

风疹病毒先天性感染与新生儿临床表现 及T淋巴细胞亚群变化的相关性

高冬梅 李秀义 蔡瑜 江蓓蕾 赵俊 温和

【摘要】目的 探讨风疹病毒(RV)先天性感染与出生婴儿临床表现及脐带血T淋巴细胞亚群变化的相关性研究。**方法** 2009年3月至2010年5月合肥市某医院收集536例新生儿脐带血标本,应用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清抗-RV-IgM,采用流式细胞术检测抗-RV-IgM阳性脐带血中T淋巴细胞亚群,并追踪新生儿的临床表现。**结果** 新生儿抗-RV-IgM阳性者共有14例,感染率为2.6%,其中有5例患儿出生时出现不同程度的较为典型的临床表现。抗-RV-IgM阳性组与正常对照新生儿组相比:CD3⁺T淋巴细胞含量降低($P = 0.011$)、CD4⁺T淋巴细胞含量降低($P = 0.003$)、CD8⁺T淋巴细胞含量较高($P = 0.001$)、CD4⁺/CD8⁺值较低($P = 0.005$)。其中,抗-RV-IgM阳性有典型的临床表现组CD3⁺和CD8⁺T淋巴细胞含量较抗-RV-IgM阳性无典型的临床表现组无显著性差异,而CD4⁺T淋巴细胞含量降低($P = 0.035$)、CD4⁺/CD8⁺值降低($P = 0.008$)。**结论** 风疹病毒感染可导致新生儿细胞免疫功能紊乱,而T淋巴细胞亚群变化与新生儿临床表现密切相关。

【关键词】 风疹病毒; T淋巴细胞亚群; 临床表现

Relationships of clinical characters and change in T lymphocyte subsets in neonates with congenital rubella virus infection GAO Dong-mei, LI Xiu-yi, CAI Yu, JIANG Bei-lei, ZHAO Jun, WEN He. Department of Clinical Laboratory, The Third Affiliated Hospital, Anhui Medical University, Hefei 230061, China.

Corresponding author: WEN He, Email: Wenhe1952@hotmail.com

【Abstract】Objective To investigate the relationships of clinical characters and change in T lymphocyte subsets in neonates with congenital rubella virus infection. **Methods** Total of 536 umbilical cord blood samples were collected in a hospital of Hefei City, Anhui Province during March 2009 to May 2010. Anti-RV-IgM antibodies (anti-RV-IgM) in the sera were detected by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). T lymphocyte cell subsets were detected by flow cytometry in the cord blood, and the clinical manifestations of neonates were observed. **Results** Fourteen (2.6%) cases showed anti-RV-IgM positive. Five cases had obvious and typical clinical manifestations in the neonates with anti-RV-IgM positive. The lower percentage rate of CD3⁺T lymphocyte cells, CD4⁺T lymphocyte cells and higher rate of CD8⁺T lymphocyte cells were significantly difference in those with suspected congenital infection than in the normal group ($P = 0.011$, 0.003 and 0.001). The ratio of CD4⁺/CD8⁺ was lower in the neonates with suspected congenital infection than in the normal ($P = 0.005$). In the group of positive anti-RV-IgM with clinical signs and symptoms, the low of both CD4⁺T lymphocyte cell and ratio of CD4⁺/CD8⁺ were seen compared to the neonates with positive anti-RV-IgM without typical clinical manifestations ($P = 0.035$ and 0.008). **Conclusions** Rubella virus infection could lead to neonate's disorder of cellular immunity. T lymphocyte cell subsets and the clinical manifestations are closely associated.

【Key words】 Rubella virus; T lymphocyte cell subsets; Clinical manifestation

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.06.010

基金项目: 国家自然科学基金(No. 81101273); 合肥市医学重点学科建设计划(No. 2010-170); 安徽医科大学校科研基金(No. 0113017201)

作者单位: 230061 合肥市, 安徽医科大学第三附属医院暨合肥市第一人民医院检验科(高冬梅、李秀义、蔡瑜、江蓓蕾、温和); 安徽医科大学微生物学教研室(赵俊)

通讯作者: 温和, Email: Wenhe1952@hotmail.com

风疹是由风疹病毒 (rubella virus, RV) 感染而引起的一种急性呼吸道传染病, 一年四季均可发生。由于临床症状轻, 预后良好且多无严重并发症, 故易被人们甚至医生所忽视。然而, RV 感染孕妇却是造成胎儿先天性畸形的主要原因之一^[1-3]。尤其是孕妇在妊娠初期3个月感染则可能会使婴儿成为先天性风疹综合征 (congenital rubella syndrome, CRS) 患儿, 从而临床上引起胎儿死产、流产、白内障、耳聋、先天性心脏病以及发育畸形等^[4-5]。现代病毒学认为病毒性疾病的病程和转归是病毒、宿主细胞和免疫系统三者之间相互作用的结果, 而临床免疫学, 尤其是细胞免疫状态检测和研究对阐明病毒性疾病的发病机理、临床病情判断、选择合理治疗方案、评价疗效以及临床转归的预测等均具有重要意义^[6-8]。但有关风疹病毒先天性感染与新生儿细胞免疫改变以及临床症状的相关性报道较少, 本文对此进行了初步探讨, 现将结果报道如下。

资料与方法

一、研究对象

2009年3月至2010年5月合肥市某医院新生儿共536例, 取脐带血, 并对新生儿体重、皮肤、心率、呼吸、肌张力、运动及反射等临床指标进行测量并行Apgar评分。

二、试剂及实验方法

1. 主要试剂: 抗-RV-IgM ELISA检测试剂盒购自意大利Sorin公司, 抗CD3⁺Cy5/CD4⁺ PE/CD8⁺ FITC抗体购自美国贝克曼库尔特 (Beckman Coulte) 公司。

2. ELISA检测抗-RV-IgM: 严格按照试剂盒说明书进行, ①平衡试剂盒, 并将浓缩洗液稀释备用; ②加入100 μl待检血清和阴、阳性对照; ③每孔100 μl酶结合物 (空白对照孔不加), 37 °C反应45 min; ④洗涤6次, 每孔依次加入底物 A、B液各50 μl, 37 °C避光显色15 min; ⑤每孔加入终止液各50 μl, 终止反应; ⑥测定: 酶标仪450 nm

处测A值; ⑦结果判定: 测定标本A值≥临界值时为阳性; <临界值时为阴性。

3. T淋巴细胞亚群检测: T淋巴细胞亚群用美国Beckman Coulte公司EPICS-XL型流式细胞仪检测, 荧光标记单克隆抗体抗-CD3⁺Cy5/CD4⁺PE/CD8⁺ FITC均购自美国Beckman Coulte公司。所有检测均由专人负责完成。

三、统计学处理

本研究应用SPSS13.0软件分析处理, 室验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示, 组间差异采用t检验, 以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、抗-RV-IgM检测结果

536例新生儿中, 抗-RV-IgM阳性者为14例, 阳性率为2.6%; 抗-RV-IgM阴性为522例。

二、风疹病毒感染与临床表现相关性分析

风疹病毒先天性感染组新生儿体重为 (3070.53 ± 377.91) g, 而抗-RV-IgM阴性组新生儿体重为 (3217.26 ± 237.54) g, 两者差异具有统计学意义 ($t = -1.819, P = 0.033$)。风疹病毒先天性感染组新生儿1 min Apgar评分为 (8.23 ± 1.34), 较非感染组新生儿低 ($t = -6.048, P = 0.031$); 5 min Apgar评分为 (9.53 ± 0.66), 较非感染组新生儿差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表1。抗-RV-IgM阳性的14例新生儿中有5例出现明显的较为典型的临床表现, 其中死胎1例 (7.14%), 早产1例 (7.14%), 先天性畸形1例 (7.14%), 低体重儿2例 (14.29%) (包括早产1例), 听力异常3例 (21.43%) (包括早产1例) 等, 见表2。

表2 抗-RV-IgM阳性先天性感染组新生儿的临床资料

患病种类	病例数	构成比 (%)
听力异常	3	21.43
低体重儿	2	14.29
早产	1	7.14
紫癜	1	7.14
中枢神经系统病变	1	7.14
眼损伤	1	7.14
先天性畸形	1	7.14

表1 新生儿的基本情况比较

组别	出生体重 (g, $\bar{x} \pm s$)	Apgar评分 ($\bar{x} \pm s$)		新生儿患病情况 [例 (%)]
		1 min	5 min	
RV-IgM阳性	3070.53 ± 377.91 ^a	8.23 ± 1.34 ^a	9.53 ± 0.66	5 (35.7)
RV-IgM阴性	3217.26 ± 237.54	8.76 ± 1.58	9.56 ± 0.60	24 (4.6)
<i>t</i>	-1.819	-6.048	-4.108	
<i>P</i>	0.033	0.031	0.167	

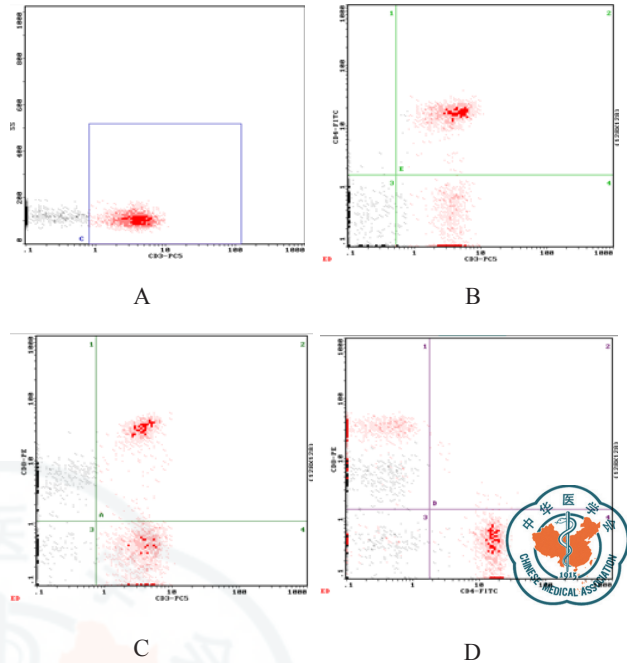
注: ^a与抗-RV-IgM阴性组比, $P < 0.05$

三、T淋巴细胞亚群检测结果

利用流式细胞术测定各组样本脐血标本中T淋巴细胞亚群CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺的百分比，并设立正常对照新生儿组（图1~3）。抗-RV-IgM阳性无典型的临床表现组与正常对照新生儿组相比：CD3⁺T淋巴细胞含量降低（ $t = -9.446, P = 0.011$ ）、CD4⁺T淋巴细胞含量降低（ $t = -5.898, P = 0.003$ ）、CD8⁺T淋巴细胞含量增高（ $t = 9.744, P = 0.001$ ）、CD4⁺/CD8⁺值降低（ $t = -12.448, P = 0.005$ ）。而抗-RV-IgM阳性有典型的临床表现组较抗-RV-IgM阳性无典型的临床表现组CD4⁺T淋巴细胞含量进一步降低（ $t = -5.919, P = 0.035$ ）、CD4⁺/CD8⁺值亦进一步降低（ $t = -0.413, P = 0.008$ ），CD3⁺和CD8⁺T淋巴细胞含量较抗-RV-IgM阳性无典型的临床表现组无显著性差异，见表3。

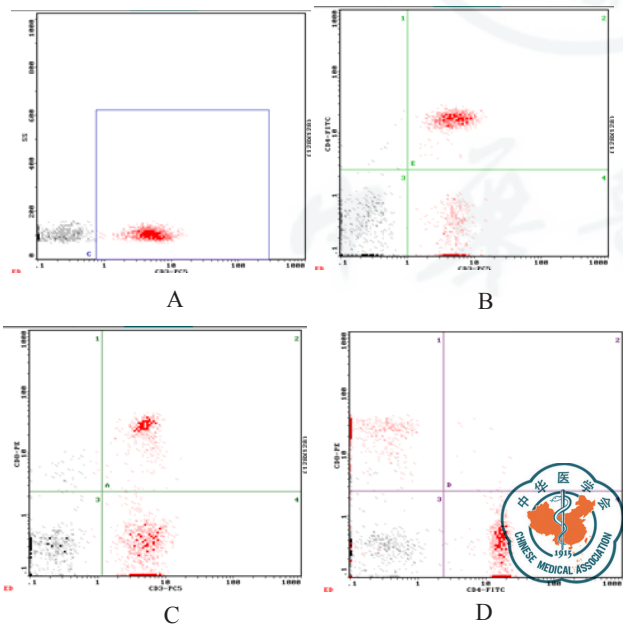
讨 论

风疹是由风疹病毒引起的人类急性传染病。1941年，澳大利亚眼科医生Gregg首次证实了孕妇感染风疹病毒导致对胎儿的危害后，风疹病毒感染逐步引起人们的重视。孕妇感染风疹病毒后，病毒通过胎盘感染胎儿，使胎儿发生宫内感染并出现各种先天性疾病，即先天性风疹综合征（CRS），严



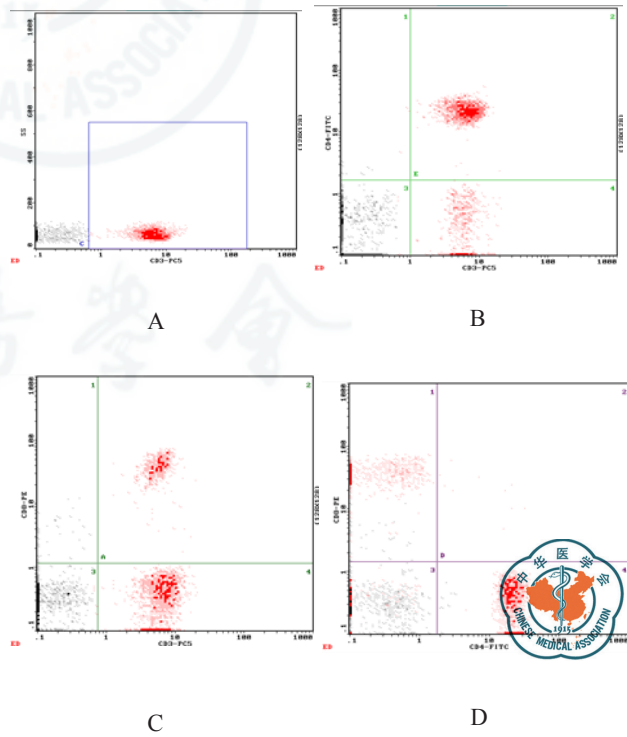
注：A：CD₃⁺T淋巴细胞亚群检测；B：CD₄⁺T淋巴细胞亚群检测；C：CD₈⁺T淋巴细胞亚群检测；D：CD₄⁺/CD₈⁺T淋巴细胞亚群检测

图1 RV-IgM阳性具有典型的临床表现患儿组的T淋巴细胞亚群检测



注：A：CD₃⁺T淋巴细胞亚群检测；B：CD₄⁺T淋巴细胞亚群检测；C：CD₈⁺T淋巴细胞亚群检测；D：CD₄⁺/CD₈⁺T淋巴细胞亚群检测

图2 RV-IgM阳性无典型的临床表现患儿组的T淋巴细胞亚群检测



注：A：CD₃⁺T淋巴细胞亚群检测；B：CD₄⁺T淋巴细胞亚群检测；C：CD₈⁺T淋巴细胞亚群检测；D：CD₄⁺/CD₈⁺T淋巴细胞亚群检测

图3 正常对照新生儿T淋巴细胞亚群的检测

表3 抗-RV-IgM阳性患儿与对照组T淋巴细胞亚群的检测结果

组别	例数	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
有典型的临床表现组	5	63.84 ± 4.21 ^a	38.34 ± 3.25 ^{ab}	26.23 ± 4.75 ^a	1.46 ± 0.35 ^{ab}
无典型的临床表现组	9	64.11 ± 2.57 ^a	40.35 ± 2.32 ^a	25.67 ± 5.64 ^a	1.57 ± 0.38 ^a
正常对照新生儿组	10	69.87 ± 4.24	44.98 ± 4.47	19.55 ± 3.92	2.57 ± 0.60

注：^a与抗-RV-IgM阴性标本（对照组）相比， $P < 0.05$ ；^b与抗-RV-IgM抗体阳性无典型的临床表现标本相比， $P < 0.05$

重者可发生死胎、流产或早产，轻者可致各种先天畸形和器官损害，如白内障、青光眼、视网膜炎、先天性心脏病、耳聋和小头畸形等。因而，风疹病毒感染给家庭和社会造成了沉重的经济和社会负担^[9-10]。

由于病原体感染宿主后3~7 d内即可产生特异性抗-IgM，且其半衰期和血清抗体维持水平较短，因此，医院检验科将血清抗-IgM的检出作为病原体近期感染重要的诊断指标。本研究采用ELISA法检测合肥市某医院新生儿536例脐带血标本抗-RV-IgM，其中，抗-RV-IgM阳性共有14例，阳性率为2.6%。通过追踪该组患儿的临床资料，抗-RV-IgM阳性的风疹病毒先天性感染组新生儿体重为差异有统计学意义。抗-RV-IgM阳性组新生儿1 min Apgar评分为(8.23 ± 1.34)，较抗-RV-IgM阴性组新生儿低($P < 0.05$)；而5 min Apgar评分较抗-RV-IgM阴性组新生儿无显著差异。抗-RV-IgM阳性组14例新生儿中有5例出现明显较为典型的临床表现，其中死胎1例，早产1例，先天性畸形1例，2例低体重儿（含早产1例），听力异常3例（含早产1例）。

细胞免疫在病毒性疾病的控制过程中具有非常重要的作用。检测细胞免疫状态在病毒相关疾病诊断，判断疾病转归过程和药物的治疗效果等方面具有重要的作用^[11-12]。细胞免疫检测时，CD3为所有T细胞的表面标志，CD8为细胞毒T细胞的表面标志。CD8⁺ T淋巴细胞在病毒感染过程中，是控制病毒复制所必需的；CD4则是辅助T细胞的表面标志，辅助T细胞通过释放多种细胞因子辅助B细胞和效应T细胞活化，上调机体的免疫功能，所以CD4⁺ T细胞在保持并促进CD8⁺ T细胞抗病毒过程中发挥关键的作用。机体免疫水平的高低并不取决于淋巴细胞的总数，而是取决于CD4⁺ T淋巴细胞与CD8⁺ T淋巴细胞的比值（CD4⁺/CD8⁺）。

本研究检测了风疹病毒感染新生儿的脐带血CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T淋巴细胞亚群及CD4⁺/CD8⁺比值，结果发现，抗-RV-IgM阳性无典型的临床表现组与正常对照新生儿组相比：CD3⁺ T淋巴细胞含量

降低，CD4⁺ T淋巴细胞含量降低，CD8⁺ T淋巴细胞含量增高，CD4⁺/CD8⁺值降低；而抗-RV-IgM阳性有典型的临床表现组较抗-RV-IgM阳性无典型的临床表现组患儿的CD4⁺ T淋巴细胞含量和CD4⁺/CD8⁺值均降低。结果提示，风疹病毒感染可导致新生儿细胞免疫功能紊乱，而T淋巴细胞亚群变化又与新生儿临床表现密切相关。

综上所述，风疹病毒感染新生儿存在T淋巴细胞亚群失衡和细胞免疫功能紊乱，可能是风疹病毒引起CRS的重要原因；细胞免疫功能与临床表现存在一定关系，检测T淋巴细胞亚群有助于阐明风疹病毒的致病机制及判断其预后。

参考文献

- De Santis M, Cavaliere AF, Straface G, et al. Rubella infection in pregnancy. *Reprod Toxicol*,2006,21(4):390-398.
- Edlich RF, Winters KL, Long WB 3rd, et al. Rubella and congenital rubella (German measles). *J Long Term Eff Med Implants*,2005,15(3):319-328.
- Atreya CD, Mohan KV, Kulkarni S. Rubella virus and birth defects: molecular insights into the viral teratogenesis at the cellular level. *Birth Defects Res A Clin Mol Teratol*,2004,70(7):431-437.
- Vauloup-Fellous C, Hübschen JM, Abernathy ES, et al. Phylogenetic analysis of rubella viruses involved in congenital rubella infections in France between 1995 and 2009. *J Clin Microbiol*,2010,48(7):2530-2535.
- Hwang SJ, Chen YS. Congenital rubella syndrome with autistic disorder. *J Chin Med Assoc*,2010,73(2):104-107.
- Richards KA, Chaves FA, Sant AJ. The memory phase of the CD4 T-cell response to influenza virus infection maintains its diverse antigen specificity. *Immunology*,2011,133(2):246-256.
- Chomont N, DaFonseca S, Vandergeeten C, et al. Maintenance of CD4⁺ T-cell memory and HIV persistence: keeping memory, keeping HIV. *Curr Opin HIV AIDS*,2011,6(1):30-36.
- Whitmire JK. Induction and function of virus-specific CD4⁺ T cell responses. *Virology*,2011,411(2):216-228.
- Tosh PK, Kennedy RB, Vierkant RA, et al. Correlation between rubella antibody levels and cytokine measures of cell-mediated immunity. *Viral Immunol*,2009,22(6):451-456.
- Chandy S, Abraham AM, Jana AK, et al. Congenital rubella syndrome and rubella in Vellore, South India. *Epidemiol Infect*,2011,139(6):962-966.
- Allmendinger J, Paradies F, Kamprad M, et al. Determination of rubella virus-specific cell-mediated immunity using IFN gamma-

ELISpot. J Med Virol,2010,82(2):335-340.

Opin Immunol,2011,23(1):96-103.

- 12 Horst D, Verweij MC, Davison AJ, et al. Viral evasion of T cell immunity: ancient mechanisms offering new applications. Curr

(收稿日期:)

(本文编辑: 孙荣华)

高冬梅, 李秀义, 蔡瑜, 等. 风疹病毒先天性感染与新生儿临床表现及T淋巴细胞亚群变化的相关性[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(6): 838-842.



中华医学会