

· 论著 ·

儿童呼吸道感染EB病毒对机体免疫机能的影响

河南省驻马店市中心医院检验科临检室 (河南 驻马店 463000)

马 颖

【摘要】目的 探究儿童呼吸道感染EB病毒(EBV)对机体免疫机能的影响。方法 将我院2015年7月至2017年9月收治的以呼吸道感染症状为临床表现的70例EBV感染患儿纳入感染组,另将同期经临床检查排除EBV感染的50例儿童纳入对照组。检测受试者T淋巴细胞亚群的比例、免疫球蛋白IgG、IgA、IgM水平及EB病毒载量,比较感染组与对照组儿童免疫细胞水平,分析不同EB病毒载量患儿免疫指标水平。结果 感染组患儿CD8⁺T淋巴细胞比例、IgG、IgM显著高于对照组($P<0.05$);CD4⁺T淋巴细胞比例、CD4⁺/CD8⁺比值及IgA水平显著低于对照组($P<0.05$);与高载毒量患儿相比,低载毒量患儿CD4⁺T淋巴细胞比例、CD4⁺/CD8⁺比值及IgA水平显著升高($P<0.05$);CD8⁺T淋巴细胞比例、CD3⁺T淋巴细胞比例及IgG、IgM水平显著降低($P<0.05$);CD4⁺T淋巴细胞比例、CD4⁺/CD8⁺比值与EB病毒载量呈负相关($P<0.05$);CD8⁺T淋巴细胞比例、IgM水平与EB病毒载量呈正相关($P<0.05$)。结论 EB病毒感染可引起儿童T淋巴细胞免疫机能的异常,临床上可通过观察儿童T淋巴细胞亚群及免疫球蛋白水平变化情况,评价患儿机体免疫状态。

【关键词】EB病毒;儿童;T淋巴细胞亚群;细胞免疫

【中图分类号】R725.6

【文献标识码】A

DOI: 10.3969/j.issn.1009-3257.2019.05.010

Effect of EB Virus on Body Immune Function in Children with Respiratory Tract Infection

MA Ying. Department of Clinical Laboratory, Center Hospital of Zhumadian City, Zhumadian 463000, Henan Province, China

【Abstract】Objective To explore the effect of Epstein-Barr virus (EBV) on body immune function in children with respiratory tract infection. Methods 70 EBV infected children with respiratory tract infection as the clinical manifestation treated in the hospital from July 2015 to September 2017 were included in the infected group. Another 50 children without EBV infection were included in the control group. The proportion of T-lymphocyte subsets, levels of immunoglobulins IgG, IgA and IgM and EBV load were detected. The levels of immune cells were compared between the infected group and the control group, and between children with different EBV loads. Results The ratio of CD8⁺T lymphocytes, IgG and IgM in the infected group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$), while the proportion of CD4⁺T lymphocytes, CD4⁺/CD8⁺ ratio and IgA were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$). Compared with children with high virus load, the proportion of CD4⁺T lymphocytes, CD4⁺/CD8⁺ ratio and the level of IgA were significantly higher while the proportions of CD8⁺ and CD3⁺T lymphocytes, levels of IgG and IgM were significantly lower in children with low virus load ($P<0.05$). The proportion of CD4⁺T lymphocytes and CD4⁺/CD8⁺ ratio were negatively correlated with EBV load ($P<0.05$), while the proportion of CD8⁺T lymphocytes and the level of IgM were positively correlated with EBV load ($P<0.05$). Conclusion EBV infection can cause abnormal T lymphocyte immune function in children. Clinically, the immune status of children can be evaluated by observing changes in T lymphocyte subsets and levels of immunoglobulins.

【Key words】EB Virus; Children; T Lymphocyte Subsets; Cellular Immunity

EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是疱疹病毒科γ亚科家族中的一员,人类是EBV易感宿主^[1]。流行病学显示,EBV在90%以上的人群中均处于潜伏感染状态,当人体抵抗力下降时,EBV可被活化,并随B淋巴细胞进入机体循环中,激活T淋巴细胞,引发相应免疫反应^[2]。EBV感染与许多疾病相关,感染后可出现多系统、多脏器的损伤,其中损伤在呼吸道可表现为上呼吸道感染,累及神经系统可发展为病毒性

脑炎,此外也可引起血液系统疾病及心肌病变等严重疾病^[3]。EBV感染对于年龄较小的患儿临床症状常不典型,当以严重血液系统、神经系统、呼吸系统及消化系统症状为首发症状时,常难以诊断,容易漏诊。体液免疫及细胞免疫均在EBV感染过程中起关键作用,EB病毒感染后机体原发性体液免疫做出相应免疫应答,抗原特异性细胞大量增殖,随之大量凋亡,当EBV再次增殖复制时,记忆T细胞可迅速活化进行免

作者简介:马 颖,女,检验初级技师 大学学历,主要研究方向:检验科

通讯作者:马 颖

疫应答^[4-5]。探究EBV感染过程对儿童机体免疫机能的影响对指导治疗及预后具有一定临床意义。本研究对儿童呼吸道感染EBV儿童外周血免疫相关指标进行检测,并与正常未感染儿童进行比较,观察呼吸道EBV感染后免疫状态的变化,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 以我院2015年7月至2017年9月收治的以呼吸道症状为临床表现的EBV感染患儿为研究对象。纳入标准:所有患儿均符合中华人民共和国卫生部制定的呼吸道感染诊断标准^[6];经实时荧光定量PCR方法检测EBV-DNA $\geq 5 \times 10^2$ 拷贝/mL,所有患儿病例资料完整,家属同意本研究并签署同意书。排除标准:合并其他感染性疾病及潜在疾病患者;配合本研究中检查。将符合上述标准的70例患儿纳入感染组,根据EB-DNA测定结果将感染组分为高载量组(EBV-DNA $\geq 1 \times 10^4$ 拷贝/mL)及低载量组(EBV-DNA $< 1 \times 10^4$ 拷贝/mL)两个亚组;另将同期至本院体检并经EBV载量检测排除EBV感染的50例儿童纳入对照组。其中感染组男38例,女32例,年龄1~10岁,平均(5.02 \pm 1.88)岁,高载量组37例,低载量组33例;对照组男27例,女23例,年龄0.5~9岁,平均(5.33 \pm 1.79)岁,经比较,两组患儿年龄及性别组成差异无统计学意义($P>0.05$),具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 仪器与试剂: T淋巴细胞亚群的检测采用美国BD公司的FACS-Calibur流式细胞仪及其配套试剂;EBV载量的检测采用美国ABI实时荧光定量PCR仪7500,检测试剂由赛默飞世尔科技(中国)有限公司提供。

1.2.2 实验方法: 免疫指标测定:患儿均于入院后2~4d采集空腹静脉血,免疫球蛋白IgG、IgA、IgM采用免疫比浊法进行测定,试剂盒由浙江爱康生物科技有限公司提供,淋巴细胞亚群检测采用流式细胞仪检测。

EBV载量检测: (1)病毒DNA提取:取1ml全血加入含1ml淋巴细胞分离液的离心管中,2000rpm/min(离心半径10cm)离心20min,移取中间白色云雾状细胞层至1.5ml离心管,12000rpm/min(离心半径10cm)离心5min,弃上清,于沉淀中加入50 μ l DNA提取液后充分混匀,100℃处理10min后离心取上清备用。(2)标准品制备:取阴性、阳性、临界阳性样品50 μ l置于

离心管中,加入50 μ l DNA提取液后充分混匀,100℃处理10min后离心取上清备用。(3)PCR扩增反应:按照待测样本、阴性质控品、临界阳性质控品、阳性质控品及定量参考品顺序吸取2 μ l液体置入上样孔内;反应程序:93℃ 2min;93℃ 45s;55℃ 60s,10个循环;93℃ 30s;55℃ 45s,30个循环;反应结束后自动保存数据,调整荧光值并读取结果,保证阴性质控品不出现数值,记录仪自动分析待测样本病毒拷贝数。

1.3 统计学分析 采用SPSS22.0进行数据的处理与统计学分析,计量资料以($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用t检验,相关性分析采用Pearson相关性分析,以 $P<0.05$ 表示差异具统计学意义。

2 结果

2.1 EB感染患儿与未感染儿童免疫情况比较 感染组CD4⁺T淋巴细胞比例、CD4⁺/CD8⁺比值、IgA显著显著低于对照组($P<0.05$),CD8⁺T淋巴细胞比例、IgG、IgM高于对照组($P<0.05$)。见表1。

2.2 不同病毒载量患者免疫水平情况比较 与高载毒量患儿相比,低载毒量患儿CD4⁺T淋巴细胞比例、CD4⁺/CD8⁺比值、IgA显著升高($P<0.05$);CD8⁺T淋巴细胞比例、CD3⁺T淋巴细胞比例、IgA显著降低,差异具统计学意义($P<0.05$)。见表2。

2.3 EBV载量与各免疫指标的相关性分析 CD4⁺T淋巴细胞比例及CD4⁺/CD8⁺比值与EBV载量呈负相关($r=-0.335$, $r=-0.319$, $P<0.05$);CD8⁺T淋巴细胞比例、IgM水平与EBV载量呈正相关($r=0.401$, $r=0.301$, $P<0.05$);CD3⁺T淋巴细胞比例、IgG、IgA与EBV载量未见相关性($r=0.210$, $P>0.05$)。见图1-4。

3 讨论

EBV感染是一类常见的儿童病毒感染,研究表明,我国3~5岁儿童EBV感染阳性率达90%以上,EBV主要通过唾液传播,一旦感染,将长期潜伏于人体中^[7]。EBV感染机制复杂,其作为一类嗜B淋巴细胞的DNA病毒,具有长期潜伏人体、适当条件下活化并使其宿主细胞无限增殖的能力,EBV进入机体后可与B细胞受体结合,感染成熟B细胞,建立起潜伏感染,病毒随着淋巴细胞循环进入机体其他组织中,损伤其他

表1 EB感染患儿与未感染儿童免疫情况比较

组别	例数	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)
感染组	70	19.46±8.49	44.78±15.41	74.44±11.08	0.59±0.27	8.62±2.46	0.86±0.35	1.27±0.24
对照组	50	35.16±9.64	22.64±6.48	70.94±10.61	1.62±0.49	7.16±1.56	1.23±0.34	1.07±0.22
t值		9.436	9.564	1.736	14.745	3.696	5.777	4.657
P值		0.000	0.000	0.085	0.000	0.000	0.000	0.000

表2 不同病毒载量患者免疫水平比较

组别	例数	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)
高载量组	37	15.46±7.49	49.61±10.79	78.08±8.88	0.42±0.26	8.76±1.98	0.79±0.33	1.42±0.33
低载量组	33	22.38±4.77	33.67±10.23	71.37±9.49	0.88±0.34	8.24±1.23	0.90±0.29	1.14±0.27
t值		4.546	6.322	3.055	6.397	1.301	1.473	3.856
P值		0.000	0.000	0.003	0.000	0.197	0.145	0.000

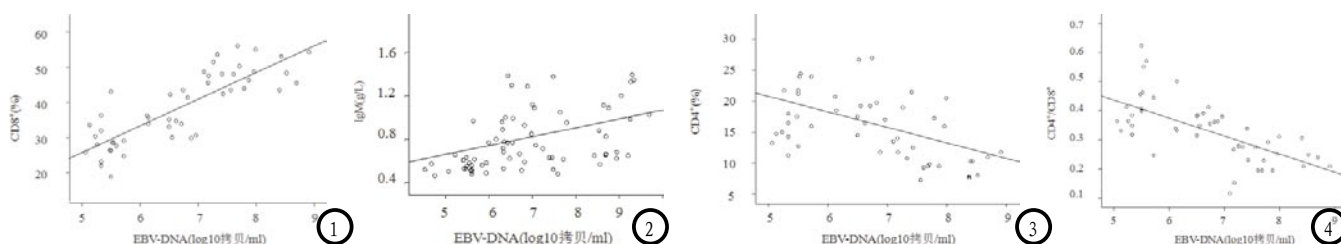


图1-4 EBV载量与各免疫指标的相关性分析。

部位正常细胞,被感染的B细胞可激活T细胞,引起大量增殖及分化,产生炎症因子,从而表现为一系列临床症状。EBV感染在婴幼儿时期表现的症状较轻,仅出现咳嗽、发热及扁桃体等症状,这一阶段的感染常常容易漏诊,但当在一定条件或诱导因子作用下,潜伏感染的EBV极易被激活而表达,被带往全身多个系统,且症状多变,轻重不一,严重危害儿童的身体健康^[8]。

体液免疫及细胞免疫在EBV感染及发病过程中发挥重要作用,EBV原发感染后刺激B淋巴细胞分泌产生免疫球蛋白,引发体液免疫反应,而相应的机体内针对EBV裂解期及潜伏期抗原的特异性毒T淋巴细胞大量增殖,随后大量凋亡,仅少数抗原特异性记忆T细胞在体内潜伏下来,长期随血液循环,当EBV再次增殖并产生大量特异性抗原时,记忆T细胞可迅速进入活化状态并大量增殖,产生更为迅速、有效的免疫应答^[9-10]。在各种T细胞分化抗原中,CD4是辅助T细胞及效应T细胞的表面标志,CD4⁺T淋巴细胞在EB原发性感染中的作用主要为产生高亲和力抗体,激活并维持毒T淋巴细胞数量及功能,直接参与活化效应;在持续性感染中,其可对EBV感染的细胞产生细胞毒性作用^[11]。CD8是细胞毒T细胞及抑制T细胞的表面标志,可通过释放抑制因子抑制B细胞,下调机体的免疫机

能。研究表明,对EBV原发性感染进行免疫应答的主要是增殖的CD8⁺T淋巴细胞,它具有较好的溶细胞能力,可识别并杀死EBV感染的B细胞,抑制其分化增殖,临床研究证明CD8⁺T淋巴细胞与原发感染有症状者及无症状者相关^[12-13],CD4⁺及CD8⁺细胞的动态平衡是维持细胞免疫机能的关键。

本研究比较了呼吸道感染EBV患儿与正常未感染EB儿童的免疫水平,对EBV感染及未感染患儿T淋巴细胞亚群分布进行比较,结果显示感染后CD4⁺T淋巴细胞比例及CD4⁺/CD8⁺比值升高;CD8⁺T淋巴细胞比例及CD3⁺T淋巴细胞比例降低,结合对高低载毒量患儿的比较可知各淋巴细胞亚群升高和降低幅度与机体EBV载量相关。而对免疫球蛋白指标进行分析,感染组患儿IgA、IgG水平与对照组无显著性差异,IgM水平与病毒载量负相关,提示在儿童EB感染过程中,体液免疫发挥的效应较细胞免疫弱。林应标等人证实,呼吸道感染EBV阳性患儿外周血淋巴细胞及异型淋巴细胞比值均显著高于EBV感染阴性组及健康对照组^[14];彭俊娟等人对比了80例EBV感染儿童及38例正常儿童的免疫功能,研究显示EBV感染组CD3⁺、CD8⁺T淋巴细胞比例均显著高于对照组,而CD4⁺T淋巴细胞比例及CD4⁺/CD8⁺比值均显著低于对照组^[15];

(下转第34页)

石铭等人也研究发现,高病毒拷贝患儿的CD3⁺、CD8⁺T淋巴细胞比例显著高于低拷贝患儿,CD4⁺T淋巴细胞比例及CD4⁺/CD8⁺比值显著低于低拷贝患儿^[16]。本研究结果与其类似。

综上,EBV感染可引起儿童免疫机能的异常,临床上可通过观察儿童免疫相关指标变化情况,评价患儿机体免疫状态,为疾病的诊断及预后提供参考。

参考文献

- [1] Kieser A,Kilger E,Gires O,et al.Epstein-Barr virus latent membrane protein-1 triggers AP-1 activity via the c-Jun N-terminal kinase cascade[J].Embo Journal,2014,16(21):6478-6485.
- [2] 叶吉波.2015年舟山某院就诊小儿人群EB病毒、巨细胞病毒、柯萨奇病毒感染分布特征分析[J].中国卫生检验杂志,2017,4(1):138-140.
- [3] 中华医学会儿科学分会感染学组.儿童主要非肿瘤性EB病毒感染相关疾病的诊断和治疗原则建议[J].中华儿科杂志,2016,54(8):563-568.
- [4] Rickinson A B,Moss D J,Pope J H.Long-term C-cell-mediated immunity to Epstein-Barr virus in man. II. Components necessary for regression in virus-infected leukocyte cultures[J]. International Journal of Cancer Journal International Du Cancer,2010,23(5):610-617.
- [5] Pender M P.CD8⁺ T-Cell Deficiency, Epstein-Barr Virus Infection, Vitamin D Deficiency, and Steps to Autoimmunity: A Unifying Hypothesis[J].Autoimmune Diseases,2012,2012(7691):189096.
- [6] 中华人民共和国卫生部.医院感染诊断标准(试行)[J].中华医学杂志,2001,81(5):460-465.
- [7] 杨莉.山东滨州地区儿童患者EB病毒感染血清流行病学分析[J].公共卫生与预防医学,2014,25(5):22-23.
- [8] 陈天明,苗亦青,耿竹馨,等.原发性EB病毒感染3岁以下儿童住院病例的临床特征[J].中华实用儿科临床杂志,2016,31(22):1700-1704.
- [9] 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.
- [10] 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.
- [11] 崔强华,孙莉,吴琳,等.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[J].重庆医学,2017,46(25):3491-3493.
- [12] 许俐,林书祥,张嘉,等.急性和慢性EB病毒感染儿童外周血CD8⁺T细胞活化差异比较[J].天津医药,2010,38(7):630-631.
- [13] 肖晗,孙红,刘秀珍,等.CD160在EB病毒感染患儿T淋巴细胞上的表达及临床意义[J].华中科技大学学报(医学版),2015,8(6):691-695.
- [14] 林应标,李琦,陈虹亮,等.患儿呼吸道感染EB病毒外周血淋巴细胞及异型淋巴细胞比值变化的临床研究[J].中华医院感染学杂志,2017,27(3):667-670.
- [15] 彭俊娟,王锦,朱玮,等.EB病毒感染患儿的免疫功能研究[J].儿科药理学杂志,2016,12(11):1-3.
- [16] 石铭,蔡红阳,王楠,等.患儿EB病毒感染与T淋巴细胞亚群变化的相关性[J].中华传染病杂志,2016,34(11):688-690.

【收稿日期】2018-08-17