

原发传染性单核细胞增多症患儿血清 sHLA-G 水平与 EBV-DNA 载量的相关性分析

幸红军, 朱明路

辽宁省沈阳市第四人民医院检验科, 辽宁沈阳 110031

摘要:目的 探讨原发传染性单核细胞增多症患儿血清可溶性白细胞抗原 G(sHLA-G)水平与 EB 病毒-脱氧核糖核酸(EBV-DNA)载量的相关性。**方法** 选择 2016 年 4 月至 2019 年 4 月该院接诊的 60 例原发传染性单核细胞增多症患儿作为观察组,并选择同期该院健康体检儿童 60 例作为对照组,比较两组一般资料、血清 sHLA-G 水平、EBV-DNA 载量、T 淋巴细胞亚群,分析血清 sHLA-G 在原发传染性单核细胞增多症患儿中的意义。**结果** 两组性别、年龄、身高、体质量比较,差异无统计学意义($P>0.05$),观察组血清 sHLA-G 水平和 EBV-DNA 载量均明显高于对照组($P<0.05$);T 淋巴细胞亚群方面,观察组 $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 明显高于对照组($P<0.05$), $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 明显低于对照组($P<0.05$);Pearson 相关分析显示,血清 sHLA-G 水平与 EBV-DNA 载量之间呈正相关($r=0.483, P<0.05$),与 T 淋巴细胞亚群 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均无相关性($r=0.029, -0.022, 0.017, -0.084, P>0.05$)。**结论** 血清 sHLA-G 水平在原发传染性单核细胞增多症患儿中明显升高,且和 EBV-DNA 载量具有相关性,但血清 sHLA-G 水平的升高并不是造成患儿免疫功能降低的直接因素。

关键词:原发传染性单核细胞增多症; 儿童; 可溶性白细胞抗原 G; EB 病毒; T 淋巴细胞亚群

中图分类号:R512.7

文献标志码:A

文章编号:1672-9455(2021)09-1193-03

Correlation analysis between serum sHLA-G level and EBV-DNA load in children with primary infectious mononucleosis

XING Hongjun, ZHU Minglu

Department of Clinical Laboratory, Shenyang Municipal Fourth People's Hospital, Shenyang, Liaoning 110031, China

Abstract: Objective To study the correlation between serum soluble leukocyte antigen G (sHLA-G) and EB virus deoxyribonucleic acid (EBV-DNA) load in children patients with primary infectious mononucleosis. **Methods** Sixty children patients with primary infectious mononucleosis treated in this hospital from April 2016 to April 2019 were selected as the observation group, and contemporaneous 60 healthy children undergoing the healthy physical examination were selected as the control group. The general data, serum sHLA-G level, EBV-DNA load and T-lymphoid subsets were compared between the two groups, and the significance of serum sHLA-G level in children patients with primary infectious mononucleosis was analyzed. **Results** There was no statistically significant difference in the gender, age, height and body mass between the two groups ($P>0.05$); the serum sHLA-G level and EBV-DNA load in the observation group were significantly higher than those in the control group ($P<0.05$); in the T lymphocyte subsets, the $CD3^+$ and $CD8^+$ in the observation group were significantly higher than those in the control group, and the $CD4^+$ and $CD4^+/CD8^+$ were significantly lower than those in the control group ($P<0.05$); the Pearson correlation analysis showed that serum sHLA-G level was positively correlated with EBV-DNA load ($r=0.483, P<0.05$) and had no correlation with T-lymphoid subsets $CD3^+$, $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ ($r=0.029, -0.022, 0.017, -0.084, P>0.05$). **Conclusion** The serum sHLA-G level is significantly increased in children patients with primary infectious mononucleosis, moreover has significant correlation with EBV-DNA load, but the increase of serum sHLA-G level is not the direct factor causing the decrease of immune function.

Key words: primary infectious mononucleosis; children; soluble leukocyte antigen G; EB virus; T lymphocyte subsets

作者简介:幸红军,男,主管技师,主要从事临床检验研究。

本文引用格式:幸红军,朱明路.原发传染性单核细胞增多症患儿血清 sHLA-G 水平与 EBV-DNA 载量的相关性分析[J].检验医学与临床,2021,18(9):1193-1195.

原发传染性单核细胞增多症是一种急性自限性传染病,主要是由 EB 病毒(EBV)感染所致,发病后可出现典型的三联征,表现为发热、咽峡炎、淋巴结肿大等,多发于学龄前和学龄儿童,尤其是婴幼儿^[1]。多数患儿预后较为良好,但也有部分患儿容易出现噬血综合征等严重并发症,影响预后。临床上针对该病的诊断主要通过血常规、EBV 抗体检查、EBV-脱氧核糖核酸(EBV-DNA)检测等确诊,但在实践中发现,不同患儿对 EBV 感染的反应不同,出现差异的原因与宿主的免疫反应不同有密切联系^[2]。可溶性白细胞抗原 G(sHLA-G)是机体重要的免疫抑制分子,目前有报道证实,当机体被病毒感染后,sHLA-G 可在血浆中持续性高表达,并对病毒逃逸宿主免疫系统的攻击具有重要的监视作用^[3]。但目前关于其在原发传染性单核细胞增多症患儿中的相关报道仍较少。本研究旨在探讨原发传染性单核细胞增多症患儿血清 sHLA-G 水平与 EBV-DNA 载量的相关性,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2016 年 4 月至 2019 年 4 月本院接诊的 60 例原发传染性单核细胞增多症患儿作为观察组。纳入标准:(1)符合原发传染性单核细胞增多症诊断标准^[4],并通过临床症状、血常规、异型淋巴细胞计数、EBV 抗体、EBV-DNA 等检查得以确诊;(2)年龄 3 个月至 3 岁。排除标准:(1)先天畸形者;(2)脏器功能严重障碍者;(3)恶性肿瘤者;(4)近期接受过相关治疗者;(5)已出现并发症者;(6)近 3 个月内使用过激素、免疫抑制剂或增强剂者;(7)无法配合本研究者。并选择同期本院儿科健康体检儿童 60 例作为对照组,本组儿童近半年内未发生病毒感染,年龄 3 个月至 3 岁。所有受试者家属均知情同意本研究,并签署知情同意书。本研究通过本院伦理委员会审核。

1.2 方法

1.2.1 一般资料收集 收集所有受试者性别、年龄、身高、体质量等一般资料。

1.2.2 血清 sHLA-G 水平检测 收集两组受试者清

晨空腹静脉血 5 mL,加入乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝管,混匀后静置 30 min,于室温下以 3 000 r/min 的速度离心 10 min,置于冷冻箱内储存以备检测。使用酶联免疫吸附试验(ELISA)进行检测,试剂盒购于捷克 Exbio 公司。

1.2.3 EBV-DNA 载量检测 将静脉血置于枸橼酸钠抗凝管中,使用 TaqMan 荧光标记探针基因扩增技术(序列为 PEEBV5'-XC-CTCGGA-CAGCTCCTAA-GAAGG-CACC-Y-3',26 bp)进行检测。将各反应管置于实时荧光定量聚合酶链反应(RT-PCR)检测仪(DA7600 型)中,通过下列条件进行扩增:分别在若干 PCR 反应管中加入处理后的 2 μL 样品上清液,以 8 000 r/min 的速度离心数秒置入 RT-PCR 检测仪样品槽中,按对应的顺序放置阴性质控品、阳性定量参考品和准备检测的标本。于 93 ℃的环境下,预变性 2 min,再变性 45 s 后在 55 ℃的环境下变性 45 s,反复进行 30 个循环。试剂盒购于中山大学达安基因股份有限公司。

1.2.4 T 淋巴细胞亚群检测 将收集至 EDTA 抗凝管的静脉血各取 100 μL,分别加入带有相应荧光抗体 20 μL 的试管中,摇匀后于室温下避光保存 15 min,使用标本制备仪进行自动溶血、固定,采用美国 Beckman Coulter 公司生产的流式细胞仪(EPICS-XL 型)进行检测,检测指标包括 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺。

1.3 统计学处理 采用 SPSS18.0 统计软件进行数据处理和分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,组间比较采用 *t* 检验;计数资料以率或例数表示,组间比较采用 χ^2 检验;采用 Pearson 相关进行相关性分析。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组一般资料、血清 sHLA-G 水平和 EBV-DNA 载量比较 两组性别、年龄、身高、体质量比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),观察组血清 sHLA-G 水平和 EBV-DNA 载量均明显高于对照组($P < 0.05$),见表 1。

表 1 两组一般资料、血清 sHLA-G 水平和 EBV-DNA 载量比较

组别	<i>n</i>	男/女 (<i>n</i> / <i>n</i>)	年龄 ($\bar{x} \pm s$,岁)	身高 ($\bar{x} \pm s$,cm)	体质量 ($\bar{x} \pm s$,kg)	sHLA-G ($\bar{x} \pm s$,U/mL)	EBV-DNA 载量 ($\bar{x} \pm s$, $\times 10^7$ copy/mL)
观察组	60	35/25	1.97 $\pm$ 0.38	78.56 $\pm$ 20.93	12.12 $\pm$ 2.86	121.84 $\pm$ 17.41	7.38 $\pm$ 1.02
对照组	60	38/22	2.05 $\pm$ 0.30	79.01 $\pm$ 28.61	12.26 $\pm$ 2.40	18.31 $\pm$ 3.45	1.23 $\pm$ 0.24
χ^2/t		0.315	1.280	0.098	0.290	45.183	45.462
<i>P</i>		0.575	0.203	0.922	0.772	<0.001	<0.001

2.2 两组 T 淋巴细胞亚群比较 观察组 CD3⁺、CD8⁺明显高于对照组($P < 0.05$),CD4⁺、CD4⁺/CD8⁺明显低

于对照组($P < 0.05$),见表 2。

2.3 血清 sHLA-G 水平与 EBV-DNA 载量、T 淋巴

细胞亚群的相关性分析 Pearson 相关分析显示,血清 sHLA-G 水平与 EBV-DNA 载量呈正相关($r=0.483, P<0.05$),与 T 淋巴细胞亚群 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均无相关性($r=0.029$ 、 -0.022 、 0.017 、 $-0.084, P>0.05$)。

表 2 两组 T 淋巴细胞亚群比较($\bar{x}\pm s$)					
组别	<i>n</i>	CD3 ⁺ (%)	CD4 ⁺ (%)	CD8 ⁺ (%)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺
观察组	60	76.32±9.38	24.82±1.83	39.96±4.24	0.63±0.08
对照组	60	67.23±6.27	34.64±3.19	26.95±3.16	1.31±0.21
<i>t</i>		6.241	20.683	19.057	23.439
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

3 讨 论

EBV-DNA 载量检测是目前诊断原发传染性单核细胞增多症患儿的重要手段,其可动态反映 EBV 感染后的病毒水平,且有助于避免单一检测易受体液免疫影响的弊端,结果准确,已普遍应用于该病的诊治,具有重要的应用价值^[5]。近年来,诸多学者开始关注细胞免疫状态在原发传染性单核细胞增多症患儿中的表达及意义,并认为其在 EBV 感染过程中有着重要作用^[6]。B 淋巴细胞是 EBV 感染的重要靶细胞,B 淋巴细胞在被 EBV 攻击后可发生改变,干扰机体的正常免疫机制,病毒长时间于细胞内潜伏,在一定条件下通过病毒基因、编码产物等途径对细胞基因产生影响,诱发疾病^[7]。KALRA 等^[8]的研究显示,原发传染性单核细胞增多症患儿的临床症状与淋巴细胞活化具有密切关联,该病的发生可能和免疫抑制相关,而不是病毒复制直接诱发的。

sHLA-G 是机体重要的免疫抑制分子,其可通过各种途径对 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 等各类免疫细胞的功能产生影响。目前已有研究证实,sHLA-G 对 T 淋巴细胞的杀伤功能、NK 细胞的杀伤效应、Th 细胞的辅助功能、细胞因子的释放等具有抑制作用,而此类功能被抑制也是病毒逃避细胞免疫的机制^[9]。本研究结果也显示,在原发传染性单核细胞增多症患儿中,sHLA-G 水平明显高于健康儿童,提示在该病患儿中存在着免疫抑制表现。

T 淋巴细胞亚群中, $CD3^+$ 是反映 T 淋巴细胞活化程度的指标, $CD4^+$ 是 Th 细胞和效应 T 淋巴细胞的表面标志物,Th 细胞可通过释放多种细胞因子促进 B 淋巴细胞、效应 T 淋巴细胞的激活,加强机体免疫功能,而 $CD4^+/CD8^+$ 则是反映机体免疫功能高低的重要指标^[10]。本研究结果显示,在原发传染性单核细胞增多症患儿中, $CD3^+$ 、 $CD8^+$ 明显升高, $CD4^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 明显降低,提示患儿被 EBV 感染后,存在着明显的 T 淋巴细胞亚群紊乱表现,机体处于免疫紊乱状态。本研究通过相关性分析发现,血清 sHLA-

G 水平与 EBV-DNA 载量呈正相关,分析患儿被 EBV 感染后,病毒可侵入细胞并发挥作用,对机体的正常免疫机制产生干扰,导致 EBV-DNA 载量的升高。但血清 sHLA-G 水平与 T 淋巴细胞亚群 $CD3^+$ 、 $CD4^+$ 、 $CD8^+$ 、 $CD4^+/CD8^+$ 均无相关性,提示血清 sHLA-G 的高表达和原发传染性单核细胞增多症患儿的免疫功能状态无关,sHLA-G 并不直接影响患儿的免疫功能。闫临漪等^[11]研究也显示,血清 sHLA-G 可能是和其他因素之间相互协同致使原发传染性单核细胞增多症患儿的免疫功能减弱。笔者认为也有可能是本研究纳入的患儿年龄过小,免疫系统尚未发育完善等因素所致,今后仍需扩大样本量继续研究。

综上所述,血清 sHLA-G 水平在原发传染性单核细胞增多症患儿中明显升高,且和 EBV-DNA 载量具有相关性,但血清 sHLA-G 水平的升高并不是造成患儿免疫功能降低的直接因素。

参考文献

[1] 张会超,陈砚凝,黄晨,等. 传染性单核细胞增多症的临床病理学特征及免疫表型分型[J]. 临床与实验病理学杂志,2017,33(7):763-768.

[2] 龙彦,刘畅,孙媛媛,等. EB 病毒急性感染的实验室血清学诊断方法研究[J]. 中国全科医学,2015,18(5):582-584.

[3] 吕海燕,许惠惠,颜卫华. HLA-G 与 T 细胞[J]. 现代免疫学,2015,35(3):241-244.

[4] 胡亚美,江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 8 版. 北京:人民卫生出版社,2015:919-921.

[5] 唐艳红,刘鹏琴,代国知. EB 病毒致病机制研究进展[J]. 病毒学报,2019,35(2):331-335.

[6] 刘璐瑶,孙金岍,王晓川. EB 病毒感染的免疫机制研究进展[J]. 中国循证儿科杂志,2017,12(3):219-232.

[7] 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.

[8] KALRA M,GERDEMANN U,LUU J D, et al. Epstein-Barr virus (EBV)-derived BARF1 encodes CD4-and CD8-restricted epitopes as targets for T-cell immunotherapy[J]. Cytotherapy,2019,21(2):212-223.

[9] ESKANDARI E,DAHMARDEH T,SAFDARI V, et al. HLA-G gene 14-bp deletion variant protects Iranian subjects against chronic hepatitis B infection[J]. Int J Immunogenet,2017,44(6):322-327.

[10] 王慧燕,田可港,浮苗,等. 传染性单核细胞增多症患儿血浆 sHLA-G 及外周血淋巴细胞亚群检测[J]. 中华医院感染学杂志,2012,22(5):901-903.

[11] 闫临漪,孙向阳. EB 病毒感染 IM 患儿血浆 sHLA-G 水平与外周血淋巴细胞亚群关系研究[J]. 中国优生与遗传杂志,2015,23(9):120-122.