

文章编号: 1673-8640 (2025) 03-0223-07 中图分类号: R446.69 文献标志码: A DOI: 10.3969/j.issn.1673-8640.2025.03.004

外周血淋巴细胞亚群和细胞因子在鉴别儿童病毒性脑炎与自身免疫性脑炎中的价值

王蜀平 张 文 王淑雅 马丽娟

(首都儿科研究所附属儿童医院检验中心, 北京 100020)

摘要: **目的** 探讨外周血12种细胞因子[白细胞介素(IL)-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12P70、IL-17、 γ -干扰素(IFN- γ)、 α -干扰素(IFN- α)、肿瘤坏死因子 α (TNF- α)]和淋巴细胞亚群[CD3⁺T细胞、CD3⁺CD4⁺T细胞、CD3⁺CD8⁺T细胞、CD3⁻CD19⁺B细胞、CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞]在鉴别儿童病毒性脑炎(VE)和自身免疫性脑炎(AE)中的价值。**方法** 选取2020年5月—2024年5月首都儿科研究所附属儿童医院AE患儿60例(AE组)、VE患儿40例(VE组)和健康体检儿童60名(正常对照组)。采用流式细胞术检测所有研究对象外周血淋巴细胞亚群和细胞因子。采用受试者工作特征(ROC)曲线评价各项指标鉴别AE和VE的效能。**结果** VE组CD3⁻CD19⁺B细胞绝对数高于正常对照组($P<0.10$), CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞绝对数低于正常对照组($P<0.10$)。AE组CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞绝对数低于正常对照组($P<0.10$)。VE组CD3⁺CD8⁺T细胞绝对数低于AE组($P<0.10$), CD3⁻CD19⁺B细胞绝对数高于AE组($P<0.10$)。除IL-17外, VE组其他细胞因子水平与正常对照组比较差异均有统计学意义($P<0.10$)。AE组IL-4、IL-6、IL-8、IL-10和TNF- α 水平与正常对照组比较差异均有统计学意义($P<0.10$)。VE组IL-4、IL-8、IL-10和INF- γ 水平与AE组比较差异均有统计学意义($P<0.10$)。VE组IL-8与IL-10呈正相关($r=0.588$, $P<0.05$), INF- γ 与IL-4、IL-8呈正相关(r 值分别为0.322、0.426, $P<0.05$)。AE组IL-4与IL-10呈正相关($r=0.833$, $P<0.05$), IL-8与IL-4、IL-10呈正相关(r 值分别为0.437、0.460, $P<0.05$), TNF- α 与IL-10呈正相关($r=0.420$, $P<0.05$)。AE组和VE组淋巴细胞亚群绝对数与各细胞因子之间均无相关性($P>0.05$)。以AE为对照, CD3⁺CD8⁺T细胞绝对数、B细胞绝对数、IL-4、IL-8、IL-10和INF- γ 单项检测鉴别AE和VE的曲线下面积(AUC)分别为0.599、0.638、0.616、0.603、0.636、0.598; 细胞因子联合检测模型和细胞因子+淋巴细胞亚群联合检测模型的AUC分别为0.687、0.756。**结论** 外周血淋巴细胞亚群和细胞因子或可作为儿童VE和AE鉴别诊断的辅助指标。

关键词: 淋巴细胞亚群; 细胞因子; 自身免疫性脑炎; 病毒性脑炎; 儿童

Roles peripheral blood lymphocyte subsets and cytokines for viral and autoimmune encephalitis in children WANG Shuping, ZHANG Wen, WANG Weiya, MA Lijuan. (Department of Clinical Laboratory, Children's Hospital of Capital Institute of Pediatrics, Beijing 100020, China)

Abstract: Objective To investigate the differential diagnosis value for viral encephalitis (VE) and autoimmune encephalitis (AE) in children, by determining 12 cytokines, including interleukin (IL)-1 β , IL-2, IL-4, IL-5, IL-6, IL-8, IL-10, IL-12P70, IL-17, interferon-gamma (INF- γ), interferon-alpha (INF- α) and tumor necrosis factor-alpha (TNF- α) in peripheral blood, and lymphocyte subsets natural killer (CD3⁺T cell, CD3⁺CD4⁺T cell, CD3⁺CD8⁺T cell, CD3⁻CD19⁺B cell and CD3⁻CD16⁺CD56⁺ natural killer cell) in peripheral blood. **Methods** Totally, 60 pediatric patients with AE (AE group), 40 pediatric patients with VE (VE group)

基金项目: 北京市卫生健康委员会研究型病房卓越临床研究计划课题(BRWEP2024W102100111)

作者简介: 王蜀平, 女, 1987年生, 学士, 主管技师, 主要从事感染和免疫性疾病的致病机制研究及流式细胞术检验工作。

通信作者: 马丽娟, E-mail: malijuan@shouer.com.cn。

引用本文: 王蜀平, 张文, 王淑雅, 等. 外周血淋巴细胞亚群和细胞因子在鉴别儿童病毒性脑炎与自身免疫性脑炎中的价值[J]. 检验医学, 2025, 40(3): 223-25.

and 60 healthy children (control group) were enrolled from May 2020 to May 2024. Using flow cytometry, lymphocyte subsets and 12 cytokines in peripheral blood were determined. Receiver operating characteristic (ROC) was used to estimate the efficiency of differential diagnosis between AE and VE with these various indicators. **Results** The absolute value of CD3⁺CD19⁺B cells in VE group was higher than that in healthy control group ($P<0.10$), and the absolute value of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ natural killer cell cells in VE group was lower than that in healthy control group ($P<0.10$). The absolute value of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ natural killer cell cells in AE group was lower than that in healthy control group ($P<0.10$). The absolute number of CD3⁺CD8⁺T cells in VE group was lower than that in AE group ($P<0.10$), and the absolute value of CD3⁺CD19⁺B cells was higher than that in AE groups ($P<0.10$). Except IL-17, the levels of the other cytokines in VE group were significantly different from those in healthy control group ($P<0.10$). There was statistical significance for IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α between AE and healthy control group ($P<0.10$). The levels of IL-4, IL-6, IL-8, IL-10 and TNF- α in AE group were significantly different from those in healthy control group ($P<0.10$). The levels of IL-4, IL-8, IL-10 and INF- γ in VE group were significantly different from those in AE group ($P<0.10$). In VE group, IL-8 was positively correlated with IL-10 ($r=0.588$, $P<0.05$), and INF- γ was positively correlated with IL-4 and IL-8 (r values were 0.322 and 0.426, $P<0.05$). In AE group, IL-4 was positively correlated with IL-10 ($r=0.833$, $P<0.05$), IL-8 was positively correlated with IL-4 and IL-10 (r values were 0.437 and 0.460, $P<0.05$), and TNF- α was positively correlated with IL-10 ($r=0.420$, $P<0.05$). There was no correlation between the absolute value of lymphocyte subsets and all cytokines in AE and VE groups ($P>0.05$). The areas under curves (AUC) of CD3⁺CD8⁺T cell absolute value, B cell absolute value, IL-4, IL-8, IL-10 and INF- γ for differentiating AE and VE were 0.599, 0.638, 0.616, 0.603, 0.636 and 0.598, respectively. The AUC of the combined cytokine determination model and the combined lymphocyte subset and cytokine determination model were 0.687 and 0.756, respectively. **Conclusions** Peripheral blood lymphocyte subsets and cytokines may be used as auxiliary indicators in the differential diagnosis of VE and AE in children.

Keywords: Lymphocyte subset; Cytokine; Autoimmune encephalitis; Viral encephalitis; Children

自身免疫性脑炎 (autoimmune encephalitis, AE) 是由免疫反应介导的中枢神经系统炎症性疾病^[1], 大部分患儿预后良好, 但仍有10%~20%的患儿会复发^[2]。早期启动一线和二线免疫治疗可改善AE患儿预后, 降低复发率^[3]。AE相关自身抗体数量较多, 但可被检测识别的不多。有部分AE的临床表现不典型, 影像学特征不明显, 导致AE早期时易误诊和漏诊^[4]。近年来, 脑膜炎球菌疫苗接种的普及使细菌性脑炎的发病率大大降低, 病毒性脑炎 (viral encephalitis, VE) 在儿童人群中更多见, 如好发于6个月以下婴儿和1~4岁儿童的呼吸道合胞病毒相关脑炎^[5]。虽然近年来分子诊断技术在VE病因确认中发挥了巨大的作用, 但仍有50%~60%的VE病因不清^[6]。AE和VE的临床症状、脑脊液生化常规检测结果, 甚至影像学特征均相似。因此, AE和VE是互为首位的鉴别诊断类别, 临床亟需能辅助鉴别VE和AE的生物标志物。细胞因子作为细胞间信号传导介质, 受各类淋巴细胞亚群调控, 其促炎和抗炎机制是自身免疫性疾病中病理损伤或疾病转归的主导机制^[7-8]。为此, 本研究

拟采用流式细胞术检测外周血淋巴细胞亚群和12种细胞因子, 为鉴别儿童VE和AE提供实验室依据。

1 材料和方法

1.1 研究对象

选取2020年5月—2024年5月首都儿科研究所附属儿童医院AE患儿60例 (AE组), 其中男22例、女18例, 年龄3~15岁, 包括抗N-甲基D-天冬氨酸受体 (N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR) 脑炎22例、抗髓鞘少突胶质细胞糖蛋白 (myelin oligodendrocyte glycoprotein, MOG) 相关脑脊髓膜炎34例、抗富亮氨酸胶质瘤失活1蛋白 (leucine-rich glioma-inactivated 1, LGI1) 相关脑炎2例、抗谷氨酸脱羧酶 (glutamic acid decarboxylase, GAD) 相关脑炎2例。纳入标准^[1]: 1) 急性或亚急性起病, 具备1个或多个神经或精神症状; 2) 脑脊液检测、影像学检查或电生理检查异常; 3) 血清神经元特异性自身抗体阳性; 4) 发病前智力、运动功能发育均正常。排除标准: 1) 感染性脑炎; 2) 合并血液疾病或肿瘤; 3) 由自身免疫性疾

病继发的脑炎；4) 年龄<3岁。另选取同期首都儿科研究所附属儿童医院VE患儿40例(VE组)，其中男28例、女32例，年龄3~15岁。纳入标准^[9-10]：1) 伴有持续发热、恶心、呕吐、意识水平下降、嗜睡、脑膜刺激征阳性等临床症状，或精神行为异常且持续≥24 h，或新出现的癫痫发作；2) 脑脊液细胞学检查示淋巴细胞性炎症，影像学检查示脑实质病灶，或脑电图异常且符合脑炎特征；3) 脑脊液或血清学检测示病毒特异性抗体阳性；4) 脑脊液聚合酶链反应(polymerase chain reaction, PCR)或宏基因组二代测序(metagenomics next-generation sequencing, mNGS)发现病毒DNA或RNA；5) 脑脊液培养出病毒活体；6) 发病前智力、运动功能发育均正常。排除标准：1) 细菌性、真菌性等其他感染性脑炎；2) 自身免疫性脑炎；3) 合并血液疾病或肿瘤；4) 年龄<3岁。以同期首都儿科研究所附属儿童医院健康体检儿童60名(男33名、女27名，年龄3~16岁)为正常对照组。纳入标准：经血常规、尿常规、生化常规检测和体检医师临床评价确认处于健康无病状态。本研究经首都儿科研究所附属儿童医院伦理委员会批准(SHERLLM2024083)，所有研究对象家属均知情同意。

1.2 方法

采集所有研究对象空腹静脉血3 mL，乙二胺四乙酸二钾抗凝，其中1.5 mL用于检测淋巴细胞亚群，1.5 mL用于检测细胞因子。

采用FACSCanto II全自动流式细胞分析仪(美国BD公司)及配套抗体试剂(CD3-FITC、CD16+CD56-PE、CD45-PerCP-Cy5.5、CD4-PE-PC7、CD19-APC、CD8-APC-Cy7)检测淋巴细胞亚群[CD3⁺T细胞、CD3⁺CD4⁺T细胞、CD3⁺CD8⁺T细胞、CD3⁻CD19⁺B细胞、CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞]。

采用CYTOMICS FC 500全自动流式细胞仪(美国贝克曼库尔特公司)和12项细胞因子检测试剂盒(多重微珠流式免疫荧光发光法，青岛瑞斯凯尔生物科技股份有限公司)检测白细胞介素(interleukin, IL)-1 β 、IL-2、IL-4、IL-5、IL-6、IL-8、IL-10、IL-12P70、IL-17、 γ -干扰素(interferon-gamma, IFN- γ)、 α -干扰素

(interferon-alpha, IFN- α)、肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor-alpha, TNF- α)。

1.3 统计学方法

采用SPSS 22.0软件进行统计分析，采用GraphPad Prism 5软件绘图。呈非正态分布的计量资料以中位数(M)[四分位数(P_{25} , P_{75})]表示，多组间比较采用Kruskal Wallis H 检验，2个组之间比较Mann-Whitney U 检验。采用Spearman相关分析评估各项指标之间的相关性。采用受试者工作特征(receiver operating characteristic, ROC)曲线评价各项指标鉴别AE和VE的效能。以 $P<0.10$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 AE组、VE组和正常对照组淋巴细胞亚群比较

AE组、VE组和正常对照组中，VE组CD3⁺CD4⁺T细胞、CD3⁺CD8⁺T细胞和CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞绝对数最低，CD3⁺T细胞和CD3⁻CD19⁺B细胞绝对数最高；AE组CD3⁺CD4⁺T细胞绝对数最高，CD3⁻CD19⁺BB细胞绝对数最低。

AE组、VE组和正常对照组CD3⁻CD19⁺B细胞和CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞绝对数差异均有统计学意义($P<0.10$)。两两比较结果显示，VE组CD3⁻CD19⁺B细胞绝对数高于正常对照组($P<0.10$)，CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞绝对数低于正常对照组($P<0.10$)。AE组CD3⁻CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞绝对数低于正常对照组($P<0.10$)。VE组CD3⁺CD8⁺T细胞绝对数低于AE组($P<0.10$)，CD3⁻CD19⁺B细胞绝对数高于AE组($P<0.10$)。见表1、图1。

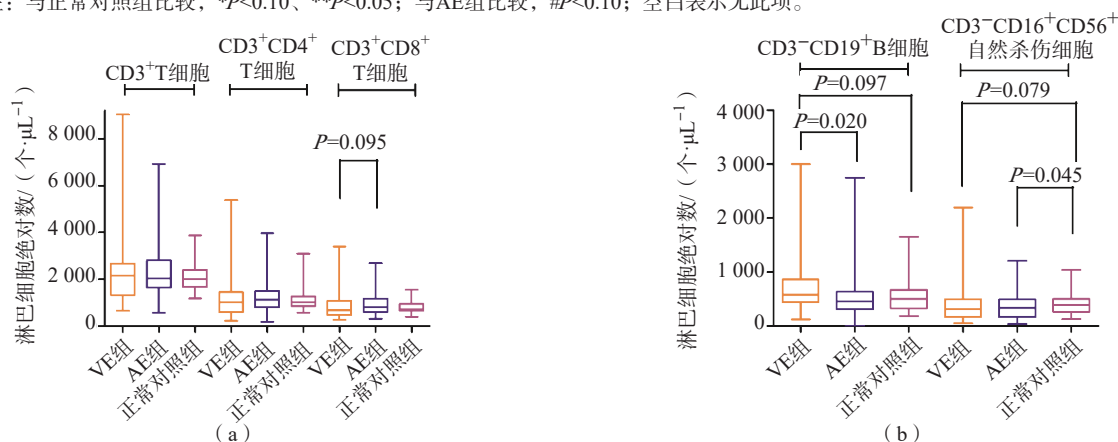
2.2 AE组、VE组和正常对照组12种细胞因子水平比较

AE组、VE组和正常对照组中，除IL-12P70外，VE组其他细胞因子水平均最高；AE组IL-12P70水平最低。除IL-1 β 和IL-17外，3组之间其他细胞因子水平差异均有统计学意义($P<0.10$)。两两比较结果显示，除IL-17外，其他细胞因子水平VE组与正常对照组差异均有统计学意义($P<0.10$)。AE组与正常对照组IL-4、IL-6、IL-8、IL-10和TNF- α 水平差异均有统计学意义($P<0.10$)。VE组与AE组IL-4、IL-8、IL-10和INF- γ 水平差异均有统计学意义($P<0.10$)。见表2。

表1 AE组、VE组和正常对照组淋巴细胞亚群比较

组别	例数	CD3 ⁺ T细胞/ (个·μL ⁻¹)	CD3 ⁺ CD4 ⁺ T细胞/ (个·μL ⁻¹)	CD3 ⁺ CD8 ⁺ T细胞/ (个·μL ⁻¹)	CD3 ⁻ CD19 ⁺ B细胞/ (个·μL ⁻¹)	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺ 自然 杀伤细胞/(个·μL ⁻¹)
VE组	40	2 147.27 (1 321.69, 2 668.21)	1 006.87 (595.50, 1 450.24)	678.90 (468.93, 1 077.79) [#]	577.96 (438.60, 865.26) ^{##}	307.79 (163.66, 494.82) [*]
AE组	60	2 039.99 (1 642.75, 2 812.78)	1 125.98 (797.41, 1 493.55)	798.02 (604.11, 1 165.74)	456.51 (307.20, 635.89)	336.23 (163.83, 491.46) ^{**}
正常对 照组	60	2 004.20 (1 668.24, 2 384.93)	1 024.34 (854.31, 1 270.17)	725.37 (657.86, 948.86)	500.75 (328.37, 671.58)	387.81 (262.04, 500.47)
<i>H</i> 值		1.559	1.746	3.037	5.449	4.970
<i>P</i> 值		0.459	0.418	0.219	0.066	0.083

注：与正常对照组比较，**P*<0.10、***P*<0.05；与AE组比较，[#]*P*<0.10；空白表示无此项。



注：(a) T细胞；(b) B细胞和自然杀伤细胞。

图1 AE组、VE组和正常对照组淋巴细胞亚群绝对数比较

表2 AE组、VE组和正常对照组12种细胞因子水平比较

项目	例数	IL-1β/ (pg·mL ⁻¹)	IL-2/ (pg·mL ⁻¹)	IL-4/ (pg·mL ⁻¹)	IL-5/ (pg·mL ⁻¹)
VE组	40	0.34 (0.02, 9.04) [*]	2.22 (0.71, 4.42) [*]	1.83 (1.16, 2.83) ^{###}	2.60 (1.13, 5.65) [*]
AE组	60	0.28 (0.10, 2.65)	1.54 (0.38, 3.81)	1.47 (1.03, 2.17) [*]	2.12 (0.95, 3.17)
正常对照组	60	0.19 (0.03, 1.38)	1.19 (0.93, 1.68)	1.19 (1.09, 1.45)	1.52 (0.92, 2.73)
<i>H</i> 值		4.466	6.689	14.219	5.519
<i>P</i> 值		0.107	0.035	0.001	0.063

项目	IL-6/ (pg·mL ⁻¹)	IL-8/ (pg·mL ⁻¹)	IL-10/ (pg·mL ⁻¹)	IL-12P70/ (pg·mL ⁻¹)
VE组	3.59 (1.39, 7.51) [*]	4.58 (0.34, 8.08) ^{##}	2.34 (1.07, 2.91) ^{###}	0.84 (0.31, 1.71) [*]
AE组	2.30 (0.78, 5.18) [*]	1.51 (0.04, 4.52) [*]	1.25 (0.73, 2.32) [*]	0.52 (0.19, 1.61)
正常对照组	1.17 (0.77, 2.05)	0.62 (0.21, 1.92)	0.61 (0.45, 0.74)	0.92 (0.82, 1.03)
<i>H</i> 值	12.589	28.486	52.768	7.005
<i>P</i> 值	0.002	<0.001	<0.001	0.030

项目	IL-17/ (pg·mL ⁻¹)	TNF-α/ (pg·mL ⁻¹)	IFN-α/ (pg·mL ⁻¹)	IFN-γ/ (pg·mL ⁻¹)
VE组	1.93 (0.68, 2.75)	3.26 (0.32, 6.71) [*]	2.79 (1.22, 6.09) [*]	3.60 (0.36, 9.18) ^{##}
AE组	1.78 (1.25, 2.24)	2.40 (0.58, 6.54) [*]	2.04 (0.53, 5.54)	1.52 (0.12, 5.76)
正常对照组	1.54 (1.19, 2.09)	0.91 (0.31, 1.63)	1.75 (1.21, 2.56)	1.20 (0.52, 2.85)
<i>H</i> 值	1.430	7.028	5.289	4.719
<i>P</i> 值	0.489	0.030	0.071	0.094

注：与正常对照组比较，**P*<0.05；与AE组比较，[#]*P*<0.10、^{##}*P*<0.05；空白表示无此项。

2.3 AE组和VE组淋巴细胞亚群、细胞因子之间的相关性

在差异有统计学意义的细胞因子中，VE组IL-8和IL-10呈正相关 ($r=0.588$, $P<0.05$)，INF-γ与

IL-4、IL-8均呈正相关 (r 值分别为0.322、0.426, $P<0.05$)。AE组IL-4与IL-10呈正相关 ($r=0.833$, $P<0.05$)，IL-8与IL-4、IL-10均呈正相关 (r 值分别为0.437、0.460, $P<0.05$)，TNF-α与IL-10呈正相关

($r=0.420$, $P<0.05$)。2个组淋巴细胞亚群绝对数与各细胞因子之间均无相关性($P>0.05$)。

2.4 各项指标鉴别AE和VE的效能

ROC曲线分析结果显示,以AE为对照,CD3⁺CD8⁺T细胞绝对数、CD3⁺CD19⁺B细胞绝对数、IL-4、IL-8、IL-10和INF- γ 鉴别AE和VE的曲线下面积(area under curve, AUC)分别为0.599、0.638、0.616、0.603、0.636、0.598。采用Logistic回归分析建立细胞因子(模

型A)和细胞因子+淋巴细胞亚群(模型B)的联合检测模型,模型A的方程为Logit(P)= $-0.405+0.144\times\text{IL-4}-0.004\times\text{IL-8}+0.183\times\text{IL-10}+0.008\times\text{INF-}\gamma$;模型B的方程为Logit(P)= $-0.389+0.135\times\text{IL-4}-0.003\times\text{IL-8}+0.188\times\text{IL-10}+0.007\times\text{INF-}\gamma-0.001\times\text{CD3}^+\text{CD8}^+\text{T细胞}+0.001\times\text{CD3}^+\text{CD19}^+\text{B细胞}$ 。模型A和模型B鉴别AE和VE的AUC分别为0.687、0.756。见表3、图2。

表3 各项指标单项检测和联合检测鉴别AE和VE的效能

项目	AUC (95%可信区间)	最佳临界值	敏感性/ %	特异性/ %	阴性预测值/ %	阳性预测值/ %	Youden指数
IL-4	0.616 (0.514~0.712)	$>1.63\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$	65.00	60.00	72.00	52.00	0.250 0
IL-8	0.603 (0.500~0.700)	$>4.22\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$	52.50	75.00	70.30	58.30	0.275 0
IL-10	0.636 (0.534~0.730)	$>2.43\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$	50.00	81.67	71.00	64.50	0.316 7
INF- γ	0.598 (0.496~0.695)	$>2.87\text{ pg}\cdot\text{mL}^{-1}$	82.50	41.86	76.70	47.10	0.243 6
CD3 ⁺ CD8 ⁺ T细胞	0.599 (0.496~0.694)	$\leq 540.56\text{ 个}\cdot\mu\text{L}^{-1}$	32.50	86.44	65.40	61.90	0.189 4
CD3 ⁺ CD19 ⁺ B细胞	0.638 (0.535~0.732)	$>348.13\text{ 个}\cdot\mu\text{L}^{-1}$	90.00	37.29	84.60	48.30	0.272 9
模型A	0.687 (0.587~0.776)	>0.41	50.00	83.33	71.40	66.70	0.333 3
模型B	0.756 (0.659~0.836)	>0.67	60.00	83.05	75.40	70.60	0.430 5

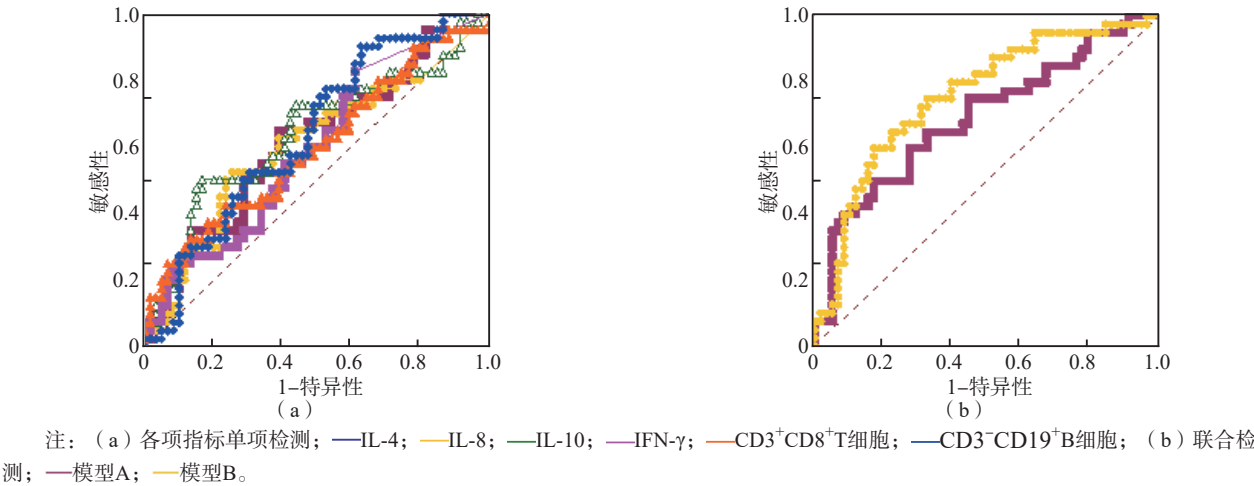


图2 各项指标单项检测和联合检测鉴别AE和VE的ROC曲线

3 讨论

VE是儿童常见的感染性脑炎,我国VE年发病约为5万~10万例,且多为低年龄段的婴幼儿^[6]。VE起病急,常累及多系统损伤^[11]。近年来,AE的发病率逐年提高,占脑炎的10%~20%^[1],其中儿童约占AE患者数的1/3^[12]。在所有类型AE中,抗NMDAR脑炎最常见,约占所有AE的54%~80%^[13]。本研究中,抗MOG相关脑脊髓膜炎患儿例数多于抗NMDAR脑炎患儿例数,提示在儿童AE中,抗MOG相关脑脊髓膜

炎的发病率可能更高,且好发于学龄儿童。本研究结果显示,VE组T细胞各亚型均存在逃逸现象,而AE组存在B细胞逃逸现象。有研究结果显示,AE患者脑浸润CD3⁺CD8⁺T细胞表现出组织驻留记忆T细胞样表型,有增殖、促炎和细胞毒性等特性^[14]。B细胞主要分泌免疫性抗体,这些免疫性抗体亢进是AE患儿预后不良的主要原因^[15]。本研究结果显示,VE组CD3⁺CD8⁺T细胞低于AE组($P<0.10$),CD3⁺CD19⁺B细胞绝对数高于AE组($P<0.10$);VE

组CD3⁺CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞绝对数降低,与 SPITERI等^[16]报道的西尼罗病毒性脑炎的结果一致,其机制为主要组织相容性复合物(major histocompatibility complex, MHC)-I上调后,通过与西尼罗河病毒包膜蛋白结合,激活自然杀伤细胞表面的受体NKp44来抵消自然杀伤细胞的激活,导致CD16⁺CD56⁺自然杀伤细胞的消耗。本研究结果还显示,AE组CD3⁺CD4⁺T细胞[辅助性T细胞(T helper cell, Th)]呈高表达,提示辅助性T细胞除辅助CD3⁺CD8⁺T细胞发挥杀伤作用外,还对巨噬细胞和血管内皮细胞的先天免疫作用进行调节。

本研究结果显示,VE组和AE组血浆促炎因子IL-8和抗炎因子IL-10水平均显著高于正常对照组($P<0.05$),且VE组显著高于AE组($P<0.10$);Spearman相关分析结果显示,VE组和AE组IL-8和IL-10均呈正相关(r 值分别为0.588、0.460, $P<0.05$),提示单核-巨噬细胞介导的先天免疫系统在VE和AE早期被激活,通过协同释放促炎与抗炎因子参与炎症调控,其中VE患儿的炎症反应可能更为显著。本研究结果还显示,VE组IL-4和INF- γ 水平均高于AE组($P<0.10$),且VE组INF- γ 与IL-4呈正相关($r=0.322$, $P<0.05$)。CD3⁺CD4⁺T细胞刺激Th0细胞向Th1、Th2、Th17和调节性T细胞(regulatory T cell, Treg)分化,其中Th1分泌INF- α 、INF- γ 等细胞因子,介导细胞免疫;Th2分泌IL-4、IL-6等细胞因子,介导体液免疫^[17]。由此可见,VE患儿以Th1/Th2免疫平衡机制为主导,且炎症作用更强烈,提示Th1细胞介导的细胞免疫和Th2介导的体液免疫协同放大了炎症效应。

Treg主要由抗原呈递T细胞分化而来,而受抗原呈递T细胞刺激的T细胞主要分化为Th17细胞。抗原呈递T细胞-Th抗原呈递对Th17细胞的分化和AE的发展有重要作用^[7]。IL-10是Treg分泌的抗炎因子,通过浸润白细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞和神经元促进中枢神经系统细胞之间的信息交换,从而诱导表达抗炎作用^[18],而Th17可分泌少量TNF- α ^[19]。本研究结果显示,AE组血清IL-8、IL-10和TNF- α 水平升高($P<0.10$),且TNF- α 与IL-10呈正相关

($r=0.420$, $P<0.05$)。这提示AE以Th17/Treg机制为机体免疫的主导机制,同时Th2介导的体液免疫作用增强,与SALIGRAMA等^[20]致病性CD4⁺T细胞和 $\gamma\delta$ ⁺T细胞反应可能是自身免疫性疾病的主要反应的研究结果一致。

本研究结果显示,作为先天免疫系统起始因子的IL-1 β 在AE组、VE组和正常对照组之间差异均无统计学意义($P>0.10$),提示IL-1 β 不是VE和AE的独立启动因子。IL-12P70是Th1分化的关键因子,可促使Th0向Th1转化,进而分泌TNF- α ;IL-12P70由抗原呈递T细胞、单核-巨噬细胞等产生,可增强细胞毒性T细胞的杀伤活性^[21]。有研究结果显示,在IL-12P70存在的情况下,Th0也会分化为Th17,进而分泌IL-17^[22]。本研究结果显示,AE组和VE组IL-12P70水平稍低于正常对照组,且以AE组最低,但差异均无统计学意义($P>0.10$)。AE组、VE组和正常对照组之间IL-17水平差异均无统计学意义($P>0.10$)。因此,IL-12P70作为启动Th1/Th2和Th17/Treg机制因子,是否在疾病初期消耗较多,导致VE患儿、AE患儿和正常对照者之间无差异,尚需深入分析。另外,IL-17水平无差异的具体原因也需进一步探讨。

本研究结果显示,在单项检测中,CD3⁺CD19⁺B细胞鉴别VE和AE的效能最优(AUC=0.638,敏感性为90.00%,阴性预测值为84.60%),而CD3⁺CD8⁺T细胞的特异性最高(86.44%),提示CD3⁺CD19⁺B细胞和CD3⁺CD8⁺T细胞在VE和AE的鉴别诊断中具有重要作用;IL-10鉴别VE和AE的效能(AUC=0.636,敏感性为81.67%)稍逊于CD3⁺CD19⁺B细胞,而INF- γ 具有较高的敏感性(82.50%)和阴性预测值(76.70%),提示这2项指标在VE和AE鉴别中也有重要作用。细胞因子和淋巴细胞亚群联合检测鉴别VE组和AE组的效能(AUC=0.756)优于细胞因子联合检测(AUC=0.687),提示IL-4、IL-8、IL-10、INF- γ 、CD3⁺CD8⁺T细胞、CD3⁺CD19⁺B细胞联合检测可作为初步辅助鉴别AE和VE的良好指标。

本研究尚有一些不足之处:1)本研究属于探索性研究,且样本量较小,因此选择了较宽松的显著性水平($P<0.10$),旨在提示淋巴细

胞亚群和细胞因子在VE和AE中的潜在效能；
2) 未能有效细分淋巴亚群效应阶段细胞，后续将扩大样本量，并进一步细分，以增加联合检测模型的精准性，更好地辅助临床进行鉴别诊断；3) 本研究仅为VE和AE首诊时的检测结果分析，后续将追踪患儿病情进展和预后，揭示淋巴细胞亚群和细胞因子在VE和AE中的价值。

综上所述，外周血淋巴细胞亚群和细胞因子或可作为儿童VE和AE鉴别诊断的辅助指标。另外，VE与AE的免疫特征差异提示Th1/Th2和Th17/Treg失衡可能成为治疗的潜在靶点。

参考文献

- [1] 中华医学会神经病学分会神经感染性疾病与脑脊液细胞学学组. 中国自身免疫性脑炎诊治专家共识（2022年版）[J]. 中华神经科杂志, 2022, 55（9）: 931-949.
- [2] QIAO S, WU H K, LIU L L, et al. Characteristics and prognosis of autoimmune encephalitis in the east of China: a multi-center study[J]. Front Neurol, 2021, 12: 642078.
- [3] DUTRA L A, ABRANTES F, TOSO F F, et al. Autoimmune encephalitis: a review of diagnosis and treatment[J]. Arq Neuropsiquiatr, 2018, 76（1）: 41-49.
- [4] VAISVILAS M, PETROSIAN D, BAGDONAITIS L, et al. Seroprevalence of neuronal antibodies in diseases mimicking autoimmune encephalitis[J]. Sci Rep, 2024, 14（1）: 5352.
- [5] SARAVANOS G L, KING C L, DENG L, et al. Respiratory syncytial virus-associated neurologic complications in children: a systematic review and aggregated case series[J]. J Pediatr, 2021, 239: 39-49.
- [6] 中国初级卫生保健基金会病原检测专业委员会, 中国医疗保健国际交流促进会分子诊断学分会, 中国研究型医院学会神经科学专委会脑炎协作组. 病毒性脑（膜）炎病原体诊断技术应用专家共识[J]. 中华医学杂志, 2023, 103（9）: 648-657.
- [7] BOCCASAVIA V L, BOVOLENTA E R, VILLANUEVA A, et al. Antigen presentation between T cells drives Th17 polarization under conditions of limiting antigen[J]. Cell Rep, 2021, 34（11）: 108861.
- [8] ALISSAFI T, KALAFATI L, LAZARI M, et al. Mitochondrial oxidative damage underlies regulatory T cell defects in autoimmunity[J]. Cell Metab, 2020, 32（4）: 591-604.
- [9] 江载芳, 申昆玲, 沈颖. 诸福棠实用儿科学[M]. 8版. 北京: 人民卫生出版社, 2015.
- [10] 关鸿志. 病毒性脑炎的诊治[J]. 中华神经科杂志, 2022, 55（7）: 747-754.
- [11] O'DWYER D N, ASHLEY S L, GURCZYNSKI S J, et al. Lung microbiota contribute to pulmonary inflammation and disease progression in pulmonary fibrosis[J]. Am J Respir Crit Care Med, 2019, 199（9）: 1127-1138.
- [12] BOESEN M S, BORN A P, LYDOLPH M C, et al. Pediatric autoimmune encephalitis in Denmark during 2011-17: a nationwide multicenter population-based cohort study[J]. Eur J Paediatr Neurol, 2019, 23（4）: 639-652.
- [13] BONNARDEL J, GUILLIAMS M. Developmental control of macrophage function[J]. Curr Opin Immunol, 2018, 50: 64-74.
- [14] FRIESER D, PIGNATA A, KHAJAVI L, et al. Tissue-resident CD8⁺ T cells drive compartmentalized and chronic autoimmune damage against CNS neurons[J]. Sci Transl Med, 2022, 14（640）: eabl6157.
- [15] 王惠萍, 段丽芬, 孙莹, 等. 自身免疫性脑炎患儿免疫功能与近期预后的相关性分析[J]. 中国免疫学杂志, 2020, 36（23）: 2899-2903.
- [16] SPITERI A G, WISHART C L, PINGET G V, et al. NK cell profiling in West Nile virus encephalitis reveals potential metabolic basis for functional inhibition[J]. Immunol Cell Biol, 2024, 102（4）: 280-291.
- [17] 王蓓红, 张科. 病毒性脑炎患儿脑脊液白介素-6、肿瘤坏死因子、 γ 干扰素含量测定及其临床意义[J]. 实用临床医药杂志, 2012, 16（17）: 172-173.
- [18] GARASCHUK O, VERKHRATSKY A. Physiology of microglia[J]. Methods Mol Biol, 2019, 2034: 27-40.
- [19] BASU R, HATTON R D, WEAVER C T. The Th17 family: flexibility follows function[J]. Immunol Rev, 2013, 252（1）: 89-103.
- [20] SALIGRAMA N, ZHAO F, SIKORA M J, et al. Opposing T cell responses in experimental autoimmune encephalomyelitis[J]. Nature, 2019, 572（7770）: 481-487.
- [21] PEARL-YAFE M, FABIAN I, HALPERIN D, et al. Interferon-gamma and bacterial lipopolysaccharide act synergistically on human neutrophils enhancing interleukin-8, interleukin-1 β , tumor necrosis factor- α , and interleukin-12 p70 secretion and phagocytosis via upregulation of toll-like receptor 4[J]. Shock, 2007, 27（3）: 226-231.
- [22] ANNUNZIATO F, COSMI L, SANTARLASCI V, et al. Phenotypic and functional features of human Th17 cells[J]. J Exp Med, 2007, 204（8）: 1849-1861.

（收稿日期：2024-11-04；修回日期：2025-02-27）

（本文编辑：龚晓霖）