

doi: 10.13241/j.cnki.pmb.2023.07.026

## 外周血 T 细胞 CD38 和 HLA-DR 的表达水平在儿童传染性单核细胞增多症中的临床意义 \*

刘霖霖<sup>1</sup> 刘 炜<sup>1Δ</sup> 魏 昂<sup>3</sup> 王天有<sup>3</sup> 郭明发<sup>2</sup> 王亚峰<sup>2</sup> 丁璐月<sup>1</sup> 臧博伦<sup>1</sup>

(1 郑州大学附属儿童医院血液肿瘤科 河南 郑州 450000; 2 河南省小儿血液医学重点实验室 河南 郑州 450018;

3 首都医科大学附属北京儿童医院血液病中心 北京 100045)

**摘要 目的:**探讨传染性单核细胞增多症(IM)患儿外周血 T 细胞活化分子 CD38 和人类白细胞抗原 DR(HLA-DR)表达水平的临床意义。**方法:**采用流式细胞术分别检测 45 例 IM 患儿急性期和恢复期的活化分子 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞的表达水平,并与 30 例健康体检儿童进行对比。分析 IM 患儿急性期 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞的表达水平与 EB 病毒载量、肝功能指标、外周血异型淋巴细胞比例、淋巴细胞计数的相关性,并采用 ROC 曲线分析 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞百分比的诊断效能。**结果:**与对照组比较,IM 急性期患儿的 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞的表达水平显著升高( $P<0.05$ )。CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞百分比分别与 EBV-DNA、ALT、AST、LDH、异型淋巴细胞百分比、淋巴细胞计数呈正相关( $P<0.05$ ),与白蛋白(ALB)呈负相关( $P<0.05$ );CD4<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞百分比与上述指标无显著相关性( $P$ 均 $>0.05$ )。IM 恢复期 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞的表达水平较急性期明显降低 ( $P<0.05$ )。ROC 曲线分析 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞百分比显示诊断儿童 IM 的 AUC 值分别为 0.931 和 0.993,特异度均为 100%,灵敏度分别为 88.89% 和 93.33%。**结论:**流式法检测 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞的变化有助于判断病情变化。外周血 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞百分比不仅能反映出 IM 急性期肝功能损伤严重程度,还可作为儿童 IM 的流式诊断指标。

**关键词:**CD38;HLA-DR;传染性单核细胞增多症;EB 病毒;流式细胞术

**中图分类号:**R512.7 **文献标识码:**A **文章编号:**1673-6273(2023)07-1334-06

## Clinical Significance of CD38 and HLA-DR Expression in Peripheral Blood T cells in Children with Infectious Mononucleosis\*

LIU Lin-lin<sup>1</sup>, LIU Wei<sup>1Δ</sup>, WEI Ang<sup>3</sup>, WANG Tian-you<sup>3</sup>, GUO Ming-fa<sup>2</sup>, WANG Ya-feng<sup>2</sup>, DING Lu-yue<sup>1</sup>, ZANG Bo-lun<sup>1</sup>

(1 Department of Hematology and Oncology, Children's Hospital Affiliated to Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan, 450000, China;

2 Henan Medical Key Laboratory of Pediatric Hematology, Zhengzhou, Henan, 450018, China;

3 Hematology Center, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing, 100045, China)

**ABSTRACT Objective:** To investigate the clinical significance of the expression of peripheral blood T cell activation molecule CD38 and human leukocyte antigen DR (HLA-DR) in children with infectious mononucleosis (IM). **Methods:** Flow cytometry was used to detect the expression of activation molecules CD38 and HLA-DR in T cells in 45 children with IM during the acute phase and recovery phase, and the clinical data was compared with 30 healthy children. The correlation between the expression of CD38 and HLA-DR in T cells during the acute phase of children with IM and EB virus load, liver function indexes, the proportion of atypical lymphocytes in peripheral blood, and lymphocyte count were analyzed, and the ROC curve was used to analyze the CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup> diagnostic efficacy of T and CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T cell percentages. **Results:** Compared with the control group, the expression of CD38 and HLA-DR in T cells of children with IM in the acute phase were increased( $P<0.05$ ). The percentages of CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T and CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T cells were positively correlated with EBV-DNA, ALT, AST, LDH, percentage of atypical lymphocytes, and lymphocyte counts, respectively( $P<0.05$ ), however, negatively correlated with ALB ( $P<0.05$ ); the percentages of CD4<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T and CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T cells were not significantly correlated with the above indicators ( $P>0.05$ ). The expression of CD38 and HLA-DR in T cells in the convalescent phase of IM were lower than those in the acute phase ( $P<0.05$ ). ROC curve analysis of the percentages of CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T and CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T cells showed that the AUC values for diagnosing IM in children were 0.931 and 0.993, respectively, the specificity was 100 %, and the sensitivity was 88.89 % and 93.33 %, respectively. **Conclusions:** The detection of CD38 and HLA-DR in T cells by flow cytometry is helpful for predicting the development of IM. The percentage of CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T and CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T cells in peripheral blood cells can not only reflect the severity of liver function damage in the acute phase of IM, but also serve as a flow-diagnostic indicator for children with IM.

\* 基金项目:河南省医学科技攻关项目(LHGJ20190890)

作者简介:刘霖霖(1997-),女,在读研究生,初级医师,研究方向:儿童血液病, E-mail: linjut9121@163.com

Δ 通讯作者:刘炜(1964-),女,硕士研究生,主任医师,研究方向:儿童血液病, E-mail: linjut9121@163.com

(收稿日期:2022-09-06 接受日期:2022-09-30)

**Key words:** CD38; HLA-DR; Infectious Mononucleosis; Epstein-Barr virus; Flow cytometry

**Chinese Library Classification(CLC):** R512.7 **Document code:** A

**Article ID:** 1673-6273(2023)07-1334-06

## 前言

EB 病毒(Epstein-Barr virus, EBV)感染相关疾病是一组谱系性疾病,传染性单核细胞增多症(Infectious mononucleosis, IM)最为常见,为良性自限性疾病。IM 患儿可累及多个器官、系统,部分病情较重时会进展为噬血细胞综合征(Hemophagocytic lymphohistiocytosis, HLH)、慢性活动性 EB 病毒感染和肿瘤等恶性疾病<sup>[1-3]</sup>。近年来,EBV 感染对机体免疫功能的影响受到越来越多的关注和重视,CD38 和 HLA-DR 作为 T 细胞表面活化分子,其表达水平可在多种病毒感染疾病中升高<sup>[4,5]</sup>,但其在儿童 IM 中的研究鲜有报道。本文对 IM 患儿急性期和恢复期外周血 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞表达水平及其与病毒载量和肝功能指标的相关性进行分析,并探究其在 IM 中的临床意义。

## 1 对象与方法

### 1.1 研究对象

选取 2021 年 11 月至 2022 年 6 月经郑州大学附属儿童医院的入院,诊断明确的 45 例 IM 患儿。所有患儿均符合 2016 年中华医学会儿科学分会感染学组制定的《儿童主要非肿瘤性 EB 病毒感染相关疾病的诊断和治疗原则建议》<sup>[6]</sup>中 IM 诊断标准。同时选取同时期就诊的 30 例健康体检儿童作为对照组。排除:病历资料不完整、失访的患儿及诊断前 6 个月内服用过激素、细胞毒性药物、免疫抑制剂或免疫调节药物的儿童。

本研究入组的 IM 患儿及对照组儿童的法定监护人均签署知情同意书,并通过郑州大学附属儿童医院伦理委员会批准。

### 1.2 方法

**1.2.1 标本采集** 分别抽取 IM 患儿急性期(入院第 1 天)、恢复期(发病第 14 天左右)及对照组儿童的清晨空腹外周血:ED-TAK2 抗凝管和分离胶促凝管各 2 mL。取 EDTAK2 抗凝血 1 mL 置于灭菌离心管中 3000 r/min 离心 15 min,提取血浆。分离胶促凝血 3000 r/min 离心 15 min,提取血清。所有标本采集后在 2 h 内送检。

**1.2.2 主要仪器与试剂** BD FACSCanto II 流式细胞仪(BD 公司,美国),LightCycler480 荧光定量 PCR 仪(罗氏,瑞士)。荧光素标记单克隆抗体:HLA-DR FITC、CD7 PE、CD3 Percp、CD4 PE-Cy7、CD8 APC-Cy7、CD38 V450、CD45 V500,所有抗体均为 BD 公司。

**1.2.3 流式细胞术检测外周血 T 细胞 CD38 和 HLA-DR 的表达水平** 取流式反应管,按说明书分别向管中加入适当体积单克隆抗体 HLA-DR FITC、CD7 PE、CD3 Percp、CD4 PE-Cy7、CD8 APC-Cy7、CD38 V450、CD45 V500,向反应管中加入 100  $\mu$ L 全血标本,室温避光染色 15 min。后加入 1 mL 红细胞裂解液,室温避光孵育 10 min,400 $\times$  g 离心 5 min,弃上清液,PBS 缓冲液洗涤细胞沉淀 1 次,离心弃上清液,500  $\mu$ L PBS 溶液重悬细胞。上机检测,开机前利用质控品进行仪器每日校准,获取细胞信号。利用 FACS Diva 软件记录和分析流式数据,设门分析,分

别检测 CD4<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞占 CD4<sup>+</sup>T 细胞与 CD8<sup>+</sup>T 细胞比例(%)。

**1.2.4 血浆 EB 病毒载量测定** 使用湖南圣湘生物公司商品化试剂盒,采用实时荧光定量 PCR 法对外周血浆样品的 EBV-DNA 作定量分析,操作按试剂盒说明进行,结果以每毫升血浆含病毒拷贝数表示,最低检测限 500 copies/mL。

### 1.3 统计学方法

采用 GraphPad Prism 8.0 和 SPSS 25.0 软件进行统计分析,Kolmogorov-Smirnov 检验变量正态性:正态定量指标采用(均值 $\pm$ 标准差),非正态定量指标采用中位数( $P_{25}$ ,  $P_{75}$ )进行统计描述。符合正态分布的多组计量数据比较采用单因素方差分析,组间两两比较采用 LSD-t 检验;不符合正态分布的计数资料以例(%)表示,组间比较采用  $\chi^2$  检验,多组间计量资料比较先采用 Kruskal-Wallis H 检验比较各组研究对象是否具有统计学差异,对存在显著差异的变量再采用 Mann-Whitney U 检验进行两两组间比较。采用 Spearman 法分析相关性。截断值由受试者工作特征曲线(operating characteristic curves, ROC)确定。贝叶斯公式用于分析截断值的敏感性、特异性。以双侧  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 IM 患儿的临床资料及疾病转归

45 例患儿中男 20 例,女 25 例,平均年龄为 4.42 岁。主要临床表现是扁桃体肿大(100.00%),发热(95.6%),颈部淋巴结肿大(93.33%)和眼睑水肿(44.44%);实验室检查:EBV 载量中位数 32.80 $\times 10^2$  copies/ml,14 例异型淋巴细胞 $\geq 10\%$ 。谷丙转氨酶中位数 56.00 U/L,谷草转氨酶中位数 44.10 U/L,乳酸脱氢酶中位数 446.00 U/L,淋巴细胞计数平均值 10.77 $\times 10^9$ /L,余详见表 1。入院后予以卧床、退热、补充体液及维生素、保肝等对症支持治疗,必要时给予抗病毒治疗,合并细菌感染的患儿给予抗生素治疗,44 例患儿治疗过程中均未使用激素、免疫调节剂,在 2 周后临床症状消失和体征均恢复,有 1 例在第 7 天仍有持续发热,查噬血实验指标确诊 HLH,经 HLH-2004 方案治疗 8 周患儿 HLH 指标完全恢复正常,后停药,随访患儿正常。对照组共入组 30 例患儿,IM 组和对照组儿童的年龄、性别差异均无统计学意义( $P > 0.05$ ),两组具有可比性。

### 2.2 IM 患儿急性期、恢复期及对照组 T 细胞的 CD38、HLA-DR 的表达水平比较

IM 患儿急性期的 CD4<sup>+</sup>T 细胞的 CD38 和 HLA-DR 的表达水平分别为 34.50%(25.80%,39.75%)和 31.30%(23.25%,36.70%),均明显高于对照组 15.75%(11.08%,19.23%)和 3.85%(3.10%,6.68%),CD8<sup>+</sup>T 细胞的 CD38 和 HLA-DR 的表达水平分别为 87.20%(79.9%,90.45%)和 86.90%(81.10%,90.10%),均明显高于对照组 23.20%(20.73%,25.90%)和 15.05%(10.60%,22.40%),恢复期的 CD4<sup>+</sup>T 细胞的 CD38 和 HLA-DR 的表达水平分别为 6.00%(4.00%,10.40%)和 17.00%(14.38%,20.00%),

CD8<sup>+</sup>T 细胞的 CD38 和 HLA-DR 的表达水平分别为 32.55% (31.63%, 34.65%) 和 33.40% (31.50%, 37.00%) 较急性期均降低 ( $P<0.001$ ), 详见图 1。1 例进展 HLH 患儿因发病第 7 肝功异常升高, 行 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞表达水平加测, 发现较病初升高明显, 给

予糖皮质激素治疗, 第 14 d 的 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T、CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞表达水平有所下降, 但仍明显高于较其他恢复期 IM, 经过 HLH 治疗后, 第 21 d 和 29 d 的 CD38 和 HLA-DR 逐渐趋于正常水平, 见图 2。

表 1 IM 患儿及健康对照儿童的临床资料  
Table 1 Clinical data of children with IM and healthy control children

|                                                                     | Flylet group (45 cases) | Control group (30 cases) | Z/ $\chi^2$ | P      |
|---------------------------------------------------------------------|-------------------------|--------------------------|-------------|--------|
| Age (year)                                                          | 4.42(3.41, 5.50)        | 5.33± 2.21               | -1.786      | >0.05  |
| Gender                                                              |                         |                          |             |        |
| Male                                                                | 20(44.44%)              | 15(50%)                  |             |        |
| Female                                                              | 25(55.56%)              | 15(50%)                  | 0.036       | >0.05  |
| Clinical manifestation                                              |                         |                          |             |        |
| Fever                                                               | 43(95.6%)               |                          |             |        |
| Large liver (under 4 years: subrib> 2 cm; over 4 years: accessible) | 16(35.56%)              |                          |             |        |
| Large spleen (subcostal> 1 cm)                                      | 14(31.11%)              |                          |             |        |
| Neck lymph nodes were enlarged                                      | 42(93.33%)              |                          |             |        |
| Palpebral edema                                                     | 20(44.44%)              |                          |             |        |
| Antiadoncus                                                         | 45(100.00%)             |                          |             |        |
| Snore                                                               | 17(37.78%)              |                          |             |        |
| Erythra                                                             | 3(6.67%)                |                          |             |        |
| Laboratory examination                                              |                         |                          |             |        |
| VCA-IgM(U/L)                                                        | 44(97.78%)              |                          |             |        |
| VCA-IgG(U/L)                                                        | 44(97.78%)              |                          |             |        |
| EA-IgG(U/L)                                                         | 18(40.00%)              |                          |             |        |
| EBNA-IgG(U/L)                                                       | 4(8.89%)                |                          |             |        |
| Proform lymphocytes(10%)                                            | 14(31.11%)              |                          |             |        |
| Plasma EBV-DNA load (10 <sup>2</sup> copies / mL)                   | 32.80(18.15, 62.80)     |                          |             |        |
| Lymphocyte count( × 10 <sup>9</sup> /L)                             | 10.77± 3.38             | 1.52± 0.39               | -18.166     | <0.001 |
| Gaminase (U/L)                                                      | 56.00(37.90, 109.45)    | 15.66± 7.20              | -6.402      | <0.001 |
| Grass aminotransferase (U/L)                                        | 44.10(35.90, 70.75)     | 28.56± 7.53              | -5.451      | <0.001 |
| Lactate dehydrogenase (U/L)                                         | 446.00(407.50, 558.00)  | 145.80± 34.75            | -7.279      | <0.001 |
| Albumin (g/L)                                                       | 37.20(34.45, 41.15)     | 47.34± 4.20              | -5.516      | <0.001 |

### 2.3 T 细胞的 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞的表达水平与 EB 病毒载量的相关性

CD38 和 HLA-DR 在 CD8<sup>+</sup>T 细胞的表达水平与血浆 EBV-DNA 呈正相关(前者相关系数为  $r=0.3885$ ,  $P=0.0083$ , 后者相关系数  $r=0.4508$ ,  $P=0.0019$ ), 见图 3。而二者在 CD4<sup>+</sup>T 细胞的表达水平均与血浆 EBV-DNA 无明显相关性( $P>0.05$ )。

### 2.4 IM 急性期 T 细胞 CD38、HLA-DR 表达水平与 ALT、AST、LDH、异型淋巴细胞百分比、淋巴细胞计数相关性分析

IM 急性期 CD8<sup>+</sup>T 细胞的 CD38、HLA-DR 表达水平与

ALT、AST、LDH、异型淋巴细胞百分比、淋巴细胞计数呈正相关( $P<0.05$ ), 与 ALB 呈负相关( $P<0.05$ )。见表 2。而 CD4<sup>+</sup>T 细胞的 CD38、HLA-DR 的表达水平与上述指标的相关性无统计学意义( $P>0.05$ )。见表 2。

### 2.5 CD38<sup>+</sup>、HLA-DR<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞占比在 IM 诊断中的效能分析

CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞表达水平诊断 IM 的曲线下面积分别是 0.931、0.993, 最佳临界值分别为 88.89%、37.65%, 敏感性分别为 88.89%、93.33%, 特异性均为 100%。见表 3 和图 4。

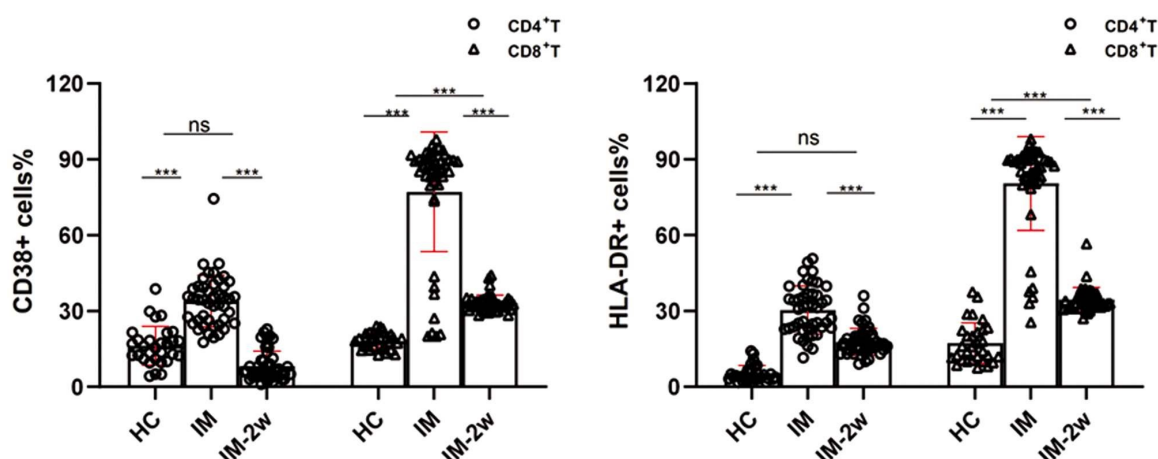


图1 两组受检者外周血 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞表面活化分子 CD38 和 HLA-DR 表达水平比较

Fig.1 Comparison of the surface activation molecule expression levels of CD4<sup>+</sup> and CD8<sup>+</sup>T cells in the two groups of subjects

Note: HC was the control group, IM was the acute phase group of the leaflet group, and IM-2w was the recovery period after two weeks of the leaflet treatment. \*\*\* $p \leq 0.001$ , with no statistical difference in ns.

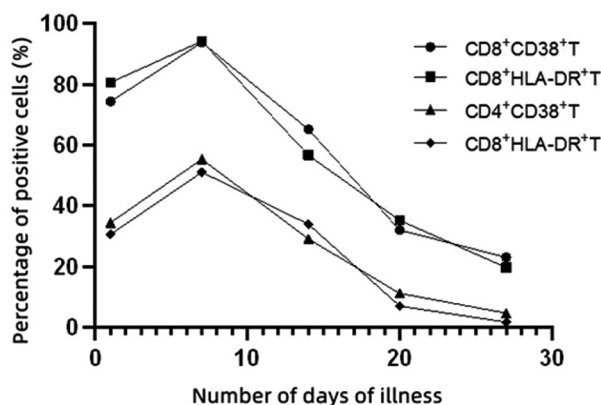


图2 HLH 患儿 5 次 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>、CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞表达水平变化

Fig.2 Changes in the expression levels of CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>, and CD4<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T cells in five children with HLH

### 3 讨论

儿童是 EB 病毒感染的高发人群,10 岁以上儿童 EBV 抗体阳性率可达 100%<sup>[7]</sup>。IM 患儿发热、咽峡炎、肝脾大及外周血出现异型淋巴细胞等一系列临床表现是由体内 EB 病毒不断复制产生抗原导致 T 细胞免疫反应的结果<sup>[8,9]</sup>。西方国家 IM 实验室诊断标准外周血淋巴细胞  $\geq 50\%$ 、异型淋巴细胞  $\geq 10\%$  及血清嗜异凝集抗体阳性,但以上标准仅适用于 10 岁以上的青少年和年轻成人<sup>[10,11]</sup>。在本研究组 45 例 IM 患者中,平均发病年龄为 4.42 岁,而 ALY  $\geq 10\%$  的患儿占 31.1%。因此,年龄小的 EBV 感染患儿,因免疫功能不完善,其血清 EBV 抗体常为阴性,实验室诊断 IM 指标有待拓展。

CD38 是单链 2 型跨膜糖蛋白,HLA-DR 是 MHCII 类分子主要抗原之一,二者均可作为 T 细胞活化的标志物<sup>[12,13]</sup>。文献报

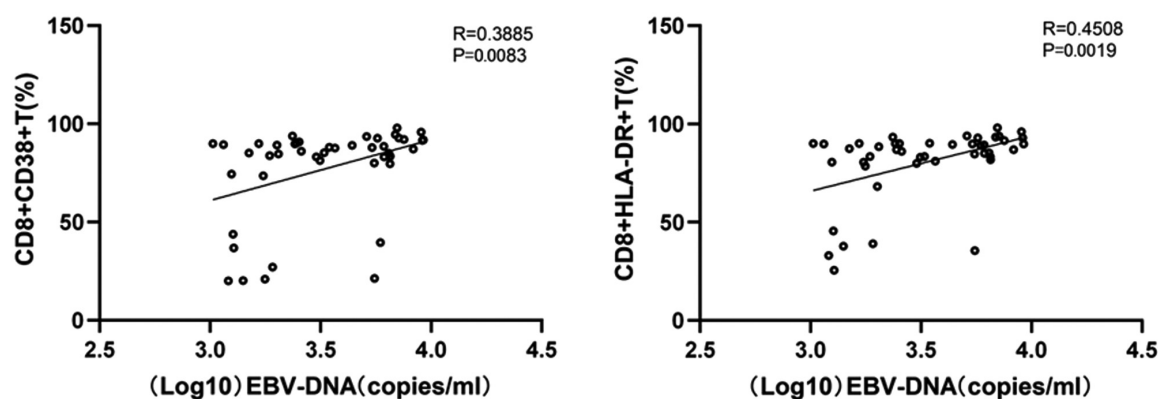


图3 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞百分比与 EBV-DNA 的相关性

Fig.3 Correlation of CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T and CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T cell percentages with EBV-DNA

道 CD38 和 HLA-DR 的高表达可用于识别 HIV 感染或疫苗接种后被激活的 T 细胞<sup>[14]</sup>,CD4<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>T 细胞介导的免疫应答在清除 EB 病毒过程中有重要作用,CD8<sup>+</sup>T 细胞的强烈增殖可消除被感染的 B 细胞从而清除 EBV<sup>[15,16]</sup>。我们的研究结果显示 IM 患儿急性期 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞表达水平明显

高于对照组,进一步证实 CD38 和 HLA-DR 可作为病毒诱导细胞免疫反应导致 T 细胞活化的特异性标记,与文献报道相符<sup>[17-19]</sup>。且研究发现 IM 患儿在发病 2 周时 CD38 和 HLA-DR 在 CD8<sup>+</sup>T 细胞和 CD4<sup>+</sup>T 细胞下降的程度不同,CD38<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 和 HLA-DR<sup>+</sup>CD4<sup>+</sup>T 细胞恢复正常,而 CD38<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 和

表 2 外周血 T 细胞表面 CD38 和 HLA-DR 的表达水平与 ALT、AST、LDH、ALB、异型淋巴细胞百分比及淋巴细胞计数的相关性分析

Table 2 Correlation analysis of the expression levels of CD38 and HLA-DR on the surface of peripheral blood T cells with ALT, AST, LDH, ALB, percentage of allogeneic lymphocytes and lymphocyte count

|     | CD8 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> T(%) |        | CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> T(%) |        | CD4 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> T(%) |       | CD4 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> T(%) |       |
|-----|-----------------------------------------|--------|-------------------------------------------|--------|-----------------------------------------|-------|-------------------------------------------|-------|
|     | r                                       | P      | r                                         | P      | r                                       | P     | r                                         | P     |
| ALT | 0.570                                   | <0.001 | 0.482                                     | 0.001  | 0.171                                   | 0.261 | 0.128                                     | 0.402 |
| AST | 0.384                                   | 0.009  | 0.329                                     | 0.027  | -0.034                                  | 0.827 | -0.124                                    | 0.416 |
| ALB | -0.399                                  | 0.007  | -0.537                                    | <0.001 | 0.061                                   | 0.693 | -0.030                                    | 0.844 |
| LDH | 0.560                                   | <0.001 | 0.526                                     | <0.001 | -0.140                                  | 0.361 | -0.169                                    | 0.267 |
| ALY | 0.693                                   | <0.001 | 0.557                                     | <0.001 | 0.264                                   | 0.080 | 0.107                                     | 0.484 |
| LY  | 0.476                                   | 0.001  | 0.443                                     | 0.002  | 0.065                                   | 0.674 | -0.014                                    | 0.925 |

Note: ALT: glutamic aminotransferase; AST: glutamic oxalacetic aminotransferase; ALB: albumin; LDH: lactate dehydrogenase; ALY: allogeneic lymphocytes; LY: lymphocytes.

表 3 CD38、HLA-DR 在 CD8<sup>+</sup>T 细胞表达水平诊断 IM 的效能结果

Table 3 Efficacy results of CD38 and HLA-DR in diagnosing IM at the level of CD8<sup>+</sup>T cell expression

| Diadynamic criteria                    | AUC 95% | Confidence interval | Specificity % | Sensibility % | The best cut-off value | P       |
|----------------------------------------|---------|---------------------|---------------|---------------|------------------------|---------|
| CD8 <sup>+</sup> CD38 <sup>+</sup> T   | 0.931   | 0.8662-0.9953       | 100           | 88.89         | 33.00%                 | <0.0001 |
| CD8 <sup>+</sup> HLA-DR <sup>+</sup> T | 0.993   | 0.9824-1.000        | 100           | 93.33         | 37.65%                 | <0.0001 |

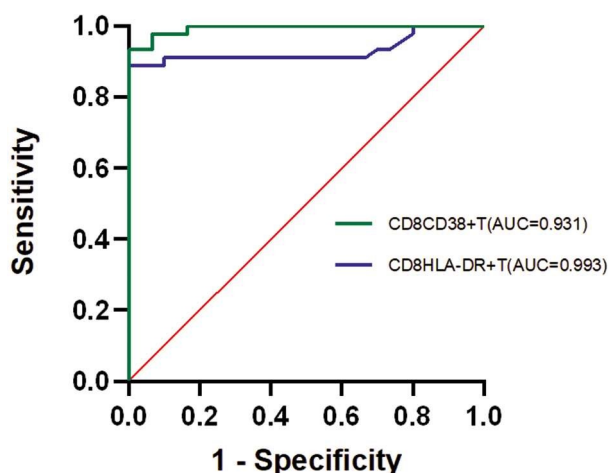


图 4 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 诊断 IM 的 ROC 曲线

Fig.4 The ROC curves of CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T and CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T for the diagnosis of IM

HLA-DR+CD8<sup>+</sup>T 细胞仍高于对照组正常水平,说明临床症状恢复的 IM 患儿 CD8<sup>+</sup>T 仍是激活状态,推测原因体内有残留病毒,而 CD4<sup>+</sup>T 细胞的主要是辅助体液免疫和细胞免疫,当机体免疫应答恢复正常时,CD4<sup>+</sup>T 细胞便不再被激活<sup>[20-22]</sup>。同时我们研究还发现病毒载量与 CD8<sup>+</sup>T 细胞上的 CD38 和 HLA-DR 表达水平呈正相关,进一步说明检测 CD38<sup>+</sup>、HLA-DR<sup>+</sup>CD8<sup>+</sup>T 细胞水平可间接反映体内病毒载量,也可监测疾病进展。

在 IM 中,EB 病毒的靶细胞是 B 淋巴细胞,此时,机体内 CD8<sup>+</sup>T 细胞的数目和活性明显升高,从而阻止被感染的 B 细胞异常增殖<sup>[23,24]</sup>;而在 EBV-HLH 中,EB 病毒直接激活和感染 T/NK 细胞,杀伤性 T 细胞及 NK 细胞失去清除 EB 病毒的能力,机体选择性上调 IFN- $\gamma$ 、TNF- $\alpha$  和一些其他细胞因子,反过来

促进巨噬细胞和 CD8<sup>+</sup>T 细胞活化,同时外周血 CD4<sup>+</sup>T 细胞过度活化并失控,导致免疫紊乱<sup>[25,26]</sup>。EBV-HLH 时病毒载量通常较 IM 高,可能导致 T 细胞 CD38 和 HLA-DR 处于持续、更高激活状态,这意味着监测二者表达水平的变化能反映 IM 患儿不同时期体内 T 细胞的活化状态,对临床评估 IM 的转归具有一定的价值,我们本研究中有 1 例由 IM 起病,第 7 d 时发现 CD38 和 HLA-DR 较前升高,及时对其检测 HLH 实验室指标,最终诊断 HLH,说明检测 CD38 和 HLA-DR 在 T 细胞的表达水平可预示疾病演变。但 EBV-HLH 患儿 CD38 和 HLA-DR 的表达水平是否高于 IM,以及 CD38 和 HLA-DR 能否作为预后指标,还需进一步验证。

研究表明 EBV 引起肝损害是一种免疫启动因子导致的间接免疫损伤,且 CD8<sup>+</sup>T 细胞是 IM 发生肝损伤的独立危险因素<sup>[27,28]</sup>,我们研究发现外周血 CD8<sup>+</sup>T 细胞表面 CD38 和 HLA-DR 表达水平与 ALT、AST 呈正相关,与 ABL 呈负相关,而 CD4<sup>+</sup>T 细胞 CD38 和 HLA-DR 表达水平与肝损伤无相关性,因此检测 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞百分比,能在一定程度上间接反映 IM 急性期肝损害程度。

外周血异型淋巴细胞的本质是激活增殖的 CD8<sup>+</sup>T 细胞<sup>[29,30]</sup>,运用 ROC 曲线结果显示 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 对 IM 诊断价值均较高,AUC 值分别为 0.931 和 0.993,敏感度和特异度均在 90%以上,提示外周血 CD8<sup>+</sup>CD38<sup>+</sup>T 和 CD8<sup>+</sup>HLA-DR<sup>+</sup>T 细胞表达水平可作为 IM 的潜在流式诊断指标。

综上所述,本研究检测 IM 患儿不同时期外周血 T 细胞的 CD38 和 HLA-DR 表达水平有助于评估 IM 患儿的免疫状态,可作为疾病转归监测手段,深化了对该病的发病机制认识;同时,拓展了流式技术对 IM 新的诊断指标,因病例数少仍需扩大

研究样本。

### 参考文献(References)

- [1] Fugl A, Andersen C L. Epstein-Barr virus and its association with disease - a review of relevance to general practice [J]. BMC Fam Pract, 2019, 20(1): 62
- [2] Ceraulo AS, Bytowski JR. Infectious Mononucleosis Management in Athletes[J]. Clin Sports Med, 2019, 38(4): 555-561
- [3] Naughton P, Healy M, Enright F, et al. Infectious Mononucleosis: diagnosis and clinical interpretation[J]. Br J Biomed Sci, 2021, 78(3): 107-116
- [4] Liu B, Shao Y, Fu R. Current research status of HLA in immune-related diseases [J]. Immun Inflamm Dis, 2021, 9 (2): 340-350
- [5] Piedra-Quintero Z L, Wilson Z, Nava P, et al. CD38: An Immunomodulatory Molecule in Inflammation and Autoimmunity[J]. Front Immunol, 2020, 11(1): 597959
- [6] 谢正德, 张蕊, 俞蕊. 儿童主要非肿瘤性 EB 病毒感染相关疾病的诊断和治疗原则建议[J]. 中华儿科杂志, 2016, 54(8): 563-568
- [7] Dunmire S K, Verghese P S, Balfour H J. Primary Epstein-Barr virus infection[J]. J Clin Virol, 2018, 102(11): 84-92
- [8] Meng L J, Yu F Y, Wang J, et al. The application of quantitative analysis of EBV DNA loads in plasma and peripheral blood mononuclear cells in Epstein-Barr Virus infection-related diseases in children[J]. Chin J Prevent Med, 2021, 55(9): 1083-1088
- [9] Wu Y, Ma S, Zhang L, et al. Clinical manifestations and laboratory results of 61 children with infectious mononucleosis [J]. J Int Med Res, 2020, 48(10): 300060520924550
- [10] Ebell M H. Epstein-Barr virus infectious mononucleosis[J]. Am Fam Physician, 2004, 70(7): 1279-1287
- [11] Shi T, Li J, Miao Y, et al. Adenosine deaminase as a marker for the severity of infectious mononucleosis secondary to EBV in children[J]. BMC Infect Dis, 2022, 22(1): 164
- [12] 张静, 李涛. 初诊急性髓系白血病患者外周血 CD34 和 CD38 抗原表达与预后的关系[J]. 中国妇幼保健, 2021, 36(23): 5452-5454
- [13] Wang Y, Luo Y, Tang G, et al. HLA-DR Expression Level in CD8<sup>+</sup>T Cells Correlates With the Severity of Children With Acute Infectious Mononucleosis[J]. Front Immunol, 2021, 12(2): 753290
- [14] Chaturvedi V, Marsh R A, Zoref-Lorenz A, et al. T-cell activation profiles distinguish hemophagocytic lymphohistiocytosis and early sepsis[J]. Blood, 2021, 137(17): 2337-2346
- [15] Houen G, Trier N H. Epstein-Barr Virus and Systemic Autoimmune Diseases[J]. Front Immunol, 2020, 11(7): 587380
- [16] 姚瑶, 段红梅, 谢正德, 等. 儿童 EB 病毒原发感染后特异性 T 细胞功能变化研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2010, 25(10): 774-777
- [17] Lin J, Chen X, Wu H, et al. Peripheral blood lymphocyte counts in patients with infectious mononucleosis or chronic active Epstein-Barr virus infection and prognostic risk factors of chronic active Epstein-Barr virus infection [J]. Am J Transl Res, 2021, 13 (11): 12797-12806
- [18] 谢静, 王焕玲, 邱志峰, 等. 成人传染性单核细胞增多症和慢性活动性 EB 病毒感染外周血淋巴细胞亚群分析 [J]. 中华内科杂志, 2016, 55(6): 455-459
- [19] Zidovec L S, Vince A, Dakovic R O, et al. Increased numbers of CD38 molecules on bright CD8<sup>+</sup>T lymphocytes in infectious mononucleosis caused by Epstein-Barr virus infection [J]. Clin Exp Immunol, 2003, 133(3): 384-390
- [20] Long H M, Meckiff B J, Taylor G S. The T-cell Response to Epstein-Barr Virus-New Tricks From an Old Dog[J]. Front Immunol, 2019, 10(5): 2193
- [21] Greenough TC, Straubhaar JR, Kamga L, et al. A Gene Expression Signature That Correlates with CD8<sup>+</sup>T Cell Expansion in Acute EBV Infection[J]. J Immunol, 2015, 195(9): 4185-4197
- [22] Meckiff BJ, Ladell K, McLaren JE, et al. Primary EBV Infection Induces an Acute Wave of Activated Antigen-Specific Cytotoxic CD4<sup>+</sup>T Cells[J]. J Immunol, 2019, 203(5): 1276-1287
- [23] Tangye S G, Latour S. Primary immunodeficiencies reveal the molecular requirements for effective host defense against EBV infection[J]. Blood, 2020, 135(9): 644-655
- [24] Gao Y, Li L, Hu X, et al. Interleukin-35 has a Protective Role in Infectious Mononucleosis-Induced Liver Inflammation Probably by Inhibiting CD8<sup>+</sup>T Cell Function[J]. Arch Immunol Ther Exp (Warsz), 2022, 70(1): 25
- [25] 杨颖, 李志刚, 王天有. 儿童噬血细胞综合征与脓毒症免疫学发病机制的研究进展 [J]. 中国小儿血液与肿瘤杂志, 2018, 23 (5): 279-280, 封 3
- [26] Smith MC, Cohen DN, Greig B, et al. The ambiguous boundary between EBV-related hemophagocytic lymphohistiocytosis and systemic EBV-driven T cell lymphoproliferative disorder [J]. Int J Clin Exp Pathol, 2014, 7(9): 5738-5749
- [27] Zhang C, Cui S, Mao G, et al. Clinical Characteristics and the Risk Factors of Hepatic Injury in 221 Children With Infectious Mononucleosis[J]. Front Pediatr, 2021, 9(2): 809005
- [28] Chen L, Chen X, Yao W, et al. Dynamic Distribution and Clinical Value of Peripheral Lymphocyte Subsets in Children with Infectious Mononucleosis[J]. Indian J Pediatr, 2021, 88(2): 113-119
- [29] Gottwald F E, Bogner J R. Infectious Mononucleosis [J]. MMW Fortschr Med, 2021, 163(Suppl 3): 52-58
- [30] Murer A, Rühl J, Zbinden A, et al. MicroRNAs of Epstein-Barr Virus Attenuate T-Cell-Mediated Immune Control In Vivo[J]. MBio, 2019, 10(1): e01941-18