

• 论 著 • DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2023.08.002

儿童传染性单核细胞增多症 EBV-DNA 载量与异型淋巴细胞百分率及 T 淋巴细胞亚群的相关性分析*

栗春香¹, 史利欢¹, 郭明发¹, 周建文¹, 王平平², 马 平^{1△}

1. 郑州大学附属儿童医院血液肿瘤科/河南省小儿血液医学重点实验室, 河南郑州 450000;

2. 河南省洛阳市妇幼保健院医学检验科, 河南洛阳 471000

摘 要:目的 探讨儿童传染性单核细胞增多症(IM)患儿 EB 病毒(EBV)-DNA 载量与异型淋巴细胞百分率及 T 淋巴细胞亚群的相关性。方法 选取 2019 年 6 月至 2022 年 1 月郑州大学附属儿童医院收治的 40 例 IM 患儿作为研究组,另选取同期健康体检的 40 例健康儿童作为对照组。比较两组白细胞计数、EBV-DNA 载量阳性率、异型淋巴细胞百分率及 T 淋巴细胞亚群水平,分析 EBV-DNA 载量与异型淋巴细胞百分率及 T 淋巴细胞亚群水平的相关性。结果 研究组外周血白细胞计数、异型淋巴细胞百分率、EBV-DNA 载量阳性率均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$);研究组 $CD3^+$ T 淋巴细胞水平、 $CD8^+$ T 淋巴细胞水平均高于对照组, $CD4^+$ T 淋巴细胞水平和 $CD4^+$ T 淋巴细胞/ $CD8^+$ T 淋巴细胞均低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。IM 患儿 EBV-DNA 载量与异型淋巴细胞百分率、 $CD3^+$ T 淋巴细胞水平、 $CD8^+$ T 淋巴细胞水平均呈正相关($r=0.447, 0.567, 0.603, P<0.05$);EBV-DNA 载量与 $CD4^+$ T 淋巴细胞水平、 $CD4^+$ T 淋巴细胞/ $CD8^+$ T 淋巴细胞均呈负相关($r=-0.268, -0.407, P<0.05$)。结论 IM 患儿 EBV-DNA 载量阳性率、异型淋巴细胞百分率及 T 淋巴细胞亚群水平均出现明显异常,并且 EBV-DNA 载量与 $CD3^+$ T 淋巴细胞水平、 $CD8^+$ T 淋巴细胞水平及 $CD4^+$ T 淋巴细胞/ $CD8^+$ T 淋巴细胞均有明显相关性。

关键词:儿童; 传染性单核细胞增多症; EB 病毒; T 淋巴细胞亚群

中图法分类号:R446.1;R725.1

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2023)08-1029-04

Correlation between EBV-DNA load, percentage of heterologous lymphocytes and T lymphocyte subsets in children with infectious mononucleosis*

LI Chunxiang¹, SHI Lihuan¹, GUO Mingfa¹, ZHOU Jianwen¹, WANG Pingping², MA Ping^{1△}

1. Department of Hematology and Oncology, Children's Hospital of Zhengzhou University/Key

Laboratory of Pediatric Hematology of Henan Province, Zhengzhou, Henan

450000, China; 2. Department of Clinical Laboratory, Luoyang Maternal

and Child Health Hospital, Luoyang, Henan 471000, China

Abstract: **Objective** To investigate the correlation between EB virus (EBV)-DNA load and allogeneic lymphocyte ratio and T-lymphocyte subpopulation in pediatric patients with infectious mononucleosis (IM). **Methods** Retrospective analysis of 40 children with IM in children treated at the Children's Hospital of Zhengzhou University from June 2019 to January 2022 was conducted as the study group, and 40 normal children with healthy physical examination during the same period were selected as the control group. The differences in total leukocyte count, EBV-DNA load, heterozygous lymphocyte ratio and T lymphocyte subpopulation levels between the two groups were compared, and the correlation between EBV-DNA load and heterozygous lymphocyte ratio and T lymphocyte subpopulation was analyzed. **Results** The percentage of peripheral blood allogeneic lymphocytes and EBV-DNA load were higher in the study group than in the control group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$). The T lymphocyte subsets $CD3^+$ and $CD8^+$ T cells were elevated and the $CD4^+$ T cells and $CD4^+$ T cell/ $CD8^+$ T cell ratio were decreased in the study group, and the differences were statistically significant ($P<0.05$) compared with the control group. The IM children' EBV-DNA load was positively correlated with the allogeneic lymphocyte ratio ($r=0.447, 0.567, 0.603, P<0.05$), and it was positively correlated with the $CD8^+$ T lymphocyte ratio, and negatively correlated

* 基金项目:河南省科技攻关计划项目(202102310036)。

作者简介:栗春香,女,主管技师,主要从事骨髓细胞形态学方面的研究。△ 通信作者, E-mail:maping09@163.com。

with the CD4⁺ T cells/CD8⁺ T cell ratio ($r = -0.268, -0.407, P < 0.05$). **Conclusion** Children with IM showed significant abnormalities in EBV-DNA load, allogeneic lymphocyte ratio and T lymphocyte subsets, and EBV-DNA load was significantly correlated with CD3⁺, CD8⁺ T cells and CD4⁺/CD8⁺ T cell ratio.

Key words: children; infectious mononucleosis; EB virus; T-lymphocyte subsets

传染性单核细胞增多症(IM)主要是由于EB病毒(EBV)感染并侵犯淋巴系统,导致患者发热,咽峡炎,肝、脾、淋巴结肿大,以及外周血中淋巴细胞增多,并且外周血中出现异型淋巴细胞等临床表现的急性感染性疾病^[1-2]。EBV是导致IM的主要病原体^[3]。EBV感染人体后,机体产生强烈的免疫应答反应,导致机体免疫功能紊乱。IM虽然是一种自限性疾病^[4-6],但严重时可发展为嗜血细胞综合征、慢性活动性EBV感染等多种疾病,若不及时干预,会导致预后不良^[7]。近年来,IM的发病率呈上升趋势,儿童患者较多,临床表现多样化,不典型病例逐渐增多,给诊断和治疗带来一定的困难。基于此,本研究通过分析EBV-DNA载量与异型淋巴细胞百分率及T淋巴细胞亚群的相关性,帮助评估疾病,为临床诊断和治疗提供依据,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2019年6月至2022年1月郑州大学附属儿童医院(下称本院)收治的40例IM患儿作为研究组,其中男26例,女14例;年龄1岁9个月至12岁6个月;1~5岁21例,>5~10岁17例,>10岁2例。研究组均有发热、淋巴结肿大、眼睑水肿、咽峡炎、扁桃体炎等临床表现。另选取同期本院儿童健康管理中心的40例健康儿童作为对照组,男28例,女12例;年龄7个月至10岁;<1岁2例,1~5岁25例,>5~10岁12例,>10岁1例。两组研究对象性别、年龄等一般资料比较,差异均无统计学意义($P > 0.05$),具有可比性。所有研究对象均知情同意并签署知情同意书。本研究经本院伦理委员会审核批准。研究组纳入标准:(1)符合第8版《诸福棠实用儿科学》IM的诊断标准;(2)所有患儿均经外周血细胞学形态检查、EBV-DNA检测及T淋巴细胞亚群分析。对照组纳入标准:(1)健康无过敏性疾病史;(2)均经异型淋巴细胞检测、EBV-DNA检测及T淋巴细胞亚群分析。排除标准:(1)先天发育异常、肝肾功能不全的患者;(2)合并自身免疫性疾病、血液系统疾

病、恶性肿瘤的患者。

1.2 仪器与试剂 血常规采用全自动血液分析仪(Sysemex XE-5000)自动分析,由人工镜检分类计数异型淋巴细胞;采用美国BD公司FACSCanto流式细胞仪进行淋巴细胞亚群分析;EBV-DNA载量检测采用Roche Light Cycler480实时荧光定量PCR仪,试剂采用圣湘生物科技股份有限公司EBV核酸定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)。

1.3 方法 EBV-DNA载量以 >500 copy/mL为阳性。采集所有研究对象外周静脉血2 mL,EDTA-K₂抗凝,用于血常规检测。检测过程严格按照试剂盒说明书执行,同时进行质控品测定。采集所有研究对象外周静脉血2 mL,EDTA-K₂抗凝,取美国BD公司CD3-FITC、CD4-APC、CD8-Pe、CD45Percp鼠抗人荧光单克隆抗体混合试剂20 μ L,加入EDTA-K₂抗凝血50 μ L混匀,室温避光孵育15 min,分别加入450 μ L红细胞裂解液,振荡混匀,室温避光10 min上机检测,检测患儿外周血淋巴细胞CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺T淋巴细胞水平及CD4⁺T淋巴细胞/CD8⁺T淋巴细胞。

1.4 统计学处理 采用SPSS26.0统计软件进行数据分析处理。不符合正态分布的计量资料以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,两组间比较采用Mann-Whitney U检验;计数资料以例数或百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验;相关性分析采用Spearman相关。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 研究组和对照组EBV-DNA载量阳性及外周血变化情况比较 研究组外周血白细胞计数(WBC)、异型淋巴细胞百分率、EBV-DNA载量阳性率均高于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表1。

2.2 研究组和对照组T淋巴细胞亚群水平比较 研究组CD3⁺T淋巴细胞水平、CD8⁺T淋巴细胞水平均高于对照组,CD4⁺T淋巴细胞水平、CD4⁺T淋巴细胞/CD8⁺T淋巴细胞均低于对照组,差异均有统计学意义($P < 0.05$)。见表2。

表1 研究组和对照组EBV-DNA载量阳性及外周血变化情况比较[$M(P_{25}, P_{75})$ 或 $n(\%)$]

组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9/L$)	异型淋巴细胞百分率(%)	EBV-DNA载量阳性
研究组	40	14.84(12.50,17.54)	10.00(9.26,14.00)	39(97.50)
对照组	40	7.47(6.22,8.34)	0.00(0.00,0.00)	1(2.50)
<i>Z</i> / χ^2		-7.689	-8.028	157.196
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

表 2 研究组和对对照组 T 淋巴细胞亚群水平比较[$M(P_{25}, P_{75})$]

组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ T 淋巴细胞(%)	CD4 ⁺ T 淋巴细胞(%)	CD8 ⁺ T 淋巴细胞(%)	CD4 ⁺ T 淋巴细胞/CD8 ⁺ T 淋巴细胞
研究组	40	87.00(82.25,89.00)	13.50(11.00,17.00)	64.00(57.25,70.75)	0.22(0.15,0.32)
对照组	40	67.50(65.00,71.00)	38.00(34.00,42.75)	24.50(21.00,26.75)	1.56(1.29,1.89)
<i>Z</i>		-6.705	-7.626	-7.704	-7.699
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

2.3 EBV-DNA 载量与各项指标的相关性分析
Spearman 相关分析结果显示,EBV-DNA 载量与异型淋巴细胞百分率、CD3⁺ T 淋巴细胞水平、CD8⁺ T 淋巴细胞水平均呈正相关($r=0.447,0.567,0.603,P<0.05$);EBV-DNA 载量与 CD4⁺ T 淋巴细胞水平、CD4⁺ T 淋巴细胞/CD8⁺ T 淋巴细胞均呈负相关($r=-0.268,-0.407,P<0.05$)。

3 讨 论

IM 是一种淋巴组织增生性疾病,学龄前及学龄儿童较常见^[8],由于其症状及体征多样化,以及不典型病例在临床上逐渐增多,导致 IM 患儿漏诊、误诊,可能延误患儿最佳诊疗时间。在免疫抑制、遗传缺陷和潜伏感染反复激活的情况下,IM 可能进展为慢性活动性 EBV 感染、EBV 相关的噬血细胞综合征及淋巴瘤,预后不良^[9]。因此,对于 IM 患者,了解其机体免疫功能状态,采取个体化治疗越来越重要。

EBV 属于人疱疹病毒属,主要侵袭 B 淋巴细胞。EBV 感染人体后,首先与 B 淋巴细胞表面受体 CD21 结合并进入 B 淋巴细胞内,诱导 B 淋巴细胞表面抗原发生变化,激活 B 淋巴细胞使其无限增殖^[10],然后对 T 淋巴细胞产生效应,引起免疫反应来消耗 CD4⁺ 的调节性 T 淋巴细胞,以 CD8⁺ T 淋巴细胞为主的细胞毒 T 淋巴细胞大量增殖^[11],通过细胞毒性作用杀死受感染的 B 淋巴细胞,从而导致 CD4⁺ T 淋巴细胞/CD8⁺ T 淋巴细胞降低,甚至倒置^[12-13]。

本研究结果显示,研究组外周血 WBC、异型淋巴细胞百分率均高于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$),与以往研究结果一致,外周血中异型淋巴细胞百分率超过 10%,是 IM 的特征性变化^[5]。异型淋巴细胞百分率增高是由于 EBV 感染后引起患儿体内 T 细胞反应性增生。有研究显示,患者的大多数反应性淋巴细胞是 CD8⁺ 细胞毒性 T 细胞,主要是活化的 CD8⁺ T 淋巴细胞^[14]。活化的 CD8⁺ T 淋巴细胞形态学表现为细胞胞体增大,核染色质母细胞化,部分可见核仁,细胞质嗜碱性增强、色深、空泡等。除 IM 外,异型淋巴细胞也可见于支原体感染、病毒性肝炎、柯萨奇病毒感染和巨细胞病毒感染^[6],但异型淋巴细胞百分率一般不超过 10%。因此,异型淋巴细胞百分率大于 10%,仍然是 IM 的重要诊断标准之一。有研究表明,异型淋巴细胞百分率增高对免疫功能有直接影

响^[14]。在临床检验中,外周血异型淋巴细胞多采用人工镜检计数,易受主观因素的影响,结果存在一定的误差,T 淋巴细胞亚群检测可从一定程度上补充人工镜检的缺陷,且 T 淋巴细胞亚群可进一步反映机体的免疫功能。

本研究结果显示,研究组 EBV-DNA 载量阳性率明显高于对照组,研究组 CD3⁺ T 淋巴细胞、CD8⁺ T 淋巴细胞水平均高于对照组,CD4⁺ T 淋巴细胞水平和 CD4⁺ T 淋巴细胞/CD8⁺ T 淋巴细胞均低于对照组,差异均有统计学意义($P<0.05$)。CD4⁺ T 淋巴细胞水平与 CD4⁺ T 淋巴细胞/CD8⁺ T 淋巴细胞降低表明患者免疫系统可能受损,免疫功能紊乱,抗病毒能力可能降低,并且患者病情可能会发生恶化^[14]。Spearman 相关分析结果显示,EBV-DNA 载量与异型淋巴细胞百分率、CD3⁺ T 淋巴细胞水平、CD8⁺ T 淋巴细胞水平均呈正相关,与 CD4⁺ T 淋巴细胞/CD8⁺ T 淋巴细胞呈负相关,与文献[15]结论一致,表明 EBV-DNA 载量与异型淋巴细胞百分率及 T 淋巴细胞亚群水平相关性良好,EBV-DNA 载量越高,CD3⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞水平越高,CD4⁺ T 淋巴细胞水平和 CD4⁺ T 淋巴细胞/CD8⁺ T 淋巴细胞越低,越容易诱发严重的免疫反应异常,导致免疫功能紊乱,CD8⁺ T 淋巴细胞水平及 EBV-DNA 载量与疾病严重程度有关^[16]。有研究显示,EBV-DNA 载量与疾病种类及病情严重程度均呈正相关,EBV 感染导致的 IM、慢性活动性 EBV 感染及 EBV 相关嗜血性淋巴组织细胞增生症的发生机制均与免疫功能紊乱有关^[17]。因此,对 IM 患儿进行 T 淋巴细胞亚群水平检测有助于评估患儿的免疫功能状态,并且对于 EBV 感染后临床症状反复,EBV-DNA 载量持续升高,治疗后 T 淋巴细胞亚群水平持续异常者,以及慢性活动性 EBV 感染者,应同时关注 EBV-DNA 载量和 T 淋巴细胞亚群水平的变化,及时干预,对疾病的进展与预后有一定意义。

综上所述,EBV-DNA 载量与 IM 的发生和发展密切相关。临床医生可将 EBV-DNA 载量、异型淋巴细胞百分率、T 淋巴细胞亚群水平作为诊断与评估 IM 的重要指标,并结合多项指标综合分析,评估疾病状况,为临床治疗提供新方向。本研究尚存在不足之处,在对 IM 患儿的研究中不能排除用药情况,未对药

物的影响情况进行研究,另外本研究样本量较小,今后还需要前瞻性、多中心、大样本量进一步研究证实。

参考文献

[1] 董改琴,吕翔,陈敏华. 82 例儿童传染性单核细胞增多症临床分析[J]. 中国医科大学学报, 2017, 46(12): 1147-1149.

[2] 陈红英,刘春艳,邹艳,等. 小儿传染性单核细胞增多症 218 例临床特点分析[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2013, 18(2): 81-83.

[3] HURT C, TAMMARO D. Diagnostic evaluation of mononucleosis-like illnesses[J]. Am J Med, 2007, 120(10): 911.

[4] 王颖超,朱桂英,张秋堂,等. 传染性单核细胞增多症和慢性活动性 EB 病毒感染患儿免疫功能分析[J]. 中国全科医学, 2017, 20(17): 2089-2094.

[5] 吴菲,刘森. EBV-CA IgM、EBV DNA 和异型淋巴细胞在儿童传染性单核细胞增多症中的诊断价值[J]. 中华全科医学, 2020, 18(8): 1341-1343.

[6] 刘晋丽,杨春霞. 传染性单核细胞增多症与异型淋巴细胞相关性分析[J]. 山西医药杂志, 2019, 48(6): 706-707.

[7] 王华,刘晓东,许超凡,等. 儿童传染性单核细胞增多症 110 例临床分析[J]. 中国感染与化疗杂志, 2019, 19(1): 23-26.

[8] SCHWARTZKOPF J. Infectious mononucleosis[J]. JAA-PA, 2018, 31(11): 52-53.

[9] SUN C, CHEN X C, KANG Y F, et al. The status and prospects of epstein-barr virus prophylactic vaccine devel-

opment[J]. Front Immunol, 2021, 12: 677027.

[10] 方莉萍,邵丽佳,吴俊琪. 传染性单核细胞增多症患者多个临床检测指标的临床意义[J]. 全科医学临床与教育, 2016, 14(2): 193-194.

[11] 乔燕伟. 传染性单核细胞增多症研究进展[J]. 河北医药, 2020, 42(22): 3472-3476.

[12] 韩红满,李四强. 传染性单核细胞增多症相关免疫学研究进展[J]. 医学综述, 2020, 26(3): 443-447.

[13] 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.

[14] 吕海涛,沈腾腾,郑吉善,等. 匹多莫德口服液辅助治疗传染性单核细胞增多症的疗效分析[J]. 中国当代儿科杂志, 2018, 20(7): 563-566.

[15] BALFOUR H, ODUMADE A, SCHMELING D, et al. Behavioral, virologic, and immunologic factors associated with acquisition and severity of primary Epstein-Barr virus infection in university students[J]. J Infect Dis, 2013, 207(1): 80-88.

[16] FUGL A, ANDERSEN C L. Epstein-barr virus and its association with disease-a review of relevance to general practice[J]. BMC Fam Pract, 2019, 20(1): 62.

[17] 陶小娟,成胜权,钱新宏,等. 儿童非肿瘤性 EB 病毒感染相关疾病的血清学和免疫学特征分析[J]. 中国小儿急救医学, 2017, 24(6): 434-437.

(收稿日期:2022-06-10 修回日期:2022-12-15)

(上接第 1028 页)

[9] 李岩,韩光跃,刘艳芳,等. 河北省 2012—2015 年流行性感 冒流行特征分析[J]. 中国病毒病杂志, 2016, 6(3): 217-221.

[10] 钟沛丽. 我国流感流行特征、影响因素及模型预测研究 [D]. 广州:广州中医药大学, 2020.

[11] 马贵凤,祝洁,曹慧军,等. 2013—2018 年我国流感流行特征分析[J]. 中国病原生物学杂志, 2019, 14(1): 73-77.

[12] 李垚,梁丁元,穆云松,等. 甲型流感的流行与防控分析及其对新冠肺炎疫情的启示[J]. 环境科学研究, 2020, 33(7): 1562-1570.

[13] 陈蕾,唐秀娟,高玮,等. 2017—2019 年深圳市流行性感 冒流行特征分析[J]. 华南预防医学, 2021, 47(10): 1358-1360.

[14] 韩淑琪,王胜男,王玉宁,等. 济宁市 2017—2020 年流感流行季甲型 H3N2 流感病毒血凝素和神经氨酸酶基因特征[J]. 中国疫苗和免疫, 2022, 28(3): 303-308.

[15] GAMBARYAN A S, BALISH A, KLIMOV A I, et al. Changes in the receptor-binding properties of H3N2 viru-

ses during long-term circulation in humans[J]. Biochemistry, 2019, 84(10): 1177-1185.

[16] 许玉成,张瑞银,周志峰,等. 学校及托幼机构流行性感 冒疫情传播能力评估和停课措施效果评价[J]. 中国学校卫 生, 2021, 42(2): 273-276.

[17] 李佳泽,姜春明. 儿童乙型流感病毒感染特点及防治的研究进展[J]. 中国微生态学杂志, 2019, 31(9): 1105-1109.

[18] 李铁钢,王鸣. 在抗击新型冠状病毒肺炎疫情同时警惕季 节性流感的叠加效应[J]. 中华预防医学杂志, 2020, 54(4): 337-339.

[19] 国家免疫规划技术工作组流感疫苗工作组. 中国流感疫 苗预防接种技术指南: 2021—2022[J]. 中华流行病学杂 志, 2021, 42(10): 1722-1749.

[20] 陈田木,陈水连,谢知,等. 不同隐性感染和传播能力条件 下的流感暴发防控措施效果模拟[J]. 中国热带医学, 2017, 17(5): 470-476.

(收稿日期:2022-05-06 修回日期:2022-11-26)