

doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2014.11.001

论著·临床研究

儿童慢性活动性EB病毒感染 临床及实验室检查特征

茅君卿 杨世隆 宋华 赵芬英 徐晓军 顾敏儿 汤永民

(浙江大学医学院附属儿童医院血液肿瘤科, 浙江 杭州 310003)

[摘要] **目的** 研究慢性活动性EB病毒感染(CAEBV)患儿的临床及外周血淋巴细胞亚群等实验室检查特征,为CAEBV的诊治提供依据。**方法** 分析13例CAEBV患儿的临床资料,包括患儿的临床表现、病毒学检测及淋巴细胞亚群测定结果,并与15例急性EB病毒感染(AEBV)病例作对照研究。**结果** 两组患儿临床表现类似,主要为发热、肝脾肿大、淋巴结肿大等传染性单核细胞增多症(IM)样症状,区别在于CAEBV患儿病程较长,上述症状持续或反复出现。CAEBV组患儿外周血EBV-DNA载量明显高于AEBV组($P<0.05$)。CAEBV组VCA-IgG明显高于AEBV组($P<0.05$)。CAEBV组外周血白细胞计数、淋巴细胞计数、B细胞计数、总T细胞计数、CD4⁺T细胞计数和CD8⁺T细胞计数均低于AEBV组($P<0.05$)。随访13例CAEBV患儿,8例死亡,2例好转,2例病情仍有反复,1例转院后失访。15例AEBV患儿均治愈,随访1年无病情反复。**结论** CAEBV患儿临床表现多样,早期较难与AEBV鉴别,预后差,病死率高。外周血EBV-DNA载量、VCA-IgG及淋巴细胞亚群的测定对CAEBV诊断具有一定帮助。[中国当代儿科杂志, 2014, 16(11): 1081-1085]

[关键词] EB病毒;感染;淋巴细胞亚群;儿童

Clinical and laboratory characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection in children

MAO Jun-Qing, YANG Shi-Long, SONG Hua, ZHAO Fen-Ying, XU Xiao-Jun, GU Min-Er, TANG Yong-Min. Department of Hematology, Children's Hospital of Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310003, China (Tang Y-M, Email: y_m_tang@zju.edu.cn)

Abstract: Objective To study the clinical and laboratory characteristics of chronic active Epstein-Barr virus (EBV) infection (CAEBV) in children and to provide a basis for the diagnosis and treatment of CAEBV. **Methods** The clinical data of 13 children with CAEBV, as well as 15 cases of acute EBV infection (AEBV) as controls, were analyzed, including clinical manifestations, EBV antibodies, EBV DNA, and peripheral blood lymphocyte subsets. **Results** Both groups of patients had infectious mononucleosis-like symptoms such as fever, hepatomegaly, splenomegaly, and lymphadenectasis, but CAEBV patients had a longer course of disease and continuous and recurrent symptoms. Compared with the AEBV group, the CAEBV group had a significantly higher EBV DNA load in peripheral blood ($P<0.05$), a significantly higher VCA-IgG titer ($P<0.05$), and significantly lower numbers of white blood cells, lymphocytes, B cells, total T cells, CD4⁺T cells, and CD8⁺T cells in peripheral blood ($P<0.05$). Among 13 CAEBV patients followed up, 8 cases died, 2 cases showed an improvement, 2 cases had a recurrence, and 1 case was lost to follow-up after being transferred to another hospital. All the AEBV patients were cured and had no recurrence during the one-year follow-up. **Conclusions** The clinical manifestations of CAEBV vary in children. It is difficult to distinguish CAEBV from AEBV early. More attention should be paid to CAEBV because of its severe complications, poor prognosis, and high mortality. Measurement of EBV DNA load, VCA-IgG titer, and lymphocyte subsets in peripheral blood may be helpful in the diagnosis and differential diagnosis of CAEBV.

[Chin J Contemp Pediatr, 2014, 16(11): 1081-1085]

Key words: Epstein-Barr virus; Infection; Lymphocyte subsets; Child

[收稿日期] 2014-03-24; [接受日期] 2014-06-20

[基金项目] 浙江省教育厅科研项目(编号: Y201122708)。

[作者简介] 茅君卿,女,硕士,主治医师。

[通信作者] 汤永民,男,教授。

EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是一种嗜人类淋巴细胞的疱疹病毒,1964年由Epstein、Barr等首次在非洲儿童的恶性淋巴瘤组织培养中发现。EBV在人群中感染非常广泛,人群感染率超过90%,而且多发生在儿童时期。大多数EBV的原发感染为急性感染(acute Epstein-Barr virus infection, AEBV),可无症状或表现为传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)。少数无明显免疫缺陷的个体,原发EBV感染后病毒持续活动性复制、不进入潜伏感染状态,或处于潜伏感染状态下的EBV可再次激活并且大量复制、机体再次进入病理状态,表现为IM症状持续存在或退而复现,并发噬血细胞综合症、间质性肺炎、视网膜眼炎、恶性肿瘤或多脏器损害、弥散性血管内凝血等严重并发症,同时伴随EBV抗体的异常改变和病毒载量的增加,称为慢性活动性EB病毒感染(chronic active Epstein-Barr virus infection, CAEBV)^[1]。目前该病的发病机制、诊断及治疗仍是困扰儿科医生的一大难题,国内也有学者展开了对该病的研究^[2-3]。本研究将我院收治的13例CAEBV患儿的临床及实验室检查特征报告如下,并与15例AEBV病例做对比研究,为国内儿科医生提高对CAEBV的认识作借鉴。

1 资料与方法

1.1 研究对象

我院2009年8月至2013年5月收治13例CAEBV患儿,其中男性8例,女性5例,中位年龄4岁(1~14岁),均符合2005年Okano等^[4]修订的CAEBV诊断标准:(1)持续或反复IM样临床表现:一般具有长期或反复发热、淋巴结肿大、肝脾肿大,其他多种涉及血液系统、消化系统、神经系统、肺部、心血管系统、眼睛、耳朵和皮肤的临床表现和并发症,往往也可发生于IM患者;(2)特定EBV抗体谱:衣壳抗原(VCA)-IgG抗体和早期抗原(EA)-IgG抗体滴度显著升高;和(或)受累组织(包括外周血)EBV基因拷贝数升高;(3)临床表现不能用其他慢性疾病解释。必须同时满足上述3条标准。此修订标准不再强调病程大于6个月。15例AEBV患儿作为对照,其中男性4例,女性11例,中位年龄2岁

(3个月至10岁),全部病例符合诊断标准^[5]:

(1)发热伴咽峡炎或淋巴结大或肝脾大的IM样症状,1周左右的急性病程伴VCA-IgM或外周血中EBV-DNA载量增高;(2)淋巴细胞大于50%或异型淋巴细胞大于10%;(3)排除其他感染。必须同时满足上述3条标准。

1.2 研究方法

收集患儿临床表现、血常规、肝功能、病毒抗体、外周血或骨髓中EBV-DNA、组织中EBV包被RNA(EBER)、外周血淋巴细胞亚群及影像学等资料,分析CAEBV患儿临床及实验室特征,并进行随访,并比较其与AEBV患儿的差异。

1.3 统计学分析

采用SPSS 20.0统计软件对数据进行统计学分析。计量资料以均数 $\pm$ 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,两样本间的均值的比较采用独立样本 t 检验,当两样本方差不齐时采用Mann-Whitney U 检验。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 临床表现

CAEBV组病例确诊前的病程为3~36个月,中位时间为10个月。13例患儿均有发热,11例肝脏肿大,8例脾脏肿大,5例淋巴结肿大,2例皮疹,其中1例为蚊虫叮咬后牛痘样水疱疹,咳嗽1例,腹泻1例。

AEBV组病例为急性起病,确诊前的病程为2~10 d,中位时间为5 d。13例患儿有发热,12例肝脏肿大,8例脾脏肿大,10例淋巴结肿大,9例咽峡炎,6例咳嗽,3例皮疹,均为红色小丘疹。

2.2 一般实验室检查及其他辅助检查

CAEBV组11例患儿出现血液系统异常:6例全血细胞减少,4例血二系减少,1例贫血。11例出现不同程度的谷丙转氨酶(GPT)升高,8例乳酸脱氢酶(LDH)升高,6例高胆红素血症。10例检测免疫球蛋白:IgG升高4例,降低1例;IgA升高3例,降低2例;IgM降低3例;IgE升高4例。5例出现心电图异常:2例房室传导阻滞,1例频发室早伴房室传导阻滞,1例房性早搏。4例B超显示多浆膜腔积液。1例胸部CT提示间质性肺炎。

AEBV组7例患儿出现血液系统异常:3例白

细胞增高, 2例白细胞增高伴贫血, 2例血三系降低。7例出现不同程度的GPT升高, 13例LDH升高, 2例高胆红素血症。15例均检测免疫球蛋白: IgG升高8例, 降低3例; IgA升高7例, 降低2例; IgM升高5例, 降低2例; IgE升高8例。2例出现心电图异常: 1例T波轻度改变, 1例右心室高

电压。2例B超显示多浆膜腔积液。

与AEBV组患儿相比, CAEBV组患儿外周血白细胞计数、淋巴细胞计数降低, 直接胆红素增高(均 $P<0.05$), 而GPT、LDH、IgG、IgA、IgM、IgE两组比较差异无统计学意义(表1)。

表1 两组一般实验室检查结果的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	白细胞计数 ($\times 10^9/L$)	淋巴细胞计数 ($\times 10^9/L$)	GPT (U/L)	LDH (U/L)	直接胆红素 ($\mu\text{mol/L}$)	IgG (g/L)	IgA (g/L)	IgM (g/L)	IgE (IU/mL)
AEBV组	15	10.9 ± 8.9	6.7 ± 5.3	128 ± 159	700 ± 730	5 ± 6	11 ± 4	1.2 ± 1.1	1.1 ± 0.8	159 ± 253
CAEBV组	13	2.7 ± 2.0	1.2 ± 1.1	282 ± 297	751 ± 640	18 ± 28	12 ± 5	1.8 ± 1.5	0.7 ± 0.3	160 ± 266
$t(Z)$ 值		(3.527)	(3.546)	1.744	0.193	(1.486)	0.520	(0.939)	(1.721)	(0.055)
P 值		<0.001	<0.001	0.093	0.846	<0.001	0.608	0.397	0.154	0.978

2.3 病毒学检查

对患儿进行的病毒学检查包括EBV相关抗体、外周血及骨髓EBV-DNA、肝活检组织中EBER的检测。

13例CAEBV患儿VCA-IgM为0.12~1.69 U/mL(参考值0~1.1 U/mL), 其中仅1例升高; VCA-IgG为83.2~200.5 U/mL(参考值0~22.0 U/mL), 13例均升高; EA-IgM均阴性, EA-IgG阳性1例, 核抗原(NA)-IgG阳性2例。外周血EBV-DNA检测均为阳性, 结果为 $1.1 \times 10^3 \sim 5.4 \times 10^5$ 拷贝/mL, 中位数为 1.2×10^5 拷贝/mL。6例行骨髓穿刺术, 骨髓EB-DNA检测均为阳性, 结果为 $1.0 \times 10^3 \sim 1.1 \times 10^7$ 拷贝/mL, 中位数为 3.5×10^5 拷贝/mL, 其中3例明显高于血浆检测值, 2例稍高于血浆, 1例低于血浆。4例行肝脏穿刺活检术, 肝组织中EBER均阳性。

15例AEBV患儿VCA-IgM为0.2~1.89 U/mL(参考值0~1.1 U/mL), 其中升高6例; VCA-IgG为19.8~200.5 U/mL(参考值0~22.0 U/mL), 其中升高14例; EA-IgM阳性11例; EA-IgG均阴性; NA-IgG阳性4例。外周血EBV-DNA检测阳性7

例, 结果为 $1.0 \times 10^3 \sim 7.8 \times 10^5$ 拷贝/mL, 中位数为 1.2×10^3 拷贝/mL。2例行骨髓穿刺术, 骨髓EB-DNA检测为阳性, 结果分别为 1.2×10^3 、 3.9×10^3 拷贝/mL, 外周血检测均为阴性。无病例进行肝穿刺活检。

与AEBV组患儿比较, CAEBV组患儿VCA-IgM升高者极少, VCA-IgG升高较AEBV患儿明显, 外周血EBV-DNA病毒载量较AEBV患儿高(表2)。

2.4 外周血淋巴细胞亚群测定

CAEBV组外周血B细胞计数、总T细胞计数、CD4⁺T细胞计数和CD8⁺T细胞计数均低于AEBV组($P<0.01$), 而NK细胞计数和CD4⁺/CD8⁺比值两组比较差异无统计学意义(表3)。

表2 两组患儿VCA-IgG和外周血EBV-DNA病毒载量的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	VCA-IgG (U/mL)	外周血EB-DNA ($\times 10^3$ 拷贝/mL)
AEBV组	15	82 ± 54	53 ± 201
CAEBV组	13	140 ± 53	144 ± 169
$t(Z)$ 值		2.881	(3.747)
P 值		0.008	<0.001

表3 两组外周血淋巴细胞亚群的比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	例数	NK细胞 ($\times 10^7/L$)	B细胞 ($\times 10^7/L$)	T细胞 ($\times 10^7/L$)	CD4 ⁺ T细胞 ($\times 10^7/L$)	CD8 ⁺ T细胞 ($\times 10^7/L$)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
AEBV组	15	65 ± 65	77 ± 80	451 ± 428	117 ± 76	281 ± 331	0.9 ± 0.9
CAEBV组	13	30 ± 61	16 ± 20	58 ± 42	29 ± 24	23 ± 21	1.9 ± 1.8
$t(Z)$ 值		1.462	(2.833)	(3.708)	(3.571)	(3.687)	(1.562)
P 值		0.156	0.004	<0.001	<0.001	<0.001	0.142

2.5 随访

随访1~42个月,13例CAEBV患儿中,8例死亡,2例好转(停止治疗半年后外周血病毒载量持续阴性),2例病情仍有反复(继续治疗中),1例转院后失访。15例AEBV患儿均治愈,随访1年无病情反复。

3 讨论

CAEBV的临床表现复杂多样,以持续或间断发热、肝脾淋巴结肿大等IM样表现为突出特征,常见的表现还包括肝功能异常、全血细胞减少、皮疹、蚊虫叮咬的变态反应、牛痘样水疱病、腹泻、间质性肺炎、视网膜炎、腮腺炎、心肌炎等^[6-7]。少见症状包括脑出血、舞蹈病、广泛性肌炎、肾小球肾炎、肺动脉高压等,这些症状更常见于儿童及青少年患者中^[8]。本研究CAEBV组患儿均有发热,大部分患儿有肝脾淋巴结肿大、肝功能异常、血细胞减少,还有皮疹、蚊虫叮咬的变态反应、腹泻、间质性肺炎、多浆膜腔积液、心电图异常等,未发现上述少见症状。AEBV组患儿的临床表现与其相似,故单从临床症状上区分CAEBV和AEBV比较困难,疾病表现是否持续或反复发生是两者的鉴别点之一,蚊虫叮咬的变态反应和牛痘样水疱病是前者的特征性皮疹表现。

EBV抗体测定是CAEBV诊断标准的重要组成部分^[4,9]。CAEBV患儿VCA-IgG滴度多明显增高,大部分EA-IgG滴度增高,约20%患儿NA-IgG滴度低下或阴性^[10]。本研究发现CAEBV组患儿VCA-IgG水平较AEBV组明显升高,VCA-IgM、EA-IgG、NA-IgG偶有阳性表达,而EA-IgM阳性仅出现于AEBV组。

虽然CAEBV具有特定的EBV抗体表达谱,但部分患儿VCA-IgG及EA-IgG并不升高,可能与机体对EBV特异性免疫应答存在某些缺陷有关^[10-12],故目前认为抗体滴度改变并非诊断CAEBV的必要条件,而受累组织或外周血EBV-DNA和EBER检测对诊断意义更大,反映体内EBV负荷^[4,10,13]。尽管正常人外周血及组织中也存在少量EBV-DNA,但CAEBV患者的病毒载量更高^[6]。本研究发现CAEBV患儿外周血EBV-DNA载量明显增高,且高于AEBV患儿,骨髓检测病

毒载量更高于外周血,4例肝脏活检标本EBER均阳性,证实CAEBV确实存在病毒的大量复制,检测外周血、组织中EBV-DNA或EBER是诊断CAEBV的有效手段。

AEBV时EBV感染的靶细胞为B淋巴细胞,但CAEBV时EBV主要感染T细胞和NK细胞。CAEBV情况下,EBV感染T细胞或NK细胞一般为潜伏感染方式,表达潜伏感染膜蛋白(latent membrane protein, LMP) 2A和2B,抑制其他病毒蛋白表达,降低EBV感染细胞的免疫原性,有助于逃逸机体免疫监视,不被CD8⁺细胞毒性T细胞(CTLs)清除^[14-15]。有报道CAEBV患儿EBV特异的CTL数目和反应均降低或检测不到。本研究中CAEBV组患儿外周血CD4⁺和CD8⁺T细胞计数均明显低于AEBV组,可能导致EBV感染后宿主的正常免疫应答反应很弱或检测不到,感染EBV的细胞不易被清除,从而引起疾病的慢性活动。既然免疫逃逸是CAEBV的发病机制,那么在治疗上除了抗病毒外需强调改善或重建机体正常免疫功能的重要性。

无论成人或儿童,CAEBV预后均不佳,尤其是出现严重并发症以及发病年龄在8岁以下者预后更差,半数以上CAEBV患者从首发症状出现后5年内因严重并发症死亡^[11]。北京儿童医院曾报道53例儿童CAEBV病例,随访的42例患者中,26.2%在发病后7个月至3年内死亡^[7]。国外学者有报道称CAEBV患者随访8个月至12年病死率为43%^[1,4]。本研究随访13例CAEBV患儿4个月至3年,8例(62%)死亡,2例(15%)好转,2例(15%)病情仍有反复,1例转院后失访,病死率明显高于上述报道。异基因造血干细胞移植(allogeneic hematopoietic stem cell transplantation, allo-HSCT)为目前CAEBV根治性治疗手段之一,不仅能消除EBV阳性宿主细胞,也可重建EBV特异性细胞免疫功能^[16]。但由于allo-HSCT相关并发症是CAEBV患者潜在的巨大风险和死亡原因,必须综合考虑多种因素决定是否进行allo-HSCT。

[参考文献]

- [1] Maeda A, Sato T, Wakiguchi H. Epidemiology of Epstein-Barr virus (EBV) infection and EBV-associated diseases[J]. Nihon Rinsho, 2006, 64(3): 609-612.

- [2] 宋红梅, 吴晓燕, 王薇, 等. 严重慢性活动性 EB 病毒感染 12 例临床回顾与随访 [J]. 中华儿科杂志, 2009, 47(9): 682-686.
- [3] 陆晓茜, 高举. 慢性活动性 EBV 感染诊治进展 [J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2013, 18(5): 198-200.
- [4] Okano M, Kawa K, Kimura H, et al. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection[J]. Am J Hematol, 2005, 80(1): 64-69.
- [5] Wakiguchi H, Maeda A, Dohno S, et al. Infectious mononucleosis[J]. Nihon Rinsho, 2006, 64(3): 625-629.
- [6] Kimura H, Hoshino Y, Kanegane H, et al. Clinical and virologic characteristics of chronic active Epstein-Barr virus infection[J]. Blood, 2001, 98(2): 280-286.
- [7] Lu G, Xie ZD, Zhao SY, et al. Clinical analysis and follow-up study of chronic active Epstein-Barr virus infection in 53 pediatric cases[J]. Chin Med J, 2009, 122(3): 262-266.
- [8] Hong M, Ko YH, Yoo KH, et al. EBV-positive T/NK-cell lymphoproliferative disease of childhood[J]. Korean J Pathol, 2003, 47(2): 137-147.
- [9] Straus SE. The chronic mononucleosis syndrome[J]. J Infect Dis, 1988, 157(3): 405-412.
- [10] 殷红梅, 谢正德, 申昆玲. 慢性活动性 EB 病毒感染的研究进展 [J]. 临床儿科杂志, 2007, 25(2): 153-156.
- [11] Yamashita N, Kimura H, Morishima T. Virological aspects of Epstein-Barr virus infections [J]. Acta Med Okayama, 2005, 59(6): 239-246.
- [12] Bollard CM, Gottschalk S, Leen AM, et al. Complete responses of relapsed lymphoma following genetic modification of tumor-antigen presenting cells and T-lymphocyte transfer [J]. Blood, 2007, 110(8): 2838-2845.
- [13] Gartner B, Preiksaitis JK. EBV viral load detection in clinical virology[J]. J Clin Virol, 2010, 48(2): 82-90.
- [14] Grywalska E, Markowicz J, Crabarczyk P, et al. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders[J]. Postepy Hig Med Dosw (online), 2013, 67(5): 481-490.
- [15] Carbone A, Gloghinia A, Dotti G. EBV-associated lymphoproliferative disorders: classification and treatment[J]. Oncologist, 2008, 13(5): 577-585.
- [16] Cohen JI, Jaffe ES, Dale JK, et al. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus disease: a 28-year experience in the United States[J]. Blood, 2011, 117(22): 5835-5849.

(本文编辑: 邓芳明)