

甲型流感患者外周血细胞因子及血液生化水平变化

王炜翔¹, 吴小清¹, 苏晶晶¹, 李伟², 颜文娟^{3*}

¹南京市疾病预防控制中心, 江苏 南京 210003; ²东南大学公共卫生学院, 江苏 南京 210003; ³东部战区总医院普通外科研究所, 江苏 南京 210002

[摘要] 目的: 分析甲型流感的细胞因子及血液生化指标的改变及临床意义。方法: 选择甲型流感患者、流感症状者及健康者的血清标本, 利用酶联免疫吸附法检测各组细胞因子白细胞介素(IL)-6、IL-10、IL-18、IL-1 β 、人 γ 干扰素(IFN- γ)、人肿瘤坏死因子 α (TNF- α)水平, 采集各组血液生化指标结果, 分析比较各组差异。结果: 甲型流感病例组血清TNF- α 、IL-6、IFN- γ 及IL-18水平, 流感症状组血清TNF- α 、IL-6及IFN- γ 水平, 均显著高于健康对照组。甲型流感患者血红蛋白(HBG)、红细胞压积(HCT)、血小板(PLT)、淋巴细胞(LYM)及嗜碱性粒细胞(Baso)水平均显著低于对照组水平, C反应蛋白(CRP)水平高于对照组; 流感症状组的HBG、LYM水平显著低于对照组水平, CRP水平高于对照组。甲型流感病例组总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)水平低于对照组, 谷氨酰转氨酶(GGT)水平显著升高。结论: 甲型流感病例血清细胞因子TNF- α 、IL-6、IFN- γ 及IL-18水平上升; 血常规指标HBG、HCT及PLT水平稍有降低, 有轻度贫血表现, CRP水平显著升高; 生化指标TP、ALB水平下降, GGT水平升高, 病毒感染可能造成肝损伤。

[关键词] 甲型流感; 细胞因子; 生化

[中图分类号] R511.7

[文献标志码] B

[文章编号] 1007-4368(2018)12-1826-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20181244

流感入侵机体后, 首先进入呼吸道上皮细胞, 细胞的凋亡及坏死启动机体的免疫应答, 产生趋化因子、调节激活T细胞的表达和分泌相应细胞因子, 介导巨噬细胞和中性粒细胞浸润^[1]。一项对H7N9流感患者血清细胞因子表达的研究结果显示, 患者的疾病早期, 体内白细胞介素(IL)-2、IL-8、IL-5、IL-6、IL-10、IL-7、IL-4、TNF- α 等细胞因子血清浓度均有所上升^[2], 并且随着病程的进展, 患者体内的IL-6与IL-10表达水平显著提升。故推测细胞因子在宿主感染流感病毒的免疫调节过程中发挥重要作用, 并且在免疫过程中介导免疫损伤。本研究采用病例对照研究设计, 旨在探讨甲型流感患者的各项细胞因子表达和血液生化水平, 并与流感症状者以及健康对照人群各指标进行比较, 为进一步探索甲型流感的感染及致病机制提供科学依据。

1 对象和方法

1.1 对象

甲型流感组: 收集2016年9月—2017年3月间

[基金项目] 江苏省重点研发计划(社会发展)项目(BE2015679); 江苏省“六大人才高峰”第十一批高层次人才选拔培养资助(2014-WSN-40)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: 308102869@qq.com

江宁医院呼吸科有流感症状的住院患者17例, 纳入标准为发热(体温 ≥ 38 $^{\circ}\text{C}$), 伴咳嗽或咽痛之一者, 咽拭子通过实验室RT-PCR方法确定为甲型流感病毒感染。

流感症状组: 收集2016年9月—2017年3月间江宁医院呼吸科有流感症状的住院患者27例, 纳入标准为发热(体温 ≥ 38 $^{\circ}\text{C}$), 伴咳嗽或咽痛之一者, 咽拭子通过实验室RT-PCR方法确定为非流感病毒感染。

健康对照组: 收集东南大学医院2016年10月间体检的健康者26例; 无发热、咽痛、咳嗽、流涕等呼吸道症状以及无腹痛、呕吐、腹泻等消化道症状。

1.2 方法

IL-6、IL-10、IL-18、IL-1 β 酶联免疫分析试剂盒、人 γ 干扰素(IFN- γ)酶联免疫分析试剂盒、人肿瘤坏死因子 α (TNF- α)酶联免疫分析试剂盒(南京森贝伽生物)进行检测。

以标准物的浓度为横坐标, 光密度(OD)值为纵坐标, 绘制相应标准曲线, 根据样本OD值标准曲线查出相应浓度, 再乘以稀释倍数, 或用标准物的浓度与OD值计算标准曲线的直线回归方程, 将样品的OD值带入方程式, 计算出样品浓度, 再乘以稀释的倍数, 即为样品的实际浓度。其标准品的各浓度及各样本均做重复孔, OD值取其均值。

收集各组血液生化检测结果,血液分析仪型号为 BECKMAN DxH800,生化自动分析仪型号为 BECKMAN COULTER AU680。

1.3 统计学方法

采用SPSS16.0软件进行统计分析,两组间比较采用*t*检验,多组间的比较采用方差分析。 $P \leq 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 ELISA 检测各组细胞因子水平

甲型流感组与流感症状组的TNF- α 、IL-6、IFN- γ 水平均高于健康对照组($P < 0.05$)。甲型流感组的IL-18水平显著高于对照组,流感症状组与对照组差异无统计学意义;细胞因子IL-1 β 及IL-10在各组之间差异均无统计学差异(表1)。

表1 各组血清细胞因子浓度 (ng/L, $\bar{x} \pm s$)

指标	甲型流感组	流感症状组	健康对照组
TNF- α	38.59 \pm 23.93 [#]	32.64 \pm 22.03 [#]	19.48 \pm 13.04
IL-1 β	12.90 \pm 12.70	12.83 \pm 10.19	12.10 \pm 9.34
IL-18	74.70 \pm 43.80 [#]	54.98 \pm 47.62	49.32 \pm 33.57
IL-6	7.75 \pm 4.37 [#]	7.07 \pm 2.96 [#]	5.49 \pm 2.38
IL-10	23.63 \pm 23.14	22.17 \pm 19.89	18.68 \pm 16.97
IFN- γ	22.27 \pm 14.78 [#]	24.61 \pm 20.30 [#]	14.79 \pm 7.11

与健康对照组比较,[#] $P < 0.05$ 。

2.2 甲型流感病例血常规和C反应蛋白(CRP)改变

甲型流感组与流感症状组相较与健康对照组,其血红蛋白(HBG)有所下降($P < 0.05$),甲型流感组的红细胞压积(HCT)有所降低($P < 0.05$),流感症状组无显著变化($P > 0.05$);两组的淋巴细胞(LYM)水平均有所下降($P < 0.05$),甲型流感组嗜碱性粒细胞(Baso)水平与对照相比显著下降($P < 0.05$),而CRP水平两组均有所上升($P < 0.05$),流感症状组上升的更显著(表2)。

2.3 甲型流感病例生化指标改变

甲型流感病毒感染者与流感症状患者血液生化变化显示,甲型流感组与流感症状组与对照相比总蛋白(TP)、白蛋白(ALB)和甘油三酯(TG)、总胆固醇(CHO)水平均显著下降($P < 0.05$),谷氨酰转肽酶(GGT)水平显著上升($P < 0.05$),流感症状组肌酐(CR)水平高于正常对照(表3)。

3 讨论

流感病毒入侵机体之后,可导致支气管和细支气管上皮的广泛变性、坏死及高热和乏力等局部和

表2 各组血常规指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	甲型流感组	流感症状组	健康对照组
RBC($\times 10^{12}/L$)	4.47 \pm 0.51	4.49 \pm 0.74	4.65 \pm 0.42
HBG(g/L)	127.84 \pm 20.10 [#]	132.20 \pm 17.74 [#]	138.10 \pm 13.50
HCT(%)	39.54 \pm 4.75 [#]	40.16 \pm 5.36	41.42 \pm 3.10
PLT($\times 10^9/L$)	185.94 \pm 47.22 [#]	201.9 \pm 67.70	207.67 \pm 38.33
WBC($\times 10^9/L$)	7.71 \pm 2.89	7.61 \pm 4.18	7.31 \pm 1.44
NEU($\times 10^9/L$)	5.04 \pm 2.83	5.24 \pm 4.03	4.50 \pm 1.08
LYM($\times 10^9/L$)	1.60 \pm 0.70 [#]	1.74 \pm 0.72 [#]	2.23 \pm 0.55
Eos($\times 10^9/L$)	0.09 \pm 0.12	0.14 \pm 0.16	0.16 \pm 0.18
Baso($\times 10^9/L$)	0.01 \pm 0.01 [#]	0.01 \pm 0.01	0.03 \pm 0.02
CRP(mg/L)	28.86 \pm 24.27 [#]	43.18 \pm 51.23 [#]	3.99 \pm 3.45

与健康对照相比较,[#] $P < 0.05$ 。

表3 各组生化指标比较 ($\bar{x} \pm s$)

指标	甲型流感组	流感症状组	对照组
TBIL($\mu\text{mol/L}$)	11.04 \pm 7.37	10.96 \pm 6.63 [#]	12.79 \pm 3.34
DBIL($\mu\text{mol/L}$)	3.22 \pm 2.10	3.35 \pm 2.67	3.88 \pm 1.10
TP(g/L)	64.27 \pm 5.23 [#]	64.69 \pm 8.13 [#]	74.36 \pm 3.32
ALB(g/L)	37.56 \pm 4.99 [#]	38.45 \pm 5.89 [#]	44.56 \pm 2.57
GGT(U/L)	38.67 \pm 10.88 [#]	53.30 \pm 13.93 [#]	20.21 \pm 9.12
ALP(U/L)	76.83 \pm 30.96	79.61 \pm 29.37	72.44 \pm 16.71
LDH(U/L)	187.56 \pm 160.38	186.01 \pm 61.17	174.74 \pm 36.13
UREA(mmol/L)	4.42 \pm 1.45	4.43 \pm 2.12	4.58 \pm 1.09
CR($\mu\text{mol/L}$)	67.21 \pm 13.70	71.37 \pm 24.05 [#]	67.21 \pm 13.70
GLU(mmol/L)	7.08 \pm 4.05 [#]	5.89 \pm 1.29	5.06 \pm 0.44
UA($\mu\text{mol/L}$)	612.94 \pm 1676.73	249.85 \pm 86.77	320 \pm 70.84
CHO(mmol/L)	3.79 \pm 1.01 [#]	4.20 \pm 3.78	4.38 \pm 0.66
TG(mmol/L)	1.06 \pm 0.57 [#]	1.24 \pm 0.50 [#]	1.57 \pm 0.65

与健康对照相比较,[#] $P < 0.05$ 。

全身症状,并且流感病毒作为一种RNA,具有较高的突变率,为疫情防控工作增加一定难度^[3-4]。机体感染流感病毒后,其临床严重程度与感染者体内病毒载量呈正相关,而体内细胞因子的分泌水平可直接影响流感的严重程度和临床病程^[5]。

TNF- α 、IL-6在宿主抗病毒感染的过程中发挥重要作用。本研究发现,甲型流感患者及流感样症状患者体内TNF- α 和IL-6水平相较于健康对照者均有明显升高。研究显示TNF- α 和IL-6在宿主肺部感染有重要的提示作用,作为肺部感染患者早期的免疫反应,与相关研究结果一致^[7]。

IFN- γ 通过活化巨噬细胞、诱导病毒感染的细胞高表达MHC-I类分子,增强自然杀伤细胞的活性,若机体不能产生高水平的IFN- γ ,则导致病毒清除存在障碍而延长清除时间,造成病情重,病程长,病死率高等情况^[8]。本研究发现,甲型流感病例和流感症状组的IFN- γ 水平均显著高于健康对照组,甲

型流感和流感症状组之间差异无统计学意义,而王冰等^[9]研究发现甲型H1N1重症患者患者体内IFN- γ 分泌低于其他病毒感染者,提示可能是由于本研究纳入甲型流感组的均为季节性H3N2亚型流感患者,重症患者比例较低,故流感病例组IFN- γ 水平没有明显低于流感症状组。IL-18具有抗肿瘤免疫、抗微生物感染等多种生物学功能。甲型流感组IL-18水平较对照有所升高,而流感症状组没有明显升高,Guo等^[2]发现H7N9病毒感染的肺炎患者血清IL-18及IFN- γ 水平同时升高,说明病毒诱导感染者体内产生IL-18,进而产生IFN- γ ,协同调节免疫功能,与本研究结果一致。

甲型流感组和流感症状组均出现淋巴细胞水平下降,且甲型流感组下降更为显著,与Lee等^[10]研究结果一致。甲流组血小板计数显著下降,可能是由于病毒感染常引起巨核细胞生成破坏和血小板循环周期的缩短,并且病毒感染产生的某些循环分子导致血小板黏附聚集形成循环复合物,进而导致血小板水平的降低。

CRP在急性感染、外伤及炎症反应时,巨噬细胞释放IL从而刺激肝脏合成,感染控制后,血清CRP水平逐渐趋于正常。本研究显示,甲型流感组与流感症状组CRP水平均显著升高,其中流感症状组升高的幅度更大,提示CRP水平可能作为区分流感病毒感染和其他病原菌感染的指标。甲型流感患者与流感样症状患者的TP、ALB水平相较于健康对照组有下降,GGT水平均有所升高。Pacic等^[11]研究发现H1N1流感患者AST、ALT和GGT水平有上升,认为H1N1流感感染可能产生的免疫应答反应对患者肝细胞有损伤。陈智瑾^[12]等同样也发现H7N9患者血清ALT、AST及GGT水平升高,TP水平降低。提示甲型流感病毒感染可能导致肝脏损伤。甲型流感患者组CHO与TG水平与对照组相比略有下降,可能是由于本研究纳入的研究对象年龄大,抵抗力差,基础疾病多,导致病毒感染的病程长,对患者有一定消耗性。

[参考文献]

[1] Zhao G, Liu C, Kou Z, et al. Differences in the pathogenicity and inflammatory responses induced by avian influenza

A/H7N9 virus infection in BALB/c and C57BL/6 mouse models[J]. PLoS One, 2014, 9(3):e92987

- [2] Guo J, Huang F, Liu J, et al. The serum profile of hypercytokinemia factors identified in H7N9 - infected patients can predict fatal outcomes[J]. Sci Rep, 2015, 5:10942
- [3] Cheung CY, Poon LL, Lau AS, et al. Induction of proinflammatory cytokines in human macrophages by influenza A (H5N1) viruses: a mechanism for the unusual severity of human disease[J]. Lancet, 2002, 360(9348):1831-1837
- [4] 资海荣, 郭艳, 邓斐, 等. 江苏省2013年甲型H1N1 (09 pdm) 流感病毒血凝素和神经氨酸酶分析特征分析[J]. 南京医科大学学报(自然科学版), 2015, 35(6): 812-822
- [5] Fiore-Gartland A, Panoskaltis-Mortari A, Aqan AA, et al. Cytokine profile of severe influenza virus-related complications in children[J]. Front Immunol, 2017, 8:1423
- [6] Afuwape OO, Ayandipo OO, Kuti M, et al. Tumor necrosis factor-alpha and interleukin-1 alpha as predictors of survival in peritonitis: a pilot study[J]. Niger J Surg, 2018, 24(2):107-110
- [7] Bermejo-Martin JF, Ortiz de Lejarazu R, et al. Th1 and Th17 hypercytokinemia as early host response signature in severe pandemic influenza[J]. Critical care, 2009, 13(6):R201
- [8] Lin CF, Lin CM, Lee KY, et al. Escape from IFN- γ -dependent immunosurveillance in tumorigenesis[J]. J Biomed Sci, 2017, 24(1):10
- [9] 王冰, 张春青, 王萍, 等. 甲型H1N1流感病毒感染者早期血清中细胞因子分泌水平及其意义分析[J]. 中国卫生检验杂志, 2015, 25(5):2513-2515
- [10] Lee ACY, To KKW, Zhu H, et al. Avian influenza virus A H7N9 infects multiple mononuclear cell types in peripheral blood and induces dysregulated cytokine responses and apoptosis in infected monocytes[J]. J Gen Virol, 2017, 98(5):922-934
- [11] Pacic N, Pangercic A, Vargovic M, et al. Liver involvement during influenza infection: perspective on the 2009 influenza pandemic[J]. Influenza Other Respi Viruses, 2012, 6(3):e2-e5
- [12] 陈智瑾, 李海聪, 方欢英, 等. H7N9禽流感患者生化指标的变化及其临床意义[J]. 检验医学, 2013, 28(9): 749-754

[收稿日期] 2018-06-03