^{+}$ T, CD4 $^{+}$ T, NK and B cells in COVID-19 group were decreased, and the differences were statistically significant ($Z=-9.418$ ~ -6.539 , all $P<0.01$). ③ The concentrations of IL-2, IL-6, IL-1 β , IFN- γ , IL-8, IL-17, IL-12P70 and IL-10 in COVID-19 group were all increased, and the differences were statistically significant ($Z=-8.851$ ~ -1.986 , all $P<0.05$). There was no significant difference in the concentrations of IL-5, IFN- α , TNF- α and IL-4, and the differences were not statistically significant ($Z=-0.460$ ~ -0.217 , all $P>0.05$). Compared with the survival group: ① There was no significant difference in the proportion of T, CD8 $^{+}$ T, CD4 $^{+}$ T, NK and B cells in the death group ($Z=-1.873$ ~ -0.422 , all $P>0.05$). ② The absolute numbers of T, CD8 $^{+}$ T and CD4 $^{+}$ T cells in the death group were all decreased, and the differences were statistically significant ($Z=-2.667$, -2.287 , -2.556 , all $P<0.05$), while there was no significant difference in absolute numbers of NK and B cells and the differences were not statistically significant ($Z=-1.934$, -0.532 , all $P>0.05$). ③ The concentrations of IL-6, IFN- γ , IL-8, IL-17 and IL-10 in the death group were all increased, and the differences were not statistically significant ($Z=-4.211$ ~ -2.655 , all $P<0.05$), and there was no significant difference in the concentrations of IL-5, IFN- α , IL-2, IL-1 β , IL-12p70, TNF- α and IL-4 the differences were not statistically significant ($Z=-1.329$ ~ -0.279 , all $P>0.05$). ROC curve analysis for the prognostic value of lymphocyte subsets combined with cytokines in elderly patients with COVID-19 showed that: the areas of total T cells, B cells and NK cells under ROC curve for predicting the prognosis of COVID-19 infection were 0.94, 0.80 and 0.93, respectively. The areas of CD4 $^{+}$ T cells and CD8 $^{+}$ T cells under ROC curve for predicting the prognosis of COVID-19 infection were 0.93 and 0.90, respectively. The areas of IL-6, IFN- γ , IL-8, IL-17 and IL-10 in cytokines under the ROC curve for predicting the prognosis of COVID-19 infection were 0.91, 0.71, 0.87, 0.74 and 0.90, respectively. However, the area of combined lymphocyte subsets and cytokines under ROC curve for predicting the prognosis of COVID-19 infection reached 0.99. **Conclusion** The immune status of elderly patients with COVID-19 was generally low. Evaluation of immune status has important clinical guidance significance in disease diagnosis, disease observation and prognosis.

Keywords: elderly; coronavirus disease 2019; lymphocyte subsets; cytokines

在全球范围内持续蔓延的新型冠状病毒肺炎 (corona virus disease 2019, COVID-19) 是急性呼吸道传染病, 由严重急性呼吸综合征冠状病毒 2 (severe acute respiratory syndrome coronavirus 2, SARS-CoV-2) 感染引起的^[1]。患者病情轻重和病程长短各不相同, 导致感染后疾病异质性的主要原因与宿主免疫密切相关^[2]。对 COVID-19 的有效免疫应答需要同时具备固有免疫和适应性免疫。细胞因子风暴 (cytokine storm, CS) 常常由病毒感染导致免疫细胞功能紊乱和过度激活的炎症反应引起, 并导致多器官损伤甚至死亡^[3-4]。尤其老年患者存在免疫衰老和基础病, 感染 SARS-CoV-2 后如无有效控制, 一旦发生 CS, 将导致病情迅速加重, 甚至危及生命。因此, 对老年 COVID-19 患者进行免疫监测十分必要, 可辅助判断患者的免疫状态, 采取针对性的治疗, 是控制疾病进展和改善预后的关键。近年来, 越来越多的研究表明 COVID-19 患者外周血淋巴细胞亚群与患者机体免疫功能相关^[5-6], 但关于老年群体 COVID-19 患者的淋巴细胞亚群联

合多种细胞因子的研究尚未见。本研究旨在检测老年 COVID-19 患者的淋巴细胞亚群以及多种细胞因子的变化, 分析淋巴细胞亚群联合细胞因子在老年新型冠状病毒感染患者中的临床价值。

1 材料与方法

1.1 研究对象 选取 2022 年 12 月~2023 年 1 月解放军总医院第八医学中心应急病房收治的 COVID-19 确诊老年患者作为研究对象。所有患者临床表现、胸部 CT 表现、咽拭子 SARS-CoV-2 核酸检测结果均符合《新型冠状病毒感染的肺炎诊疗方案试行第十版》确诊标准。共纳入 146 例老年 COVID-19 确诊患者, 根据预后分为 COVID-19 生存组 ($n=127$, 男性 90 例, 女性 37 例, 年龄 77.31 ± 7.24 岁) 和死亡组 ($n=19$, 男性 17 例, 女性 2 例, 年龄 81.00 ± 6.07 岁), 两组患者性别差异无统计学意义 ($\chi^2=2.923$, $P>0.05$), 年龄差异有统计学意义 ($t=-2.107$, $P<0.05$)。另选取老年医学科骨质疏松患者 51 例为对照组, 男性 40 例, 女性 11 例, 年龄 74.84 ± 10.08 岁。排除标准: 排除免疫缺陷病、

自身免疫病、肿瘤、血液病及器官移植等免疫性疾病患者。本研究已通过解放军总医院第八医学中心医学伦理委员会批准。

1.2 仪器与试剂 流式细胞仪 (BD FACSCanto Plus); 淋巴细胞亚群检测试剂 (BD Multitest 6-Color TBNK Reagent, 货号 662967); BD Trucount 绝对计数管 (货号 662995), BD 溶血素 (货号 349202), BD FACS 七色校准微球 (货号 335775), 12 项细胞因子检测试剂盒 (多重微球流式免疫荧光发光法, 青岛瑞斯凯尔生物科技有限公司)。

1.3 方法

1.3.1 样本采集: 所有研究对象均空腹抽取 2ml 静脉血 2 管, 于乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 抗凝管中备用。

1.3.2 淋巴细胞亚群检测方法: 根据试剂盒说明书进行。吸取混合抗体 (CD3, CD4, CD8, CD19, CD45, CD16⁺56) 20 μ l 于绝对计数管, 反向加样法加入 50 μ l EDTA 抗凝全血。混匀避光室温孵育 15 min 后, 加 450 μ l 溶血素, 再次混匀避光 15 min 室温孵育。流式细胞仪上机进行检测, 采用 BD FACSCanto 临床软件获取和分析。

1.3.3 细胞因子检测方法: 2h 内新鲜分离血浆样品, 并根据试剂盒说明书进行检测。将实验缓冲液、血浆、捕获微球抗体和检测抗体各 25 μ l 连续加入流

式管中, 室温避光振荡孵育 2h (400~500 r/min)。然后将 25 μ l SA-PE (藻红蛋白标记的链霉亲和素) 加入管中, 继续孵育 30min。接下来加 1ml 稀释的洗涤缓冲液。混匀后 300 \times g 离心 5min。上清液弃去, 加 200 μ l 稀释的洗涤缓冲液重悬。通过流式细胞仪检测荧光强度, 采用 LEGENDplex 软件 (v8.0) 分析血浆细胞因子 (IL-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12p70, IL-17, TNF- α , IFN- α 和 IFN- γ) 浓度。

1.4 统计学分析 本研究数据在 SPSS 26.0 软件行统计学分析。计量资料采用 Shapiro-Wilk 进行正态性检验, 偏态分布数据以中位数 (四分位数) [M (P₂₅, P₇₅)] 表示, 分组间差异性采用 Mann-Whitney U 检验。指标的诊断价值采用 ROC 曲线分析, ROC 曲线下面积 cut-off 值在 0.8 以上, 表示诊断价值较高。 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 不同组间患者外周血淋巴细胞亚群百分比比较 见表 1, 2。与对照组比较, 新冠组的 NK 细胞比例降低, B 细胞比例升高, 差异有统计学意义 ($P < 0.01$); T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞比例差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。与生存组比较, 死亡组的 T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、NK 细胞和 B 细胞比例差异均无统计学意义 ($P > 0.05$)。

表 1 对照组和新冠组淋巴细胞亚群百分比比较 [M (P₂₅~P₇₅) %]

项目	对照组 (n=51)	新冠组 (n=146)	Z	P
T 细胞	65.76 (60.11~72.87)	64.49 (51.62~72.81)	-1.244	0.214
CD8 ⁺ T 细胞	21.85 (17.90~26.65)	20.07 (13.32~28.83)	-1.770	0.077
CD4 ⁺ T 细胞	40.41 (34.74~46.03)	37.32 (30.24~46.85)	-0.951	0.341
NK 细胞	20.93 (12.89~27.82)	14.44 (8.39~21.17)	-3.386	0.001
B 细胞	12.31 (8.65~15.82)	17.43 (10.70~27.49)	-4.140	< 0.001

表 2 生存组和死亡组淋巴细胞亚群百分比比较 [% , M (P₂₅~P₇₅)]

项目	生存组 (n=127)	死亡组 (n=19)	Z	P
T 细胞	65.03 (52.05~73.20)	55.71 (45.11~69.80)	-1.855	0.064
CD8 ⁺ T 细胞	20.26 (13.39~28.78)	15.73 (11.09~29.26)	-0.986	0.324
CD4 ⁺ T 细胞	37.80 (30.44~47.55)	35.19 (28.11~44.03)	-1.219	0.223
NK 细胞	14.45 (8.44~21.27)	14.23 (6.22~20.24)	-0.422	0.673
B 细胞	16.99 (10.59~24.09)	25.56 (13.66~35.57)	-1.873	0.061

2.2 不同组间患者外周血淋巴细胞亚群绝对数比较 见表 3, 4。与对照组比较, 新冠组的 T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞、NK 细胞、B 细胞绝对数均降低, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.001$)。与生存组比较, 死亡组的 T 细胞、CD8⁺T 细胞、CD4⁺T 细胞绝对数均降低, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$), NK 细胞、B 细胞绝对数差异无统计学

意义 (均 $P > 0.05$)。

2.3 老年 COVID-19 病毒感染患者血浆细胞因子的比较 见表 5, 6。与对照组比较, 新冠组的 IL-2, IL-6, IL-1 β , IFN- γ , IL-8, IL-17, IL-12p70, IL-10 浓度均升高, 差异有统计学意义 (均 $P < 0.05$); IL-5, IFN- α , TNF- α , IL-4 浓度差异无统计学意义 (均 $P > 0.05$)。与生存组比较, 死亡

组的 IL-6, IFN- γ , IL-8, IL-17, IL-10 浓度均升高, IL-2, IL-1 β , IL-12p70, TNF- α 和 IL-4 浓度差异
差异有统计学意义 (均 $P<0.05$); IL-5, IFN- α , 无统计学意义 (均 $P>0.05$)。

表 3 对照组和新冠组淋巴细胞亚群绝对数比较 [M (P_{25} ~ P_{75}), 个 / μ l]

项目	对照组 ($n=51$)	新冠组 ($n=146$)	Z	P
T 细胞	1330 (967~1598)	379 (189~590)	-9.418	<0.001
CD8 ⁺ T 细胞	432 (332~554)	111 (52~217)	-8.565	<0.001
CD4 ⁺ T 细胞	776 (577~982)	212 (120~374)	-9.275	<0.001
NK 细胞	382 (240~547)	78 (42~142)	-9.269	<0.001
B 细胞	236 (163~343)	111 (54~165)	-6.539	<0.001

表 4 生存组和死亡组淋巴细胞亚群绝对数比较 [M (P_{25} ~ P_{75}), 个 / μ l]

项目	生存组 ($n=127$)	死亡组 ($n=19$)	Z	P
T 细胞	392 (223~620)	244 (116~398)	-2.667	0.008
CD8 ⁺ T 细胞	121 (54~233)	64 (39~101)	-2.289	0.022
CD4 ⁺ T 细胞	227 (139~393)	147 (76~239)	-2.556	0.011
NK 细胞	88 (42~144)	52 (23~117)	-1.934	0.053
B 细胞	115 (54~164)	89 (32~178)	-0.532	0.595

表 5 对照组和新冠组细胞因子浓度比较 [M (P_{25} ~ P_{75}), pg/ml]

项目	对照组 ($n=51$)	新冠组 ($n=146$)	Z	P
IL-5	3.81 (1.65~8.56)	3.62 (1.71~7.23)	-0.221	0.825
IFN- α	2.23 (0.60~5.03)	2.21 (0.86~4.29)	-0.460	0.646
IL-2	0.87 (0.32~2.53)	2.05 (1.09~3.41)	-3.581	0.001
IL-6	3.56 (1.83~6.73)	122.28 (21.05~534.49)	-8.851	0.001
IL1- β	2.28 (0.06~7.15)	5.32 (0.87~13.92)	-2.331	0.020
IFN- γ	2.93 (1.49~5.71)	6.55 (3.09~14.74)	-4.541	0.001
IL-8	0.99 (0.00~5.34)	16.74 (6.95~37.33)	-7.992	0.001
IL-17	1.65 (1.00~3.22)	3.51 (2.41~6.38)	-5.271	0.001
IL-12p70	1.40 (0.98~1.89)	1.55 (1.03~2.50)	-1.986	0.047
TNF- α	2.93 (1.33~4.47)	2.89 (1.00~6.69)	-0.425	0.671
IL-4	1.26 (0.86~2.03)	1.40 (0.96~1.83)	-0.217	0.828
IL-10	0.80 (0.59~1.21)	2.45 (1.55~4.46)	-8.571	0.001

表 6 生存组和死亡组细胞因子浓度比较 [M (P_{25} ~ P_{75}), pg/ml]

项目	生存组 ($n=127$)	死亡组 ($n=19$)	Z	P
IL-5	3.62 (1.71~7.79)	3.62 (0.76~5.39)	-0.832	0.405
IFN- α	2.21 (0.86~3.99)	1.82 (0.77~7.09)	-0.279	0.708
IL-2	2.10 (1.09~3.39)	1.86 (1.34~4.23)	-0.852	0.561
IL-6	94.57 (20.03~359.63)	601.08 (147.16~1 380.23)	-2.757	0.006
IL1- β	5.25 (0.92~12.64)	6.74 (0.74~25.23)	-0.918	0.358
IFN- γ	5.4 (2.95~13.38)	14.74 (6.90~32.25)	-2.818	0.005
IL-8	13.94 (6.00~31.93)	53.29 (26.97~148.90)	-4.191	0.001
IL-17	3.21 (2.33~6.27)	5.75 (3.21~10.79)	-2.655	0.008
IL-12p70	1.49 (1.03~2.45)	1.91 (1.20~3.18)	-1.329	0.184
TNF- α	2.89 (1.03~6.28)	2.82 (0.85~13.09)	-0.582	0.560
IL-4	1.38 (0.90~1.79)	1.48 (0.96~2.98)	-1.210	0.226
IL-10	2.18 (1.39~4.00)	6.73 (2.90~18.45)	-4.211	0.000

2.4 应用 ROC 曲线分析淋巴细胞亚群联合细胞因子预测老年 COVID-19 患者的预后 见表 7, 图 1。T 细胞、NK 细胞和 B 细胞数量检测的 ROC 曲线下面积 (AUC 值) 分别为 0.94, 0.93 和 0.80, 其中 CD4⁺T 细胞和 CD8⁺T 细胞数量检测的 ROC 曲线下面积分别为 0.93 和 0.90; 细胞因子中的 IL-6,

IFN- γ , IL-8, IL-17 和 IL-10 在 ROC 曲线下面积分别为 0.91, 0.71, 0.87, 0.74, 0.90; 而淋巴细胞亚群联合 IL-6, IFN- γ , IL-8, IL-17 和 IL-10 检测在 ROC 曲线下面积最大, 达到 0.99, 提示其联合检测可以提高预测老年 COVID-19 患者的预后效能。

表 7 淋巴细胞亚群联合细胞因子预测老年 COVID-19 患者预后的效能						
项目	AUC	最佳临界值	敏感度	特异度	95%CI	P
T 细胞数量	0.94	707 个 / μ l	0.822	0.980	0.91-0.97	<0.001
CD8 ⁺ T 细胞数量	0.90	273 个 / μ l	0.815	0.922	0.86-0.94	<0.001
CD4 ⁺ T 细胞数量	0.93	434 个 / μ l	0.829	0.941	0.90-0.96	<0.001
NK 细胞数量	0.93	194 个 / μ l	0.877	0.863	0.90-0.97	<0.001
B 细胞数量	0.80	167 个 / μ l	0.781	0.745	0.73-0.87	<0.001
IL-6	0.91	16.12 pg/ml	0.788	0.961	0.87-0.95	<0.001
IFN- γ	0.71	7.64pg/ml	0.479	0.882	0.63-0.78	<0.001
IL-8	0.87	2.48 pg/ml	0.945	0.667	0.81-0.93	<0.001
IL-17	0.74	2.21 pg/ml	0.801	0.647	0.66-0.83	<0.001
IL-10	0.90	1.47pg/ml	0.767	0.882	0.86-0.94	<0.001
联合指标	0.99	-	-	-	-	-

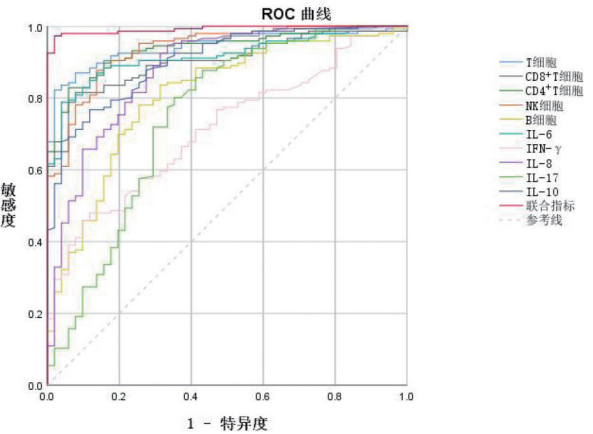


图 1 淋巴细胞亚群联合细胞因子判断预后的 ROC 曲线图

3 讨论

淋巴细胞作为免疫系统中的重要部分, 其功能对于维持免疫系统的平衡和保护机体健康至关重要。淋巴细胞主要包括 T 细胞、B 细胞、NK 细胞等亚群, 在免疫应答中执行着不同的功能。CD4⁺T 细胞具有分化成一系列辅助细胞和效应细胞类型的能力, 具有指导 B 细胞、帮助 CD8⁺T 细胞、募集先天性细胞的能力, 具有直接的抗病毒活性, 并促进组织修复^[7]。CD8⁺T 细胞对清除许多病毒感染至关重要, 具有杀死感染细胞的能力。在 SARS-CoV-2 感染中, 病毒特异性 CD8⁺T 细胞的存在与更好的 COVID-19 结局相关^[8]。本研究中老年 COVID-19 患者的 T, CD8⁺T, CD4⁺T 细胞数量与

感染新冠病毒相关, 呈明显下降趋势。提示老年 COVID-19 感染患者的免疫功能低下, 其细胞免疫功能受到抑制。COVID-19 死亡患者的 T、CD8⁺T 和 CD4⁺T 细胞数量低于生存组, 表明此时患者免疫功能更低下、细胞免疫功能抑制更严重, 并与老年 COVID-19 患者的预后相关。SARS-CoV-2 是通过 2 型肺泡上皮细胞和肺毛细血管屏障进入血液, 激活 Th1 型免疫反应, 从而诱导 CD4⁺T 细胞分化, 形成免疫炎症级联反应, 释放大量炎症因子^[9]。初期, 促炎细胞因子如 IL-6 可正反馈激活适应性免疫应答来调节 T 淋巴细胞亚群的增殖和凋亡^[10]; 后期, 由于炎症反应过度激活, 促炎-抗炎反应失衡, 大量细胞因子发挥负反馈作用, 抑制了 T 淋巴细胞亚群的增殖和活化^[11]。也有研究报道外周血中的大量淋巴细胞可能被促炎细胞因子和趋化因子募集到肺组织中, 并分化成具有促炎效应的细胞, 介导免疫应答参与了 COVID-19 患者的肺损伤^[12]。本研究中 COVID-19 死亡组患者的 T 淋巴细胞数量较生存组低, 可能是随着疾病的进展, T 淋巴细胞在消耗的同时又被负反馈的抑制, 部分被募集到肺组织中, 所以外周血检测到的数量会下降。而 T 淋巴细胞亚群数量的减少和功能的下降又加重免疫介导的间质性肺病, 延迟病毒清除, 从而导致病情的重症化发展^[13]。已有研究报道, T 淋巴细胞数量显著减少和功能失调, 会造成机体难以在短时间内有效启动适应性免疫, 这种免疫失调使得机体抗病毒

效应减低,其致病性增强,新冠肺炎迅速恶化^[14-15]。本研究结果显示新冠患者 T, CD8⁺T, CD4⁺T 细胞的百分比差异无统计学意义。分析其原因,由于百分比反映的是各细胞亚群变化的趋势,新冠患者 T, CD8⁺T, CD4⁺T 细胞数量同时减少,因此占总淋巴细胞的比例是没有变化的。本研究与唐新宁等^[16]观察结果一致。

B 细胞是适应性免疫反应的一部分,通过产生针对病毒的抗体,发挥清除病毒的作用。NK 细胞具有细胞毒效应,无需预先致敏就能非特异性杀伤病毒感染的细胞,在病毒感染早期免疫反应中起重要作用^[17],可以评估机体免疫监视和免疫防御功能。本研究显示,老年 COVID-19 患者的 B 细胞和 NK 细胞数量均为下降趋势。与严敏等^[18]的研究一致。但是与对照组比较,NK 细胞比例降低,B 细胞比例反而升高,其实这两种细胞亚群在新冠组都是降低的,只是 NK 细胞降低相较于 B 细胞更明显,所以在百分比上 NK 细胞呈现降低,而 B 细胞比例相对就升高了。因此准确评估免疫功能需要百分比与绝对数相结合。老年 COVID-19 患者不仅细胞免疫受损,体液免疫功能也低下,天然免疫监视和抗病毒能力减弱,可能容易感染新冠病毒,不能快速有效清除病毒,而且总 T, CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞可能与老年 COVID-19 患者预后更为相关。

细胞因子是免疫细胞之间传递信息的“Wi-Fi 信号”。机体感染 SARS-CoV-2 后,免疫细胞会活化并分泌细胞因子,如无及时有效控制炎症反应,机体损伤时所引发的多种细胞因子会导致免疫细胞过度活化,而活化的免疫细胞又释放大量的促炎细胞因子和趋化因子^[19]。既往研究表明,COVID-19 患者体内升高的 IL-2, IL-6, IL-7, IL-10, IFN- γ 和 TNF- α 等与 COVID-19 的严重程度有关^[20-21]。本研究结果显示老年新冠组患者的 IL-1 β , IL-2, IFN- γ , IL-12p70, IL-17 和 IL-10 浓度均升高,其中 IL-6, IL-8 浓度显著升高。提示老年 COVID-19 患者感染期间的八种细胞因子浓度的升高反映了患者发生了较严重的免疫反应失调。IL-6 作为关键的促炎因子,主要由巨噬细胞和单核细胞分泌,随着肺炎严重程度加重,IL-6 逐渐升高^[22]。IFN- γ 是 II 型干扰素,主要由活化的 Th1 细胞、CD8⁺T 细胞和 NK 细胞产生,通过干扰病毒复制、增强细胞杀伤力来发挥抗病毒、抗肿瘤和免疫调节作用^[23]。有研究报道,IFN- γ 过表达会招募炎症细胞且放大炎症反应,大量中性粒细胞及淋巴细胞聚集诱导局部炎症发展,导致肺损伤加剧,严重可诱发呼吸衰竭^[24]。本研究中老年 COVID-19 死亡组患者与生存组比较,只有 IL-6, IL-8, IFN- γ , IL-17 和

IL-10 浓度升高,说明其与老年 COVID-19 患者的不良结局相关。

老年患者淋巴细胞亚群绝对值显著降低以及高水平细胞因子的出现是新冠感染的重要免疫学特征,动态监测老年 COVID-19 患者淋巴细胞亚群及细胞因子的变化,针对患者的免疫功能、炎症以及感染状况进行精准定位,可以进一步提高 COVID-19 感染的诊断准确性和疾病管理的精准性。

参考文献:

- [1] VELAVAN T P, MEYER C G. The COVID-19 epidemic[J]. Tropical Medicine International Health, 2020, 25(3): 278-280.
- [2] MERAD M, MARTIN J C. Pathological inflammation in patients with COVID-19: a key role for monocytes and macrophages[J]. Nature Reviews Immunology, 2020, 20(6): 355-362.
- [3] 陈鸣,钱雅君,李静,等.新型冠状病毒肺炎患者重症转化不同阶段的实验室检查特征分析[J]. 医学研究生学报, 2021, 34(1): 53-57.
CHEN Ming, QIAN Yajun, LI Jing, et al. Laboratory characteristics of patients with severely transformed coronavirus pneumonia in different stages[J]. Journal of Medical Postgraduates, 2021, 34(1): 53-57.
- [4] CHAKRABORTY C, SHARMA A R, SHARMA G, et al. SARS-CoV-2 causing pneumonia-associated respiratory disorder (COVID-19): diagnostic and proposed therapeutic options[J]. European Review for Medical and Pharmacological Sciences, 2020, 24(7): 4016-4026.
- [5] 刘艳霞,区静怡,黄颖,等.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[J]. 现代检验医学杂志, 2020, 35(4): 94-96, 105.
LIU Yanxia, OU Jingyi, HUANG Ying, et al. Clinical significance of detection of peripheral blood lymphocyte and its subgroups in patients with coronavirus disease 2019[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2020, 35(4): 94-96, 105.
- [6] 孟凡萍,郝坡.新型冠状病毒肺炎患者外周血淋巴细胞亚群的分析研究[J]. 现代检验医学杂志, 2021, 36(2): 114-117.
MENG Fanping, HAO Po. Analysis of peripheral blood lymphocyte subsets in patients with novel coronavirus pneumonia[J]. Journal of Modern Laboratory Medicine, 2021, 36(2): 114-117.
- [7] SETTE A, CROTTY S. Adaptive immunity to SARS-CoV-2 and COVID-19[J]. Cell, 2021, 184(4): 861-880.
- [8] RYDYZNSKI MODERBACHER C, RAMIREZ S I, DAN J M, et al. Antigen-specific adaptive immunity to SARS-CoV-2 in acute COVID-19 and associations with age and disease severity[J]. Cell, 2020, 183(4): 996-1012, e19.
- [9] 陈思锋. 2019 新型冠状病毒导致的致命肺渗漏的病理生理学机制和防治策略: 兼论血透的应用与依据[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(3): 562-567.

(下转第 162 页)

- 相关性的研究进展[J]. 中华预防医学杂志, 2023, 57(9): 1497-1503.
- WANG Meng, YAN Yan, WANG Baoxi. Research progress of vitamin D in inflammatory skin disease[J]. Chinese Journal of Preventive Medicine, 2023, 57(9): 1497-1503.
- [24] 李雯雯, 李晓南, 贾飞勇, 等. 基于多中心研究建立儿童微量血维生素 D 质谱法检测的临床应用标准[J]. 中华儿科杂志, 2022, 60(12): 1282-1287.
- LI Luanluan, LI Xiaonan, JIA Feiyong, et al. Standardization of clinical application of mass spectrometry method for measurement of vitamin D in capillary blood of children: a multi center study[J]. Chinese Journal of Pediatrics, 2022, 60(12): 1282-1287.
- 收稿日期: 2023-10-10
修回日期: 2023-11-14
-
- (上接第 118 页)
- CHEN Sifeng. Pathophysiology-based mechanism and management strategies for deadly leaking lungs caused by 2019 novel coronavirus: application and rationale of blood dialysis[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2020, 36(3): 562-567.
- [10] 陈成, 张小容, 鞠振宇, 等. 新型冠状病毒肺炎引发细胞因子风暴的机制及相关免疫治疗研究进展[J]. 中华烧伤杂志, 2020, 36(6): 471-475.
- CHEN Cheng, ZHANG Xiaorong, JU Zhenyu, et al. Advances in the research of mechanism and related immunotherapy on the cytokine storm induced by coronavirus disease 2019[J]. Chinese Journal of Burns, 2020, 36(6): 471-475.
- [11] DIAO Bo, WANG Chenhui, TAN Yingjun, et al. Reduction and functional exhaustion of T cells in patients with coronavirus disease 2019 (COVID-19)[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 827.
- [12] PELAIA C, TINELLO C, VATRELLA A, et al. Lung under attack by COVID-19-induced cytokine storm: pathogenic mechanisms and therapeutic implications[J]. Therapeutic Advances in Respiratory Disease, 2020, 14: 1753466620933508.
- [13] CHEN Guang, WU Di, GUO Wei, et al. Clinical and immunological features of severe and moderate coronavirus disease 2019[J]. Journal of Clinical Investigation, 2020, 130(5): 2620-2629.
- [14] LI Mingyue, GUO Weina, DONG Yalan, et al. Elevated exhaustion levels of NK and CD8⁺ T cells as indicators for progression and prognosis of COVID-19 disease[J]. Frontiers in Immunology, 2020, 11: 580237.
- [15] SARIS A, REIJNDERS T D Y, NOSSENT E J, et al. Distinct cellular immune profiles in the airways and blood of critically ill patients with COVID-19[J]. Thorax, 2021, 76(10): 1010-1019.
- [16] 唐新宁, 董国伟, 钟英成, 等. 淋巴细胞亚群及炎症因子对新型冠状病毒肺炎患者的临床价值研究[J]. 标记免疫分析与临床, 2023, 30(1): 25-29.
- TANG Xinning, DONG Guowei, ZHONG Yingcheng, et al. Clinical values of lymphocyte subsets and inflammatory factors in patients with novel coronavirus pneumonia[J]. Labeled Immunoassays and Clinical Medicine, 2023, 30(1): 25-29.
- [17] 严敏, 王俊, 方福平, 等. 2019 新型冠状病毒肺炎患者淋巴细胞亚群变化分析[J]. 首都食品与医药, 2021, 28(1): 102-103.
- YAN Min, WANG Jun, FANG Fuping, et al. Analysis of the changes of lymphocyte subsets in COVID-19 patients[J]. Capital Food Medicine, 2021, 28(1): 102-103.
- [18] 袁帅帅, 李玲玲, 韩永生, 等. 新型冠状病毒肺炎患者白细胞介素-6 T 淋巴细胞亚群及 NK 细胞变化分析[J]. 中国急救医学, 2020, 40(12): 1186-1189.
- YUAN Shuaishuai, LI Lingling, HAN Yongsheng, et al. The changes of IL-6 T lymphocyte subsets and NK cells in the patients with coronavirus disease 2019[J]. Chinese Journal of Critical Care Medicine, 2020, 40(12): 1186-1189.
- [19] 高钰琪. 基于新冠肺炎病理生理机制的治疗策略[J]. 中国病理生理杂志, 2020, 36(3): 568-572, 576.
- GAO Yuqi. Therapeutic strategies for COVID-19 based on its pathophysiological mechanisms[J]. Chinese Journal of Pathophysiology, 2020, 36(3): 568-572, 576.
- [20] MEHTA P, MCAULEY D F, BROWN M, et al. COVID-19: consider cytokine storm syndromes and immunosuppression[J]. Lancet, 2020, 395(10229): 1033-1034.
- [21] CHEN Nanshan, ZHOU Min, DONG Xuan, et al. Epidemiological and clinical characteristics of 99 cases of 2019 novel coronavirus pneumonia in Wuhan, China: a descriptive study[J]. Lancet, 2020, 395(10223): 507-513.
- [22] ZHANG Jing, HAO Yiqun, OU Wuling, et al. Serum interleukin-6 is an indicator for severity in 901 patients with SARS-CoV-2 infection: a cohort study[J]. Journal of Translational Medicine, 2020, 18(1): 406.
- [23] 王玉亮, 王峰, 耿洁. 细胞因子与细胞因子风暴[J]. 天津医药, 2020, 48(6): 494-499.
- WANG Yuliang, WANG Feng, GENG Jie. Cytokine and cytokine storm[J]. Tianjin Medical Journal, 2020, 48(6): 494-499.
- [24] 张晖, 徐从景. 血清 TNF- α , IFN- γ , IL-6 与老年 AECOPD 患者继发呼吸衰竭间的关系分析[J]. 临床肺科杂志, 2022, 27(9): 1352-1356.
- ZHANG Hui, XU Congjing. Relationship between serum TNF- α , IFN- γ , IL-6 and secondary respiratory failure in elderly patients with AECOPD[J]. Journal of Clinical Pulmonary Medicine, 2022, 27(9): 1352-1356.
- 收稿日期: 2023-10-20
修回日期: 2023-11-29