

DOI: 10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20244800

· 论 著 ·

流行性感 冒 患 儿 外 周 血 MAIT 细胞 的 免 疫 生 物 学 特 性

肖耿吉¹, 刘 静¹, 罗如平¹, 刘芙蓉¹, 姜 涛²

(湖南省儿童医院 1. 感染科; 2. 肝病科, 湖南 长沙 410007)

[摘 要] **目的** 探讨流行性感 冒 患 儿 外 周 血 黏 膜 相 关 恒 定 T(MAIT)细胞 的 变 化 及 其 临 床 意 义。**方 法** 选 取 2023 年 1—5 月 就 诊 于 某 儿 童 医 院 感 染 科 门 诊 和 住 院 治 疗 的 流 行 性 感 冒 患 儿, 分 为 普 通 型 组 和 重 症 型 组, 同 时 选 择 该 院 体 检 的 健 康 儿 童 作 为 健 康 对 照 组。患 儿 入 院 24 h 内 抽 血 送 检, 采 用 流 式 细 胞 技 术 检 测 MAIT 细胞 (CD3⁺ CD161⁺ TCRV α 7. 2⁺ 细胞) 比 例, 表 达 PD-1、CD69、穿 孔 素、CD107 α 的 MAIT 细胞 比 例, 比 较 各 组 差 异。**结 果** 与 对 照 组 相 比, 普 通 型、重 症 型 患 儿 外 周 血 MAIT 细胞 比 例 逐 步 下 降, 表 达 CD69 和 穿 孔 素 阳 性 的 MAIT 细胞 比 例 逐 步 升 高, 三 者 间 比 较, 差 异 均 有 统 计 学 意 义 (均 $P < 0.05$); 表 达 CD107 α 的 MAIT 细胞 比 例 比 较, 差 异 无 统 计 学 意 义 ($P > 0.05$); PD-1 阳 性 的 MAIT 细胞 比 例 升 高 ($P < 0.05$), 但 普 通 型、重 症 型 组 间 比 较, 差 异 无 统 计 学 意 义 ($P > 0.05$)。**结 论** 外 周 血 MAIT 细胞 减 少 伴 免 疫 活 化 在 流 行 性 感 冒 发 病 中 起 一 定 作 用。

[关 键 词] 流 行 性 感 冒; 黏 膜 相 关 恒 定 T 细 胞; MAIT 细 胞; 免 疫; 儿 童

[中 图 分 类 号] R725. 6

Immunobiological characteristics of peripheral blood MAIT cells in children with influenza

XIAO Geng-ji¹, LIU Jing¹, LUO Ru-ping¹, LIU Fu-rong¹, JIANG Tao² (1. Department of Infectious Disease; 2. Department of Liver Diseases, Hunan Children's Hospital, Changsha 410007, China)

[Abstract] **Objective** To investigate the changes and clinical significance of peripheral blood mucosal-associated invariant T (MAIT) cells in children with influenza. **Methods** Children with influenza who received treatment in the outpatient and inpatient departments of a children's hospital from January to May 2023 were selected and divided into the common type group and the severe type group. Healthy children who underwent physical examination in this hospital during the same period were selected as the healthy control group. Within 24 hours after admission, children's venous blood was drawn for testing; ratios of MAIT cells (CD3⁺ CD161⁺ TCRV α 7. 2⁺ cells) and MAIT cells expressing PD-1, CD69, perforin, and CD107 α were tested by flow cytometry, respectively. Differences among all the groups were compared. **Results** Compared with the control group, the proportion of peripheral blood MAIT cells in children with common and severe influenza gradually decreased, while the proportion of CD69-expressing and perforin-positive MAIT cells increased gradually. Differences were statistically significant (all $P < 0.05$). There was no statistically significant difference in the proportion of MAIT cells expressing CD107 ($P > 0.05$). The proportion of PD-1 positive MAIT cells increased ($P < 0.05$), but there was no statistically significant difference between the common type and severe type groups ($P > 0.05$). **Conclusion** The decrease of peripheral blood MAIT cells accompanied with immune activation plays a role in the pathogenesis of influenza.

[Key words] influenza; mucosal-associated invariant T cell; MAIT cell; immunization; child

[收稿日期] 2023-08-03

[基金项目] 湖南省卫生健康委科研计划项目(202206013688)

[作者简介] 肖耿吉(1982-),男(汉族),湖南省双峰县人,副主任医师,主要从事小儿感染性疾病研究。

[通信作者] 刘静 E-mail: ljhunancs@126.com

流行性感(简称流感)是由流感病毒引起的一种急性呼吸道传染病,已经多次在世界范围内引起暴发和流行,并对人类健康构成巨大的威胁。儿童是流感的高发人群及重症的高危人群^[1-3],部分重症病例病情进展快,易出现急性呼吸窘迫综合征和/或多脏器衰竭而死亡,免疫功能异常和基因背景的不同^[4]在儿童重症流感发病中起着重要作用,但其具体发病机制迄今尚未完全阐明^[3-4]。机体感染病毒时,黏膜相关恒定 T 细胞(mucosal-associated invariant T, MAIT)以不依赖主要组织相容性复合物相关蛋白 1(major histocompatibility complex class I-like molecule, MHC class I-related protein 1, MR1)的方式,而通过细胞因子(如 interleukin-2、12、15、18 等)的激活,释放炎症细胞因子(如 interferon- γ 、tumor necrosis factor- α 和 interleukin-17)、趋化因子、溶细胞产物穿孔素和颗粒酶分泌并脱颗粒(CD107a 暴露于细胞表面)等杀伤性细胞因子而介导快速免疫应答,促进炎症细胞活化和趋化的同时可调节先天免疫和适应性免疫^[5],进而发挥重要的抗病毒生物学效应。研究^[6-7]发现 MAIT 细胞在多种病毒感染中激活并起保护作用,增强病毒载体疫苗的免疫原性^[8]。目前有关 MAIT 细胞在流感发病机制中作用的研究甚少,本研究通过分析流感儿童外周血 MAIT 细胞的变化,探讨其临床价值。

1 对象与方法

1.1 研究对象 收集 2023 年 1—5 月就诊于湖南省儿童医院感染科门诊和住院治疗的流感患儿,参照儿童流感诊断与治疗专家共识(2020 年版)中的诊断标准^[3]进行诊断,并将患儿分为普通型和重症型,结合流行病学史、临床表现和流感抗原阳性(胶体金法),排除合并细菌、支原体或其他病原体的感染,心、肝、肾等器官功能缺陷,血液疾病、恶性肿瘤及自身免疫性疾病等;同时选择该院体检的健康儿童作为健康对照组,甲型、乙型流感病毒抗原阴性,无流感感染,无慢性疾病,近期无感染史等。

1.2 伦理与知情同意 所有研究对象均签署知情同意书,同意参加本次研究及标本采集。本研究获得该院伦理委员会批准(伦理批准号:HCHLL-

2020-4-0)。

1.3 检测方法 留取对照组、普通型和重症型流感组儿童(起病初期)外周血 3 mL,加入 PBS,吸取稀释后的外周血缓慢加到 lymphoprep 表面。全血在 400 g 室温下离心 20 min,收集第二层外周血免疫细胞并转入含有 PBS 的离心管中,离心机 800 g 室温下离心 10 min。离心结束后去上清,再加入 10 mL PBS,离心机 400 g 室温下离心 5 min,清洗外周血免疫细胞以彻底去除残留的 lymphoprep。根据标准方案使用以下抗体:CD279(PD-1)、CD3、TCRV α 7.2、CD69、CD161、CD107 α 、CD4 和穿孔素抗体进行染色,上流式细胞仪(三激光八色流式细胞分析仪,型号:Facscantoll,产地:美国)进行分析。外周血中 MAIT 细胞定义为 CD3⁺CD161⁺TCRV α 7.2⁺细胞。

1.4 统计学方法 应用 SPSS 23.0 软件进行统计学分析。非正态分布的计量资料采用中位数(四分位数)[$M(P_{25}, P_{75})$]表示,组间比较采用 *Kruskal-Wallis* 检验,以 $P \leq 0.05$ 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 一般临床资料 共收集流感患儿 44 例,其中重症型 22 例,普通型 22 例,并选择 22 例健康儿童作为对照组。普通型流感组中男性 12 例(54.55%),女性 10 例(45.45%),年龄 2.8~7.0 岁;重症型流感组中,男性 11 例(50.00%),女性 11 例(50.00%),年龄 1.0~8.5 岁;对照组中,男性 10 例(45.45%),女性 12 例(54.55%),年龄 1.0~8.5 岁;三组患儿年龄比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。所有患儿在治疗后均痊愈。

2.2 外周血 MAIT 细胞、表型及功能的变化 与对照组相比,普通型、重症型组流感患儿外周血 MAIT 细胞比例下降,表达 CD69 和穿孔素阳性的 MAIT 细胞比例升高,三组间比较差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$);三组间 CD107 α 阳性 MAIT 细胞比例比较,差异无统计学意义($P > 0.05$);三组间 PD-1 阳性的 MAIT 细胞比例比较,差异有统计学意义($P < 0.05$),但普通型与重症型组间比较,差异无统计学意义($P > 0.05$)。见表 1。

表 1 普通型、重症型流感患儿外周血 MAIT 细胞、表型及功能的变化

Table 1 Peripheral blood MAIT cells, phenotype, and function changes in children with common and severe influenza

项目	重症型组①	普通型组②	对照组③	Z	P	组间比较
年龄(岁)	4.50(3.44,5.08)	4.29(2.19,6.13)	3.75(3.00,5.02)	0.925	0.630	/
MAIT 细胞(%)	0.29(0.09,0.74)	0.91(0.85,0.96)	1.31(1.12,1.52)	36.964	<0.001	③>②①,②>①
CD69 ⁺ MAIT 细胞(%)	57.90(54.25,64.68)	43.80(39.76,46.89)	19.40(14.88,30.93)	53.524	<0.001	③<②①,②<①
CD279(PD-1) ⁺ MAIT 细胞(%)	20.85(11.15,34.50)	12.90(4.51,28.18)	4.90(2.24,15.53)	10.820	0.004	③<②①
CD107α ⁺ MAIT 细胞(%)	34.65(5.43,96.73)	13.03(10.89,18.50)	11.40(7.01,19.30)	3.518	0.172	/
穿孔素 ⁺ MAIT 细胞(%)	86.25(74.54,96.63)	50.45(37.96,64.05)	4.34(1.36,11.20)	52.111	<0.001	③<②①,②<①

注:/表示无数据。

3 讨论

流行性感起病急骤,以高热、头痛、全身肌肉酸痛、乏力和轻度呼吸道症状为主要临床表现。流感病毒的反复变异及免疫逃避机制可引起频繁季节性或世界性大流行^[9]。病毒的直接炎症损伤和继发的免疫炎症反应可导致机体肺组织损伤,而炎症反应的进一步加重,可导致机体出现急性呼吸窘迫综合征、脑炎等多系统、多脏器的受累及损伤,甚至死亡^[2]。因此,对机体抗流感病毒免疫反应的研究,在抗流感新药物的研究和流感流行的防控中至关重要。

MAIT 细胞是最丰富的 TCRαβ⁺ T 细胞,主要分布于外周血、肝、肺和肠道固有层淋巴组织中,其表面可表达激活(CD69、HLA-DR 和 CD38 等)、免疫耗竭(PD-1 和 CTLA-4 等)及归巢标记物等。MAIT 细胞占呼吸道黏膜 T 细胞的 10%,以 MR1 依赖或不依赖 MR1 方式被激活,在呼吸道感染早期的先天防御中发挥着重要作用^[10]。研究^[11-14]发现在 IL-18 的辅助下,流感病毒可在体外以不依赖于 MR1 的方式诱导 MAIT 细胞的活化,CD38、CD69、IFN-γ 和颗粒酶 B 表达明显上调;MAIT 细胞在 H1N1 和 H3N2 感染小鼠肺部积聚并被激活,伴 CD25、CD69 和颗粒酶 B 的表达上调;急性甲型流感病毒感染患者中,外周血 MAIT 细胞频率降低伴颗粒酶 B 表达增加^[11],H7N9 感染者外周血 MAIT 细胞水平随着病情的加重出现进行性下降^[12]。本研究亦发现,与对照组相比,普通型和重症型流感患儿外周血 MAIT 细胞水平逐步下降,伴 CD69 和穿孔素阳性 MAIT 细胞比例逐步升高,而 CD107α 阳性 MAIT 细胞和体外刺激结果一样变化不显著^[12]。由此可见,流行性感起病急骤,以高热、头痛、全身肌肉酸痛、乏力和轻度呼吸道症状为主要临床表现。流感病毒的反复变异及免疫逃避机制可引起频繁季节性或世界性大流行^[9]。病毒的直接炎症损伤和继发的免疫炎症反应可导致机体肺组织损伤,而炎症反应的进一步加重,可导致机体出现急性呼吸窘迫综合征、脑炎等多系统、多脏器的受累及损伤,甚至死亡^[2]。因此,对机体抗流感病毒免疫反应的研究,在抗流感新药物的研究和流感流行的防控中至关重要。

MAIT 细胞减少的同时伴有免疫激活。

MAIT 细胞的激活在清除病毒、限制病毒的复制和传播中起着至关重要的作用,然而,过度免疫系统反应可加重机体病理损伤。负调节因子 PD-1 和 PD-L1 之间的相互作用传递双向抑制信号,限制下游激活、增殖和细胞因子的产生,与组织保护作用有关,可防止因免疫反应加剧而造成的严重损伤^[15]。目前,流行性感起病急骤,以高热、头痛、全身肌肉酸痛、乏力和轻度呼吸道症状为主要临床表现。流感病毒的反复变异及免疫逃避机制可引起频繁季节性或世界性大流行^[9]。病毒的直接炎症损伤和继发的免疫炎症反应可导致机体肺组织损伤,而炎症反应的进一步加重,可导致机体出现急性呼吸窘迫综合征、脑炎等多系统、多脏器的受累及损伤,甚至死亡^[2]。因此,对机体抗流感病毒免疫反应的研究,在抗流感新药物的研究和流感流行的防控中至关重要。

MAIT 细胞在病毒感染中有助于疾病严重程度的预测和提高疫苗效力^[18],研究^[7]发现核黄素可增强 MAIT 细胞免疫和肠道菌群多样性的潜在作用,进而增强老鼠对流感的抵抗力,并有望应用于人体流感的治疗。临床上怎样平衡 MAIT 细胞的保护作用 and 过度免疫反应导致机体的损伤,从而最大限度地发挥 MAIT 细胞的保护作用有待进一步研究。

综上所述,流感患儿外周血 MAIT 细胞减少的同时伴有免疫活化,在流行性感起病中起着一定作用。本课题由于时间及客观因素,收集到的病例数量有限,且未对流感患儿肺部 MAIT 细胞情况进行研究,无法全面了解其在流感发病中的作用,且无法获得疾病严重程度判断的具体数值,有待进一步研究。

利益冲突:所有作者均声明不存在利益冲突。

[参 考 文 献]

- [1] Lai XZ, Rong HG, Ma XC, et al. The economic burden of influenza-like illness among children, chronic disease patients, and the elderly in China; a national cross-sectional survey[J]. *Int J Environ Res Public Health*, 2021, 18(12): 6277.
- [2] 于芹, 周慧, 张涛, 等. 儿童流行性感冒相关死亡病例临床特点及危险因素分析[J]. *中华儿科杂志*, 2020, 58(11): 910-916.
- Yu Q, Zhou H, Zhang T, et al. Analysis of clinical characteristics and risk factors of influenza-related deaths in children [J]. *Chinese Journal of Pediatrics*, 2020, 58(11): 910-916.
- [3] 国家呼吸系统疾病临床医学研究中心, 中华医学会儿科学分会呼吸学组. 儿童流感诊断与治疗专家共识(2020年版)[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2020, 35(17): 1281-1288.
- China National Clinical Research Center for Respiratory Diseases, Group of Respiriology, Chinese Pediatric Society, Chinese Medical Association. Expert consensus on diagnosis and treatment of influenza in children (2020 edition)[J]. *Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 2020, 35(17): 1281-1288.
- [4] 秦强, 申昆玲. 儿童重症流感发病机制[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2019, 34(2): 98-101.
- Zou Q, Shen KL. Pathogenesis of severe influenza in children [J]. *Chinese Journal of Applied Clinical Pediatrics*, 2019, 34(2): 98-101.
- [5] Kurioka A, Jahun AS, Hannaway RF, et al. Shared and distinct phenotypes and functions of human CD161⁺⁺ V α 7.2⁺ T cell subsets[J]. *Front Immunol*, 2017, 8: 1031.
- [6] Phetsouphanh C, Phalora P, Hackstein CP, et al. Human MAIT cells respond to and suppress HIV-1[J]. *Elife*, 2021, 10: e50324.
- [7] Li Y, Shi CW, Zhang YT, et al. Riboflavin attenuates influenza virus through cytokine-mediated effects on the diversity of the gut microbiota in MAIT cell deficiency mice[J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 916580.
- [8] Provine NM, Amini A, Garner LC, et al. MAIT cell activation augments adenovirus vector vaccine immunogenicity[J]. *Science*, 2021, 371(6528): 521-526.
- [9] 黄梦婷, 张森, 李靖, 等. 流感病毒免疫逃逸机制研究进展[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 2020, 34(6): 671-676.
- Huang MT, Zhang S, Li J, et al. Progress in research on immune escape mechanisms of influenza virus[J]. *Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology*, 2020, 34(6): 671-676.
- [10] Long YQ, Hinks TSC. MAIT cells in respiratory viral infections in mouse and human[J]. *Crit Rev Immunol*, 2021, 41(5): 19-35.
- [11] Van Wilgenburg B, Scherwitzl I, Hutchinson EC, et al. MAIT cells are activated during human viral infections[J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11653.
- [12] Loh L, Wang ZF, Sant S, et al. Human mucosal-associated invariant T cells contribute to antiviral influenza immunity via IL-18-dependent activation[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(36): 10133-10138.
- [13] Luukkainen A, Puan KJ, Yusof N, et al. A co-culture model of PBMC and stem cell derived human nasal epithelium reveals rapid activation of NK and innate T cells upon influenza a virus infection of the nasal epithelium[J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 2514.
- [14] Loh L, Koutsakos M, Kedzierska K, et al. Influenza a virus-infected lung epithelial cell co-culture with human peripheral blood mononuclear cells[J]. *Methods Mol Biol*, 2020, 2098: 141-147.
- [15] Yong YK, Saeidi A, Tan HY, et al. Hyper-expression of PD-1 is associated with the levels of exhausted and dysfunctional phenotypes of circulating CD161⁺⁺ TCR iV α 7.2⁺ mucosal-associated invariant T cells in chronic hepatitis B virus infection [J]. *Front Immunol*, 2018, 9: 472.
- [16] van Wilgenburg B, Loh L, Chen ZJ, et al. MAIT cells contribute to protection against lethal influenza infection in vivo [J]. *Nat Commun*, 2018, 9(1): 4706.
- [17] Youngs J, Provine NM, Lim N, et al. Identification of immune correlates of fatal outcomes in critically ill COVID-19 patients[J]. *PLoS Pathog*, 2021, 17(9): e1009804.
- [18] Rashu R, Ninkov M, Wardell CM, et al. Targeting the MR1-MAIT cell axis improves vaccine efficacy and affords protection against viral pathogens [J]. *PLoS Pathog*, 2023, 19(6): e1011485.

(本文编辑:陈玉华)

本文引用格式:肖耿吉,刘静,罗如平,等. 流行性感胃患儿外周血 MAIT 细胞的免疫生物学特性[J]. *中国感染控制杂志*, 2024, 23(5): 582-585. DOI:10.12138/j.issn.1671-9638.20244800.

Cite this article as: XIAO Geng-ji, LIU Jing, LUO Ru-ping, et al. Immunobiological characteristics of peripheral blood MAIT cells in children with influenza[J]. *Chin J Infect Control*, 2024, 23(5): 582-585. DOI: 10.12138/j.issn.1671-9638.20244800.