

• 临床检验研究论著 •

EB 病毒感染伴特发性血小板减少性紫癜患儿细胞免疫功能研究

田厚荣, 王文娟, 祝 绚

(成都市妇女儿童中心医院, 四川成都 610091)

摘要:目的 观察 EB 病毒感染伴特发性血小板减少性紫癜(ITP)患儿外周血淋巴细胞亚群变化特点,探讨其与 ITP 的关系及临床意义。方法 采用流式细胞技术检测不伴 EB 病毒感染的 ITP 患儿、健康体检儿童的各项淋巴细胞亚群的水平。结果 ITP 伴 EB 病毒感染组(ITP-EBV 组)与 ITP 非 EB 病毒感染组(ITP-N 组)、对照组比较,CD3⁺T 细胞、CD4⁺/CD8⁺比值、NK 细胞减少,CD3⁺CD8⁺T 细胞、CD19⁺B 细胞增加($P<0.05$)。结论 ITP 伴 EB 病毒感染存在 T 淋巴细胞免疫功能异常,应同时进行抗病毒和免疫治疗。

关键词:紫癜,血小板减少性,特发性; 疱疹病毒 4 型,人; 淋巴细胞亚群; 流式细胞术

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2013.15.016

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2013)15-1953-02

The investigation of lymphocyte subsets in Epstein-Barr virus-related idiopathic thrombocytopenic purpura

Tian Hourong, Wang Wenjuan, Zhu Xuan

(Chengdu Women's and Children's Central Hospital, Chengdu, Sichuan 610091, China)

Abstract: Objective To observe the changes of peripheral blood lymphocyte subsets in Epstein-Barr virus-related idiopathic thrombocytopenic purpura (EBV-ITP) and to investigate the relationship between the changes and ITP, as well as clinical significance. **Methods** The flow cytometry was used to detect the level of lymphocyte subsets in peripheral blood of children with EBV-ITP and healthy children. **Results** The level of CD3⁺T cells, CD4⁺/CD8⁺T cells, NK cells in ITP was lower than that in normal group, while The level of CD3⁺CD8⁺T cell, CD19⁺B cell was higher and the difference was statistically significant($P<0.05$). **Conclusion** EVB-ITP patients have disordered cellular immunity, a simultaneous antiviral therapy and immunotherapy are necessary.

Key words: purpura, thrombocytopenic, idiopathic; herpesvirus, human; lymphocyte subsets; flow cytometry

特发性血小板减少性紫癜(ITP),是好发于儿童期的一种自身免疫性出血性疾病,儿童年发病率约为十万分之四,发病年龄多为2~5岁,无性别差异^[1]。过去临床上认为儿童ITP病程为急性经过有自限性,一般数周至半年内病情会得到缓解。近年的研究发现 ITP 呈慢性倾向的比例逐渐增多,常规治疗手段效果差,易反复发生不同部位出血及潜在出血倾向^[2]。EB 病毒是疱疹病毒科 γ 亚科中唯一可引起人类感染的淋巴滤泡病毒,它不仅与鼻咽癌、传染性单核细胞增多症、移植后淋巴细胞增生性疾病等密切相关,它与血液疾病的关系也日益受到重视^[3]。本研究观察了 EB 病毒感染伴特发性血小板减少性紫癜(ITP)患儿外周血淋巴细胞亚群变化特点,旨在探讨 EB 病毒感染对 ITP 患儿免疫功能的影响。

1 资料和方法

1.1 一般资料 选取 2010 年 1 月至 2012 年 12 月于本院就诊的初诊 ITP 患儿共 105 例,ITP 诊断按照 2006 年国际 ITP 研究组提出的标准:有血小板减少($<150\times 10^9/L$)和(或)出血表现,其他方面完全正常并排除其他可引起血小板减少的疾病。伴 EB 病毒感染的 ITP 患儿 48 例,男 26 例,女 22 例,年龄从 56 d 至 13 岁,作为 ITP 伴 EB 病毒感染组(ITP-EBV 组);无 EB 病毒感染的 ITP 患儿 57 例,男 32 例,女 25 例,年龄从 10 月至 12 岁,作为 ITP 非 EB 病毒感染组(ITP-N 组)。本院健康体检儿童 59 例,男 36 例,女 23 例,年龄从 10 月至 12 岁,作为对照组。各组年龄、性别差异均无统计学意义($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 EB 病毒感染的检测 采集上述 ITP 患儿静脉血 2

mL,3 000 r/min 离心 15 min 后取血清备用,采用 ELISA 检测,严格按照试剂盒说明书操作。以 IgM 阳性或 IgM、IgG 均为阳性为 EB 病毒感染。

1.2.2 淋巴细胞亚群检测 采用美国 Becton-Dickinson 公司的 BD FACSCalibur 流式细胞仪和 TriTEST CD4-FITC/CD8-PE/CD3-PerCP 三色荧光试剂检测。严格按说明书进行操作。

1.3 统计学处理 采用 SAS9.2 软件进行数据分析。计量资料以 $\bar{x}\pm s$ 表示,数据间比较采用方差分析,组间比较采用 SNK- q 检验, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 血常规检查的回顾性分析 ITP-EBV 组与 ITP-N、对照组比较,白细胞计数较高($P<0.05$);ITP-EBV 组、ITP-N 组与对照组比较,血小板计数降低($P<0.05$),见表 1。

表 1 三组外周血血常规结果($\bar{x}\pm s$)

组别	<i>n</i>	WBC($\times 10^9/L$)	PLT($\times 10^9/L$)
ITP-N 组	57	8.26 $\pm$ 3.15	37.16 $\pm$ 21.03 *
ITP-EBV 组	48	11.02 $\pm$ 5.33 * #	38.15 $\pm$ 24.80 *
对照组	59	7.85 $\pm$ 1.34	321.20 $\pm$ 105.17

*:与对照组比较, $P<0.05$;#:与 ITP-N 组比较, $P<0.05$ 。

2.2 EB 病毒感染与外周血淋巴细胞亚群的关系 ITP-EBV 组、ITP-N 组与对照组比较,CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞减少,CD19⁺B 细胞增加($P<0.05$);ITP-EBV 组 ITP-N 比较,CD3⁺T 细胞、CD3⁺CD4⁺T 细胞、CD3-CD16⁺CD56⁺NK 细胞减少,CD3⁺CD8⁺T 细胞、CD19⁺B 细胞增加($P<0.05$),见表 2。

表 2 ITP 患儿外周血淋巴细胞亚群检测结果($\bar{x} \pm s, \%$)

组别	CD3 ⁺	CD3 ⁺ CD4 ⁺	CD3 ⁺ CD8 ⁺	CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD19 ⁺
ITP 组(<i>n</i> = 57)	61. 69 ± 6. 14 *	30. 68 ± 7. 40 *	25. 02 ± 6. 78	13. 64 ± 5. 67	17. 79 ± 4. 95 *
ITP-EB 病毒感染组(<i>n</i> = 48)	58. 40 ± 8. 14 * #	25. 20 ± 5. 42 * #	27. 80 ± 7. 07 * #	10. 40 ± 6. 04 #	22. 70 ± 9. 28 * #
对照组(<i>n</i> = 59)	68. 55 ± 9. 29 #	37. 10 ± 7. 95 #	24. 12 ± 4. 85	11. 67 ± 4. 92	10. 56 ± 1. 41 #

* : 与对照组比较, *P* < 0. 05; # : 与 ITP 组比较, *P* < 0. 05。

3 讨 论

随着儿童慢性难治性 ITP 比例的增加, 目前常规的治疗手段对 ITP 的疗效有限, 亟需进一步研究 ITP 病因及发病机制以指导临床治疗。经典的 ITP 发病机制是由于单核-巨噬细胞系统中自身抗体介导的血小板破坏增加、骨髓巨核细胞损伤或功能异常使血小板减少, 而 B 细胞产生血小板抗体是血小板被破坏的直接原因, B 细胞的激活需要自免疫 T 细胞的活化。有研究显示 ITP 患儿 T 细胞免疫功能异常是关键^[4], 而病毒感染造成的交叉抗原反应被认为是 ITP 发病的主要原因之一^[5]。

EB 病毒感染后机体可产生与正常组织蛋白发生交叉反应的自身抗体, 可使血小板相关抗体和血小板相关免疫球蛋白 G (PAIGG) 增高, 其抗原决定簇主要位于血小板膜糖蛋白 GP II b 上, PAIGG 直接结合在血小板 GP II b, 可加速循环血中血小板的清除, 引起血小板减少^[6]。此外, EB 病毒还可以直接破坏巨细胞, 从而抑制血小板的产生。EB 病毒感染患儿 WBC 增高提示 EB 病毒具有活化细胞周期, 促进细胞大量增值的作用。EB 病毒感染发病机制复杂, 因为 B 淋巴细胞上有 EB 病毒受体(CR2 或 CD21 的糖蛋白), 因此 EB 病毒感染后 B 淋巴细胞首先累及, 但 B 淋巴细胞并不支持 EB 病毒复制, 而成为“储藏库”, 继之 T 淋巴细胞出现强烈反应, 导致炎症介质的高水平分泌(IL-1、IFN、TNF 等), 从而出现 T 淋巴细胞的分化异常。有文献报道活化 T 淋巴细胞的凋亡相关蛋白 Fas/FasL 及 Bcl-2 表达异常, 从而产生异常的细胞免疫应答是临床多样性的基础^[7]。本研究发现 ITP 伴 EB 病毒感染患儿与无 EB 病毒感染的 ITP 患儿比较, CD3⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺、CD3-CD16⁺CD56⁺ 的 NK 细胞降低, CD3⁺CD8⁺ 的 T 细胞、CD19⁺ 的 B 细胞升高。EB 病毒感染的 ITP 患儿调节性 T 细胞比例

降低, 免疫自稳功能减弱; NK 细胞降低提示其对 B 细胞激活、增值、分化和抗体应答抑制能力下降, 从而使 B 细胞异常活化, 体液免疫过强导致发病; 而 B 细胞增高可能是抗血小板克隆异常扩增活化的结果。综上所述, 对 ITP 患儿检测 EB 病毒, 有助于探讨 ITP 的发病机制及指导临床治疗。

参考文献

[1] Yetman RJ. Evaluation and management of childhood idiopathic (immune) thrombocytopenia[J]. J Pediatr Health Care, 2003, 17 (5): 261-263.

[2] France EK, Glanz J, Xu S, et al. Risk of immune thrombocytopenic purpura after measles-mumps-rubella immunization in children [J]. Pediatrics, 2008, 121(3): 687-692.

[3] Young LS, Rickinson AB. Epstein-Barr virus: 40 years on[J]. Nat Rev Cancer, 2004, 4(10): 757-768.

[4] Zhang F, Chu X, Wang L, et al. Cell-mediated lysis of autologous platelets in chronic idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Eur J Haematol, 2006, 76(5): 427-431.

[5] Oldstone MB. Molecular mimicry and immune-mediated diseases [J]. FASEB J, 1998, 12(13): 1255-1265.

[6] Aref S, Selim T, Ibrahim L, et al. Flow cytometry detection of platelets autoantibodies in children with idiopathic thrombocytopenic purpura[J]. Indian J Hematol Blood Transfus, 2009, 25(3): 96-103.

[7] 成胜权. EB 病毒感染的临床多样性与细胞凋亡的遗传基础[J]. 国外医学: 儿科学分册, 1999, 26(2): 63-65.

(收稿日期: 2013-04-17)

(上接第 1952 页)

胞中的表达, 可以抑制肝癌细胞的增殖, 促进肝癌细胞的凋亡, 因此 STAT3 基因可成为肝癌治疗中重要的靶点。

参考文献

[1] 陈陶阳, 朱源荣. 我国肝癌发病趋势及展望[J]. 肿瘤, 2008, 28 (10): 908-910.

[2] Ma SM, Jiao BZ, Liu X, et al. Approach to radiation therapy in hepatocellular carcinoma[J]. Cancer Treat Rev, 2010, 36(2): 157-163.

[3] 黄文方, 张鹏辉, 刘华, 等. RNA 干扰体外抑制肝癌细胞端粒逆转酶基因表达的研究[J]. 中华检验医学杂志, 2005, 28(4): 423-425.

[4] 闫歌, 蒲丹, 唐觉, 等. RNA 干扰技术对肝癌细胞内源 survivin 基因表达的影响[J]. 生物化学与生物物理进展, 2004, 31(9): 829-833.

[5] 邱伟华, Zhou BS, Darwish D, et al. STAT3 在 SAMe 抑制 HepG2 细胞 VEGF 表达中的作用[J]. 上海交通大学学报: 医学版, 2006, 26(6): 576-580.

[6] Kortylewski M, Jove R, Yu H. Targeting STAT3 affects melano-

ma on multiple fronts[J]. Cancer Metastasis Rev, 2005, 24(2): 315-327.

[7] Tamm I, Wang Y, Sausville E, et al. IAP-family protein survivin inhibits caspase activity and apoptosis induced by Fas (CD95), Bax, caspases, and anticancer drugs[J]. Cancer Res, 1998, 58 (23): 5315-5320.

[8] Epling-Burnette PK, Liu JH, Catlett-Falcone R, et al. Inhibition of STAT3 signaling leads to apoptosis of leukemic large granular lymphocytes and decreased Mcl-1 expression[J]. J Clin Invest, 2001, 107(3): 351-362.

[9] Kanda N, Seno H, Konda Y, et al. STAT3 is constitutively activated and supports cell survival in association with survivin expression in gastric Cancer cells[J]. Oncogene, 2004, 23(28): 4921-4929.

[10] Tanaka K, Iwamoto S, Gon G, et al. Expression of survivin and its relationship to loss of apoptosis in breast carcinomas[J]. Clin Cancer Res, 2000, 6(1): 127-134.

(收稿日期: 2013-03-28)