

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2021.07.040

呼吸道感染患儿 EBV-DNA 载量表达及其与肝肾功能损伤的关系研究*

郝秀丽¹ 谢放² 闫学平³ 王坤¹ 张芳¹

(1 北京市第一中西医结合医院儿科 北京 100018; 2 北京市肝病研究所检测部 北京 100069;

3 北京市第一中西医结合医院检验科 北京 100018)

摘要 目的:探讨呼吸道感染患儿爱泼斯坦-巴尔病毒(EBV)-脱氧核糖核酸(DNA)载量表达及其与肝肾功能损伤的关系研究。**方法:**选取 2016 年 1 月至 2019 年 6 月本院门诊及病房住院治疗经临床确诊的 175 例呼吸道感染儿童为研究对象,依据 EBV-DNA 载量水平分为阳性组($n=117$)和阴性组($n=58$),比较不同性别、年龄的呼吸道感染患儿 EBV-DNA 阳性率,根据 EBV-DNA 载量峰值将阳性组患儿分为 EBV-DNA 高载量组($n=21$)、中载量组($n=35$)和低载量组($n=61$),比较不同 EBV-DNA 载量组患儿肝肾功能异常比例及血清丙氨酸转氨酶(ALT)、天冬氨酸氨基转移酶(AST)、胱抑素 C(CysC)、 β_2 微球蛋白(β_2 -MG)水平, Pearson 相关性分析 EBV-DNA 载量与 ALT、AST、CysC、 β_2 -MG 的关系。**结果:**不同性别患儿间 EBV-DNA 阳性率差异无统计学意义($P>0.05$), 1-3、3-6 岁年龄段儿童中 EBV-DNA 阳性率最高,不同年龄间患儿 EBV-DNA 阳性率差异有统计学意义($P<0.05$);EBV-DNA 低载量组、中载量组、高载量组的肝异常比例为 19.67%、48.57%、66.67%,肾异常比例为 13.11%、42.86%、52.38%,不同 EBV-DNA 载量患儿肝肾功能异常比例相比,差异有统计学意义($P<0.05$);血清 ALT、AST、CysC、 β_2 -MG 水平随 EBV-DNA 载量升高而升高($P<0.05$), EBV-DNA 载量与 ALT、AST、CysC、 β_2 -MG 水平呈正相关性($P<0.05$)。**结论:**呼吸道感染患儿 EBV-DNA 载量升高会增加发生肝肾功能损伤的风险,且在 1-6 岁儿童 EBV-DNA 阳性率较高,检测 EBV-DNA 载量有助于呼吸道感染患儿肝肾功能损伤的评估。

关键词:呼吸道感染;爱泼斯坦-巴尔病毒;DNA 载量;肝功能损伤;肾功能损伤

中图分类号:R373.1;R56 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2021)07-1383-04

Expression of EBV-DNA Load in Children with Respiratory Tract Infection and Its Relationship with Hepatic and Kidney Damage*

HAO Xiu-li¹, XIE Fang², YAN Xue-ping³, WANG Kun¹, ZHANG Fang¹

(1 Department of Pediatrics, Beijing First Integrated Hospital of Chinese and Western Medicine, Beijing, 100018, China;

2 Department of Detection, Beijing Institute of Liver Diseases, Beijing, 100069, China; 3 Department of Clinical Laboratory,

Beijing First Integrated Hospital of Chinese and Western Medicine, Beijing, 100018, China)

ABSTRACT Objective: To investigate the expression of Epstein-Barr virus (EBV)-Deoxyribonucleic acid (DNA) load in children with respiratory infection and its relationship with liver and kidney damage. **Methods:** A total of 175 children with respiratory tract infection who had been clinically diagnosed during outpatient and inpatient treatment in our hospital from January 2016 to June 2019 were selected as subjects. According to the EBV-DNA load level, they were divided into positive group ($n=117$) and negative group ($n=58$). The EBV-DNA positive rates in children with respiratory tract infection of different genders and ages were compared. Children in the positive group were divided into the high-load EBV-DNA group ($n=21$), the medium-load group ($n=35$) and the low-load group ($n=61$) according to the peak EBV-DNA load. The proportion of abnormal liver and kidney function and serum alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), Cystatin C(CysC) and carrier 2 microglobulin (carrier 2-MG) levels in children with different EBV-DNA load groups were compared. Pearson correlation analysis was conducted to analyze the relationship between carrier load of EBV-DNA carrier and ALT, AST, CysC and β_2 -MG. **Results:** There was no statistically significant difference in EBV-DNA positive rate among children of different genders ($P>0.05$), and EBV-DNA positive rate was the highest among children aged 1-3 and 3-6 years, while there was statistically significant difference in EBV-DNA positive rate among children of different ages ($P<0.05$). The proportion of liver abnormalities in EBV-DNA group with low load, medium load and high load were 19.67%, 48.57% and 66.67%. The proportion of renal abnormality were 13.11%, 42.86% and 52.38%, compared with the proportion of children with different EBV-DNA loads with abnormal liver and kidney function, the differences were statistically significant ($P<0.05$). Serum ALT, AST, CysC and β_2 -MG levels increased with the increase of EBV-DNA load ($P<0.05$), and EBV-DNA load were positively correlated with ALT, AST, CysC and β_2 -MG levels ($P<0.05$). **Conclusions:** Increased EBV-DNA load in children with respiratory tract infection increases the risk of liver and kidney

* 基金项目:国家卫生计生委临床科研专项项目(W2016EWQT39)

作者简介:郝秀丽(1967-),女,硕士,副主任医师,研究方向:小儿呼吸道感染,E-mail:pingsan20201224@163.com

(收稿日期:2020-09-24 接受日期:2020-10-20)

function damage, and EBV-DNA positive rate is higher in children aged 1-6 years. Detection of EBV-DNA load can help assess liver and kidney function damage in children with respiratory tract infection.

Key words: Respiratory infection; Epstein-Barr Virus; DNA Load; Liver damage; Renal damage

Chinese Library Classification(CLC): R373.1; R56 **Document code:** A

Article ID: 1673-6273(2021)07-1383-04

前言

爱泼斯坦 - 巴尔病毒 (epstein-barrvirus, EBV) 是一种经呼吸道传染的脱氧核糖核酸 (Deoxyribonucleic acid, DNA) 疱疹病毒^[1,2]。EBV 进入机体后, 可直接入侵人体免疫系统而致免疫反应, 可累及全身各个器官和系统, 临床表现复杂多样, 给临床诊疗带来极大困难。近年来 EBV 感染患儿有逐年增多的趋势, 4 岁以下的儿童极易感染^[3]。EBV 感染的相关疾病以呼吸道感染居首位, 但越来越多的证据显示^[4,5], EBV 感染后易引起肝肾损伤, 但因其无特征性的临床表现, 极易漏诊、误诊, 因此早期发现 EBV 感染后是否产生肝肾功能损伤对于控制病情, 保护脏器功能, 改善预后具有重要意义。丙氨酸转氨酶 (Alanine transaminase, ALT)、谷草转氨酶 (Aspartate aminotransferase, AST) 一定程度上可反映肝细胞损伤程度及肝组织炎症变化, 是临床筛查、诊断和鉴别肝脏疾病的敏感指标^[6,7]。胱抑素 C (Cystatin C, CysC)、 β_2 微球蛋白 (β_2 -microglobulin, β_2 -MG) 是评估肾功能参考指标之一^[8,9]。病毒 DNA 载量检测是目前较为先进的检测病毒感染患者体内病毒浓度的方式, 可较为直观地反映病毒感染程度^[10,11]。本研究比较了不同性别年龄组 EBV-DNA 阳性率并分析了 EBV-DNA 与肝肾指标的关系, 以期为 EBV 呼吸道感染患儿肝肾损伤的评估提供参考, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料

选取 2016 年 1 月至 2019 年 6 月本院门诊及病房住院治疗经临床确诊的 175 例呼吸道感染临床诊断儿童为研究对象, 男 99 例, 女 76 例, 年龄 3 月 -10 岁, 平均年龄 (4.21±1.29) 岁, 0-1 岁 41 例, 1-3 岁 39 例, 3-6 岁 67 例, 6 岁以上 28 例。肝功能

异常 45 例, 肾功能异常 35 例。纳入标准: ① 所有患儿均诊断为 EBV 感染; ② 符合呼吸道感染临床诊断标准^[12]: 发热 $\geq 38^\circ\text{C}$, 伴有咳嗽、咳痰、咽喉疼痛、乏力或全身酸痛等; ③ 患儿监护人自愿参加本研究。排除标准: ① 伴哮喘等其他呼吸系统疾病的患儿; ② 近期内服用影响肝肾功能的药物; ③ 近期内应用免疫抑制剂治疗; ④ 其他肝肾疾病。本研究符合医院伦理学相关要求。根据受检对象 EBV-DNA 载量将其分为阳性 (EBV-DNA $> 5.00\text{E}+3$) 和阴性组 (EBV-DNA $\leq 5.00\text{E}+3$)。EBV-DNA 载量阳性组依据 DNA 载量不同分为低载量组 ($5.00\text{E}+3 < \text{EBV-DNA} \leq 5.00\text{E}+4$)、中载量组 ($5.00\text{E}+4 < \text{EBV-DNA} \leq 5.00\text{E}+5$)、高载量组 (EBV-DNA $> 5.00\text{E}+5$)。

1.2 观察指标和检测方法

于患儿入院 24h 内采集外周血 3 mL, 3 000 r/min, 离心 10 min 后取上清液, 保存于 -30°C 冰箱中待测, 采用瑞士罗氏公司生产的 cobas z480 全自动荧光定量 PCR 分析仪及其配套试剂检测血清中 EBV-DNA 载量, 采用日本日立公司生产的 7170 全自动生化分析仪及其配套试剂检测血清 ALT、AST、CysC、 β_2 -MG 水平, 检测严格遵守试剂盒和仪器操作规程进行。

1.3 统计学方法

数据应用 SPSS20.0 统计软件分析。计量资料经检验后符合正态分布, 以 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用 t 检验。计数资料以 % 表示, 应用 χ^2 检验。EBV-DNA 峰值载量与肝肾功能指标的相关性分析采用 Pearson 相关分析。P<0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 不同年龄、性别患儿 EBV-DNA 峰值载量的比较

不同性别患儿 EBV-DNA 峰值载量阳性率比较差异无统计学意义 (P>0.05)。不同年龄段患儿 EBV-DNA 峰值载量阳性率比较差异有统计学意义 (P<0.05)。见表 1。

表 1 不同年龄、性别 EBV-DNA 峰值载量比较【例 (%)】

Table 1 Comparison of EBV-DNA peak load in different ages and genders[n(%)]

Components		n	EBV-DNA peak load		χ^2	P
			Negative(n=58)	Positive(n=117)		
Gender	Male	99	31(31.31)	68(68.69)	0.344	0.557
	Female	76	27(35.53)	49(64.47)		
Age	0-1 years old	41	16(39.02)	25(60.98)	6.236	0.003
	1-3 years old	39	9(23.08)	30(76.92)		
	3-6 years old	67	13(19.40)	54(80.60)		
	More than 6 years old	28	20(71.43)	8(28.57)		

2.2 不同 EBV-DNA 峰值载量与肝肾功能异常的关系

阴性组肝肾功能异常比例低于低载量组、中载量组、高载

量, 低载量组肝肾功能异常比例低于中载量组、高载量组, 中载量组低于高载量组, 差异有统计学意义 (P<0.05)。见表 2。

2.3 不同 EBV-DNA 载量患儿肝功能指标的比较

阴性组 ALT、AST、CysC、 β_2 -MG 水平低于 EBV-DNA 峰值低载量组、中载量组、高载量组,低载量组低于中载量组、高

载量组,中载量组低于高载量组,差异有统计学意义 ($P<0.05$)。见表 3。

表 2 EBV-DNA 峰值载量与肝肾功能的关系【例(%)】

Table 2 Relationship between EBV-DNA peak load and liver and kidney function [n(%)]

Groups	n	Liver function		Renal function	
		Normal(n=130)	Abnormal(n=45)	Normal(n=140)	Abnormal(n=35)
Negative group	58	56(96.55)	2(3.45)	57(98.28)	1(1.72)
Low-load group	61	49(80.33)	12(19.67)*	53(86.89)	8(13.11)*
Medium-load group	35	18(51.43)	17(48.57)*#	23(65.71)	12(34.28)*#
High-load group	21	7(33.33)	14(66.67)*#&	7(33.33)	14(66.67)*#&
χ^2		11.668		8.543	
P		0.009		0.031	

Note: compared with negative group, * $P<0.05$; compared with low-load group, # $P<0.05$; compared with medium-load group, & $P<0.05$.

2.4 EBV-DNA 峰值载量与肝肾功能指标的相关性分析

Pearson 相关性分析结果显示,EBV-DNA 峰值载量与 ALT、AST 呈正相关($r=0.673$, $P=0.024$; $r=0.757$, $P=0.013$),

EBV-DNA 峰值载量与 CysC、 β_2 -MG 呈正相关($r=0.648$, $P=0.028$; $r=0.733$, $P=0.019$)。

表 3 不同 EBV-DNA 峰值载量患儿肝功能相关指标的比较($\bar{x}\pm s$)Table 3 Comparison of indicators related to liver and kidney function of children with different EBV-DNA peak load ($\bar{x}\pm s$)

Groups	n	ALT(u/L)	AST(u/L)	CysC(mg/L)	β_2 -MG(mg/L)
Negative group	58	40.35 $\pm$ 5.15	32.57 $\pm$ 4.64	0.93 $\pm$ 0.18	1.97 $\pm$ 0.42
Low-load group	61	183.77 $\pm$ 30.75*	200.63 $\pm$ 46.37*	6.83 $\pm$ 1.68*	10.25 $\pm$ 1.87*
Medium-load group	35	268.94 $\pm$ 43.86*#	270.85 $\pm$ 50.34*#	16.86 $\pm$ 2.75*#	23.58 $\pm$ 3.35*#
High-load group	21	337.74 $\pm$ 48.26*#&	310.42 $\pm$ 52.65*#&	33.63 $\pm$ 2.38*#&	37.82 $\pm$ 3.42*#&

Note: compared with negative group, * $P<0.05$; compared with low-load group, # $P<0.05$; compared with medium-load group, & $P<0.05$.

3 讨论

EBV 为人类疱疹病毒属的 γ 亚科,主要侵犯淋巴或上皮细胞,机体免疫力低下的情况下更容易发作^[13]。儿童的免疫系统处于正在发育的阶段,学龄前儿童 EBV 感染率高^[14]。EBV 感染患儿常在疾病发生及进展过程中就易出现多种脏器功能损伤,目前对于由 EBV 感染导致的肝肾损伤越来越被关注,临床医生逐渐意识到呼吸道感染患儿在出现肝肾损伤时,考虑 EBV 感染,及时诊断并避免治疗延迟。但目前有关 EBV-DNA 载量与肝肾功能损伤的研究并不多见。既往研究显示,EBV-DNA 检测在儿童呼吸道感染疾病诊断中具有较高的价值,可为临床诊断、治疗疾病和检测提供支持^[15,16],故本研究在检测了呼吸道感染患儿 EBV-DNA 载量的基础上分析其与肝肾功能指标的关系,拟初步探明 EBV-DNA 载量对肝肾损伤的评估作用。

本文研究结果显示,EBV-DNA 载量阳性组患儿的血清 ALT、AST、 β_2 -MG、CysC 水平均显著高于阴性组,肝肾功能异常患儿比例高于阴性组,说明 EBV 感染后患儿的肝肾功能受到一定损伤,且随着 EBV-DNA 载量的增加,血清 ALT、AST、 β_2 -MG、CysC 水平呈持续升高趋势,肝肾功能损伤比例也随之

提高,说明 EBV 感染越严重,对呼吸道感染患儿肝功能的损伤越重。既往研究显示 EBV 感染引起 CD3⁺、CD8⁺ T 淋巴细胞浸润可以增加炎症因子生成,影响肝细胞信号传导、细胞凋亡、转录、DNA 修复等进程^[17,18]。EBV 感染可引起儿童 T 淋巴细胞免疫机能的异常,EBV 参与了肝脏疾病的进展,EBV 感染所致传染性单核细胞增多症(Infectious mononucleosis, IM)更易引起肝脏损伤,因此检测 EBV-DNA 对早期干预肝病进展有一定指导意义^[19,20]。在 EBV 的连续监测研究中表明,某些小儿肝移植(Liver transplantation, LT)接受者长期表现出高 EBV 负荷^[21],这可能是因为 EBV 可通过作用于体内 CD8⁺ T 淋巴细胞导致免疫异常激活,引起肝功能异常^[22,23]。EBV 引起肾功能异常的机制可能与 EBV 病毒感染后可导致短暂的肾小球肾炎有关,这在国外的一项研究中已经得到证实^[24]。相关性分析结果显示,EBV-DNA 峰值载量与 ALT、AST、CysC、 β_2 -MG 呈正相关,提示动态监测 EBV-DNA 峰值载量对早期干预 EBV 感染引起的肝肾相关性疾病进展有一定的指导意义。

本研究结果还显示,EBV-DNA 峰值载量与性别无关,与蓝仙娥等^[25]研究一致。EBV-DNA 峰值载量在不同年龄间存在差异,这与任伟等^[26]研究结果一致,这是因为 EBV 的感染主要是外源性的,婴儿体内有来源于母体的相关保护性抗体,与外

界接触少,减少 EBV 感染的机率。随着年龄的增长,体内的抗体滴度逐渐消失,而免疫系统尚未健全,抵抗力缺乏,与社会接触的几率也增多,极易引起病原体的感染。学龄期儿童免疫系统功能逐步完善,EBV 感染率逐渐降低。本文的研究仍有局限之处在于未设置患儿出院后的随访以便明确 EBV-DNA 载量与患儿预后的关系,今后的研究中将设置随访,以观察 EBV-DNA 载量对患儿肝肾损伤后预后的影响。

综上所述,EBV 所致肝肾损害的病理机制尚不完全清楚,但 EBV-DNA 载量检测在其诊断中发挥了重要作用,有助于对患儿肝肾功能的损伤、疾病严重程度进行评估。对于呼吸道感染患儿出现肾功能异常时,应进行 EBV 检测,早发现、早诊断、早治疗,积极改善预后。

参考文献(References)

- [1] Afrasiabi A, Parnell GP, Swaminathan S, et al. The interaction of Multiple Sclerosis risk loci with Epstein-Barr virus phenotypes implicates the virus in pathogenesis[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 193
- [2] Kerr JR. Epstein-Barr virus (EBV) reactivation and therapeutic inhibitors[J]. *J Clin Pathol*, 2019, 72(10): 651-658
- [3] Kiran Devkota, Maio He, Meng Yi Liu, et al. Increasing Epstein-Barr virus infection in Chinese children: A single institutional based retrospective study[J]. *F1000 Research*, 2019, 15(1): 1-3
- [4] 杨琴,周太光. 儿童 EB 病毒感染相关性肾损伤临床特点分析[J]. *中国现代医学杂志*, 2018, 28(13): 79-83
- [5] 胡玲瓏,王菊香,周海霞,等. 儿童 EB 病毒感染肝功能损伤与 Caspase-7 水平的关系[J]. *浙江实用医学*, 2018, 23(6): 438-439
- [6] Wang Y, Ji W, Zhang X, et al. Laparoscopic Liver Resection and Enucleation of Liver Hemangioma with Selective Hepatic Vascular Occlusion: Technique and Indications [J]. *J Laparoendosc Adv Surg Tech A*, 2017, 27(9): 944-950
- [7] 王春艳,韩萍,纪冬,等. 血清高尔基体蛋白 73 联合 AST 对慢性乙型肝炎患者显著肝脏炎症损伤的诊断效能 [J]. *肝脏*, 2019, 24(2): 133-137
- [8] Wajda J, Dumnicka P, Sporek M, et al. Does Beta-Trace Protein (BTP) Outperform Cystatin C as a Diagnostic Marker of Acute Kidney Injury Complicating the Early Phase of Acute Pancreatitis?[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(1): E205
- [9] Jiang Z, Tan Z, Meng F, et al. Curative Effects of Valsartan Alone or Combined with Alpha-lipoic Acid on Inflammatory Cytokines and Renal Function in Early-stage Diabetic Kidney Disease [J]. *J Coll Physicians Surg Pak*, 2019, 29(10): 1009-1011
- [10] Vogler K, Schmidt LS. Clinical manifestations of Epstein-Barr virus infection in children and adolescents [J]. *Ugeskr Laeger*, 2018, 180(20): V09170644
- [11] Harver A, Dyer A, Ersek JL, et al. Reliability and predictors of resistive load detection in children with persistent asthma: a multivariate approach[J]. *J Asthma*, 2015, 52(2): 146-154
- [12] 王蔚文. 临床疾病诊断与疗效判断标准 [M]. 北京: 科学技术文献出版社, 2010: 123-124
- [13] Cohen JL. Primary Immunodeficiencies Associated with EBV Disease [J]. *Curr Top Microbiol Immunol*, 2015, 390(Pt 1): 241-265
- [14] 夏妍,金茜,李兴库,等. 黑龙江省儿童 EB 病毒的感染情况及疾病谱分析[J]. *现代生物医学进展*, 2016, 16(18): 3569-3573
- [15] 胡忠昌,丁小霞,梅诗胜,等. EB 病毒 IgM、IgG 及 DNA 检测在儿童呼吸道感染性疾病中的诊断价值分析 [J]. *检验医学与临床*, 2016, 13(14): 1955-1957
- [16] 王培养,顾承萍,李珍,等. 呼吸道感染性疾病患儿 EB 病毒抗体和 EB-DNA 表达分析[J]. *中华医院感染学杂志*, 2017, 27(16): 3798-3801
- [17] 寻功,李志辉,段翠蓉,等. 儿童 EB 病毒相关性肾脏损伤临床特点分析[J]. *中国实用儿科杂志*, 2015, 30(1): 71-73
- [18] Suhail M, Abdel HH, Ali A, et al. Potential mechanisms of hepatitis B virus in duced liver injury[J]. *World J Gastroenterol*, 2014, 20(35): 12462-12472
- [19] Hu J, Zhang X, Yu G, et al. Epstein-Barr virus infection is associated with a higher Child-Pugh score and may predict poor prognoses for patients with liver cirrhosis[J]. *BMC Gastroenterol*, 2019, 19(1): 94
- [20] Hu J, Zhao H, Lou D, et al. Human cytomegalovirus and Epstein-Barr virus infections, risk factors, and their influence on the liver function of patients with acute-on-chronic liver failure [J]. *BMC Infect Dis*, 2018, 18(1): 577
- [21] Kamei H, Ito Y, Kawada J, et al. Risk factors and long-term outcomes of pediatric liver transplant recipients with chronic high Epstein-Barr virus loads[J]. *Transpl Infect Dis*, 2018, 20(4): e12911
- [22] Zhang Y, Zhao Y, Jiang Y, et al. Effects of Epstein-barr virus infection on liver function in children[J]. *J Infect Public Health*, 2019, 0341(19): 30349-30351
- [23] Nguyen TH, Bird NL, Grant EJ, et al. Maintenance of the EBV-specific CD8⁺ TCRαβ repertoire in immunosuppressed lung transplant recipients[J]. *Immunol Cell Biol*, 2017, 95(1): 77-86
- [24] Warren L Kupin. Viral-Associated GN: Hepatitis B and Other Viral Infections[J]. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2017, 12(9): 1529-1533
- [25] 蓝仙娥,文尚梅,曾秀珍,等. EB 病毒感染现状常见相关疾病发生于学龄前儿童临床研究[J]. *中国医药科学*, 2019, 9(11): 176-179
- [26] 任伟,龙晓玲,刘玉玲,等. 中山市儿童 EB 病毒感染情况分析[J]. *临床儿科杂志*, 2015, 33(2): 164-166