

CD4⁺细胞与CD8⁺细胞比值与新生儿缺氧缺血性脑病的相关性分析

黎巧茹¹ 邹亚伟²▲ 赖文英¹ 林春燕¹ 李丽羽¹

1. 广东省中山市人民医院普通儿科, 广东中山 528400; 2. 广州医科大学附属第一医院儿科, 广东广州 510000

[摘要] 目的 明确 CD4⁺ 细胞与 CD8⁺ 细胞比值与新生儿缺氧缺血性脑病病情的相关性。方法 选取 2015 年 10 月 ~ 2018 年 6 月中山市人民医院新生儿科住院的 60 例 HIE 患儿及同期我院产科出生正常新生儿 73 例。应用流式细胞仪测定血 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值。结果 HIE 患儿 T 细胞亚群的表达均明显低于正常新生儿 (P 均 < 0.05); 重度 HIE 患儿 CD3⁺、CD4⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显均低于中度 HIE 患儿 (P 均 < 0.05), 中度 HIE 患儿 CD3⁺、CD4⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值明显均低于轻度 HIE 患儿 (P 均 < 0.05), 而不同分度 HIE 的 CD8⁺ 细胞则无统计学差异 ($P > 0.05$); CD3⁺、CD4⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 与 HIE 病情分度均呈负相关 (P 均 < 0.05)。结论 CD4⁺/CD8⁺ 比值与 HIE 新生儿的病情危重程度密切相关, 可作为患儿病情严重程度有效预测指标。

[关键词] 新生儿缺氧缺血性脑病; 淋巴细胞; T 淋巴细胞亚群; CD4⁺T 淋巴细胞; CD8⁺T 淋巴细胞

[中图分类号] R722.1 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 2095-0616 (2020)01-14-04

Analysis on correlation between the ratio of CD4⁺ cells to CD8⁺ cells and neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy

LI Qiaoru¹ ZOU Yawei²▲ LAI Wenyi¹ LIN Chunyan¹ LI Liyu¹

1. Department of Pediatrics, Zhongshan People's Hospital, Guangdong, Zhongshan 528400, China; 2. Department of Pediatrics, the First Affiliate Hospital of Guangzhou Medical University, Guangdong, Guangzhou 510000, China

[Abstract] Objective To determine the correlation between the ratio of CD4⁺ cells to CD8⁺ cells and neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy. **Methods** 60 neonates with HIE who were hospitalized in department of neonatology in Zhongshan People's Hospital and 73 normal neonates who were born in department of obstetrics in our hospital from October 2015 to June 2018 were selected. CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ cells and the ratio of CD4⁺/CD8⁺ were measured by flow cytometry. **Results** The expression of T lymphocyte subsets in patient with HIE was significantly lower than that in normal newborns ($P < 0.05$). The levels of CD3⁺ and CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ ratio in patient with severe HIE were significantly lower than those in patient with moderate HIE ($P < 0.05$). The levels of CD3⁺, CD4⁺ cells and CD4⁺/CD8⁺ ratio in patient with moderate HIE was significantly lower than those in patient with mild HIE ($P < 0.05$). But the CD8⁺ cells in different grades of HIE had no statistically significant difference ($P > 0.05$). CD3⁺, CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ were negatively correlated with the severity of HIE ($P < 0.05$). **Conclusion** The ratio of CD4⁺/CD8⁺ is closely related to the severity of neonates with HIE, which can be used as an effective predictor of the severity of neonates.

[Key words] Neonatal hypoxic-ischemic encephalopathy; Lymphocyte; T lymphocyte subsets; CD4⁺T lymphocyte; CD8⁺T lymphocyte

新生儿缺氧缺血性脑病(hypoxic ischemic encephalopathy, HIE)是各种围生期窒息所引起的部分或完全缺氧、脑血流减少或暂停而导致的胎儿或新生儿缺氧缺血性脑损伤(hypoxic ischemic brain damage, HIBD)^[1]。HIE是新生儿窒息后的严重并发症,也是围产期新生儿中枢神经系统损害最常见的原因,其病情重、病死率高,并常导致永久性脑损伤或脑功能障碍,给家庭、社会带来较大负担。寻

[基金项目] 广东省自然科学基金(2016A030313654)。

▲通讯作者

找快速、灵敏、高效的 HIE 诊断、病情严重程度和预后评估的指标,是目前研究的一大热点^[2]。但由于新生儿神经细胞可塑性较强,在治疗时间窗予以积极的治疗,可阻止病情进展并且可一定程度的改善已发生的神经损伤,因此早期对新生儿 HIE 做出诊断和病情严重程度的判断,无疑是提高 HIE 患儿存活率、降低其致残率的关键,大大减少 HIE 患儿后遗症,对预后有着极为重要的意义^[3]。目前国内外新生儿科仍最常应用 Apgar 评分来判断新生儿出生后神经系统的状况,可以初步筛选 HIE 患儿^[4]。后

借助影像学手段对疾病进行进一步确诊和病情的评估^[5]。本研究旨在明确 CD4⁺ 细胞与 CD8⁺ 细胞比值与新生儿缺氧缺血性脑病的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2015 年 10 月 ~ 2018 年 6 月于我院新生儿科行住院治疗的 60 例 HIE 及同期我院产科出生正常新生儿 73 例。其中 HIE 组患儿男 39 例,女 21 例;轻度 19 例,中度 23 例,重度 18 例;胎龄均为 37 ~ 42 周。缺氧新生儿纳入标准:(1)存在明确的围生期缺氧病史;(2)患者具有脑电图、颅脑 B 超或颅脑 CT、MR 检查;(3)缺氧新生儿均于生后 72h 内入院;(4)胎龄 37 ~ 42 周,患者均为足月儿;(5)缺氧患儿不合并血液病、自身免疫性疾病等其他可对血细胞组分造成影响的疾病,且亦无该类疾病家族史;(6)母婴均未使用过影响淋巴细胞测定的药物。另选取同期在我院产科生产后体检正常的新生儿 73 例,作为正常对照。正常对照组男 35 例,女 38 例,胎龄均为 37 ~ 42 周。

1.2 资料采集和观察指标

收集我院新生儿科住院治疗的 60 例 HIE 及同期我院产科出生正常新生儿 73 例的性别、年龄、胎龄、日龄、出生体重、分娩方式(剖宫产、顺产、产钳助产)等基本情况。另外对于 HIE 新生儿其围生期缺氧史,低氧原因(宫内窘迫、产时窒息),生后有无反应差、发绀、抽搐、神经系统症状及体征、脐带、胎盘情况、羊水污染程度等临床表现, Apgar 评分(1、5min),重要辅助检查等临床资料进行收集。

另收集缺氧患儿急性期(出生 24h 时)以及病情稳定后(恢复期,出生 14d) T 淋巴细胞亚群参数(CD3⁺ 淋巴细胞、CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺),同时收集同期正常对照新生儿以上各指标。

1.3 检测方法

T 淋巴细胞亚群(CD3⁺ 淋巴细胞、CD4⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺)的检测:另采集研究对象静脉血 2mL 于 1.15% EDTA-K₂ 抗凝的试管中,用贝克曼库尔特 CytoFLEX 流式细胞仪,于采血后 2h 内完成测试。

1.4 统计学方法

所有数据采用 SPSS21.0 软件进行统计分析。计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,多组数据若符合正态分布,采用方差分析法,两组间比较采用独立样本 *t* 检验分析,计数资料以 [*n* (%)]表示,采用 χ^2 检验, Spearman 相关性分析淋巴细胞相关参数与 HIE 新

生儿病情的严重程度行相关性分析, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 HIE组与正常组间淋巴细胞相关参数比较

HIE 组患儿 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞所占比例明显低于正常对照组患儿,差异有统计学意义(P 均 < 0.05); HIE 组患儿 CD4⁺/CD8⁺ 比例明显低于正常对照组,差异有统计学意义($P < 0.05$);但两组患儿间 CD8⁺ T 淋巴细胞所占比例差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表1 HIE组与正常组间淋巴细胞相关参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
HIE组	57.54 ± 9.34	37.22 ± 8.24	20.32 ± 6.77	1.83 ± 0.26
正常组	66.91 ± 9.03	45.88 ± 10.01	21.03 ± 6.84	2.18 ± 0.20
<i>t</i>	2.352	2.482	0.866	2.047
<i>P</i>	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

2.2 HIE亚组间淋巴细胞相关参数比较

重度 HIE 患儿 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞所占比例明显低于轻度和中度 HIE 患儿(P 均 < 0.05),而中度 HIE 组 CD3⁺、CD4⁺ T 淋巴细胞所占比例也明显低于轻度组(P 均 < 0.05);重度 HIE 患儿 CD4⁺/CD8⁺ 值明显低于轻度和中度 HIE 患儿,中度 HIE 组 CD4⁺/CD8⁺ 值也明显低于轻度患儿(P 均 < 0.05);但 HIE 各亚组间 CD8⁺ T 淋巴细胞所占比例差异无统计学意义(P 均 > 0.05),见表 2。

表2 HIE亚组间淋巴细胞相关参数比较 ($\bar{x} \pm s$)

项目	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
轻度	62.34 ± 8.77	41.33 ± 9.21	21.01 ± 7.04	1.97 ± 0.17
中度	57.12 ± 9.11	37.01 ± 8.91	20.11 ± 6.98	1.84 ± 0.21
重度	51.35 ± 8.04	32.10 ± 9.04	19.25 ± 6.86	1.67 ± 0.19
<i>F</i>	6.038	6.547	4.128	6.069
<i>P</i>	<0.05	<0.05	>0.05	<0.05

2.3 HIE病情与淋巴细胞参数之间的相关性分析

HIE 病情严重程度分为轻、中、重度 3 个等级,对 HIE 病情与淋巴细胞参数进行采用 Spearman 等级相关性分析,结果显示:T 淋巴细胞亚群分析, CD4⁺ T 淋巴细胞所占比例与患儿病情严重程度呈明显负相关($r = -0.531, P < 0.05$),而 CD8⁺ T 淋巴细胞所占比例与患儿病情严重程度无明显的相关性($P > 0.05$), CD4⁺/CD8⁺ 比值与患儿病情也呈现一定的负相关($r = -0.436, P < 0.05$)。见表 3。

表3 HIE病情与淋巴细胞参数之间的相关性分析

项目	r	95%CI	P
CD3 ⁺ (%)	-0.354	-0.299 ~ -0.506	<0.05
CD4 ⁺ (%)	-0.531	-0.485 ~ -0.753	<0.05
CD8 ⁺ (%)	0.187	-0.112 ~ 0.233	>0.05
CD4 ⁺ /CD8 ⁺	-0.436	-0.212 ~ -0.676	<0.05

3 讨论

本研究纳入 HIE 患儿 T 淋巴细胞亚群的相关参数(CD3⁺ 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞、CD8⁺T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺),以期进一步阐释 HIE 患儿的细胞免疫状态。HIE 有着极为复杂的发病机制,近年研究表明,HIE 的发生机制与免疫炎症损伤有关,免疫系统及其功能异常在围产期窒息和 HIE 发病中也起着重要作用^[6]。有学者认为,HIE 后免疫抑制(淋巴细胞参与)与免疫应答间的平衡一旦被打破,会引起脑缺血进一步加重甚至导致二次损伤^[7]。另外有研究报道,新生儿脐血、外周血的淋巴细胞亚群水平低下,窒息可进一步加重新生儿的 T 淋巴细胞亚群紊乱,而且窒息程度越严重,免疫功能降低越严重,从而提出了围产期窒息可导致新生儿免疫功能紊乱^[8]。对 HIE 的 T 淋巴细胞亚群的变化进行研究,将有利于临床对于 HIE 的诊治。国内有研究显示,新生儿 HIE 的 CD3⁺ 淋巴细胞、CD4⁺、CD8⁺ 及 CD4⁺/CD8⁺ 比值均明显低于正常新生儿。而且与 HIE 病情程度密切相关, HIE 病情越严重, CD3⁺ 淋巴细胞降低越明显,提示缺氧、缺血可导致 T 淋巴细胞亚群紊乱,表明新生儿 HIE 时细胞免疫功能受抑制,在 HIE 发病过程中免疫介导损伤起着重要的启动性作用^[9-10]。另外,有研究显示 CD3⁺ 淋巴细胞和 CD4⁺T 淋巴细胞表达与 HIE 患儿羊水污染存在负相关,而与出生体重和 Apgar 评分呈正相关,提示羊水污染程度越重,出生体重越低, Apgar 评分越低,细胞免疫功能低下越明显^[11]。本研究结果显示, HIE 新生儿其急性期血常规中的淋巴细胞计数较无 HIE 缺氧新生儿和正常对照新生儿明显降低。HIE 新生儿 T 淋巴细胞亚群的分析显示, HIE 组患儿 CD3⁺ 淋巴细胞和 CD4⁺T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 所占比例明显低于正常对照组患儿;但两组患儿间 CD8⁺T 淋巴细胞所占比例无明显差异;而 HIE 重度患儿其 CD3⁺ 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴细胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 所占比例也明显低于中度和轻度 HIE 患儿,而中度病情患儿其上述指标也较轻度患儿明显降低,另外,患儿病情的严重程度也与患儿以上指标呈明显的正相关,故 CD3⁺ 淋巴细胞、CD4⁺T 淋巴

胞以及 CD4⁺/CD8⁺ 比值与 HIE 新生儿的病情危重程度密切相关,可作为患儿病情严重程度的有效预测指标。

目前关于 HIE 患儿 T 淋巴细胞亚群异常的机制尚不完全清楚。目前认为其可能存在的机制包括:缺血缺氧损伤可诱导淋巴细胞凋亡加速,使 T 淋巴细胞活性、数量下降^[12]。中枢神经系统具有调节免疫功能的作用,而 HIE 常导致中枢神经受损^[13]。使其免疫调节功能下降,从而使 T 细胞活性降低;同时,当人体处于应激状态下时,糖皮质激素、儿茶酚胺等水平升高有关会抑制淋巴细胞的产生^[14]。另外,有研究显示, HIE 可使 NK 细胞活性降低,由于 NK 细胞具有增强 T 淋巴细胞活性的作用,故 NK 细胞的活性下降会在一定程度上影响 T 淋巴细胞亚群的功能^[15]。

综上所述,淋巴细胞计数尤其 CD4⁺ 与 CD8⁺ 比值可用于 HIE 新生儿的诊断、病情危险度及恢复情况的评价和预后评估多个方面,具有重要的意义。

[参考文献]

- [1] 中华医学会儿科学分会新生儿学组. 新生儿缺血缺氧性脑病诊断标准 [J]. 中华儿科杂志, 2005, 43 (8): 584.
- [2] Ferriero DM. Neonatal brain injury [J]. N Engl J Med, 2014, 351 (19): 1985-1995.
- [3] Edwards AD, Brocklehurst P, Gunn AJ, et al. Neurological-outcomes at 18 months of age after moderate hypothermia for perinatal hypoxic ischaemic encephalopathy: Synthesis and meta-analysis of trial data [J]. BMJ, 2017, 12 (9): 340-363.
- [4] Shankaran S, Bames PD, Hintz SR, et al. Brain injury following trial of hypothermia for neonatal hypoxic ischaemic encephalopathy [J]. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2015, 97 (6): 398-404.
- [5] 张桂青, 李庆丰. 新生儿缺血缺氧性脑病早期 MRI 表现及分型 [J]. 中国医学影像技术, 2000, 15 (5): 355-357.
- [6] 张晓燕, 林丽星, 王洁, 等. 缺氧缺血性脑病新生儿自然杀伤细胞与 T 细胞亚群的变化及其相关因素 [J]. 实用儿科临床杂志, 2006, 21 (14): 906-907.
- [7] 刘敬, 孟繁婉, 戎小平, 等. 新生儿缺氧缺血性脑病的免疫学研究 [J]. 中华围产学杂志, 2002, 5 (2): 113-117.
- [8] 杨梅, 林丽星, 王洁, 等. 缺氧缺血性脑病新生儿体液免疫功能的变化及其影响因素 [J]. 实用临床儿科杂志, 2009, 24 (2): 119-121.
- [9] 郑振文, 李吉昌, 李桂英, 等. T 细胞亚群, IL-2, NSE 与新生儿 HIE 的研究及临床意义 [J]. 滨州医学院学报, 2008, 31 (1): 25-27.

(下转第 58 页)