

预防性应用头孢硫脒对早产儿早期免疫功能的影响

李 凯 孙 美 李 略 王清萍 张士发

(皖南医学院第一附属医院 弋矶山医院 儿科 安徽 芜湖 241001)

【摘要】目的: 探讨静脉预防性应用头孢硫脒对早产儿早期免疫功能的影响。方法: 选取本院 NICU 病房收治、胎龄 32 ~ 34 周、自然分娩、胎膜早破(时间 < 18 h)、入院年龄 ≥ 6 h 但 < 24 h, 临床表现稳定尚无明确感染症状的早产儿, 随机分为预防组(预防性应用头孢硫脒)和对照组(暂不使用抗生素)。两组早产儿分别于出生后第 1 天(P1)及第 14 天(P14)经桡动脉检测 IFN-γ、IL-4 水平(ELISA)和淋巴细胞亚群(流式细胞术)。结果: 两组共 65 例早产儿完成本研究, 预防组 33 例, 对照组 32 例, 两组在性别、胎龄、出生体质量、胎膜早破时间和 Apgar 评分间的比较, 差异均无统计学意义(P > 0.05)。两组早产儿外周血各淋巴细胞亚群的百分率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值间的比较, 在 P1 差异均无统计学意义(P > 0.05)。至 P14, 预防组早产儿外周血 CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD16⁺CD56⁺ 细胞百分率、CD4⁺/CD8⁺ 比值低于对照组, CD3⁺CD8⁺T 细胞百分率高于对照组, 差异均有统计学意义(P < 0.05); CD19⁺ 细胞百分率高于对照组, 差异无统计学意义(P > 0.05)。血浆 IFN-γ、IL-4 水平和 Th1/Th2 (IFN-γ/IL-4) 比值, 在 P1 两组早产儿间的比较, 差异均无统计学意义(P > 0.05)。至 P14, 预防组 IFN-γ 水平、Th1/Th2 比值低于对照组, IL-4 水平高于对照组, 差异均有统计学意义(P < 0.05)。结论: 预防性应用头孢硫脒可能引起早产儿出现早期免疫功能紊乱, 尤其是细胞免疫功能。

【关键词】头孢硫脒; 早产儿; 淋巴细胞亚群; Th1/Th2 (IFN-γ/IL-4)

【中图分类号】R 95; R722.6 **【文献标志码】**A

【DOI】10.3969/j.issn.1002-0217.2018.03.010

Effect of prophylactic cefathiamidine on immune function of preterm infants at early stage

LI Kai SUN Mei LI Lue WANG Qingping, ZHANG Shifa

Department of Pediatrics, The First Affiliated Hospital of Wannan Medical College, Wuhu 241001, China

【Abstract】Objective: To observe the effects of prophylactic intravenous cefathiamidine on the early immune function of premature infants. **Methods:** Premature infants (gestational age: 32 - 34 week, natural birth, premature rupture of membranes (< 18 h), admission age ≥ 6 h < 24 h, stable clinical manifestation, absent of infection symptoms) admitted to the neonatal intensive care unit (NICU) in our hospital were randomly divided into prophylactic group (treated with cefathiamidine) and control group (absence of antibiotics). Blood samples were obtained from the two groups of neonates via radial artery at postnatal day 1 (P1) and 14 (P14). Enzyme linked immunosorbent assay (ELISA) was performed to determine the plasma IFN-γ and IL-4 levels, and flow cytometry was used to detect the lymphocyte subsets. **Results:** Totally, 65 preterm newborns were included in the prophylactic group (n = 33) and control group (n = 32). There was no significant difference concerning the gender, gestational age, birth weight, the time for premature rupture of membrane and Apgar score as well as the percentage of peripheral blood lymphocyte subsets and CD4⁺/CD8⁺ ratio on P1 between groups (P > 0.05). Significantly lower percentage of CD3⁺CD4⁺T cells, CD4⁺/CD8⁺ ratio and NK cells, yet notably elevated CD3⁺CD8⁺T cells were found in prophylactic group (P < 0.05). B lymphocyte antigen CD19⁺ percentage was not statistically different on P14 between the two groups (P > 0.05). The plasma levels of IFN-γ and IL-4 as well as Th1/Th2 (IFN-γ/IL-4) ratio on P1 had no statistical difference between groups (P > 0.05), yet the IFN-γ levels and Th1/Th2 (IFN-γ/IL-4) ratio were significantly lower, and IL-4 levels were increased in the prophylactic group on P14 as compared with the control group (P < 0.05). **Conclusion:** Prophylactic use of cefathiamidine may cause disorder of immune function, especially the cellular immune dysfunction in premature infants at early stage.

【Key words】 cefathiamidine; premature infants; lymphocyte subsets; T-helper type 1/2 cytokine (IFN-γ/IL-4)

基金项目: 安徽省高校省级自然科学研究重点项目 (KJ2013A252)

收稿日期: 2017-10-18

作者简介: 李 凯 (1990-) 男, 2015 级硕士研究生, (电话) 15212214329, (电子信箱) 363066863@qq.com;

张士发 男, 主任医师, 副教授, 硕士生导师, (电子信箱) wuhuzhangsf@163.com 通信作者。

早产儿因各器官和系统发育不成熟,出生后需入住新生儿重症监护病房(neonatal intensive care unit, NICU),早产儿在生后第一周内为细菌、病毒感染的高危人群^[1],为预防感染的发生,目前国内外多数NICU对于具有发生感染高危因素的早产儿,生后即刻给予预防性抗生素治疗^[2-3]。而β-内酰胺类抗生素是最广泛使用的抗生素^[4],国外专家推荐使用青霉素联合氨基糖甙类^[5],而氨基糖甙类在国内禁用;注射用头孢硫脒(cefathiamidine for injection)为我国研制的第一代头孢菌素^[6],较常用于预防性抗感染治疗。早产儿生后即刻预防性应用头孢硫脒是否对早产儿免疫功能状态产生一定的影响?目前相关报道较少。本研究拟通过观察头孢硫脒应用前后对胎膜早破早产儿外周血淋巴细胞亚群CD3⁺CD4⁺、CD3⁺CD8⁺T、CD16⁺CD56⁺、CD19⁺细胞比例及Th亚群(Th1/Th2)平衡状态的变化,初步了解注射用头孢硫脒对早产儿部分免疫功能的影响。

1 资料与方法

1.1 临床资料 选取2013年12月~2016年11月我院NICU收住的早产儿。经医院伦理委员会批准,患儿家长签署知情同意书,将符合入选标准的早产儿,按入院时间先后顺序进行序列编号,通过随机数字表获得80个随机数字,根据随机号大小分组,大号为预防组,小号为对照组。预防组入院后即刻应用头孢硫脒(广州白云制药股份有限公司),50 mg/(kg·d),q12 h,静脉滴注,疗程48~72 h^[5];对照组,暂不使用任何抗生素。两组患儿入院后均实施感染筛查和监测相结合的措施,立即行外周血白细胞计数分类、CRP、降钙素原(procalcitonin, PCT)、血培养等感染指标筛查,每6~12 h复查,持续监测至入院后72 h,预防组排除感染,停用抗生素;如确诊感染,结合临床表现及生物学指标,及时调整抗生素。对照组在监测期间出现感染的临床表现及时加用相应抗生素。两组早产儿入院后立即入暖箱,并开始早产儿配方奶喂养,辅以肠道外营养(外周静脉)。

1.1.1 入选标准 胎龄为32~34⁺周,入院年龄≥6 h但<24 h,临床表现稳定、无明确感染症状、胎膜早破时间<18 h^[3]、自然分娩的早产儿。

1.1.2 排除标准 有家族免疫缺陷病、先天性免疫

缺陷、先天畸形、入院时确诊感染及母亲产前发热、感染或曾使用糖皮质激素等免疫抑制剂或抗生素的早产儿均不纳入本研究。

1.1.3 退出标准 所有入选病例,入院后2周内出现下列任何一种情况退出本研究,如需要各种呼吸支持、其他侵入性操作如气管插管、中心静脉置管等,确诊为感染或出现并发症,特殊药物的使用(肠道益生菌、血浆、丙种球蛋白、白蛋白、糖皮质激素、H₂受体阻滞剂等),住院时间<2周。

1.2 标本的采集及指标检测 各组早产儿于出生后第1天(postnatal day 1, P1)治疗前和P14经桡动脉取血3 mL,1.5 mL血样EDTA抗凝,4 000 r/min离心5 min,取上清液放于-70℃低温冰箱保存备用。采用ELISA检测血浆干扰素-γ(interferon-γ, IFN-γ)和白介素-4(Interleukin-4, IL-4)水平(试剂盒均由南京森贝伽工程股份有限公司提供)。另1.5 mL血样EDTA抗凝,于12 h内进行淋巴细胞亚群检测,采用Beckman Coulter公司Epics XL型流式细胞仪及Epics Software进行总T细胞(CD3⁺)、辅助性T淋巴细胞(T helper lymphocytes, Th; CD3⁺CD4⁺)、细胞毒性T淋巴细胞(cytotoxic T lymphocytes, CTL; CD3⁺CD8⁺)、自然杀伤细胞(natural killer, NK; CD16⁺CD56⁺)和B细胞(CD19⁺)的检测和数据分析。

1.3 统计学处理 采用SPSS 18.0统计软件进行数据处理分析。非正态分布的计量资料采用中位数(四分位间距)[M(P₂₅, P₇₅)]表示,用非参数检验的Mann-Whitney U检验;正态分布的计量资料采用均数±标准差表示,两组间比较采用t检验;计数资料采用百分率表示,两组间的比较采用χ²(校正)检验。P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组共65例早产儿完成研究,其一般情况无统计学差异(见表1)。共16例退出本研究,对照组9例,2例确诊感染,1例发生新生儿呼吸窘迫综合征,2例因喂养不耐受行外周静脉穿刺中心静脉置管术,3例因呼吸暂停行辅助通气,1例发生肺出血;预防组7例,1例确诊感染,2例发生新生儿呼吸窘迫综合征,2例因喂养不耐受行外周静脉穿刺中心静脉置管术,2例因呼吸暂停行辅助通气。

表1 两组完成研究的早产儿一般情况比较

组别	n	性别		胎龄 M(P ₂₅ , P ₇₅)/周	出生体质量 ($\bar{x} \pm s$)/kg	Apgar 评分 M(P ₂₅ , P ₇₅)	胎膜早破时间 M(P ₂₅ , P ₇₅)/h
		男	女				
对照组	32	19	13	33(32, 33.8)	1.92 ± 0.39	8(8, 9)	6(4, 11.8)
预防组	33	18	15	33(32, 33.5)	1.90 ± 0.29	8.5(8, 9)	7(4, 13)
$\chi^2/Z/t$		0.155		0.708	0.236	1.499	0.436
P		0.804		0.479	0.814	0.134	0.663

2.2 淋巴细胞亚群 P1,两组早产儿外周血各淋巴细胞亚群的百分率及 CD4⁺/CD8⁺ 比值的比较,差异均无统计学意义(P > 0.05)。至 P14,预防组早产儿外周血 CD3⁺CD4⁺T 细胞百分率均低于对照组(49.90 ± 8.53% vs. 54.61 ± 6.38% $t = 2.51, P = 0.02$),CD3⁺CD8⁺T 细胞百分率高于对照组(21.87 ± 3.44% vs. 18.34 ± 5.24% $t = -3.22, P = 0.00$),CD4⁺/CD8⁺ 比值低于对照组(2.36 ± 0.71 vs. 3.25 ± 1.10 $t = 3.87, P = 0.00$),CD16⁺CD56⁺ 细胞百分率低于对照组[4.11(2.65, 5.10)% vs. 7.91(5.93, 9.45)% $Z = -4.86, P = 0.00$],上述的差异均有统计学意义(P < 0.05);CD19⁺ 细胞百分率高于对照组 [(11.18(8.5, 12.1) vs. 9.86(8.95, 11.28) $Z = -1.33, P = 0.16$],差异无统计学意义(P > 0.05)。

2.3 Th1、Th2 类细胞因子 INF- γ 、IL-4 水平及 Th1/Th2(INF- γ /IL-4) 比值 P1,两组早产儿血浆 INF- γ 、IL-4 水平和 INF- γ /IL-4 的比值的比较,差异均无统计学意义(P > 0.05)。至 P14,预防组 INF- γ 水平低于对照组(238.40 ± 7.79 vs. 243.57 ± 6.18 $t = 2.96, P = 0.00$),IL-4 水平高于对照组(246.87 ± 6.39 vs. 230.30 ± 8.71 $t = 8.76, P = 0.00$),INF- γ /IL-4 比值低于对照组(0.967 ± 0.422 vs. 1.060 ± 0.053 $t = 7.78, P = 0.00$),差异均有统计学意义(P < 0.05)。

3 讨论

早产儿出生后最初几周是早产儿固有免疫发育的重要“窗口期”,此期接触的各种不同刺激均可能改变固有免疫发育的“轨迹”^[7],其中抗生素暴露是早产儿早期接受最频繁的刺激之一^[8-9]。早期静脉预防性应用头孢硫脒,将有可能导致早产儿在早期发生免疫功能失衡。

本研究结果发现:静脉预防性应用头孢硫脒在早期已对早产儿的 CD3⁺CD4⁺T、CD3⁺CD8⁺T、CD16⁺CD56⁺ 细胞、CD19⁺ 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值产生一定的影响。树突细胞(dendritic cells,DCs)

数量、分泌的细胞因子类型及其表达的主要组织相容性复合体分子类型的变化将影响 T 细胞增殖后向 Th 细胞和 CTL 细胞分化方向^[11],从而导致 CD3⁺CD4⁺T、CD3⁺CD8⁺T 细胞百分率和 CD4⁺/CD8⁺ 比值发生变化。Gonzalez-Perez 等研究发现^[10],孕鼠分娩前应用抗生素治疗 3~5 d,子代新生小鼠 NK 细胞百分率明显减少。B 细胞(CD19⁺)不仅作为 APCs 参与调节 T 细胞的活化,同时也可接受其他 APCs 提呈的抗原刺激而活化,其在外周血百分率与年龄呈负相关^[11]。上述的结果表明,早产儿预防性应用头孢硫脒,可能导致早产儿在早期发生部分免疫功能的失衡。

CD3⁺CD4⁺T 细胞在不同种类细胞因子的调控下将进一步分化为不同亚群,新生儿出生后 Th1 和 Th2 细胞亚群间的平衡受多种因素影响^[12]。乳酸杆菌、双歧杆菌、厚壁菌门可上调肠相关淋巴组织(gut-associated lymphoid tissue,GALT)中 DCs 的 IL-12、INF- γ mRNA 表达^[13]。早产儿预防性应用头孢硫脒后,可能因肠道微生物群的失调而下调 DCs 的 IL-12、INF- γ mRNA 表达,加之低百分率的 NK 细胞,导致 IL-12 等细胞因子刺激 NK 细胞分泌的 INF- γ 水平进一步减低,致使 Th 分化发生偏移,不利于其向 Th1 细胞的方向分化,影响 Th1 和 Th2 细胞亚群之间的平衡。有研究发现^[14],T 细胞摄取 β -内酰胺类抗生素共价修饰血浆的白蛋白,上/下调许多和 T 细胞分化相关的基因表达,因此头孢硫脒也可能通过上调 Th2 分化相关基因表达,影响早产儿 Th1 和 Th2 细胞亚群间的平衡。本研究表明预防性应用头孢硫脒可能导致早产儿在新生儿早期 Th 细胞分化趋于 Th2 极化。

总之,出生后即刻静脉预防性应用头孢硫脒,对早产儿早期的固有和适应性免疫应答均可能产生一定影响,CD4⁺/CD8⁺ 比值和 NK 细胞百分率下降,Th1/Th2 平衡趋于 Th2 方向,并对 B 细胞也产生一定影响,但是否增加日后发生免疫性及过敏性疾病的风险还需进一步研究。

(下转第 246 页)

- [3] LUBICZ B ,MORAIS R ,BRUYERE PJ *et al.* Stent-assisted coiling of wide-neck bifurcation aneurysms with a branch incorporated in the aneurysm base:long-term follow-up in 49 patients with 53 aneurysms[J]. *Neuroradiology* 2017 59(6):619-624.
- [4] ADEEB N ,PATEL AS ,GRIESENNAUER CJ *et al.* 114 Treatment of bifurcation aneurysms using single stent-coiling with relation to aneurysm configuration:a cohort study of two academic institutions in the United States[J]. *Neurosurgery* 2016 63 Suppl 1:148.
- [5] DU EH ,SHANKER JJ. LVIS Jr 'shelf' technique:an alternative to Y stent-assisted aneurysm coiling[J]. *J Neurointerv Surg* 2016 8(12):1256-1259.
- [6] DARFLINGER RJ ,CHAO K. Using the barrel technique with the LVIS Jr (low-profile visualized intraluminal support) stent to treat a wide neck MCA bifurcation aneurysm[J]. *J Vasc Interv Neurol* , 2015 8(3):25-27.
- [7] GEYIK S ,YAVUZ K ,YURTTUTAN N *et al.* Stent-assisted coiling in endovascular treatment of 500 consecutive cerebral aneurysms with long-term follow-up [J]. *AJNR Am J Neuroradiol* ,2013 ,34(11):2157-2162.
- [8] ZHANG X ,ZHONG J ,GAO H *et al.* Endovascular treatment of intracranial aneurysms with the LVIS device:a systematic review[J]. *J Neurointerv Surg* 2017 9(6):553-557.
- [9] PHAN K ,HUO YR ,JIA F *et al.* Meta-analysis of stent-assisted coiling versus coiling-only for the treatment of intracranial aneurysms[J]. *J Clin Neurosci* 2016 31:15-22.
- [10] WALCOTT BP ,STAPLETON CJ ,CHOUDHRI O *et al.* Flow Diversion for the Treatment of Intracranial Aneurysms [J]. *JAMA Neurol* 2016 73(8):1002-1008.
- [11] DURST CR ,STARKE RM ,GAUGHEN JR *et al.* Single-center experience with a dual microcatheter technique for the endovascular treatment of wide-necked aneurysms [J]. *J Neurosurg* ,2014 ,121(5):1093-1101.
- [12] YIN L ,WEI M ,REN H. Double microcatheter technique for coil embolization of small aneurysms with unfavorable configurations:A comparative study of the aneurysms that are ≤ 3 mm or > 3 mm [J]. *Interv Neuroradiol* 2016 22(2):158-164.
- [13] STARKE RM ,DURST CR ,EVANS A *et al.* Endovascular treatment of unruptured wide-necked intracranial aneurysms:comparison of dual microcatheter technique and stent-assisted coil embolization [J]. *J Neurointerv Surg* 2015 7(4):256-261.

(上接第 242 页)

【参考文献】

- [1] QUINELLO C , SILVEIRA-LESSA AL ,CECCON ME. Phenotypic differences in leucocyte populations among healthy preterm and full-term newborns[J]. *Scand J Immunol* 2014 80(1):57-70.
- [2] SCHULMAN J ,DIMAND RJ ,LEE HC *et al.* Neonatal intensive care unit antibiotic use[J]. *Pediatrics* ,2015 ,135(5):826-833.
- [3] KUZNIEWICZ MW ,WALSH EM ,LI S *et al.* Development and implementation of an early-onset sepsis calculator to guide antibiotic management in late preterm and term neonates[J]. *Jt Comm J Qual Patient Saf* 2016 42(5):232-239.
- [4] WILBAUX M ,FUCHS A ,SAMARDZIC J *et al.* Pharmacometric approaches to personalize use of primarily renally eliminated antibiotics in preterm and term neonates[J]. *J Clin Pharmacol* 2016 , 56(8):909-935.
- [5] TZIALLA C ,BORGHESI A ,SERRA G ,*et al.* Antimicrobial therapy in neonatal intensive care unit[J]. *Ital J Pediatr* , 2015 , 41: 27.
- [6] 陈新谦,金有豫,汤光.新编药理学[M].17版.北京:人民卫生出版社,2011:59.
- [7] MELVILLE JM ,MOSS TJ. The immune consequences of preterm birth[J]. *Front Neurosci* 2013 ,7: 79.
- [8] COTTEN CM. Adverse consequences of neonatal antibiotic exposure[J]. *Curr Opin Pediatr* 2016 28(2):141-149.
- [9] NGUYEN DN ,JIANG P ,FROKIAER H *et al.* Delayed development of systemic immunity in preterm pigs as a model for preterm infants[J]. *Sci Rep* 2016 6:36816.
- [10] GONZALEZ-PEREZ G ,HICKS AL ,TEKIELI TM *et al.* Maternal antibiotic treatment impacts development of the neonatal intestinal microbiome and antiviral immunity [J]. *J Immunol* , 2016 , 196(9):3768-3779.
- [11] VALIATHAN R ,ASHMAN M ,ASTHANA D. Effects of Ageing on the immune system: infants to elderly [J]. *Scand J Immunol* , 2016 83(4):255-266.
- [12] SAVA F ,TOLDI G ,HAJDU J *et al.* Expression of lymphocyte activation markers of preterm neonates is associated with perinatal complications[J]. *BMC Immunol* 2016 ,17(1):19.
- [13] FUJIMURA KE ,LYNCH SV. Microbiota in allergy and asthma and the emerging relationship with the gut microbiome [J]. *Cell Host Microbe* , 2015 ,17(5):592-602.
- [14] MOR F ,COHEN IR. Beta-lactam antibiotics modulate T-cell functions and gene expression via covalent binding to cellular albumin [J]. *Proc Natl Acad Sci USA* , 2013 ,110(8): 2981-2986.