

儿童特发性血小板减少性紫癜与人巨细胞病毒感染的关系

徐丽洁¹ 李 香² 陈廷雷² 王传文² 李 霞²

(1 青岛大学 山东 青岛 266000 2 高密市人民医院 山东 高密 261500)

摘要 目的 探讨特发性血小板减少性紫癜的治疗转归与巨细胞病毒感染的关系。为临床合理有效地治疗 ITP 提供部分参考。方法 用 ELISA 法和流式细胞仪分别检测患儿血清 HCMV 抗体及外周血淋巴细胞亚群。选取 2005.1-2006.12 在本院儿科就诊的 68 例新发 ITP 患儿,将其按有无 HCMV 感染分为 HCMV 感染组和非感染组,比较二者的免疫状态、近期(两周)疗效、远期(六月)疾病转归之间的关系。结果 68 例 ITP 患儿中 HCMV 感染 30 例,非 HCMV 感染 ITP 存在 T 淋巴细胞亚群的异常,即 CD4⁺ 细胞减低,CD8⁺ 细胞升高。HCMV 感染患儿 T 淋巴细胞总数亦降低,CD4⁺ 细胞下降明显。近期疗效无明显差异,远期转归相比较有统计学意义。结论 HCMV 感染诱发的细胞免疫异常是儿童 ITP 发病及病程迁延的重要因素。应同时进行抗病毒和免疫治疗。

关键词 人巨细胞病毒;特发性血小板减少性紫癜;儿童;免疫状态。

中图分类号 R558 R725.5 **文献标识码** A **文章编号** :1673-6273(2012)02-298-03

The Relationship Between Idiopathic Thrombocytopenic Purpura and Human Cyto-megalovirus Infection in Children

XU Li-jie¹, LI Xiang², CHEN Ting-lei², WANG Chuan-wen², LI Xia²

(1 Qingdao University 266000 Qingdao China; 2 Gaomi city Peoples Hospital 261500 Gaomi China)

ABSTRACT Objective: Study the correlation between Human Cyto-megalovirus infection and idiopathic thrombocytopenic purpura. **Methods:** 68 children with ITP treated in our department between January, 2005 to December, 2006, were divided into two groups based on whether they were infected with HCMV or not. The two groups were compared with regard to the cell immune conditions, short-term effectiveness of treatment (two weeks) and long-term results (over six months). **Results:** 30 out of 68 (44.12%) ITP children were found with HCMV infection, and the level of CD4 in ITP with HCMV infection was lower than that in ITP without HCMV infection. **Conclusion:** ITP patients with HCMV infection have lowered and disordered cellular immunity, a simultaneous antiviral and immunotherapy are necessary.

Key words: Human Cytomegalovirus (HCMV); Idiopathic thrombocytopenic purpura; Children; Immune condition

Chinese Library Classification(CLC): R558, R725.5 **Document code:** A

Article ID :1673-6273(2012)02-298-03

前言

特发性血小板减少性紫癜(ITP)是由于血小板破坏过多引起的一种出血性疾病,是由免疫因素引起的临床综合征,其具体发病机制目前尚未完全明了,有研究已证实免疫因素 - 包括体液免疫和细胞免疫都参与了 ITP 的发病机制,而各种病毒感染引起的交叉抗原反应被看成是 ITP 发生与发展的重要原因之一^[1]。国外研究发现能够造成血液系统改变的常见病毒有 EBV、HCMV、微小病毒 B19、水痘 - 带状疱疹病毒、麻疹病毒等^[2]。金玲等研究指出,儿童 HCMV 感染能够引起更为广泛的血液造血系统疾病,如白血病、免疫性溶血、ITP、再生障碍性贫血、骨髓增生异常综合征等^[3]。本文检测了儿童 ITP 患者病原学感染情况,发现儿童 ITP 患者 HCMV 感染率相对较高,并分析了部分 ITP 患儿 HCMV 感染与细胞免疫状态及治疗转归的相关情况,因此认为 HCMV 感染可能是诱发儿童 ITP 的病原之一,为临床合理有效治疗儿童 ITP 提供新的依据。

1 资料与方法

作者简介:徐丽洁(1976-),女,硕士研究生,研究方向:儿科学

电话:0536-2303110 E-mail: jiahe301@163.com

(收稿日期:2011-04-10 接受日期:2011-05-18)

1.1 实验对象

ITP 患儿 68 例,男 42 例,女 26 例,年龄 2 月 -12 岁。分组:根据是否合并 HCMV 感染,将 ITP 患儿分为感染组和非感染组。感染组 30 例,非感染组 38 例,无明显年龄差异。按治疗方法不同,将感染组分为常规治疗组(强的松、静注大剂量丙种球蛋白)和抗病毒治疗组,即常规治疗加用抗 HCMV 治疗(更昔洛韦)。常规治疗组 10 例,抗病毒治疗组 20 例。经过较长期(半年)治疗与观察后确定为急性 ITP 57 例,慢性 ITP 11 例,均符合儿童急、慢性 ITP 的诊断标准^[4]。

1.2 治疗方法

常规治疗组使用人血丙种球蛋白静脉滴注 2g/(kg.d),用 1 天,同时强的松口服,剂量为 2mg/(kg.d),分 3 次用,血小板恢复正常后原剂量继续治疗 2 周,以后渐减量。抗病毒治疗组即在常规治疗基础上加用更昔洛韦(湖北科益药业股份有限公司生产,50 mg/支),10mg/(kg.d) 2 次/天,连用 2 周后剂量减半,再连用 2 周。

1.3 治疗效果评价

治疗 2 周后根据患儿外周血血小板计数评价近期治疗效果,血小板恢复正常,无出血症状,为完全缓解;血小板计数上升,但未达到正常指标,为部分缓解;血小板计数无上升,视为

无效^[5]。

1.4 检测项目

1.4.1 HCMV 感染的检测 用普通试管采集实验组患儿外周静脉血 2.5ml,常规离心 25 分钟,吸取足量血清,采用 ELISA 方法进行检测。试剂盒及人血清 HCMVlgM 及 IgG 抗体由美国 BioCheck Inc 公司提供。严格按试剂盒说明操作。IgM 阳性或二者均阳性为 HCMV 感染。

1.4.2 淋巴细胞亚群测定 取受试者清晨空腹外周血 2ml,经肝素钠抗凝后,在采血后 2 小时内,采用流式细胞仪(EPICS-XL 型,美国 Coulter 公司产品)检测。异硫氰荧光素(FITC)标记的 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、CD19⁺(B 淋巴细胞)单克隆抗体为美国 Coulter 公司产品。单克隆抗体用全血法严格按照试剂说明进

行标记。

1.5 统计学处理

采用 SPSS13.0 软件,数据以均数±标准差($\bar{x} \pm s$)表示,组间比较采用方差分析和 χ^2 检验, $P<0.05$ 为有统计学意义。

2 结果

2.1 感染率

ITP 患儿病原学检测结果提示 HCMV 感染率为 44.12%,明显高于 EBV 的感染率(17.64%)及 MP 的感染率(11.76%)。

2.2 ITP 患儿中人巨细胞病毒感染组与非感染组细胞免疫状态的比较见表

表 1 ITP 患儿中人巨细胞病毒感染组与非感染组淋巴细胞亚群检测结果
Table 1 The detected results of the T lymphocyte subsets

Group	n	CD3 ⁺	CD4 ⁺	CD8 ⁺	CD19 ⁺
Control group	38	68.54± 5.21	29.53± 4.41	35.35± 10.97	16.32± 6.78
Infected group	30	58.50± 7.52	24.43± 9.33	27.47± 8.76	17.13± 11.16

Note: Compared with the two group, $q=4.06\sim 12.01$, $P<0.01$

2.3 细胞免疫异常例数比较

治疗前 HCMV 感染组细胞免疫异常 25 例,非感染组细胞免疫异常 20 例,二组间相比较有显著统计学意义($\chi^2=7.068$, $P<0.01$)。6 个月后 HCMV 感染组检测到细胞免疫异常 8 例,非感染组 2 例,二组比较有显著的统计学差异($\chi^2=13.971$, $P<0.001$)。

2.4 近期疗效比较

所选取全部 ITP 患儿经治疗后,近期 64 例完全缓解,4 例部分缓解,0 例无效。其中 HCMV 感染组 29 例完全缓解,非感染组 35 例完全缓解,两组间相比较无明显统计学差异($\chi^2=0.369$, $P>0.05$)。

2.5 远期转归比较

HCMV 感染组中病程超过 6 个月患儿 8 例,非感染组中病程超过 6 个月患儿 3 例,即转变成慢性 ITP,两组比较有统计学意义($\chi^2=4.354$, $P<0.05$)。在 HCMV 感染组中,20 例采用抗病毒治疗组方法治疗,3 例病程超过 6 个月,10 例仅用常规治疗组方法治疗,5 例病程超过 6 个月,两组相比较有统计学差异($\chi^2=4.162$, $P<0.05$)。

3 讨论

国外资料显示,病程超过半年的儿童 ITP 比例较前有所增多,儿童 ITP 中慢性难治性的比例已达到 20%~30%^[6],即使脾切除后仍有近 30%的患儿血小板数难以恢复或维持正常范围。临床很难预测哪些 ITP 易于发展演变为慢性 ITP,有学者报道年长儿、起病较缓慢和较少发生粘膜出血者以及血小板计数 $\geq 20 \times 10^9/L$ 的 ITP 患儿反而更易演变为慢性 ITP^[7]。有报道亦提示到病程 6 个月未恢复者,6-12 月中又有约 25%自愈,在病程 12-24 月又有 50%自愈,常发生在初期疾病严重的慢性难治性病人^[8,9]。吴润晖等的研究发现,儿童 ITP 病程 6 个月-2 年仍有高达 30%的缓解率,切忌过度治疗,6 个月-2 年内复发患儿比

率低,常见于年长儿、抗核抗体阳性、CD19⁺ 细胞百分比低的患儿;慢性期仍持续不缓解、6 月后再次复发病人常规治疗效果不佳,需考虑选择进一步治疗^[10]。总之,目前常规的检查方法对 ITP 的临床分型过于局限,而常规的治疗方法亦效果有限,对 ITP 的病因、发病机制、合理分型进行进一步研究,进而指导临床给予合理有效治疗是临床极为迫切的需求。

ITP 是自身免疫性疾病已众所周知,ITP 病儿中 T 细胞免疫异常是关键^[11,12]。患者体内产生抗血小板自身抗体导致血小板在巨噬细胞系统破坏增多,血小板寿命缩短是本病的发病机制之一^[13]。研究已证实,在自身免疫性疾病的发生、发展过程中起非常重要的作用的是 Th/Tc 细胞的平衡^[14]。成熟的 T 细胞只表达 CD4 或 CD8 分子,CD4 细胞是 T 辅助/诱导细胞(Th/Ti)的表面标志,CD4⁺T 细胞活化后,效应细胞主要为 Th 细胞,分泌不同的细胞因子,发挥各种免疫效应,CD8 细胞是 T 抑制/杀伤细胞(Ts/Tc)的表面标志,CD8⁺T 细胞的主要功能是特异性直接杀伤靶细胞,;Th 细胞是机体免疫应答的中心,CD4⁺/CD8⁺ 细胞(Th/Tc)比值变化反应机体的免疫功能状况,比例升高表明免疫功能亢进,比例降低表明免疫功能低下^[15]。Aboul-Fotoh^[16]等研究表明 T 细胞亚群中 CD4CD25 数量的下降可能是导致 ITP 患儿免疫失常的一个因素。目前研究显示与自身免疫关系最为密切是病毒感染,已知有 10 余种病毒与儿童 ITP 发病有关。本次试验资料显示合并 HCMV 感染的 ITP 患儿达 44.12%,提示 HCMV 感染可能是儿童 ITP 发生发展的重要原因之一。

HCMV 是一种弱致病性病毒,属疱疹病毒 β 亚科,也称人疱疹病毒 5 型。具有线状双链 DNA。机体感染了 HCMV 后,可以早期激活 T 细胞抗病毒效应,但是 HCMV 还可抑制机体的抗病毒效应,从而达到在人体内长期潜伏的效果^[17]。持久的 HCMV 感染可以使机体长期处于感染前驱状态,不断诱导 T 细胞亚群异常分化,体内产生多种炎症因子如 INF- γ 、IL-10、

IL-1 等,从而对多种疾病易感,如炎症、肿瘤、结缔组织病、自身免疫性疾病等^[18]。窦娟等研究证实 HCMV 可以直接感染骨髓巨核细胞系,从而导致巨核系祖细胞分化、成熟异常,进而诱导巨核细胞异常凋亡^[19]。宋爱琴等研究证实 EBV 感染的 ITP 患儿同时存在病毒直接对骨髓造血细胞的抑制及对血小板的直接破坏机制^[20]。我们现有的临床资料显示,ITP 患儿细胞免疫功能明显紊乱达 66.18%,其中合并 HCMV 感染的患儿存在细胞免疫异常高达 83.33%,在加用抗病毒治疗后,与常规治疗组相比临床远期预后及免疫功能紊乱的纠正都有明显改善,因此 HCMV 感染可能是导致儿童免疫功能紊乱进而诱发 ITP 并使病程迁延的重要原因之一,治疗时应兼顾异常的 T 细胞免疫功能及抗病毒。新的治疗方法还有大剂量地塞米松^[21,22],刺激血小板生成的药物等。有研究表明,儿童急性、慢性 ITP 不能截然分开,缓解似乎终将发生,ICIS 提出应该将儿童慢性 ITP 诊断的时间延长到 12 个月^[23]。目前需要大规模的样本研究来对 ITP 进行进一步的研究,建议将 HCMV 感染及其他病毒感染和细胞免疫功能检测纳入 ITP 的常规诊断步骤,以指导 ITP 的治疗及有助于判断预后。

参考文献(References)

- [1] Oldstone MB. Molecular mimicry and immune-mediated diseases[J]. B J, 1998,12:1255-1265
- [2] Klenovsek K, Weisel F, Schneider A, et al. Protection from CMV infection in immunodeficient hosts by adoptive transfer of memory B cells[J]. Blood, 2007,110:3472-3479
- [3] 金玲, 张永红. 儿童 130 例人巨细胞病毒感染的血液学有关表现[J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2006,11(6):302-304
Jin Ling, Zhang Yong-hong. Hematological manifestations of human Cytomegalovirus infection: A retrospective study in 130 pediatric patients [J]. Journal of China Pediatric Blood and Cancer, 2006,11(6):302-304
- [4] 胡亚美, 江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第 7 版. 人民卫生出版社, 2004:1800-1803
Hu Ya-mei, Jiang Zai-fang. Practical Pediatrics of Zhu Fu-tang[M]. Version 7. People's Medical Publishing House, 2004:1800-1803
- [5] 吴润辉, 吴敏媛, 马晓莉, 等. 儿童特发性血小板减少性紫癜患者的免疫状态研究[J]. 血栓与止血学, 2006,12(6):245-249
Wu Run-hui, Wu Min-yuan, Ma Xiao-li, et al. The study of immune condition in children patients with Idiopathic Thrombocytopenic purpura[J]. Thrombosis and Hemostasis, 2006,12(6):245-249
- [6] France EK, Glanz J, Xu S, et al. Risk of immune thrombocytopenic purpura after measles-mumps-rubella immunization in children[J]. Pediatrics, 2008,121:e687-692
- [7] Glanz J, France E, Xu S, et al. A population-based, multisite cohort study of the predictors of chronic thrombocytopenic purpura in children [J]. Pediatrics, 2008,121(3):506-512
- [8] Rosthøj S, Hedlund-Treutiger I, Rajantie J, et al. Duration and morbidity of newly diagnosed idiopathic thrombocytopenic purpura in children: a prospective Nordic study of an unselected cohort [J]. The journal of pediatrics, 2003,141:302-307
- [9] Working Party of the British Committee for Standards in Hematology. General Hematology Task Force Guidelines for the investigation and management of idiopathic thrombocytopenic purpura in adults, children and in pregnancy [J]. British Journal of Haematology, 2003,120:574-596
- [10] 吴润辉, 马洁, 周翔, 等. 儿童特发性血小板减少性紫癜疾病演变的探讨[J]. 国小儿血液与肿瘤杂志, 2008,13(1):10-13
Wu Runhui, Ma Jie, Zhou Xuan, et al. Evolution of children idiopathic thrombocytopenic purpura beyond 6-months disease course[J]. 2008, 13(1):10-13
- [11] Cines D, Buddel J B. How I treat idiopathic thrombocytopenic purpura(ITP)[J]. Blood, 2005,106(7):2244-2251
- [12] Cines D B, Mcmillan R. Management of adult idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Annu Rev Med, 2005,56:425-442
- [13] 高举, 罗春华. 自身免疫性血小板减少性紫癜的发病机制及诊疗进展[J]. 中国实用儿科杂志, 2003,18(2):77-79
Gao Ju, Luo Chun-hua. The pathogenesis and medical progress of autoimmune thrombocytopenic purpura [J]. China Journal of Practical Pediatrics, 2003,18(2):77-79
- [14] McMillan R, Wang L, Tomer A, et al. Suppression of in vitro megakaryocyte production by antiplatelet autoantibodies from adult patients with chronic ITP [J]. Blood, 2004,103(4):1364-1369
- [15] 宁军, 龚浩, 刘冰. 特发性血小板减少性紫癜患者血小板相关抗体和淋巴细胞亚群的临床观察[J]. 临床和实验医学杂志, 2007,6(2):28-29
Ning Jun, Gong Hao, Liu Bing. Detection of platelet-associated antibody and lymphocyte subsets in patients with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. 2007,6(2):28-29
- [16] Aboul-Fotoh Lel-M, Abdel Raheem MM, El-Deen MA, et al. Role of CD4⁺CD25⁺T cells in children with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Pediatr Hematol oncol, 2011 Mar, 33(2):81-85
- [17] Lee AW, Hertl L, Louie RK, et al. Human cytomegalovirus alters localization of MHC class II and dendrite morphology in mature langerhans cells [J]. J Immunol, 2006,177:3960-3971
- [18] Nugent DJ. Immune thrombocytopenic purpura of childhood [J]. Hematology Am Soc Hematol Educ Program, 2006:97-103
- [19] 窦娟, 王清文, 袁中明, 等. 人巨细胞病毒感染抑制原巨核细胞增殖并诱导其凋亡[J]. 医学信息, 2007,20(12):2084-2087
Dou Juan, Wang Qing-wen, Yuan Zhong-min, et al. Infection of Human Cytomegalovirus causes proliferation inhibition and apoptosis in Megakaryoblastic Cells [J]. Medical Information, 2007,20(12):2084-2087
- [20] 宋爱琴, 董增义, 庞秀英, 等. HBV 感染并发 ITP 患儿临床特征分析[J]. 齐鲁医学杂志, 2006,21(2):103-105
Song Ai-qin, Dong Zeng-yi, Pang Xiu-ying, et al. A clinical analysis between Hepatitis B Virus infection and idiopathic thrombocytopenic purpura in children[J]. Medical Journal of Qilu, 2006,21(2):103-105
- [21] Bennett CM, Rogers ZR, Kinnamon DD, et al. Prospective phase 1/2 study of rituximab in childhood and adolescent chronic immune thrombocytopenic purpura[J]. Blood, 2006,107:2639-2642
- [22] Nichol J, AMG531. An investigational thrombopoiesis-stimulating peptidibody(TSP)[J]. Pediatr Blood Cancer, 2006,47:723-725
- [23] V Blanchette. Childhood chronic immune thrombocytopenic purpura(ITP)[J]. Blood, 2002,16:23-26