

· 临床论著 ·

EB 病毒感染与恶性血液病相关性研究

桂瑞瑞 周健 张艳莉 房佰俊 符粤文 魏旭东 宋永平

【摘要】 目的 探讨 EB 病毒(EBV)感染与恶性血液病的关系及治疗情况。**方法** 应用荧光定量 PCR(FQ-PCR)方法检测 37 例淋巴瘤患者,39 例白血病患者(其中髓系白血病 18 例,淋巴细胞白血病 21 例),46 例多发性骨髓瘤患者和 27 例非恶性血液病患者(对照组)外周血的 EBV DNA 定量,并进行统计学分析及抗病毒治疗。**结果** 淋巴瘤组、髓系白血病患者、淋巴细胞白血病患者、多发性骨髓瘤组和对照组 EBV DNA 阳性率分别为 32.4% (12/37)、22.2% (4/18)、38.1% (8/21)、43.5% (20/46)和 11.1% (3/27)。淋巴瘤组、淋巴细胞白血病患者、多发性骨髓瘤组与对照组 EBV DNA 阳性率比较差异均有统计学意义($P < 0.05$)。髓系白血病患者与对照组 EBV DNA 阳性率比较差异无统计学意义($P > 0.05$)。抗病毒治疗后,EBV DNA 转阴患者 35 例,持续阳性者 12 例。**结论** EBV 感染与恶性淋巴系统疾病关系密切,与髓系白血病无显著相关性,阿糖腺苷针剂和(或)阿昔洛韦针剂治疗针对其有效。

【关键词】 EB 病毒;淋巴瘤;白血病;多发性骨髓瘤

Association between Epstein-Barr virus infection and malignant hematologic diseases GUI Rui-rui, ZHOU Jian, ZHANG Yan-li, FANG Bai-jun, FU Yue-wen, WEI Xu-dong, SONG Yong-ping. Department of Hematology, The First Affiliated Hospital, Zhengzhou University, Zhengzhou 450052, China
Corresponding author: SONG Yong-ping, Email: songyongping@medmail.com

【Abstract】 Objective To explore the relationship and therapeutic effect between EBV infection and malignant hematologic diseases. **Methods** EBV-DNA in peripheral blood was detected by fluorescent quantitative polymerase chain reaction (FQ-PCR) in 37 cases of patients with lymphoma, 39 cases with leukemia, 46 cases with multiple myeloma and 27 cases with non-malignant hematologic disease (control group). Then the efficacy was observed and analyzed statistically. **Results** The positive rate of EBV DNA in lymphoma group, myeloid leukemia group, lymphocyte leukemia group, multiple myeloma group and control group were 32.4% (12/37), 22.2% (4/18), 38.1% (8/21), 43.5% (20/46) and 11.1% (3/27), respectively. Compared with the control group, the difference were statistically significant in the positive rate of EBV DNA of lymphoma group, lymphocytic group and multiple myeloma group ($P < 0.05$), but there was no significant difference between control group and myeloid leukemia group ($P > 0.05$). After anti-virus therapy, EBV DNA in 35 cases were negative and 12 cases were positive. **Conclusions** EBV is closely associated with malignant lymphocyte system diseases, but not associated with myeloid leukemia. The adenine arabinoside and/or acyclovir in anti-virus therapy is effective.

【Key words】 EBV; Lymphoma; Leukemia; Multiple myeloma

EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)属 γ 疱疹病毒亚科,是惟一能引起人类感染的淋巴滤泡病毒。人类是 EBV 的自然宿主,EBV 感染与宿主免疫状态密切相关。全球 90% 以上成年人曾感染过 EBV,一般无明显临床症状。EBV 潜伏于少数 B 淋巴细胞

中,当宿主免疫功能低下时,B 细胞大量增殖。近 40 年的研究证实,EBV 感染与多种血液病密切相关,本研究就本院血液科所收治患者的 EBV 感染情况报告如下。

资料与方法

一、临床资料

收集本院血液科 2010 年 6 月至 2011 年 8 月送检的 EBV DNA 定量标本共 140 例,其中,淋巴瘤患者 37 例均经组织活检病理确诊,男性 29 例,女性 8 例,中位年龄 33.5 岁(9~82 岁);髓系白血病患者 18 例(急性髓系白血病 12 例,慢性粒细胞白血病 4

DOI:10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2012.03.005

基金项目:国家自然科学基金(No.81070398)

作者单位:450052 郑州市,郑州大学附属肿瘤医院血液科,河南省肿瘤医院血液科,河南省血液病研究所(桂瑞瑞、周健、张艳莉、房佰俊、符粤文、魏旭东、宋永平);郑州大学第一附属医院血液科(桂瑞瑞)

通讯作者:宋永平 Email:songyongping@medmail.com

例,骨髓增生异常综合征 2 例),男性 12 例,女性 4 例,中位年龄 38 岁(16~80 岁);淋巴细胞白血病患者 21 例(急性淋巴细胞白血病 20 例,毛细胞白血病 1 例),男性 14 例,女性 7 例,中位年龄 42 岁(6~72 岁);多发性骨髓瘤(multiple myeloma, MM)患者 46 例,男性 19 例,女性 27 例,中位年龄 46 岁(39~82 岁);对照组(非恶性血液病患者)27 例,男性 12 例,女性 15 例,中位年龄 29 岁(4~60 岁)。

二、实验方法

1. 样本 DNA 的提取:取外周血 2 ml 加入 EDTA 抗凝管,用淋巴细胞分离液把单核细胞分离后于 -20℃ 冻存。冻存的单核细胞置于 4℃ 解冻,取 50 μl DNA 提取液加入待测标本管中,加入等体积的 DNA 提取液,100℃ 煮沸 10 min,12 000 rpm 离心 5 min,取上清 5 μl 加入反应管。

2. FQ-PCR 反应:EBV 核酸扩增荧光检测试剂盒购买自中山大学达安基因股份有限公司,包括 DNA 提取液、临界阳性质控品、强阳性质控品、阳性标准品(10^6 拷贝/μl)、阴性质控品以及 PCR 反应管等。所扩增的目的基因:上游引物分别为:5'-GTAGAAGGCCATTTTCCAC-3' 和下游引物:5'-TTTCTACGTGACTCCTAGCC-3'。双荧光标记探针序列为:5'-(FAM) ACCACCGTGGCCCAGATGG (TAMRA)-3'。热循环参数:93℃ 2 min,1 个循环;93℃ 45 s,55℃ 60 s,10 个循环;93℃ 30 s,55℃ 45 s,30 个循环。采用美国 ABI-7300 实时 FQ-PCR 仪进行检测,检测步骤、结果判断以及质量控制方法按操作说明进行。检测标准为 EBV DNA $\geq 5 \times 10^2$ 拷贝/μl 判断为阳性病例。

三、治疗

EB 病毒感染者给予阿糖腺苷针剂($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)和(或)阿昔洛韦针剂($5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$)治疗,并每周监测 EBV DNA 定量,直至 EBV DNA 定量低于检测下限后 2 周。

四、统计学处理

采用 SPSS 11.0 软件进行统计学处理。EBV

DNA 检出率的比较采用卡方检验,检验标准为 $\alpha = 0.05$,以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、各组 EBV 感染率的比较

淋巴瘤组、髓系白血病患者组、淋巴细胞白血病患者组、多发性骨髓瘤组和对对照组 EBV DNA 阳性率分别为 32.4% (12/37)、22.2% (4/18)、38.1% (8/21)、43.5% (20/46) 和 11.1% (3/27)。

淋巴瘤组、淋巴细胞白血病患者组和多发性骨髓瘤组与对照组 EBV DNA 阳性率,差异均有统计学意义($P < 0.05$);髓系白血病患者组与对照组 EBV DNA 阳性率差异无统计学意义,见表 1。

表 1 各观察组 EBV 感染情况的比较

组别	EBV(+) / EBV (-)例数	EBV DNA ($\times 10^4$ 拷贝/μl)	P
淋巴瘤组	12/25	17.4(0.2~42.6)	0.047 ^a
髓系白血病患者组	4/14	13.4(12.1~19.1)	0.314 ^b
淋巴细胞白血病患者组	8/13	16.2(15.1~20.1)	0.027 ^a
多发性骨髓瘤组	20/26	19.3(0.6~34.2)	0.004 ^a
对照组	3/24	9.5(0.3~19.5)	

注:^a vs 对照组, $P < 0.05$; ^b vs 对照组 $P > 0.05$

二、临床症状

恶性淋巴系统疾病患者表现为淋巴结肿大 24 例次,发热 14 例次,肺部感染 4 例次,隐匿感染 2 例。髓系白血病患者发热 4 例次,肺部感染 2 例次。对照组患者淋巴结肿大 2 例次,发热 3 例次。

三、治疗效果

抗病毒治疗 21 d 后,恶性淋巴系统疾病患者中 29 例 EBV DNA 低于检测下限,11 例 EBV DNA 持续阳性;髓系白血病患者中 3 例 EBV DNA 低于检测下限,1 例 EBV DNA 持续阳性;对照组患者 EBV DNA 均低于检测下限,见表 2。

讨 论

1964 年 Epstein 和 Barr 首先从非洲儿童 Burkitt's

表 2 各观察组 EBV DNA 定量在治疗过程中的监测情况($\times 10^4$ 拷贝/μl)

组别	治疗前		治疗后 7 d		治疗后 14 d		治疗后 21 d	
	n	EBV DNA	n	EBV DNA	n	EBV DNA	n	EBV DNA
淋巴瘤组	12	17.4(0.2~42.6)	11	18.9(0.3~40.7)	6	15.7(0.2~31.7)	3	8.9(0.5~17.8)
髓系白血病患者组	4	13.4(12.1~19.1)	4	15.8(14.2~18.3)	3	9.2(3.1~14.3)	4	6.4(2.6~13.6)
淋巴细胞白血病患者组	8	16.2(15.1~20.1)	6	12.0(10.2~16.3)	5	2.8(1.9~5.5)	3	1.7(2.4~4.9)
多发性骨髓瘤组	20	19.3(0.6~34.2)	19	19.1(8.3~33.7)	12	17.3(6.1~24.6)	5	(5.3~21.5)
对照组	3	9.5(0.3~19.5)	2	10.1(3.7~16.5)	0	-	0	-

注:n:EBV(+)例数;-表示未统计

淋巴瘤组织中分离出一株可传代的类淋巴母细胞系,发现细胞内有疱疹病毒颗粒,后来命名为 Epstein-Barr 病毒,简称 EBV。EBV 基因组可编码一系列与之相互作用或同源的产物,包括多种抗凋亡分子、细胞因子和信号转导蛋白,促进 EBV 感染、无限增生(永生)和转化^[1]。机体免疫力下降时,EBV 可生长转化,在病毒编码蛋白和机体细胞蛋白间产生复杂的变化,引起多种疾病和肿瘤的发生^[2]。

研究证实,EBV 不仅可以感染 B 细胞,还可感染人体 T 细胞、NK 细胞、单核巨噬细胞,因机体免疫状态不同而引起不同的 EBV 相关疾病。其中 Burkitt's 淋巴瘤与 EBV 的密切相关性已被公认^[3]。Peh 等^[4]报道,马来西亚半岛儿童非霍奇金淋巴瘤(NHL)中,T 细胞 NHL 的 EBV 阳性检出率为 12%,B 细胞 NHL 检出率为 23%。阿根廷非免疫缺陷儿童 NHL 中,EBV 阳性检出率为 25%^[5]。相关文献显示,绝大多数 NK/T 细胞淋巴瘤病例呈 EBV 阳性^[6]。韩国有关研究显示,47.5% 的 NK/T 细胞淋巴瘤与 EBV 相关^[7]。另有文献报道 EBV 感染与霍奇金淋巴瘤(HL)关系较为密切,但在不同地区、性别及年龄之间,HL 组织中 EBV 的检出率存在差异^[8]。本院送检的淋巴瘤患者中,EBV DNA 阳性率为 32.4% (12/37),与对照组 EBV DNA 阳性率比较差异有统计学意义($P < 0.05$),同文献报道一致。

近年研究表明急性淋巴细胞白血病(ALL)与胎儿感染、新生儿期微生物抗原刺激和(或)持续感染相关^[9]。Lehtinen 等^[11]研究结果显示,EBV IgG 阳性且 EBV IgM 阳性的母亲,其子女罹患 ALL 的危险性显著增加,表明母亲妊娠期间感染 EBV 与儿童 ALL 的发生有关,其机制可能与染色体易位有关。此外,淋巴细胞白血病是淋巴细胞增殖性疾病,且 EBV 入侵淋巴细胞,故考虑淋巴细胞白血病的发病与 EBV 存在一定关系。本研究结果显示,淋巴细胞白血病例 EBV DNA 阳性率为 38.1% (8/21),与对照组比较差异均具有统计学意义($P < 0.05$),而髓系白血病例 EBV DNA 阳性率为 22.2% (4/18),与对照组比较差异无统计学意义,也证实了 EBV 感染与淋巴细胞白血病发生有关,而与髓系白血病无相关性。

多发性骨髓瘤的病因尚不明确,近来研究表明其发病可能与 EBV 感染有关。张王刚等^[10]发现 1995 年西安地区初治多发性骨髓瘤患者的 EBV DNA 感染率为 83.3%。王剑利等^[11]研究报道称 21 例多发性骨髓瘤患者骨髓 EBV DNA 阳性率为 66.7%。本研究中多发性骨髓瘤患者 EBV 的感染

率为 43.5%,低于上述文献结果,其原因与本研究的病例数较少,亦可能与地区差异有关。本研究中多发性骨髓瘤组 EBV 感染率与对照组比较差异具有统计学意义($P < 0.05$)。

目前治疗 EBV 感染的新药仍不足,阿糖腺苷针剂、阿昔洛韦针剂和更昔洛韦针剂等均可用于 EBV 感染的治疗,本研究应用阿糖腺苷针剂和(或)阿昔洛韦针剂治疗 EBV 感染,44 例 EBV 感染的恶性血液病患者中有 32 例(72.7%)EBV DNA 低于检测下限,12 例病毒负荷量减低,但治疗 3 周后 DNA 定量仍阳性,而对照组 EBV 感染者全部低于检测下限。提示临床疗效与基础疾病状态和免疫状况相关。恶性血液病患者因基础疾病的存在和长期化疗等因素,机体免疫状态较非恶性血液病患者及健康人群低,易发生 EBV 感染且较难控制。故早期发现、及时治疗对控制 EBV 感染至关重要,且目前的治疗措施尚未达到满意的疗效,有待于进一步改善。

参 考 文 献

- 1 Rezk SA, Weiss LM. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disorders. *Hum Pathol*, 2007, 38 (9): 1293-1304.
- 2 Klein E, Kis LL, Klein G. Epstein-Barr virus infection in humans: from harmless to life endangering virus-lymphocyte interactions. *Oncogene*, 2007, 26(9): 1297-1305.
- 3 Diepstra A, van Imhoff GW, Schaapveld M, et al. Latent Epstein-Barr virus infection of tumor cells in classical Hodgkin's lymphoma predicts adverse outcome in older adult patients. *J Clin Oncol*, 2009, 27(23): 3815-3821.
- 4 Peh SC, Nadarajah VS, Tai YC, et al. Pattern of Epstein-Barr virus association in childhood non-Hodgkin's lymphoma: experience of university of Malaya medical center. *Pathol Int*, 2004, 54(3): 151-157.
- 5 Chabay PA, De Matteo EN, Aversa L, et al. Assessment of Epstein-Barr virus association with pediatric non-Hodgkin lymphoma in immunocompetent and in immunocompromised patients in Argentina. *Arch Pathol Lab Med*, 2002, 126(3): 331-335.
- 6 张玉晶, 胡伟汉, 刘慧, 等. 鼻咽 NK/T 细胞淋巴瘤的临床和预后分析. *中华肿瘤杂志*, 2006, 28(1): 50-53.
- 7 Cho EY, Kim KH, Kim WS, et al. The spectrum of Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease in Korea: incidence of disease entities by age groups. *J Korean Med Sci*, 2008, 23(2): 185-192.
- 8 Chang KC, Khen NT, Jones D, et al. Epstein-Barr virus is associated with all histological subtypes of Hodgkin's lymphoma in Vietnamese children with special emphasis on the entity of lymphocyte predominance subtype. *Hum Pathol*, 2005, 36(2): 747-755.
- 9 Lehtinen M, Koskela P, Oqmundsdottir HM, et al. Maternal herpesvirus infections and risk of acute lymphoblastic leukemia in the offspring. *Am J Epidemiol*, 2003, 158(3): 207-213.
- 10 张王刚, 陈银侠, 曹星梅. 多发性骨髓瘤患者 EB 病毒 DNA 的检测. *中华血液学杂志*, 1996, 17(11): 595-596.
- 11 王剑利, 曹星梅, 张王刚. Epstein-Barr 病毒与多发性骨髓瘤关系的研究. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1999, 13(2): 174.

(收稿日期: 2011-10-18)

(本文编辑: 孙荣华)

桂瑞瑞, 周健, 张艳莉, 等. EB 病毒感染与恶性血液病相关性研究[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志: 电子版*, 2012, 6(3): 195-197.