

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2017.25.012

EB 病毒感染对儿童传染性单核细胞增多症 T 细胞亚群的影响*

崔强华¹, 孙莉¹, 吴琳¹, 方萍²

(1. 陕西省汉中市人民医院儿科 723000; 2. 西安交通大学第二附属医院呼吸内科, 西安 710004)

[摘要] **目的** 观察 EB 病毒(EBV)感染对儿童传染性单核细胞增多症(IM)T 细胞亚群的影响。**方法** 选取 2013 年 1 月至 2016 年 1 月陕西省汉中市人民医院儿科收治的 80 例 IM 患儿作为研究对象,所有患儿均接受抗病毒治疗,观察患儿治疗后的 EBV-DNA 转阴率。比较 EBV-DNA 阳性及阴性患儿的 T 细胞亚群分布,分析 EBV-DNA 未转阴的相关因素。**结果** 经过治疗后,67 例(83.75%)患儿 EBV-DNA 转阴。治疗后,EBV-DNA 阴性组 CD3⁺ 和 CD8⁺ 比例低于 EBV-DNA 阳性组,CD4⁺ 比例和 CD4⁺/CD8⁺ 高于 EBV-DNA 阳性组,差异有统计学意义($P < 0.05$)。对患儿 EBV-DNA 未转阴的相关因素进行分析:性别、白细胞计数(WBC)及淋巴细胞计数与 EBV-DNA 转阴无相关性($P > 0.05$),干扰素的使用、年龄及初始 Ct 与 EBV-DNA 未转阴具有相关性($P < 0.05$)。**结论** EB 病毒感染可以引起 IM 患儿 T 细胞亚群的紊乱,临床上应采取积极的抗病毒治疗。

[关键词] 疱疹病毒 4 型,人;传染性单核细胞增多症;T 细胞亚群**[中图分类号]** R725**[文献标识码]** A**[文章编号]** 1671-8348(2017)25-3491-03

Influence of Epstein-Barr virus infection on T cell subset in children with infectious mononucleosis*

Cui Qianghua¹, Sun Li¹, Wu Lin¹, Fang Ping²

(1. Department of Pediatrics, Hanzhong Municipal People's Hospital, Hanzhong, Shaanxi 723000, China; 2. Department of Respiration Medicine Second Affiliated Hospital of Xi'an Jiaotong University, Xi'an, Shaanxi 710004, China)

[Abstract] **Objective** To observe the influence of Epstein-Barr virus(EBV) infection on T cell subsets in children with infectious mononucleosis(IM). **Methods** Eighty children patients with IM in the Hanzhong Municipal People's Hospital from January 2013 to January 2016 were chosen as the study subjects and received the anti-virus therapy. The negative conversion rate of EBV-DNA after treatment was observed. The distributions of T cell subsets were compared between the children patients with EBV-DNA positive and patients with EBV-DNA negative. The related factors of EBV-DNA non-negative conversion were analyzed. **Results** After treatment, 67 children cases (83.75%) were EBV-DNA negative conversion. The proportions of CD3⁺ and CD8⁺ after treatment in the EBV-DNA negative group were lower than those in the EBV-DNA positive group, and the proportion of CD4⁺ and CD4⁺/CD8⁺ were higher than those in the EBV DNA positive group, the difference had statistical significance ($P < 0.05$). In the analysis on the related factors in the children patients with EBV DNA non-negative conversion, the gender, WBC count and lymphocyte count had no significant correlation with EBV-DNA negative conversion ($P > 0.05$), while interferon use, age and initial Ct demonstrated significant correlation with EBV-DNA non-negative conversion ($P < 0.05$). **Conclusion** EBV infection can lead to disturbance of T cell subsets in children with IM, so clinic should adopt an active anti-virus treatment.

[Key words] herpesvirus 4, human; infectious mononucleosis; T cell subsets

传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)是由 EB 病毒(EBV)感染导致的急性传染病,患者以儿童和青少年为主,但部分患儿可能出现爆发性肝炎、心肌炎、噬血细胞综合征等严重的并发症^[1-2]。研究发现,IM 患儿存在免疫功能异常,患儿自然杀伤细胞(NK)和 T 细胞功能过度激活,导致免疫性损伤^[3]。本研究旨在观察 EBV 感染对 IM 患儿 T 细胞亚群的影响。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取 2013 年 1 月至 2016 年 1 月陕西省汉中市人民医院收治的 80 例 IM 患儿作为研究对象,其中男 45 例,女 35 例,年龄 2~10 岁,平均(5.9±2.4)岁。纳入标准^[4]:(1)所有患儿均以发热、咽炎及扁桃体炎等症状入院,并经过血常规及白细胞分类计数检查;(2)患儿血清 EBV 衣壳抗原 IgM 抗体(EB-VCA-IgM)检测阳性;(3)患儿家长均自愿参与本研究,并签署知情同意书。排除标准:(1)合并有心肌炎、肝炎、溶

血性贫血及血小板减少的病情危急的患儿;(2)入院前 2 周内使用过免疫调节剂及糖皮质激素使用史的患儿。选取健康儿童 40 例作为空白组,男 22 例,女 18 例,年龄 2~11 岁,平均(5.9±2.7)岁。两组儿童的性别、年龄差异无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。

1.2 治疗方法 所有患儿在基础护理及对症治疗(卧床休息、降低体温及预防感染等)的基础上使用更昔洛韦(亚宝药业集团股份有限公司,批号:151201)10 mg/(kg·d)静脉滴注,部分患儿联合应用注射用重组人干扰素 α1b(深圳科兴生物工程有限公司,批号:201607054)肌内注射,10~30 万 U 每天 1 次,或者 30~50 万 U 隔日 1 次。患儿治疗持续 7 d。

1.3 观察指标 (1)所有患儿在治疗前及治疗 7 d 后检测 EB 病毒 DNA(EBV-DNA)水平。EBV-DNA 检查采用荧光定量聚合酶链反应(PCR),引物由上海生工生物工程股份有限公司合成,ABI Prism7300 荧光定量 PCR 仪购自上海迪普生物技术

有限公司。将咽拭子或全血标本按照说明书进行处理和 DNA 提取,并加入 26 μL 的 DNA 检测体系中,将反应管放入样品槽中进行扩增及检测:50 $^{\circ}\text{C}$ 预反应 2 min,94 $^{\circ}\text{C}$ 预变性 5 min,每个循环包括 94 $^{\circ}\text{C}$ 10 s,60 $^{\circ}\text{C}$ 40 s,共进行 50 个循环。标本荧光强度曲线达到阈值时所需循环数(Ct 值) ≤ 39 为阳性,记录患儿治疗前后的 Ct 值。(2)比较治疗 7 d 后 EBV-DNA 阳性及阴性患儿的临床资料,包括年龄、性别、初始的 Ct 值、白细胞计数(WBC)及淋巴细胞计数以及治疗过程中干扰素的使用情况。分析患儿 EBV-DNA 未转阴的影响因素。(3)患儿在治疗前及治疗 7 d 后均采集空腹静脉血 5 mL,对照组在疫苗接种前采集空腹血 5 mL,加入抗凝试管中。取 100 μL 抗凝血置于计数管内,检测 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、CD19⁺ 及 NK 细胞(CD16⁺ CD56⁺),试剂盒由贝克曼库尔特商贸(中国)有限公司提供。比较不同时刻 EBV-DNA 阳性及阴性患儿的 T 淋巴细胞亚群变化。

1.4 统计学处理 采用 SPSS21.0 软件对数据进行分析,计量资料用 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 t 检验;计数资料用百分率表示,采用 χ^2 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EBV-DNA 阳性及阴性患儿的基线资料比较 治疗 7 d 后,67 例(83.75%)患儿 EBV-DNA 转阴。EBV-DNA 阳性及阴性患儿的性别、初始 WBC 及初始淋巴细胞计数的差异无统计学意义($P > 0.05$),干扰素的使用、年龄及初始 Ct 值的差异有统计学意义($P < 0.05$),见表 1。

2.2 患儿 EBV-DNA 未转阴的相关因素分析 对患儿 EBV-DNA 未转阴的相关因素进行分析:性别、WBC 及淋巴细胞计数与 EBV-DNA 转阴无显著相关性($P > 0.05$),干扰素的使用、年龄及初始 Ct 与 EBV-DNA 未转阴有相关性($P < 0.05$),见表 2。

2.3 患儿治疗前后外周血 T 淋巴细胞亚群变化 与空白组相比,两组患儿治疗前 CD3⁺ 和 CD8⁺ 比例升高,CD4⁺、CD19⁺、CD16⁺ CD56⁺ 比例和 CD4⁺/CD8⁺ 降低,差异有统计

学意义($P < 0.05$)。与治疗前相比,患儿治疗 7 d 后,CD3⁺ 和 CD8⁺ 比例降低,CD4⁺、CD19⁺、CD16⁺ CD56⁺ 比例和 CD4⁺/CD8⁺ 升高,差异有统计学意义($P < 0.05$)。治疗后,观察组的 CD3⁺ 和 CD8⁺ 比例低于对照组,CD4⁺、CD19⁺、CD16⁺ CD56⁺ 比例和 CD4⁺/CD8⁺ 高于对照组,差异具有统计学意义($P < 0.05$);治疗后 CD16⁺ CD56⁺ 的差异无统计学意义($P > 0.05$),见表 3。

表 1 EBV-DNA 阳性及阴性患儿的基线资料比较

项目	EBV-DNA 阳性($n=13$)	EBV-DNA 阴性($n=67$)	χ^2/t	P
性别				
男	8	37	0.176	>0.05
女	5	30		
使用干扰素				
是	2	38	7.439	<0.05
否	11	29		
年龄(岁)	3.6 \pm 1.2	7.1 \pm 2.8	5.884	<0.05
初始 Ct	31.9 \pm 5.8	36.7 \pm 3.1	6.657	<0.05
WBC($\times 10^9/L$)	10.9 \pm 1.8	10.5 \pm 2.0	0.784	>0.05
淋巴细胞($\times 10^9/L$)	6.1 \pm 0.7	5.8 \pm 0.9	1.143	>0.05

表 2 患儿 EBV-DNA 未转阴的相关因素分析

项目	β	Wald	P	OR(95%CI)
性别	1.187	0.122	0.173	1.109(0.785,1.774)
干扰素的使用	-0.974	0.072	0.035	0.471(0.231,0.796)
年龄(≤ 3 岁)	1.098	0.132	0.039	1.698(1.031,2.186)
初始 Ct(≤ 34)	0.097	0.127	0.012	2.971(1.165,4.724)
WBC($> 10 \times 10^9/L$)	0.291	0.079	0.135	1.154(0.884,1.571)
淋巴细胞($> 5.5 \times 10^9/L$)	0.176	0.112	0.076	1.971(0.975,1.489)

表 3 各组的淋巴细胞变化($\bar{x} \pm s$)

组别	时间	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	CD19 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺
空白组		58.26 \pm 3.57	31.28 \pm 1.76	26.47 \pm 1.38	1.45 \pm 0.24	11.92 \pm 4.73	12.08 \pm 5.09
EBV-DNA 阳性组	治疗前	65.10 \pm 4.32*	26.52 \pm 1.87*	37.46 \pm 1.68*	0.97 \pm 0.18*	5.16 \pm 0.95*	8.98 \pm 2.98*
	治疗 7 d	62.48 \pm 2.54*	27.68 \pm 1.15*	24.26 \pm 1.64*#	1.15 \pm 0.19*#	7.83 \pm 1.12*#	9.11 \pm 1.97*
EBV-DNA 阴性组	治疗前	66.14 \pm 4.32*	24.15 \pm 1.49*	36.41 \pm 2.15*	0.97 \pm 0.16*	5.24 \pm 0.87*	8.87 \pm 2.85*
	治疗 7 d	58.09 \pm 2.84**#	30.65 \pm 2.04**#	26.95 \pm 1.47**#	1.32 \pm 0.21**#	11.23 \pm 3.98**#	9.10 \pm 2.10*
F		7.142	8.451	5.677	6.156	5.893	2.984
P		<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05	<0.05

*: $P < 0.05$,与空白组比较; **: $P < 0.05$,与 EBV-DNA 阳性组比较; #: $P < 0.05$,与治疗前比较

3 讨论

IM 是由 EBV 感染引起的单核-巨噬细胞系统的急性增生性疾病,小儿较易发。近年来,IM 的发病率呈现上升趋势,且诊断具有一定的困难,应该引起临床上的重视^[5]。目前,临床上关于 EBV 感染及抗病毒治疗在 IM 患儿中的疗效尚存在一定的争议^[6-7]。但是大量临床及基础研究证明 IM 患儿存在继发性的免疫损伤,故抗病毒药物单独应用效果不理想。

本研究选取 40 例健康儿童作为对照组,两组 IM 患儿的

淋巴细胞均明显增加,CD4⁺/CD8⁺ 比例下降,患儿出现免疫功能紊乱。对这一结果进行分析:B 淋巴细胞是 EBV 的主要潜伏细胞,病毒增殖时细胞表面可表达多种抗原,并经抗原提呈细胞提呈后激活 CD8⁺ 淋巴细胞,引发细胞毒效应,杀伤受到感染的 B 淋巴细胞,导致 CD4⁺ 淋巴细胞大量消耗,外周血中 CD4⁺ 细胞数量下降,患儿出现 CD4⁺/CD8⁺ 下降甚至倒置^[8]。CD19⁺ 是 B 淋巴细胞的表面标记,本研究中,除 T 细胞亚群分布发生改变外,IM 患儿的 B 淋巴细胞显著降低,尽管 EBV 不

能直接作用于 B 淋巴细胞,但是可以通过 IM 急性期过度增殖的 T 细胞杀伤 B 细胞,导致 B 淋巴细胞免疫功能缺陷^[9-10]。NK 细胞在抗病毒免疫中发挥重要的作用,与对照组儿童相比,IM 患儿 NK 细胞比例降低,但是经过治疗后患儿的 NK 细胞无明显上升,这一结果说明 NK 细胞在 IM 患儿病毒复制期的免疫作用有限。

荧光定量聚合酶链反应检测 EBV-DNA 是近年来发展的技术,可以定量反映体内的 EBV-DNA 水平,并准确反映 EBV 感染和病毒的复制情况。EBV-DNA 的载量与器官损害程度及疾病种类、疾病的严重程度及病死率呈正相关,临床上可以根据 EBV-DNA 拷贝数大小来判断病情严重程度^[11-12]。经过治疗后,患儿的 EBV-DNA 滴度明显下降,症状好转,67 例患儿 EBV-DNA 转阴,但是 13 例患儿的 EBV-DNA 仍为阳性;EBV-DNA 阴性患儿的 CD4⁺/CD8⁺ 比例显著高于阳性患儿,EBV-DNA 转阴后患儿免疫功能恢复。尽管 EBV-DNA 阳性患儿治疗后的 T 细胞亚群恢复水平不及阴性患儿,但仍较治疗前明显好转。其原因为本研究所有患儿均接受积极的抗病毒治疗,更昔洛韦是临床常用的广谱抗病毒药物,能够有效抑制病毒复制^[13]。

对 EBV-DNA 未转阴的相关因素进行分析:干扰素使用、年龄及初始 Ct 与 EBV-DNA 转阴具有显著相关性。初始 Ct 值反映患儿体内病毒复制水平,与疾病严重程度相关;3 岁以下患儿的免疫系统尚未发育完善,故恢复较慢;干扰素的抗病毒作用主要为广谱的病毒抑制作用,能够诱导细胞对感染病毒产生抗性,干扰细胞内病毒基因的转录及蛋白的翻译,从而限制或抑制病毒的复制;同时,干扰素对细胞免疫及体液免疫均具有调节作用,对巨噬细胞及 NK 细胞的免疫功能也有一定的增强作用^[14-15]。上述结果说明,对于病情严重、低龄或免疫功能较低下的患儿,应该酌情应用干扰素。

综上所述,EBV 感染可以引起 IM 患儿 T 细胞亚群的紊乱,临床上应采取积极的抗病毒治疗。

参考文献

- [1] 郭霞,李强,周晨燕,等. 儿童 EB 病毒感染相关性噬血细胞综合征临床特点分析[J]. 中国实验血液学杂志,2013,21(2):460-464.
- [2] 王强,王佐凤,曹玫,等. FoxP3、CD4⁺CD25⁺ 调节性 T 细胞、TLR2 和 TLR9 在儿童传染性单核细胞增多症中的变化[J]. 中国实验血液学杂志,2013,21(2):469-473.
- [3] Visser E, Milne D, Collacott I, et al. The epidemiology of infectious mononucleosis in Northern Scotland: a decreasing incidence and winter peak[J]. BMC Infect Dis, 2014, 14(6):937.
- [4] 苏小燕,温顺航,黄玉华,等. 小儿 IM 患者细胞免疫的变化及更昔洛韦的干预[J]. 中国妇幼健康研究,2015,26(5):981-983.
- [5] 肖生平,付四毛,刘玉玲,等. 传染性单核细胞增多综合症的病原学及临床特点[J]. 中国感染控制杂志,2014,13(7):408-410.
- [6] 王慧燕,田可港,浮苗,等. 传染性单核细胞增多症患者外周血 sHLA-G 及外周血淋巴细胞亚群检测[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(5):901-903.
- [7] 顾素亚,李艳. 更昔洛韦治疗 EB 病毒感染所致儿童传染性单核细胞增多症[J]. 中国基层医药,2013,20(12):1877-1878.
- [8] Arai A, Yamaguchi T, Komatsu H, et al. Infectious mononucleosis accompanied by clonal proliferation of EBV-infected cells and infection of CD8 positive cells[J]. Int J Hematol, 2014, 99(5):671-675.
- [9] 张翊,伍鸣杰,朱朝海. EB 病毒血症对儿童传染性单核细胞增多症免疫功能的影响[J]. 实用医学杂志,2014,13(7):2081-2083.
- [10] 王红,温文胜. EB 病毒对树突状细胞影响的研究进展[J]. 重庆医学,2015,44(31):4437-4440.
- [11] 孙志惠,刘鹏. EB 病毒血清学及 DNA 联合检测在婴幼儿传染性单核细胞增多症临床应用研究[J]. 中国实验诊断学,2015,19(10):1696-1698.
- [12] 朱婵虹,郑锦利,刘先鸿,等. 335 例外周血 EB 病毒 DNA 检测的结果分析及临床意义[J]. 实验与检验医学,2015,33(6):749-750.
- [13] 朱宏斌,张凤仙,郭彩萍. 更昔洛韦治疗新生儿先天性症状性巨细胞病毒感染[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2012,26(1):57-59.
- [14] 陈郁梅,黄明寿,赖绮云. 干扰素治疗慢性乙型肝炎患者发生甲状腺功能异常的相关因素分析[J]. 重庆医学,2014,44(14):1721-1723.
- [15] 陆琰. α -干扰素对传染性单核细胞增多症患者细胞免疫和体液免疫的影响[J]. 河北医药,2013,35(13):1971-1972.
- [16] Al-Kohlany KM, Shokeir AA, Mosbah A, et al. Treatment of complete staghorn stones: a prospective randomized comparison of open surgery versus percutaneous nephrolithotomy[J]. J Urol, 2005, 173(2):469-473.
- [17] Bichler KH, Eipper E, Naber K, et al. Urinary infection stones[J]. Int J Antimicrob Agents, 2002(19):488-498.

(收稿日期:2016-12-13 修回日期:2017-06-11)

(上接第 3490 页)

et al. A nomogram predicting severe adverse events after ureteroscopic lithotripsy: 12 372 patients in a Japanese National series[J]. BJU Int, 2013, 111(3):459-466.

- [14] Kumar A, Roberts D, Wood KE. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock[J]. Ann Int Med, 2007, 147(6):413.

(收稿日期:2017-02-18 修回日期:2017-04-06)