doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2018.05.027

脾氨肽对小儿巨细胞病毒感染的 T 淋巴细胞亚群及 CMV-DNA 载量的影响 *

杨艳峰[1] 石 坤[1] 陈婷婷[1] 郭永宏[1] 朱红枫[2]

（1 成都市妇女儿童中心医院 心内科 四川 成都 610000;2 西南医科大学附属医院 儿科 四川 泸州 646000）

摘要 目的：探讨脾氨肽对小儿巨细胞病毒感染的 T 淋巴细胞亚群及 CMV-DNA 载量的影响。**方法：**选择我院 2015 年 6 月到 2016 年 12 月期间收治的巨细胞病毒感染患儿 86 例，按照随机数字法将其分为对照组和观察组，每组 43 例。所有患儿均接受对症支持治疗，并给予等量更昔洛韦静脉滴注治疗，在此基础上，观察组患儿口服脾氨肽治疗。比较两组患儿的治疗总有效率、不良反应发生率及治疗前后的血清 $CD4^+$、$CD8^+$、$CD4^+/CD8^+$ 水平和尿 CMV-DNA 载量。**结果：**治疗后，观察组的治疗总有效率(91.49%)明显高于对照组(70.21%)(P=0.01)，血清 $CD4^+$ 和 $CD4^+/CD8^+$ 水平明显高于对照组(P<0.01)，尿 CMV-DNA 载量和血清 $CD8^+$ 水平均明显低于对照组(P<0.01)。两组患儿的不良反应发生率比较差异无统计学意义(P>0.05)。**结论：**脾氨肽治疗小儿巨细胞病毒感染的临床效果较好，能有效纠正 T 淋巴细胞亚群失衡、降低 CMV-DNA 载量，且安全性高。

关键词：脾氨肽；小儿巨细胞病毒感染；T 淋巴细胞亚群；CMV-DNA 载量；临床疗效

中图分类号：R373.11；R725 **文献标识码：**A **文章编号：**1673-6273(2018)05-923-04

Effect of Spleen Ammonia Peptide on the T Lymphocyte Subsets and CMV-DNA Loads of Infantile Cytomegalovirus Infection*

YANG Yan-feng[1], SHI Kun[1], CHEN Ting-ting[1], GUO Yong-hong[1], ZHU Hong-feng[2]

(1 Department of Cardiology, Chengdu women's and children's Center Hospital, Chengdu, Sichuan, 610000, China;

2 The Affiliated Hospital of Southwest Medical University, Luzhou, Sichuan, 646000, China)

ABSTRACT Objective: To explore the effect of Spleen ammonia peptide on the T lymphocyte subsets and CMV-DNA loads of infantile cytomegalovirus infection. **Methods:** 86 cases of infants with cytomegalovirus infection admitted in our hospital from June 2015 to December 2016 were chosen as the research objects and divided into the control group and the observation group according to the method of random Numbers, with 43 cases in each group. All the infants were treated by symptomatic support and given equal ganciclovir by intravenous drip. On this basis, the observation group was given oral spleen ammonia peptide. The total effective rate, incidence of adverse reactions and evels of $CD4^+$, $CD8^+$, $CD4^+/CD8^+$ levels and urinary CMV-DNA loads before and after treatment were compared between two groups. **Results:** After treatment, the total effective rate of observation group (91.49%) was significantly higher than that of the control group (70.21%)(P=5.84), the $CD4^+$ and $CD4^+/CD8^+$ levels of observation group were significantly higher than those of the control group, while the urinary CMV-DNA loads and level of $CD8^+$ were significantly lower (P<0.01). There was no significant difference in the incidence of adverse reactions between two groups(P>0.05). **Conclusion:** Spleen ammonia peptide could enhance the clinical efficacy in the treatment of infantile cytomegalovirus infection, which could effectively correct the T lymphocyte subsets imbalance loads, reduce the CMV-DNA with high safety.

Key words: Spleen aminopeptide; Infantile cytomegalovirus infection; T lymphocyte subsets; CMV-DNA; Clinical efficacy

Chinese Library Classification(CLC): R373.11; R725 Document code: A

Article ID: 1673-6273(2018)05-923-04

前言

巨细胞病毒(Cytomegalovirus，CMV)是疱疹病毒组的一种 DNA 病毒，具有典型的疱疹病毒形态，其 DNA 结构与单纯疱疹病毒(Herpes simplex virus，HSV)非常相似，在人体内可导致 T 淋巴细胞亚群失衡，通过 CMV-DNA 检测可诊断是否有 CMV 感染。研究表明[1,2]CMV 具有较强的传染性，大多数人类在人生的不同时期均感染过 CMV，而感染的发生与年龄、环境和遗传等多种因素有关，儿童就是 CMV 的易感人群之一。小儿巨细胞病毒感染会引发 CMV 肝炎、肺炎以及全身多器官的感染等，严重威胁患儿的生命。

目前，CMV 感染的治疗方法多样，主要为药物治疗，包括核苷类抗病毒类药物更昔洛韦和 CMV-DNA 聚合酶抑制剂膦甲酸钠(PFA)以及免疫疗法。更昔洛韦在临床中使用较广泛，但

* 基金项目：四川省科技攻关项目(201221056)

作者简介：杨艳峰(1981-)，女，硕士研究生，主治医师，研究方向：儿童心血管疾病，电话：18980010547

(收稿日期：2017-05-12 接受日期：2017-06-08)

逐渐出现了耐药的变异株；膦甲酸钠的不良反应发生率很高。有文献报道[3,4]免疫体调节剂脾氨肽能有效纠正 T 淋巴细胞亚群失衡、降低 CMV-DNA 载量，调节机体免疫平衡。因此，本研究主要探讨了脾氨肽对小儿巨细胞病毒感染的 T 淋巴细胞亚群及 CMV-DNA 载量影响，旨在为 CMV 感染患儿的临床治疗用药提供科学的参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料

本研究的对象均选自我院 2015 年 6 月到 2016 年 12 月收治的小儿巨细胞病毒感染患儿 86 例，纳入标准[5]：① 对本研究内容知情，家属均自愿签署知情同意书；② 患儿年龄范围在 0～2 岁之间；③ 尿液 CMV-DNA 检测阳性；④ 入院检查均符合中华医学会儿科学会感染消化组发表的 CMV 感染标准。排除标准：① 有严重的肝肾功能不全、心脑血管及神经系统疾病等患儿；② 对所选药物过敏和有药物过敏史的患儿；③ 有结核、艾滋病等传染性疾病的患儿；④ 具有其它急重症疾病的患儿。严格按照随机数字法将其分为试验组和对照组，每组均 43 例。对照组中男性患儿 22 例，女性患儿 21 例，年龄在 2 个月 ~2 岁，平均年龄为(0.95± 0.26)岁；病情程度：轻度 27 例、中度 17 例。观察组男性患儿 20 例，女性患儿 23 例，年龄在 1 个月 ~2 岁，平均年龄为(0.97± 0.31)岁，病情程度：轻度 25 例、中度 18 例。两组患儿的性别、年龄、CMV 感染程度等一般资料的比较差异均无统计学意义(P>0.05)，具有可比性。

1.2 治疗方法

所有患儿入院后均给予还原型谷胱甘肽类保肝药、升血小板等对症支持治疗，随后均给予更昔洛韦(南京海辰药业股份有限公司，H20050156，0.25 g)静脉滴注治疗，5 mL/kg，1 次 /h，2 次 / 日，持续注射 14 d。治疗 14 d 后变为 1 次 / 日，剂量不变，再维持治疗 14 d。在同等治疗的基础上，观察组患儿给予口服脾氨肽(浙江丰安生物制药有限公司，H10970214，2 mg)治疗，加用 10 mL 以上凉白开冲剂服用，1 次 / 日，2 mg/ 次，持续口服 28 d。治疗过程中，若发生脾氨肽严重过敏，可换用更昔洛韦。28 d 后两组患儿需入院复查。

1.3 观察指标和检测方法

① 比较两组患儿在接受不同治疗方案后的治疗总有效率；② 采用流式绝对计数法检测两组患儿治疗前后的 $CD4^+$、$CD8^+$T 淋巴细胞亚群水平、$CD4^+/CD8^+$，流式细胞仪由美国 BD 公司生产，所有操作均严格按照操作规范进行。采用免疫印迹法检测两组患儿治疗前后尿液 CMV-DNA 载量，免疫印迹相关试剂盒由上海康成生物工程有限公司生产，所有操作均严格按照说明进行，完全符合实验室安全操作规范。③ 比较两组患儿两组患儿治疗前后尿液 CMV-DNA 载量，并进行组间比较；④ 比较两组患儿治疗后粒细胞计数降低、血小板计数降低、肝功能损害等不良反应的发生率。

1.4 疗效标准

疗效根据治疗后临床症状和体征及尿液 CMV-DNA 载量改善程度分为：① 显效：经治疗后，病理性临床症状和体征基本消失，尿液 CMV-DNA 载量显著下降至阴性，肝肾功能正常；② 有效：经治疗后，病理性临床症状和体征有所缓解，尿液 CMV-DNA 载量显著下降幅度高达 50%以上，有一定的转阴率，肝肾功能得以改善；③ 无效：经治疗后，病理性临床症状和体征未得到缓解或加重，尿液 CMV-DNA 载量显著下降幅度低于 50%或加重，患儿的肝肾功能未得以改善[6-8]。总有效率 =(显效率＋有效率)× 100.0%。

1.5 统计学分析

本研究所有数据均使用 SPSS 23.0 进行统计学分析。用 n 或 n(%)表示计数资料，并进行 x^2 检验；用均数± 标准差($\bar{x}$± s)表示计量资料，并进行 t 检验；以 P<0.05 为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 两组患儿的治疗总有效率比较

观察组患儿的治疗总有效率为 88.37%，对照组患儿的治疗总有效率为 67.44%，观察组的治疗总有效率明显高于对照组(P=0.02)，详见表 1。

表 1 两组患儿治疗总有效率的比较[例(%)]

Table 1 Comparison of the total effective rate between two groups [n(%)]

Groups	Powerfully	Effective	Invalid	Total effective rate (%)
Observation group (n=43)	21(34.04)	17(17.02)	5(11.63)	88.37
Control group (n=43)	13(30.23)	16(37.21)	14(32.55)	67.44
P		-		0.02

2.2 两组患儿治疗前后 $CD4^+$、$CD8^+$T 淋巴细胞亚群水平、$CD4^+/CD8^+$ 比值的比较

两组患儿治疗前的 $CD4^+$T 淋巴细胞数、$CD4^+/CD8^+$ 比值比较差异均无统计学意义(P>0.05)，治疗后，观察组患儿的 $CD4^+$ T 淋巴细胞数(43.15± 4.23)%、$CD4^+/CD8^+$ 比值(1.87± 0.37)均明显高于对照组 (43.15± 4.23)%、(1.21± 0.35)(P<0.01)，$CD8^+$T 淋巴细胞数 (31.15± 5.47)%明显低于对照组 (39.63± 5.98)%(P<0.05)，详情见表 3。

2.3 两组患儿治疗前后尿液 CMV-DNA 载量的比较

两组患儿治疗前的尿 CMV-DNA 载量比较差异无明显统计学意义(P>0.05)；治疗后，两组患者 CMV-DNA 载量分别为(1.21± 0.56)Copy/mL、(3.28± 0.53)Copy/mL，均明显低于治疗前(4.82± 1.57)Copy/mL、(4.79± 1.61)Copy/mL(P<0.05)，但观察组患儿的尿 CMV-DNA 载量 (1.21± 0.56)Copy/mL明显低于对照组(3.28± 0.53)Copy/mL(t=17.60，P=0.00)，详情见表 3。

2.4 两组患儿不良反应发生情况的比较

观察组的粒细胞计数降低、血小板计数降低、肝功能损害等不良反应的发生率为 13.95%，对照组的粒细胞计数降低、血

小板计数降低、肝功能损害等不良反应的发生率为 16.28%，观察组的不良反应发生率略低于对照组，但两组比较差异无统计学意义(P=0.09>0.05)，详情见表 4。

表 2 两组患儿治疗前后 T 淋巴细胞亚群的比较($\bar{x}\pm s$)

Table 2 Comparison of T lymphocyte subsets in peripheral blood between two groups($\bar{x}\pm s$)

Groups	$CD4^+$(%)		$CD8^+$(%)		$CD4^+/CD8^+$	
	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment	Before treatment	After treatment
Observation group (n=43)	28.79± 3.87	43.15± 4.23[◎]	47.39± 6.85	31.15± 5.47[◎]	0.83± 0.24	1.87± 0.37[◎]
Control group (n=43)	29.36± 3.99	34.71± 4.21[◎]	46.91± 7.18	39.63± 5.98[◎]	0.81± 0.27	1.21± 0.35[◎]
P	0.50	0.00	0.75	0.00	0.72	0.00

Note: ◎ Compared with before treatment, P<0.05.

表 3 两组患儿治疗前后尿液 CMV-DNA 载量的比较($\bar{x}\pm s$, × 10^{-4} 复制 /mL)

Table 3 Comparison of the urinary CMV-DNA loads between two groups before and after treatment ($\bar{x}\pm s$, × 10^{-4} Copy/mL)

Groups	CMV-DNA(Copy/ml)		P	t
	Before treatment	After treatment		
Observation group (n=43)	4.82± 1.57	1.21± 0.56[◎]	0.00	14.20
Control group (n=43)	4.79± 1.61	3.28± 0.53[◎]	0.00	5.84
P	0.93	0.00	-	

Note: ◎ Compared with before treatment, P<0.05.

表 4 两组患儿不良反应的发生情况比较[例(%)]

Table 4 Comparison of the incidence of adverse reactions between two groups of patients[n(%)]

Groups	Granulocyte count reduction	Reduced platelet count	Liver function damage	Total incidence rate
Observation group (n=43)	3(6.98)	2(4.65)	1(2.33)	13.95%
Control group (n=43)	2(4.65)	3(6.98)	2(4.65)	16.28%
P		-		0.09

3 讨论

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus，HCMV)是巨噬细胞病毒(CMV)中以人为特异性宿主的一个亚型，可通过飞沫、尿液等体液传播，具有较强传染性[9,10]。儿童是易感人群之一，能通过先天性和获得性感染等方式感染，而临床诊断主要依靠多种方式检测患儿体内 CMV-DNA 载量。CMV 具有较强的噬细胞性，能使正常细胞失去功能，而噬细胞性也是 CMV 感染机体细胞免疫的原因所在。大量研究表明[11,12]CMV 在人类的多个时期均可能感染机体，对免疫力正常的患儿表现为隐性感染，对小儿为代表的免疫低下或不全的人群则表现为显性感染，可通过影响外周血 $CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$ 水平升高程度和 $CD8^+$ 降低程度观察 T 淋巴细胞亚群受损程度。由于较强的噬细胞性和活动性，患儿临床表现多样，可有肝脾肿大、持续性黄疸、皮疹等，严重的患儿可有侵袭神经系统而导致的后遗症，如听力障碍、视力障碍和视力低下等。

CMV 抗感染治疗是当前临床治疗的焦点之一，治疗方式主要是抗病毒药物治疗，如更昔洛韦和 CMV-DNA 聚合酶抑制剂膦甲酸钠(PFA)等，但均出现了耐受株和不良反应逐渐增加的现象，找到疗效好且不良反应发生少的药物成为难点。有文献报道[12-15]免疫调节剂可通过升高外周血 $CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$ 水平，降低 $CD8^+$ 水平而有效纠正机体 T 淋巴细胞亚群失衡，进而实现抗 CMV 感染的目的。脾氨肽是一种较常见的免疫调节剂，其生物学本质为多肽和免疫调节因子，多提取自动物的脾脏。有文献报道[16-18]脾氨肽可以有效增强人体的细胞免疫和体液免疫。其主要机制是促进 T 细胞分泌细胞因子 IL-2 和 IFN-7 等，进而促进 PHA 的表达来诱导机体内淋巴细胞的应激变型和血液白细胞所诱导分泌的干扰素，达到对机体病毒复制的有效抑制[19-22]。通过上述机制也可以激活体内单核 - 巨噬系统的活性，提高机体内免疫细胞分泌抗体 IgG、IgA 在血清中的浓度，达到有效抵抗 CMV 感染。也有学者认为[23-26]人体免疫力低下时更容易获得 CMV 显性感染，通过口服免疫调节剂脾氨肽干粉，可以调节机体自主免疫的平衡，提高机体抵抗和杀死病毒的能力。

本研究通过对基本资料相同且有巨细胞病毒感染的患儿行不同的药物治疗方案，探索脾氨肽对小儿巨细胞病毒感染的 T 淋巴细胞亚群及 CMV-DNA 载量影响，进而验证脾氨肽治疗小儿巨细胞病毒感染的临床疗效。研究结果显示脾氨肽辅助治疗的患儿治疗总有效率明显高于接受常规治疗的患儿，其外周血 $CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$ 水平升高程度和 $CD8^+$ 降低均显著高于接受常规治疗的患儿，且尿液 CMV-DNA 与接受常规治疗的患儿相比下降更加显著，提示脾氨肽能有效升高患儿外周血

$CD4^+$、$CD4^+/CD8^+$ 水平而降低 $CD8^+$ 水平，亦能有效降低患儿体内 CMV 复制数，且安全性高。

综上所述，脾氨肽治疗小儿巨细胞病毒感染的临床效果较好，能有效纠正 T 淋巴细胞亚群失衡、降低 CMV-DNA 载量，且安全性高。

参 考 文 献(References)

[1] Wu C, Luo Q, Wang W, et al. The Immunomodulatory Effects of Spleen Aminopeptide on Connective Tissue Disease-Related Interstitial Lung Disease [J]. Chinese Journal of Respiratory & Critical Care Medicine, 2016, 12(1): 27-29

[2] Xu Li-yun, Shandong Medical College. The Effect of Spleen Aminopeptide in Children with Antibiotic-Associated Diarrhea [J]. Journal of Pediatric Pharmacy, 2016, 29(2): 261-267

[3] Tang S J, Zhang J Q, Zhang H, et al. Application of Spleen Aminopeptide joint Avermectin A and Brucea Javanica in the Yreatment of Verruca Planae[J]. Guide of China Medicine, 2015, 67(2): 199-208

[4] Yong-Zhi Y E, Ai-Fen M A, Xiao-Hong X U. Clinical study of creatine phosphate sodium combined with spleen amino peptide treatment for hand-foot-mouth disease in children with myocardial damage[J]. Journal of Hainan Medical University, 2016, 50(4): 1-7

[5] Wang J P, Xiao-Ming L I, Luo L Z, et al. The spleen peptide oral ammonia producing clinical observation on prevention and treatment of infantile repeated respiratory infection [J]. Journal of Nongken Medicine, 2015, 67(2): 199-208

[6] Hosseeini S, Ansari S, Kalantar E, et al. A Fetal Hemolytic Anemia in a Child with Cytomegalovirus Infection [J]. Iranian Journal of Pediatric Hematology & Oncology, 2014, 4(2): 78

[7] Xue Y. Application Value of Auditory Brainstem Response in Infants with Cytomegalovirus Infection[J]. China Continuing Medical Education, 2016, 36(3): 139-148

[8] Sang H L, Shin J H, Choi B M, et al. A Case of Cytomegalovirus Infection in a Neonate with Osteopetrosis[J]. Pediatric Infection & Vaccine, 2016, 23(1): 72-76

[9] Lv Y L, Han F F, Gong L L, et al. Human cytomegalovirus infection and vascular disease risk: a meta-analysis [J]. Virus Research, 2016, 227: 124-134

[10] Jasmin H, Johnson K R, Mcgavern D B. Therapeutic antiviral T cells noncytopathically clear persistently infected microglia after conversion into antigen-presenting cells [J]. Journal of Experimental Medicine, 2015, 212(8): 1153-1159

[11] Raphael I, Nalawade S, Eagar T N, et al. T cell subsets and their signature cytokines in autoimmune and inflammatory diseases [J]. Cytokine, 2015, 74(1): 5-17

[12] Kandil A, Bazarbashi S, Mourad W A. The correlation of Epstein-Barr virus expression and lymphocyte subsets with the clinical presentation of nodular sclerosing Hodgkin disease [J]. Cancer, 2015, 91 (11): 1957-1963

[13] Kashem, Sakeen , Igyártó, et al. Candida albicans Morphology and Dendritic Cell Subsets Determine T Helper Cell Differentiation [J]. Immunity, 2015, 42(2): 356

[14] Spangler J, Tomala J, Luca V, et al. Antibodies to Interleukin-2 Elicit Selective T Cell Subset Potentiation through Distinct Conformational Mechanisms[J]. Immunity, 2015, 42(5): 815-825

[15] Czarnowicki T, Malajian D, Shemer A, et al. Skin-homing and systemic T-cell subsets show higher activation in atopic dermatitis versus psoriasis[J]. Journal of Allergy & Clinical Immunology, 2015, 136(1): 208-211

[16] Mengelle C, Mansuy J M, Houles L, et al. Evaluation of the H-DiaCMVQ kit® for detecting and quantifying CMV-DNA in plasma and in whole blood samples [J]. Journal of Clinical Virology, 2016, 82: S48-S49

[17] ÖzkarataÖ E, Özbek ÖA, Avkan O V, et al. Comparison of the CMV antigenemia test and CMV-DNA PCR results in solid organ transplant recipients[J]. Mikrobiyoloji Bü lteni, 2016, 50(1): 44

[18] Herz S, Hohaus K, Roesch A, et al. Positive CMV-DNA-Detection in Colon Biopsies in Patients with autoimmune-induced Colitis under Treatment with the Anti-CTLA4-Antibody Ipilimumab [J]. Journal Der Deutschen Dermatologischen Gesellschaft, 2015, 13: 44

[19] Maximilian C. Aichelburg, Lukas Weseslindtner, Mattias Mandorfer, et al. Association of CMV-Specific T Cell-Mediated Immunity with CMV DNAemia and Development of CMV Disease in HIV-1-Infected Individuals[J]. PLOS ONE, 2015, 42(5): 549-558

[20] Foulon I, Soetens O, Vleurinck L, et al. Detection of CMV DNA in the perilymph of a 6-year-old boy with congenital cytomegalovirus infection[J]. Ear Nose & Throat Journal, 2016, 95(6): 234

[21] Uhlin M, Wikell H, Sundin M, et al. Risk factors for Epstein-Barr virus-related post-transplant lymphoproliferative disease after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation [J]. Haematologica, 2014, 99(2): 346-352

[22] Sakamoto A, Moriuchi H, Matsuzaki J, et al. Retrospective diagnosis of congenital cytomegalovirus infection in children with autism spectrum disorder but no other major neurologic deficit [J]. Brain & Development, 2015, 37(2): 200-207

[23] Sakamoto A, Zhang P, Shi T, et al. Urine real-time polymerase chain reaction detection for children virus pneumonia with acute human cytomegalovirus infection [J]. BMC Infectious Diseases, 2014, 14(1): 245-251

[24] Sakamoto A, Khong A, Fleming P, et al. The early monocytic response to cytomegalovirus infection is MyD88 dependent but occurs independently of common inflammatory cytokine signals [J]. European Journal of Immunology, 2014, 44(2): 409-419

[25] Sakamoto A, Khong A, Fleming P, et al. Wikstrom, M.E. et al. The early monocytic response to cytomegalovirus infection is MyD88-dependent but occurs independently of common inflammatory cytokine signals. Eur. J. Immunol. 44, 409-419 [J]. European Journal of Immunology, 2014, 44(2): 623-629

[26] Sakamoto A, Pattan V, Syed B, et al. Splenic infarction caused by a rare coinfection of Epstein-Barr virus, cytomegalovirus, and Mycoplasma pneumoniae [J]. Pediatric Emergency Care, 2014, 30(9): 636-637