

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2020.19.013

不同类型的 EBV 感染患儿免疫功能与外周血 sHLA-G 的变化^{*}

路瑞静,周喜友,江 凡,谢小红,周坤朋,王 丰[△]

广东省深圳市宝安区妇幼保健院检验科,广东深圳 518102

摘 要:目的 分析不同类型的 EB 病毒(EBV)感染患儿免疫功能与外周血可溶型人类白细胞抗原-G(sHLA-G)的变化。方法 选取 2017 年 4 月至 2018 年 10 月该院收治且确诊的 EBV 感染患儿 132 例。根据不同临床类型分为 EBV 相关淋巴组织细胞增生性噬血综合征(EBV-HLH)组(44 例)、慢性活动性 EBV 感染(CAEBV)组(46 例)和传染性单核细胞增多症(IM)组(42 例),选取同期体检健康的儿童为对照组(35 例)。检测各组的细胞免疫功能[CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺ T 细胞及 CD4⁺/CD8⁺ 比值]、体液免疫功能[免疫球蛋白(Ig)M、IgG 和 IgA]和 sHLA-G 水平。**结果** 与对照组比较,所有 EBV 感染组的细胞免疫功能均存在异常($P<0.05$),IM 组 CD3⁺ T 细胞水平升高($P<0.05$),CAEBV 组和 EBV-HLH 组 CD3⁺ T 细胞水平降低($P<0.05$)。EBV-HLH 组 CD4⁺ T 细胞水平最低($P<0.05$),IM 组 CD8⁺ T 细胞水平最高($P<0.05$),EBV-HLH 组 CD4⁺/CD8⁺ 最低($P<0.05$)。与对照组比较,所有 EBV 感染组的体液免疫功能均存在异常($P<0.05$),EBV-HLH 组 IgA 和 IgG 水平最低($P<0.05$),IgM 水平最高($P<0.05$)。与对照组比较,所有 EBV 感染组 sHLA-G 水平均明显升高,IM 组 sHLA-G 水平最低($P<0.05$)。**结论** 不同类型的 EBV 感染均与免疫功能紊乱相关,sHLA-G 水平均明显升高,IM 类型的 EBV 感染患儿较为特殊,T 淋巴细胞处于激活状态,体液免疫功能变化较小,sHLA-G 水平升高,但升高有限,检测细胞免疫功能、体液免疫功能及 sHLA-G 水平可鉴别 IM 类型的 EBV 感染。

关键词:EB 病毒; 细胞免疫功能; 体液免疫功能; 可溶型人类白细胞抗原-G

中图法分类号:R72

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2020)19-2795-04

Changes of immune function and peripheral blood sHLA-G in children with different types of EBV infection^{*}

LU Ruijing, ZHOU Xiyou, JIANG Fan, XIE Xiaohong, ZHOU Kunpeng, WANG Feng[△]

Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Baoan Women's and Children's Hospital, Shenzhen, Guangdong 518102, China

Abstract: **Objective** To analyze the changes in immune function and peripheral blood soluble human leukocyte antigen-G (sHLA-G) in children infected with different types of Epstein-Barr virus (EBV). **Methods** A total of 132 children with EBV infection who were admitted to our hospital from April 2017 to October 2018 were enrolled. According to different clinical types, all patients were divided into 4 groups, EBV-associated hemophagocytic lymphohistiocytosis (EBV-HLH) group (44 cases), chronic active EBV infection (CAEBV) group (46 cases) and infectious mononucleosis (IM) group (42 cases), healthy children who took the same physical examination at the same time were collected as the control group (35 cases). Cellular immune function [CD3⁺, CD4⁺, CD8⁺ T cell and CD4⁺/CD8⁺ ratio], humoral immune function [immunoglobulin (Ig) M, IgG and IgA] and sHLA-G level were measured in all subjects. **Results** Compared with the control group, the cellular immune function of all EBV-infected groups were abnormal ($P<0.05$), the CD3⁺ T cell level of the IM group had increased ($P<0.05$), and the CD3⁺ T cell level of the CAEBV group and the EBV-HLH group had decreased ($P<0.05$), CD4⁺ T cell level was the lowest in EBV-HLH group ($P<0.05$), CD8⁺ T cell level was the highest in IM group ($P<0.05$), and CD4⁺/CD8⁺ was lowest in EBV-HLH group ($P<0.05$). Compared with the control group, the humoral immune function of all EBV infection groups were abnormal ($P<0.05$), the IgA and IgG levels of the EBV-HLH group were the lowest ($P<0.05$), and the IgM level was the highest ($P<0.05$). Compared with the control group, sHLA-G level had significantly increased in all EBV infection groups, and IM group sHLA-G level was the lowest ($P<0.05$). **Conclusion** Different types of EBV infection are associated with immune dysfunction, sHLA-G level has significantly increased. IM type EBV infection is more special, T lymphocytes are activated, humoral immune function nearly normal, sHLA-G level has increased limited, and detection of cellular immune, humoral immune function and sHLA-G level can identify the IM-type EBV infection.

Key words: Epstein-Barr virus; cellular immune function; humoral immune; soluble human leukocyte antigen-G

^{*} 基金项目:深圳市宝安区科技创新局基金项目(2015094)。

作者简介:路瑞静,女,主管技师,主要从事免疫与感染相关研究。 [△] 通信作者, E-mail: Wangfengnew@qq.com。

EB 病毒(EBV)感染的高发人群是婴幼儿,超过 90%的婴幼儿发生过 EBV 感染,但患儿的临床表型复杂,多为潜伏期感染,与机体免疫功能异常相关^[1]。根据感染类型,大致可分为 3 种:EBV 相关淋巴组织细胞增生性噬血综合征(EBV-HLH)、慢性活动性 EBV 感染(CAEBV)和传染性单核细胞增多症(IM)^[2]。研究显示,外周血 EBV-DNA 水平与疾病种类、疾病严重程度(含器官损害程度)紧密关联,而 EBV-DNA 水平可引发机体免疫功能改变,进而影响预后,严重时可导致死亡^[3]。人类白细胞抗原(HLA)-G 是非经典 HLA-L 类分子,可溶型 HLA-G(sHLA-G)是 HLA-G 的一种类型,主要表达于胎盘组织、移植组织及感染组织。研究显示,病毒感染性疾病外周血 sHLA-G 呈高表达,sHLA-G 具有调节细胞及体液免疫的功能^[4],但 sHLA-G 的表达在 EBV 感染中的报道较少。本文拟探讨儿童 EBV 感染不同临床疾病类型的免疫功能及 sHLA-G 的变化特点,试分析 sHLA-G 与免疫功能的关系,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 收集 2017 年 4 月至 2018 年 10 月本院收治并符合实验室病原学诊断标准的 EBV 感染患儿 132 例,男 70 例,女 62 例。根据不同临床类型分为 EBV-HLH 组(44 例)、CAEBV 组(46 例)和 IM 组(42 例),选取同期体检健康的儿童作为对照组(35 例)。各组受试者的性别、年龄、体质量和身高等一般资料比较,差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。见表 1。

1.2 方法

1.2.1 细胞免疫功能 抽取所有受试者的空腹静脉血,采用流式细胞仪(购自美国贝克曼库尔特公司)检测各组的淋巴细胞免疫表型 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞水平及 CD4⁺/CD8⁺,淋巴细胞亚群检测配套试剂盒购自美国贝克曼库尔特公司。

1.2.2 体液免疫功能 抽取所有受试者的空腹静脉血,采用免疫比浊法检测各组血清免疫球蛋白(Ig)M、

IgG 和 IgA 水平。

1.2.3 sHLA-G 检测 采用酶联免疫吸附测定法,严格按试剂盒说明书检测血浆 sHLA-G 水平,试剂盒购自四川新创生物科技有限公司。

1.3 统计学处理 采用 SPSS19.0 进行数据处理分析,计量资料符合正态分布以 $\bar{x}\pm s$ 表示,两两比较采用 LSD-*t* 检验,组间比较采用单因素方差分析;计数资料以例数表示,组间比较采用 χ^2 检验。以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组细胞免疫功能比较 与对照组比较,所有 EBV 感染组的细胞免疫功能均存在异常($P<0.05$),IM 组 CD3⁺T 细胞水平升高($P<0.05$),CAEBV 组和 EBV-HLH 组 CD3⁺T 细胞水平降低($P<0.05$)。3 组 EBV 感染中,EBV-HLH 组 CD4⁺T 细胞水平最低($P<0.05$),IM 组 CD8⁺T 细胞水平最高($P<0.05$),EBV-HLH 组 CD4⁺/CD8⁺最低($P<0.05$)。见表 2。

表 1 各组一般情况比较

组别	性别(男/女, <i>n</i> / <i>n</i>)	年龄($\bar{x}\pm s$,岁)	体质量($\bar{x}\pm s$,kg)	身高($\bar{x}\pm s$,cm)
对照组	21/14	8.3±1.2	25.3±2.1	123.4±11.2
EBV-HLH 组	25/19	7.8±1.5	25.7±2.0	126.1±12.9
CAEBV 组	23/23	7.6±1.3	25.9±2.5	125.7±11.8
IM 组	22/20	7.9±1.4	25.6±2.2	124.1±10.9
χ^2/F	0.974	1.406	0.500	0.478
<i>P</i>	0.808	0.243	0.683	0.698

2.2 各组体液免疫功能和 sHLA-G 水平比较 与对照组比较,所有 EBV 感染组的体液免疫功能均存在不同程度的异常($P<0.05$),EBV-HLH 组 IgA 和 IgG 水平最低($P<0.05$),IgM 水平最高($P<0.05$)。与对照组比较,所有 EBV 感染组 sHLA-G 水平均升高,3 组 EBV 感染中,IM 组的 sHLA-G 水平最低($P<0.05$)。见表 3。

表 2 各组细胞免疫功能比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ T 细胞(%)	CD4 ⁺ T 细胞(%)	CD8 ⁺ T 细胞(%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
对照组	35	62.3±7.1	41.0±6.1	24.3±6.5	1.7±0.4
EBV-HLH 组	44	53.6±6.8 ^a	13.4±4.2 ^a	27.5±7.2 ^a	0.5±0.1 ^a
CAEBV 组	46	43.2±5.4 ^{ab}	32.4±5.2 ^{ab}	28.1±7.8 ^a	1.2±0.5 ^{ab}
IM 组	42	71.1±8.9 ^{abc}	31.2±4.5 ^{ab}	42.9±6.1 ^{abc}	0.7±0.4 ^{ac}
<i>F</i>		105.960	194.010	57.846	18.504
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a $P<0.05$;与 EBV-HLH 组比较,^b $P<0.05$;与 CAEBV 组比较,^c $P<0.05$ 。

表 3 各组体液免疫功能和 sHLA-G 水平比较($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)	sHLA-G(U/mL)
对照组	35	0.8±0.2	5.9±1.2	0.9±0.2	2.9±1.2
EBV-HLH 组	44	0.4±0.1 ^a	5.0±1.1 ^a	1.3±0.3 ^a	14.3±4.3 ^a

续表 3 各组体液免疫功能和 sHLA-G 水平比较($\bar{x} \pm s$)

组别	<i>n</i>	IgA(g/L)	IgG(g/L)	IgM(g/L)	sHLA-G(U/mL)
CAEBV 组	46	0.6±0.1 ^{ab}	5.2±1.1 ^a	1.0±0.2 ^{ab}	12.5±5.1 ^a
IM 组	42	0.6±0.1 ^{ab}	5.4±0.9 ^a	1.1±0.3 ^{ab}	7.8±2.4 ^{abc}
<i>F</i>		64.392	4.928	18.110	73.887
<i>P</i>		<0.001	0.003	<0.001	<0.001

注:与对照组比较,^a*P*<0.05;与 EBV-HLH 组比较,^b*P*<0.05;与 CAEBV 组比较,^c*P*<0.05。

3 讨 论

EBV 感染多见于学龄前期儿童,但多数患儿无明显临床特征,即使出现上呼吸道的症状也并不典型^[3]。流行病学显示,EBV 感染多见于男性,提示 EBV 感染存在较明确的性别选择性,不同性别对 EBV 感染的灵敏度不同^[5]。患者多为儿童,与儿童免疫系统发育不完善有关^[6]。本研究结果显示,与健康儿童比较,EBV 感染患儿普遍存在细胞免疫及体液免疫功能的异常,提示 EBV 感染防御过程中改善免疫功能较为重要。

同时,不同类型的 EBV 患儿的细胞免疫及体液免疫功能的异常也存在不同。本研究结果显示,IM 类型的 EB 感染患儿的淋巴细胞增殖活性较强,CD3⁺、CD8⁺ T 细胞水平升高,CD4⁺/CD8⁺降低,提示 IM 类型的 EB 感染促使机体激活 T 淋巴细胞,与 EBV 感染 B 淋巴细胞导致机体免疫系统受损有关^[7]。与对照组比较,CAEBV 组 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞水平和 CD4⁺/CD8⁺均降低,提示 T 淋巴细胞可能处于活性抑制状态,EBV-HLH 组 CD3⁺、CD4⁺ T 细胞水平和 CD4⁺/CD8⁺降低,与 EBV 感染 T 淋巴细胞及自然杀伤细胞相关,T 淋巴细胞及自然杀伤细胞被感染,细胞清除病毒感染细胞的能力降低或丧失,容易发生全血细胞减少等相关并发症^[5]。各组患儿外周血 IgA、IgG 水平也降低,进一步证实 EBV 患儿的免疫功能降低,与研究报道相符^[8]。

本研究结果显示,与对照组比较,EBV 感染患儿外周血的 sHLA-G 水平升高,相关研究也显示受病毒感染的患者,如狂犬病毒和丙型肝炎病毒感染患者外周血 sHLA-G 水平较同龄健康者升高^[9]。病毒可诱导感染神经元和相邻神经元高度表达 sHLA-G 进而逃逸宿主免疫监控,因此外周血 sHLA-G 可用于鉴别诊断病毒感染性疾病。同时,sHLA-G 还可影响 EBV 感染患儿的免疫功能,EBV 感染导致 CD8⁺ T 细胞水平上调,其可结合上调 Fas 配体的表达及可溶性 Fas 的分泌,通过 Fas/Fas L 途径来诱导活化的 CD8⁺ T 细胞和自然杀伤细胞凋亡。EBV 感染致使 sHLA-G 在外周血高表达,反馈性又可影响 T 淋巴细胞亚群活性。本研究结果显示,外周血 sHLA-G 高表达的同时,EBV 感染患儿外周血的细胞免疫功能出现异常。研究表明,sHLA-G 可采用直接和间接两种方式调节 T 淋巴细胞^[7],依靠 T 淋巴细胞上的抑制性受体直接发挥作用,与自然

杀伤细胞表面的杀伤细胞 Ig 样受体(KIR)作用,抑制自然杀伤细胞的溶细胞功能;通过诱导机制或胞啃途径产生调节性 T 淋巴细胞,进而参与免疫耐受。通过凋亡机制导致自然杀伤细胞死亡而抑制自然杀伤细胞的溶细胞功能;作用于 KIR 而抑制 CD4⁺ T 细胞增殖和诱导 CD8⁺ T 细胞凋亡,下调 CD4⁺ 及 CD8⁺ T 细胞的活性,抑制 CD8⁺ T 细胞的杀伤溶解作用。

从细胞免疫角度看,sHLA-G 具有抑制 T 淋巴细胞亚群活性的作用,EBV-HLH 及 CAEBV 患儿机体的 T 淋巴细胞处于抑制状态,而 IM 类型的 EB 感染患儿机体的 T 淋巴细胞处于激活状态,CD3⁺ 和 CD8⁺ T 细胞水平明显升高,报道显示 IM 类型的 EB 感染存在 HLA-G 基因多态性的现象^[9]。本研究结果显示,与对照组比较,IM 组 sHLA-G 水平升高,差异有统计学意义(*P*<0.05),血浆 sHLA-G 水平可作为 IM 的辅助诊断指标,但 IM 类型的 EB 感染中 sHLA-G 与 T 淋巴细胞的关系较为复杂,仍需要进一步分析论证^[10]。

综上所述,不同类型的 EBV 感染均与免疫功能紊乱相关,sHLA-G 水平均明显升高,IM 类型的 EBV 感染患儿较为特殊,T 淋巴细胞处于激活状态,体液免疫变化较小,sHLA-G 水平有升高,但升高有限,检测细胞免疫、体液免疫功能及 sHLA-G 水平对鉴别 IM 类型的 EBV 感染具有重要意义。

参考文献

[1] ZERBE C S, MARCIANO B E, KATIAL R K, et al. Progressive multifocal leukoencephalopathy in primary immune deficiencies: stat1 gain of function and review of the literature[J]. Clin Infect Dis, 2017, 8(8): 61-65.

[2] IBEKWE E, HAIGH C, DUNCAN F, et al. Economic impact of routine opt-out antenatal human immune deficiency virus screening: a systematic review[J]. J Clin Nurs, 2017, 26(1): 101-103.

[3] 赖媚媚, 周秋菊, 楼韵燕, 等. HCMV 感染对人 THP-1 细胞 HLA-G 及其受体表达的影响[J]. 中国病理生理杂志, 2017, 33(2): 329-335.

[4] MIAO H, TENG Z, ABDURAHMAN X, et al. Global stability of a diffusive and delayed virus infection model with general incidence function and adaptive immune response[J]. Computational Applied Mathematics, 2017, 37(3): 1-26.

患者的肺功能产生明显影响,但是全身麻醉复合硬膜外麻醉的影响不明显。分析原因是,全身麻醉复合硬膜外麻醉减少了麻醉药物的用量,药物在体内的代谢更快,降低了麻醉药物导致的恶心、呕吐、呼吸抑制等不良反应,缩短了拔管时间,患者术后恢复自主呼吸更早,苏醒更快,降低了术后肺部感染率,改善了肺功能。

机体受到手术创伤及麻醉刺激,炎症因子会被激活进入血液系统中,从而影响到机体的免疫功能^[12]。T 淋巴细胞是机体重要的免疫应答细胞,CD3⁺T 细胞表示总的 T 淋巴细胞,CD4⁺T 细胞表示辅助诱导 T 淋巴细胞,CD8⁺T 细胞是免疫抑制 T 淋巴细胞。这些 T 淋巴细胞能够反应机体的免疫状态及抗病毒能力^[13-14]。本研究中,术后 1 d,两组的血清 IL-6、IL-8、TNF- α 水平较术前明显增高,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T 细胞水平较术前明显降低,但是观察组的变化幅度明显更小。说明手术或麻醉确实能够诱发机体产生炎症反应,降低机体免疫功能,但是全身麻醉复合硬膜外麻醉的这种炎症反应及免疫功能受损情况较轻。说明,全身麻醉复合硬膜外麻醉对炎症反应及免疫功能的影响较小,其也是术后肺部感染率降低及机体恢复快的主要因素。

综上所述,全身麻醉复合硬膜外麻醉对老年腹部手术患者术后机体炎症反应及免疫功能、肺功能的影响较小,明显降低术后肺部感染率,促进术后机体恢复,是老年腹部手术患者理想的麻醉方式。

参考文献

[1] 马新军. 局部麻醉和持续硬膜外麻醉在腹股沟疝无张力修补术中的应用效果比较[J]. 检验医学与临床, 2019, 16(11): 1529-1532.

[2] 曲宗阳, 包杰, 左明章. 全麻中保护性通气策略对老年上腹部大型手术患者术后肺脏功能的影响[J]. 国际老年医学杂志, 2019, 40(3): 147-150.

(上接第 2797 页)

[5] 张建华, 孙静怡, 陈梦雪. 儿童 EBV 感染及呼吸系统相关性疾病[J]. 中华实用儿科临床杂志, 2019, 34(10): 725-729.

[6] SPENGLER J R, PRESCOTT J, FELDMANN H, et al. Human immune system mouse models of Ebola virus infection[J]. Curr Opin Virol, 2017, 25(1): 90-96.

[7] DZANANOVIC E, MCKENNA S A, PATEL T R. Viral proteins targeting host protein kinase R to evade an innate immune response: a mini review[J]. Biotechnol Genet Eng Rev, 2018, 34(4): 1-27.

[8] DAVILA S, HALSTEAD E S, HALL M W, et al. Viral

[3] 臧晓亚. 不同麻醉方法对上腹部手术患者血清 IL-6、皮质醇及 T 细胞亚群的影响[J]. 中国实验诊断学, 2018, 22(6): 1039-1041.

[4] 叶常红. 腰硬联合麻醉与全身麻醉对老年开腹手术患者效果及术后肺部感染的影响[J]. 中国药物与临床, 2019, 19(2): 273-275.

[5] 廉志强. 全身麻醉复合硬膜外麻醉对老年腹部手术患者麻醉效果、肺功能及术后肺部感染的影响研究[J/CD]. 心血管外科杂志(电子版), 2019, 8(1): 50-51.

[6] 丛前. 医院感染诊断标准与监测技术实用手册[M]. 2 版. 北京: 人民卫生出版社, 2002: 157-172.

[7] 任艺, 管敏钊, 王云珍, 等. 全身麻醉药物的神经毒性实验研究进展[J]. 国际麻醉学与复苏杂志, 2018, 39(1): 84-87.

[8] 毛一帆, 姜梦露, 蔡靛羽, 等. 硬膜外麻醉与全身麻醉对老年患者术后不同时点认知功能的影响比较[J]. 国际老年医学杂志, 2019(3): 151-153.

[9] 郭孟刚, 周海宁, 李丽. 老年食管癌患者术后并发肺部感染危险因素的临床分析[J]. 检验医学与临床, 2016, 13(16): 2317-2319.

[10] 赵敏杰, 程浩, 周兴凤, 等. 不同麻醉方式对老年结肠癌根治术患者肺部感染及肺功能的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2018, 28(14): 75-78.

[11] 叶林阳, 聂洋洋, 王庆祥, 等. 不同麻醉方式对老年腹部手术患者术后肺功能和炎症指标的影响研究[J]. 中华医院感染学杂志, 2020, 30(1): 91-95.

[12] 宋俊刚, 毕中先, 唐俊霞, 等. 不同麻醉方式对上腹部手术老年患者肺功能指标与炎症因子及 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 中华医院感染学杂志, 2017, 27(17): 3929-3932.

[13] 于明涛, 张春英. 右美托咪定复合全身麻醉对老年低位直肠癌患者术后血清 T 淋巴细胞亚群水平的影响[J]. 国际医药卫生导报, 2019, 25(22): 3684-3686.

[14] 贺明, 姜丽春, 唐禹. 右美托咪定对硬膜外麻醉胃癌根治术患者围手术期外周血 T 淋巴细胞亚群的影响[J]. 中国肿瘤临床与康复, 2019, 26(3): 307-310.

(收稿日期: 2020-02-26 修回日期: 2020-06-08)

DNAemia and immune suppression in pediatric sepsis[J]. Pediatr Crit Care Med, 2018, 19(1): 14-22.

[9] KANG C, MIAO H, CHEN X, et al. Global stability of a diffusive and delayed virus dynamics model with crowley-martin incidence function and CTL immune response[J]. Advances in Difference Equations, 2017, 20(17): 324.

[10] CHEN S, YANG C, ZHANG W, et al. Flaviviridae, virus nonstructural proteins 5 and 5A mediate viral immune evasion and are promising targets in drug development[J]. Pharmacol Ther, 2018, 4(3): 536-538.

(收稿日期: 2020-02-03 修回日期: 2020-05-26)