

48例成人慢性活动性EB病毒感染的临床特征和外周血淋巴细胞免疫表型

凌炜焱 丁俊琪 田芝奥 姚建华

【摘要】目的 探讨成人慢性活动性EB病毒感染(CAEBV)患者的临床特征及外周血淋巴细胞免疫表型。**方法** 回顾性纳入2017年3月至2019年3月如皋市人民医院收治的48例成人CAEBV感染者,记录患者一般临床资料及EB病毒相关抗体、病毒载量和细胞免疫表型。**结果** 48例成人CAEBV患者年龄(40.8 ± 14.4)岁,均有发热症状。严重肝功能衰竭、Hermansky-Pudlak综合征(HPS)、中枢神经系统(CNS)病变和间质性肺炎发生率分别为29.2% (14/48)、47.9% (23/48)、12.5% (6/48)和22.9% (11/48)。患者血浆EBV DNA拷贝数中位数为 2.9×10^4 ($5 \times 10^2 \sim 5.8 \times 10^6$) 拷贝/ml。32例患者完成外周血淋巴细胞免疫表型检测, B细胞、NK细胞、 $CD4^+$ T细胞、 $CD8^+$ T细胞水平分别为 $25 \times 10^9/L$ (0, $19.6 \times 10^9/L$)、 $82.5 \times 10^9/L$ ($54 \times 10^9/L$, $183 \times 10^9/L$)、 $332.5 \times 10^9/L$ ($178.25 \times 10^9/L$, $534.25 \times 10^9/L$)、 $302 \times 10^9/L$ ($190 \times 10^9/L$, $573.5 \times 10^9/L$)、53.1% (25/48)患者出现CD4/CD8比值倒置(< 1)。CD38 $^+$ CD8 $^+$ T细胞百分比中位数为93.2% (49.1%, 99.7%), HLA-DR $^+$ CD8 $^+$ T细胞百分比的中位数为71.25% (17.1%, 97.5%)。**结论** 成人CAEBV患者的临床特征与其外周血淋巴细胞免疫表型关系密切, B细胞、NK细胞和 $CD4^+$ T细胞水平多降低。

【关键词】 EB病毒; 免疫表型; 成人

Clinical characteristics and peripheral blood lymphocytes immunophenotype of 48 adult patients with chronic active Epstein-Barr virus infection Ling Weiyang, Ding Junqi, Tian Zhiao, Yao Jianhua. Department of Infectious Diseases, Rugao People's Hospital, Rugao 226500, China

Corresponding author: Ling Weiyang, Email: 2163582353@qq.com

【Abstract】Objective To investigate the clinical characteristics and peripheral blood lymphocytes immunophenotype of adult patients with chronic active Epstein-Barr virus (CAEBV). **Methods** A retrospective study included 48 adult patients with CAEBV in Rugao People's Hospital from March 2017 to March 2019. The general clinical information and EBV virus-related antibody, viral load and cellular immunophenotypic correlation tests were recorded. **Results** The median age of 48 adult patients with CAEBV was (40.8 ± 14.4) years old. All patients had fever symptoms. The incidence of severe liver failure, Hermansky-Pudlak syndrome (HPS), central nervous system (CNS) lesions and interstitial pneumonia were 29.2% (14/48), 47.9% (23/48), 12.5% (6/48) and 22.9% (11/48), respectively. The median copies of EBV DNA of CAEBV patients was 2.9×10^4 copies/ml ($5 \times 10^2 \sim 5.8 \times 10^6$ copies/ml). A total of 32 patients completed peripheral blood lymphocyte immunophenotyping, with the median of B cells, natural killer (NK) cell, $CD4^+$ T cells and $CD8^+$ T cells were $25 \times 10^9/L$ (0, $19.6 \times 10^9/L$), $82.5 \times 10^9/L$ ($54 \times 10^9/L$, $183 \times 10^9/L$), $332.5 \times 10^9/L$ ($178.25 \times 10^9/L$, $534.25 \times 10^9/L$) and $302 \times 10^9/L$ ($190 \times 10^9/L$, $573.5 \times 10^9/L$). There were 53.1% (25/48) of patients had a CD4/CD8 ratio inversion (< 1). The median percentage of CD38 $^+$ CD8 $^+$ T cells was 93.2% (49.1%, 99.7%), and the median percentage of HLA-DR $^+$ CD8 $^+$ T cells was 71.25% (17.1%, 97.5%). **Conclusions** The clinical characteristics of adult patients with CAEBV were closely related to peripheral blood lymphocytes immunophenotype, and the levels of B cells, NK cells and $CD4^+$ T cells decreased.

【Key words】 Epstein-Barr virus; Immunophenotype; Adult onset

EB病毒(Epstein-Barr virus, EBV)是常见的DNA病毒,为疱疹病毒 γ 亚家族的成员之一^[1],约95%成年人为EB病毒感染者,且这种感染可伴随终生^[2]。尽管大多数EBV感染为隐性感染,但青少年和青年人群的感染往往可导致传染性单核细胞增多症(infectious mononucleosis, IM)^[3],主要表现为发热、咽炎、淋巴结病和脾肿大,一般可完全恢复^[4],但上述症状在部分患者中持续存在,甚至出现严重威胁生命的并发症,此类患者即为慢性活动性EB病毒感染(chronic active EBV disease, CAEBV)^[5-6]。CAEBV为罕见的淋巴增生性疾病,病死率高^[7],主要特征为血液中EBV DNA水平升高,同时伴有组织中淋巴细胞EBV相关RNA或蛋白质水平升高^[8]。

目前CAEBV的临床研究以日本学者报道为主,该病主要发生于12岁以下儿童和青少年^[9],我国成年人CAEBV患者临床特征的研究则十分匮乏^[10]。目前关于CAEBV的发病机制和病理生理学机制尚未完全明确,研究显示CD8⁺T淋巴细胞是原发EBV感染相关免疫反应的主要效应细胞^[11],循环和组织中大量的CD8⁺T淋巴细胞浸润和大量的细胞因子的产生是引起IM的大部分症状和体征的关键因素^[12]。但目前对CAEBV患者CD8⁺T淋巴细胞的激活量、激活水平和患者细胞免疫状态特征尚未明确^[13]。Cohen等^[14]研究发现,虽然日本CAEBV患者NK细胞数正常或增加,但大量CAEBV患者的NK细胞数量减少,提示不同人种CAEBV的免疫表型可能存在不同。本研究回顾性研究江苏省如皋市人民医院感染科收治的48例CAEBV患者外周血淋巴细胞免疫表型和临床特征,现报道如下。

资料与方法

一、研究对象

本研究回顾性纳入2017年3月至2019年3月就诊于如皋市人民医院的48例成人CAEBV患者。采用CAEBV的诊断标准为2005年日本学者Okano等^[15]CAEBV诊断建议指南:①反复出现或病程长(>3个月)类似于IM的临床表现,如发热、淋巴结病和脾肿大等;②外周血中EBV DNA载量显著增高(>102.5拷贝数/ μ g);③受累组织中EBV DNA、RNA或蛋白质升高;④无法用其他疾病解

释的慢性疾病。

成人CAEBV诊断除上述标准外尚需满足以下条件:成年人发病,排除白血病或淋巴瘤,均行人免疫缺陷病毒抗体检测,且均为阴性。

二、研究方法

采集患者的临床资料:人口学特征、入院年龄、临床症状、体格检查阳性结果、并发症、常规实验室数据、EBV特异性抗体、EBV病毒载量等。

本研究采用EBER1核酸探针原位杂交计数检测石蜡包埋切片EBV编码的mRNA(Epstein barr encoded RNAs, EBER)^[16]。嗜血细胞综合征采用HLH-2004诊断标准^[17]。肝功能衰竭的诊断参照2018年《肝衰竭诊治指南》^[18]:血清总胆红素(total bilirubin, TBil) $\geq 10 \times$ 正常值上限(upper limit normal, ULN)或每日上升 $\geq 17.1 \mu\text{mol/L}$; 伴或不伴肝性脑病、腹腔积液、肝肺综合征等;有出血倾向,凝血酶原活动度(prothrombin activity, PTA) $\leq 40\%$ 或国际标准化比值(international normalized ratio, INR) ≥ 1.5 ,并排除其他原因者。

本研究采用流式细胞免疫表型分析^[19],采用抗-CD3、CD4、CD8、CD19、CD16、CD56、CD28、CD38和HLA-DR的单克隆抗体检测全血细胞中上述分子表达。通过全血细胞和淋巴细胞计数的结果计算CD3⁺CD4⁺T淋巴细胞、CD3⁺CD8⁺T淋巴细胞绝对计数。

三、数据描述

本研究采用描述性统计。年龄等正态分布连续性变量采用 $\bar{x} \pm s$ 表示,患者实验室检测指标等非正态分布连续变量用中位数和四分位数进行描述,率等分类变量采用计数和百分比进行描述。

结 果

一、患者的一般资料

本研究共计纳入48例成人慢性活动性EBV感染者,其中男性23例,女性25例,平均年龄(40.8 \pm 14.4)岁;入组患者均有发热症状(100%),此外淋巴结肿大和脾大的发生率分别为87.5%(42/48)和83.3%(40/48),肝脏肿大和肝炎的发生率分别为54.1%(26/48)和64.6%(31/48),而严重肝功能衰竭发生率则为29.2%(14/48)。其他严重并发症如Hermansky-Pudlak综合征(Hermansky-

Pudlak syndrome, HPS)、中枢神经系统(central nervous system, CNS)病变和间质性肺炎发生率分别为47.9%(23/48)、12.5%(6/48)和22.9%(11/48),见表1。

二、病毒感染者炎症反应相关指标和外周血EBV检测

入组患者外周血白细胞计数的中位数为 $3.2(0.37\sim 43.42)\times 10^9/L$, 30例患者出现贫血, 双重指标不良, 加重病情。36例患者出现血清白蛋白较标准范围下降($35\sim 51\text{ g/L}$), 铁蛋白中位数为 $1\ 809(293\sim 18\ 726)\mu\text{g/L}$, 红细胞沉降率中位数为 $18(12\sim 107)\text{ mm/h}$, 高敏感C反应蛋白的中位数为 $22.45(8.69\sim 52.38)\text{ mg/L}$ 。

所有患者均接受EBV DNA检测, 相关指标如表2所示。CAEBV患者血浆EBV DNA拷贝数为 $2.9\times 10^4(0.25\times 10^4, 10\times 10^4)$ 拷贝/ml。EBV抗体谱检测显示, 32例完成VCA-IgM检测的患者均为阴性, 而VCA-IgG则均为阳性。采用EBV-EA法检测的32例患者中18例EBV早期抗原(early antigen, EA)抗体滴度升高, 用EB病毒核抗原(Epstein-Barr virus nuclear antigen, EBNA)法检测13例患者则均伴有抗-EBNA滴度升高, 见表2。

三、受检人群外周血淋巴细胞免疫表型分析

共32例患者完成外周血淋巴细胞免疫表型检测, $CD19^+$ B细胞中位数为 $25\times 10^9/L(7.25\times 10^9/L, 41.75\times 10^9/L)$, NK细胞中位数为 $82.5\times 10^9/L(54\times 10^9/L, 183\times 10^9/L)$, $CD4^+$ T细胞中位数为 $332.5\times 10^9/L$ 。

$10^9/L(178.25\times 10^9/L, 534.25\times 10^9/L)$, $CD8^+$ T细胞中位数为 $302\times 10^9/L(190\times 10^9/L, 573.5\times 10^9/L)$, 53.1%患者出现 $CD4^+/CD8^+$ T倒置(即 <1)。见表3。

入组患者 $CD38^+CD8^+$ T细胞百分比的中位数为93.2%(83.3%, 96.625%), $CD8^+$ HLA⁺细胞百分比中位数为71.25%(56.15%, 87.05%)。 $CD4^+CD28^+$ T细胞百分比中位数为94.5%(正常范围: 80%~105%), $CD8^+CD28^+$ T细胞百分比中位数为46.8%(正常范

表2 受检人群外周血 EBV 相关检测

指标	例 (%)
VGA-IgM	
阳性	0 (0.0)
阴性	32 (66.7)
未检测	16 (33.3)
VGA-IgG	
阳性	32 (66.7)
阴性	0 (0.0)
未检测	16 (33.3)
EA	
阳性	18 (37.5)
阴性	14 (29.2)
未检测	16 (33.3)
EBNA	
阳性	13 (27.1)
阴性	0 (0.0)
未检测	35 (72.9)
EBER	
阳性	20 (41.7)
阴性	0 (0.0)
未检测	28 (58.3)

表1 入组 48 例 CAEBV 患者的一般资料及并发症

临床资料	数值
性别 [例 (%)]	
男	23 (47.9)
女	25 (52.1)
年龄 ($\bar{x}\pm s$, 岁)	40.8 ± 14.4
发热 [例 (%)]	48 (100.0)
淋巴结肿大 [例 (%)]	42 (87.5)
脾大 [例 (%)]	40 (83.3)
肝大 [例 (%)]	26 (54.1)
肝炎 [例 (%)]	31 (64.6)
肝功能衰竭 [例 (%)]	14 (29.2)
噬血细胞综合征 [例 (%)]	23 (47.9)
中枢神经系统疾病 [例 (%)]	6 (12.5)
间质性肺炎 [例 (%)]	11 (22.9)

表3 受检人群淋巴细胞免疫表型分析

指标	数值
CD4%	35.1 (27.2, 46.975)
$CD4^+$ T ($\times 10^9/L$)	332.5 (178.25, 534.25)
CD8%	39.65 (25.95, 52.775)
$CD8^+$ T ($\times 10^9/L$)	302 (190, 573.5)
B细胞%	2.4 (1.125, 3.75)
$CD19^+$ B细胞 ($\times 10^9/L$)	25 (7.25, 41.75)
NK%	10.15 (5.45, 18.95)
NK ($\times 10^9/L$)	82.5 (54, 183)
$CD8^+CD38^+$ %	93.2 (83.3, 96.625)
$CD8^+HLA^+$ %	71.25 (56.15, 87.05)
CD4/CD8	1.07 (0.535, 1.738)
$CD4^+CD28^+$ %	94.5 (91.2, 96.35)
$CD8^+CD28^+$ %	46.8 (39.925, 67.6)

注: 数值表示方法: M[P25, P75]

围: 40%~70%)。见表3。

讨 论

既往关于CAEBV的研究多集中于日本学者的相关研究,且患者年龄相对较小^[20],其中Kimura等^[21]一项研究显示,纳入82例患者的平均发病年龄为11.3岁。而本研究则针对成年患者,入组患者平均发病年龄为(40.8±14.4)岁。此外, Kimura等^[21]研究中间质性肺炎的发生率为4.8%(4/82),而本研究入组患者中间质性肺炎的发生率则高达22.9%(8/32),提示不同人群和年龄CAEBV患者的肺部并发症可能存在不同。2018年北京协和医院发表的一项针对成人CAEBV的回顾性研究,所纳入患者平均年龄为39岁,间质性肺炎的发病率为14.3%(16/106)^[22],该研究中患者平均年龄略低于本研究,但间质性肺炎的发病率这一结果介于本研究和Kimura等^[21]研究间,且显著高于Kimura等^[21]研究,也提示成人CAEBV间质性肺炎发病率可能更高。

尽管CAEBV的发病机制尚不完全明确,既往研究显示,CAEBV可能与EBV复制相关^[23]。本研究完成了48例CAEBV患者外周血EBV DNA检测,其EBV DNA载量均显著高于正常值上限,提示血浆EBV定量PCR分析是CAEBV诊断和排除诊断的有效和必要方法之一,对存在CAEBV症状的患者进行EBV DNA检测十分必要。除病毒复制本身外,免疫功能与病毒复制间的平衡机制紊乱亦是CAEBV发病机制之一^[24]。Quintanilla-Martinez等^[25]研究显示,EBV感染后可伴有暴发性EBV阳性T细胞淋巴增生及其相关组织免疫性损伤,但目前研究对CAEBV患者外周血淋巴细胞免疫特征的了解十分缺乏。本研究显示,CAEBV患者外周血淋巴细胞免疫功能显著异常,80%以上CAEBV患者的CD19⁺B细胞数量降低,而同时约70%患者可出现NK细胞数量和CD4⁺T细胞数下降,约50%患者可出现CD8⁺T细胞数下降,最终50%以上CAEBV患者出现CD4⁺/CD8⁺T比值倒置。以上结果表明,外周血淋巴细胞亚群的免疫表型异常可能与CAEBV的发生密切相关。Cohen等^[26]开展的一项纳入了19例美国CAEBV患者的研究显示,患者中位发病年龄为19岁,43%患者B细胞下降,33%患者NK细胞数下降^[26]。Kimura等^[21]研究中无1例出现NK细胞数下降^[27],而首都医科大学附属北京儿童医院的一项研究则显示,53例儿童患者中有34.8%出现

NK细胞数下降。本研究显示,CAEBV成年患者中NK细胞下降的比例显著高于既往发表研究^[28]。

综上所述,成人慢性活动性EB病毒感染的临床特征与其外周血淋巴细胞免疫表型密切相关。尽管本研究的患者发病年龄和分析指标数值与既往研究存在一定差异,但结果趋势一致,但样本地区来源存在一定的局限性,以后需加大样本量和扩大检测范围深入研究。

参 考 文 献

- [1] 安东善,邸军,周洪江,等. EB病毒肺炎一例[J/CD]. 中华肺部疾病杂志(电子版),2018,11(5):624-626.
- [2] Cohen JI. Epstein-Barr virus infection[J]. N Engl J Med,2000,343(7):481-492.
- [3] 李璐,林菲,贾莹,等. 成人EB病毒和巨细胞病毒混合感染相关性单核细胞增多症的临床分析[J]. 中华医学杂志,2017,97(39):3068-3071.
- [4] Vouloumanou EK, Rafailidis PI, Falagas ME. Current diagnosis and management of infectious mononucleosis[J]. Curr Opin Hematol,2012,19(1):14-20.
- [5] 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.
- [6] Cohen JI, Kimura H, Nakamura S, et al. Epstein-Barr virus-associated lymphoproliferative disease in non-immunocompromised hosts: a status report and summary of an international meeting, 8-9 September 2008[J]. Ann Oncol,2009,20(9):1472-1482.
- [7] 刘颖,钟册俊,黄亮,等. 成人慢性活动性EB病毒感染2例报道并文献复习[J]. 中国感染与化疗杂志,2016,16(1):41-44.
- [8] Savoldo B, Huls MH, Liu Z, et al. Autologous Epstein-Barr virus (EBV)-specific cytotoxic T cells for the treatment of persistent active EBV infection[J]. Blood,2002,100(12):4059-4066.
- [9] 荣婷婷,王维维,王娟娟,等. EB病毒感染患儿淋巴细胞亚群特征和EBV DNA载量分析[J]. 检验医学,2018,33(4):285-289.
- [10] 许大兵,孙余婕,沈佐君. 某三甲医院EB病毒感染的临床回顾性分析[J]. 中华疾病控制杂志,2018,22(2):191-194.
- [11] 陈天明,邓志娟,胡冰,等. EB病毒阳性淋巴组织增殖性疾病13例临床与病理特征[J]. 中华儿科杂志,2018,56(10):759-764.
- [12] 李璐璐,轩小燕. 儿童EBV感染不同临床疾病类型免疫功能研究[J/CD]. 临床医药文献电子杂志,2017,4(17):3230-3231.
- [13] 刘伟娇,王剑,杨华,等. 慢性活动性EB病毒感染致咽部溃疡并发大出血一例[J]. 中华耳鼻咽喉头颈外科杂志,2018,53(6):456-459.
- [14] 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.
- [15] 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.
- [16] 全国儿童EB病毒感染协作组,中华实验和临床病毒学杂志编辑委员会. EB病毒感染实验室诊断及临床应用专家共识[J]. 中华实验和临床病毒学杂志,2018,32(1):2-8.

- [17] Henter JI, Horne A, Arico M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis[J]. *Pediatr Blood Cancer*,2007,48(2):124-131.
- [18] 中华医学会感染病学分会肝衰竭与人工肝学组, 中华医学会肝病学会重型肝病与人工肝学组. 肝衰竭诊治指南(2018年版)[J]. *临床肝胆病杂志*,2019,35(1):38-44.
- [19] 谢静, 邱志峰, 韩扬, 等. 未经抗病毒治疗的HIV/AIDS患者CD8⁺ T细胞HLA-DR, CD38表达水平与CD4⁺ T细胞计数的相关性研究[J]. *中华内科杂志*,2016,55(1):36-39.
- [20] 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.
- [21] Kimura H, Morishima T, Kanegane H, et al. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection[J]. *J Infect Dis*,2003,187(4):527-533.
- [22] 徐娜, 范洪伟, 黄晓明, 等. 成人慢性活动性EB病毒感染的临床特征分析[J]. *中华内科杂志*,2018,57(11):811-815.
- [23] Iemura T, Kondo T, Hishizawa M, et al. NK-cell post-transplant lymphoproliferative disease with chronic active Epstein-Barr virus infection-like clinical findings[J]. *Int J Infect Dis*,2019,88:31-33.
- [24] 田树凤, 申昆玲, 邓继岩. 慢性活动性EB病毒感染的研究进展[J]. *中华实验和临床病毒学杂志*,2018,32(1):103-107.
- [25] Quintanilla-Martinez L, Kumar S, Fend F, et al. Fulminant EBV(+) T-cell lymphoproliferative disorder following acute/chronic EBV infection: a distinct clinicopathologic syndrome[J]. *Blood*,2000,96(2):443-451.
- [26] Cohen JI, Picchio GR, Mosier DE. Epstein-Barr virus nuclear protein 2 is a critical determinant for tumor growth in SCID mice and for transformation in vitro[J]. *J Virol*,1992,66(12):7555-7559.
- [27] 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 (Engl)*,2009,122(3):262-266.
- [28] 郑晓丹, 周小鸽, 金妍, 等. 成年人系统性EB病毒阳性T/NK细胞淋巴瘤组织增殖性疾病的临床病理研究[J]. *中华病理学杂志*, 2011,40(4):227-236.
- (收稿日期: 2019-08-26)
(本文编辑: 孙荣华)

凌炜焱, 丁俊琪, 田芝奥, 等. 48例成人慢性活动性EB病毒感染的临床特征和外周血淋巴细胞免疫表型[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志 (电子版)*, 2020,14(5):424-428.