

DOI: 10.3969/j.issn.1673-5501.2019.06.007

儿童慢性活动性 EB 病毒感染 18 例病例系列报告

胡波飞¹ 张 丽¹ 施 丹¹ 杨 颖¹ 徐美春¹ 徐卫群² 徐晓军² 宋 华² 汤永民² 陈英虎¹

摘要 **目的** 探讨慢性活动性 EB 病毒感染(CAEBV)患儿的临床表现、实验室检查、治疗和预后,为其诊治提供参考。**方法** 回顾性分析 2010 年 1 月 1 日至 2017 年 12 月 31 日 18 例 CAEBV 患儿的临床资料,包括起病方式、临床表现、实验室检查(EB 病毒 DNA 及抗体谱、细胞因子等)、治疗和随访情况。**结果** 18 例 CAEBV 患儿进入本文分析,男 8 例、女 10 例。发病年龄 1.0~13.9 岁。该病起病方式 13 例为 EB 病毒再发感染,5 例为 EBV 相关噬血细胞综合征(EBV-HLH)。临床表现主要为反复发热、肝、脾、淋巴结肿大、肝功能损害、血细胞减少;18 例 EB 病毒衣壳抗原(VCA)-IgM 首次检测均阴性,EB VCA-IgG 均强阳性,血清(18/18)、骨髓(14/14)及活检组织 EBV-DNA(肝 1/4、淋巴结 2/3)强阳性;IL-4、IL-10 及 IFN- γ 升高者分别占 67%(12/18)、89%(16/18)、72%(13/18)。B 细胞、总 T 细胞及 CD8⁺T 细胞、NK 细胞比例降低。患儿主要接受抗病毒药物、丙种球蛋白、免疫抑制剂、联合化疗、利妥昔单抗和造血干细胞移植等治疗。1 例失访,14 例(78%)死亡,EBV-HLH 起病者生存期明显缩短。**结论** CAEBV 起病方式、临床表现多样,治疗方案差异较大,病死率高,预后差。EBV DNA 及抗体谱、细胞因子及淋巴细胞亚群改变呈一定的特异性,可为该病的早期诊断、进行有计划造血干细胞移植等提供参考。

关键词 慢性活动性 EB 病毒感染; 噬血细胞综合征; 淋巴细胞亚群; 细胞因子

Clinical analysis of 18 children with chronic active Epstein-Barr virus infection

HU Bo-fei¹, ZHANG Li¹, SHI Dan¹, YANG Ying¹, XU Mei-chun¹, XU Wei-qun², XU Xiao-jun², SONG Hua², TANG Yong-min², CHEN Ying-hu¹ (The Children's Hospital, Zhejiang University School of Medicine, Hangzhou 310052, China; 1 Department of Infectious Diseases, 2 Department of Hematology)

Corresponding Author: TANG Yong-Min, E-mail: y_m_tang@zju.edu.cn; CHEN Ying-Hu, E-mail: cyh18@zju.edu.cn

Abstract Objective To study the clinical and laboratory characteristics, treatment and follow-up results of chronic active Epstein-Barr virus infection(CAEBV) in children and to provide a basis for the diagnosis and treatment of CAEBV. **Methods** The clinical data of 18 children with CAEBV from Jan 1st, 2010 to Dec 31st, 2017 was analyzed retrospectively, including onset, clinical manifestation, EBV DNA, EBV antibodies, cytokines, treatment and follow-up results. **Results** The onset of the disease was EBV recurrent infection at the time of first hospitalization in 13 cases, and EBV-hematophagous lymphocyte hyperplasia (HLH) in 5 cases. The common clinical manifestations were fever, hepatosplenomegaly, and lymphadenopathy. Laboratory tests showed that elevated transaminase and cytopenia were common. The anti-EB VCA-IgG antibodies were positive, while the IgM antibodies were negative in 18 cases. EBV DNA in peripheral blood(18/18), bone marrow(14/14) and biopsy sample(live: 1/4, lymphonodus: 2/3) was positive. Plasma levels of several cytokines, including IL-4, IL-10 and IFN- γ elevated in different degrees in persons with CAEBV, while the ratio of B cells, total T cells, CD8⁺T cells, and NK cells in peripheral blood decreased. The patients had mainly received antiviral drugs, intravenous immune globulin, immunosuppressive agents, multi-drug chemotherapy, rituximab, and HSCT. Among 17 CAEBV patients followed up, 14 cases died. The patients with EBV-associated HLH had significantly shorter survival time. **Conclusion** The children with CAEBV infection had poor prognosis and high mortality due to the variety of onset, clinical manifestation and treatment. The specific changes of EBV DNA, antibody profiles, cytokines and lymphocyte subsets may be helpful in the early diagnosis and targeted therapy of CAEBV.

Key words Chronic active Epstein-Barr virus infection; Hematophagous lymphocyte hyperplasia; Lymphocyte subsets; Cytokines

EBV 感染所致的疾病谱广,不同病种的临床表现、严重程度、治疗方法和预后差异极大。对 EBV 感染的早期识别和明确诊断是判断病情和有效干预的关键,尤其是对于

病初病情不重但迁延反复、预后极差的慢性活动性 EBV 感染(CAEBV)。CAEBV 在 1986 年被首次报道^[1],是一种 EBV 相关的 T 或 NK 细胞淋巴增殖性疾病(EBV+T/NK-

LPDs)。原发 EBV 感染后病毒持续复制,或处于潜伏感染状态的 EBV 再次激活并大量复制,导致持续活动性感染,表现为传染性单核细胞增多症(IM)样症状持续存在或退而复现,发生肝、脾、肺、脑、心脏和骨髓等多脏器或组织损害,或并发噬血细胞综合征(HLH)等严重并发症,且外周血 EBV-DNA 载量高^[2,3]。CAEBV 病死率高,除低强度非清髓的骨髓移植外,尚缺乏明确有效的治疗手段^[4]。目前,关于儿童 CAEBV 的病例报道多来自日本(平均每年有 23.8 例患儿发病)^[5],国内报道相对较少。本文回顾性分析近年来浙江大学医学院附属儿童医院(我院)收治的 CAEBV 患儿的临床特征,以期提高对该病的认识。

1 方法

1.1 我院 CAEBV 和 HLH 的诊断标准 CAEBV 2016 年前参照文献[6]的诊断标准,2016 年文献[2]发表后参考其诊断标准。HLH 诊断标准参照 HLH-2004 诊断标准^[7]。

1.2 病例纳入标准 纳入我院电子病历系统中 2010 年 1 月 1 日至 2017 年 12 月 31 日收治的出院诊断为 CAEBV 的患儿。

1.3 资料截取 从病历中截取患儿的临床表现,常规实验室检查结果,EB 病毒抗体及血清 EBV DNA 检测结果,细胞因子检测结果,T、B、NK 细胞检测结果,影像学检查报告,组织病理学报告,治疗情况。

1.4 随访 我院 CAEBV 患儿要求出院后常规行门诊随访,未至门诊随访者通过电话随访,收集患儿的预后、院外治疗情况、实验室检查数据等。随访截止日期为 2017 年 12 月 31 日。

1.5 EB 病毒的相关检测 EB 病毒抗体检测:采用欧蒙医学诊断(中国)有限公司生产的抗 EB 病毒抗原抗体检测试剂盒,按说明书采用酶联免疫吸附法进行检测。血清 EB 病毒 DNA 检测:采用中山大学达安基因股份有限公司生产的 EB 病毒核酸扩增荧光定量检测试剂盒,依说明书采用 PCR 体外扩增法进行检测。

1.6 统计学方法 应用 SPSS 17.0 软件进行数据处理,符合正态分布的计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,非正态分布的计量资料以中位数表示,计数资料以例(%)表示。

2 结果

2.1 一般情况及临床表现 18 例 CAEBV 患儿进入本文分析,男 8 例、女 10 例。发病年龄 1.0~13.9 岁。主要临床特征见表 1。

18 例均有反复或持续性发热、肝肿大,脾肿大 17 例,颈部淋巴结肿大 14 例,皮疹 5 例;7 例有消化道症状,其中腹部不适 1 例、黄疸 1 例、腹胀 2 例、腹痛 1 例、消化道出血 2 例;有咳嗽、气促等呼吸道症状 4 例。例 12~16 起病时即诊断 HLH。

2.2 辅助检查

2.2.1 常规实验室检查 肝功能指标异常 16 例,主要表现为不同程度的 ALT、AST 和总胆红素升高。13 例 TG 升高。血液系统异常 16 例,其中全血细胞减少 4 例,WBC 减少合并贫血 4 例,血清铁蛋白升高 9 例[中位数为 $1\ 100$ ($529 \sim 2\ 185$) $\mu\text{g} \cdot \text{L}^{-1}$]。

2.2.2 EB 病毒抗体及 EB DNA 检查 18 例患儿 VCA-IgM 首次检测均为阴性,VCA-IgG 均强阳性($>150\ \text{U} \cdot \text{mL}^{-1}$)。14 例检测了 NA-IgG、EA-IgG 和 EA-IgM,13 例 NA-IgG 阳性,6 例 EA-IgG 阳性,2 例 EA-IgM 阳性。18 例血清 EBV-DNA 均阳性,中位数为 5.5×10^4 ($2.0 \times 10^3 \sim 5.5 \times 10^5$) 拷贝 $\cdot \text{mL}^{-1}$ 。14 例检测了骨髓 EB 病毒 DNA,均阳性,中位数为 2.4×10^5 ($1.6 \times 10^4 \sim 1.1 \times 10^7$) 拷贝数 $\cdot \text{mL}^{-1}$,其中 10 例明显高于血清检测值,2 例稍高于血清,2 例低于血清。1 例肝穿刺标本、2 例淋巴结活检标本 EB DNA 检测阳性。

2.2.3 细胞因子检测 18 例患儿均检测了发病时 IL-2、4、6、10,TNF,IFN- γ 。IL-2 升高 1 例(6%);IL-4 升高 12 例(67%);IL-6 升高 8 例(44%);IL-10 升高 16 例(89%);TNF 升高 3 例(17%);IFN- γ 升高 13 例(72%)。

2.2.4 T、B、NK 细胞检测 7 例检测了 CD19⁺,3 例降低;11 例检测了 CD20⁺,1 例正常,8 例降低,2 例升高。18 例均检测了 CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK 细胞和 CD4⁺/CD8⁺,CD3⁺、CD4⁺、CD8⁺、NK 细胞降低者分别有 12 例(67%)、7 例(39%)、10 例(56%)和 12 例(67%),CD4⁺ 升高 7 例(39%),CD4⁺/CD8⁺ 升高 12 例(67%)。

2.2.5 影像学、心电图检查 B 超、X 线、CT 或 MR 报告显示,浆膜腔积液 13 例(其中胸、腹、盆腔积液 3 例,胸、腹腔积液 6 例,腹、盆腔积液 3 例,胸、盆腔积液者 1 例);9 例肺部炎症改变,其中 2 例肺不张,1 例肺出血;6 例有脑萎缩改变,1 例脑梗死。4 例心电图异常,频发室性早搏、房性早搏、房室传导延缓、窦性心律不齐各 1 例。

2.2.6 病理学检查 表 1 显示,行骨髓穿刺检查 17 例,10 例吞噬细胞阳性,4 例(例 7、9、11、12)为增生性骨髓象,1 例(例 2)为感染性骨髓象,1 例(例 10)为骨髓增生减低,1 例(例 5)骨髓象未见异常。4 例(例 2、6、7、13)行肝穿刺活检,病理表现主要为汇管区炎细胞浸润,伴或不伴点状/灶性坏死等。淋巴结活检 3 例(例 5~7),病理表现例 7 为淋巴结反应性增生,例 6 为淋巴结内组织细胞增生伴吞噬现象,例 5 未见异常细胞。例 5 行胃镜检查,活检病理提示浅表性胃炎、十二指肠球炎。例 18 行胰头肿物切除术,术后病理提示胰腺慢性炎症伴胆总管周围组织神经纤维增生,EBV 编码小 RNA(EBERs)原位杂交检测阴性;胰腺周围淋巴结活检 EBERs 原位杂交检测阳性。

2.3 治疗及随访 主要给予抗病毒治疗(阿昔洛韦、更昔洛韦、伐昔洛韦等),免疫抑制剂[糖皮质激素、环孢素 A(CsA)和依托泊苷(VP16)等],改良的 CHOP 方案或

表 1 18 例慢性活动性 EBV 感染患儿的临床特征

病例	年龄 /岁	性别	临床表现	骨髓穿刺	随访结局
1	12.7	男	发热、肝脾肿大、便血、腹痛	吞噬细胞易见,可见吞噬血细胞及血小板现象	死亡
2	5.9	女	发热、皮疹、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大	粒系明显增生,有感染表现	死亡
3	6	男	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大	吞噬细胞及异淋可见	死亡
4	13.9	男	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大、腹胀	吞噬细胞增多,巨核细胞量增多,产血小板功能差	死亡
5	8.6	女	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大、腹胀	标本部分外周血稀释,未见异常细胞	死亡
6	1.3	女	发热、皮疹、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大、声音嘶哑	粒系增生活跃,有感染表现;吞噬细胞可见少量,并有吞噬血细胞及血小板现象	死亡
7	4.2	女	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大	增生性骨髓象,吞噬细胞可见少量	死亡
8	9	女	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大	红系明显增生,吞噬细胞可见少量	死亡
9	13.5	女	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大	增生性骨髓象	存活
10	13	男	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大、咳嗽、鼻出血	有核细胞极少,原幼淋巴细胞占 1%,淋巴细胞占 57%	失访
11	10	男	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大	红系明显增生	死亡
12	3.6	女	发热、肝脾肿大、咳嗽气喘	增生性骨髓象	死亡
13	11.3	女	发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大、黄疸	吞噬细胞较易见	死亡
14	5	男	发热、皮疹、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大、咳嗽	吞噬细胞较易见	死亡
15	2.4	女	发热、肝脾肿大、消化道出血	异淋、组织细胞比例增高,吞噬细胞较易见	死亡
16	11.7	女	发热、皮疹、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大、腹部不适、咳嗽	巨核细胞量增多,产血小板功能差,吞噬细胞可见少量	死亡
17	1	男	反复发热、面部皮疹、肝脾肿大	淋巴细胞系增生明显	存活
18	2.4	男	反复发热、颈部淋巴结肿大、肝脾肿大	-	存活

Capizzi 方案等联合化疗、利妥昔单抗克隆抗体、造血干细胞移植,并予静脉输注丙种球蛋白、输血、护肝等对症支持治疗。其中非 HLH 起病的 13 例患儿,9 例采用了免疫抑制剂治疗(4 例采用激素、CsA 联合 VP16 治疗),1 例(例 9)行骨髓干细胞移植(HSCT);HLH 起病的 5 例患儿,2 例采用联合化疗(改良的 CHOP 方案或 Capizzi 方案)。

截止至 2017 年 12 月 31 日,随访 10~80 个月,失访 1 例(例 10,T 淋巴细胞瘤,自体 HSCT 术后发生 CAEBV),存活 3 例,死亡 14 例;总生存率为 17.6%。存活 3 例中,例 9 行 HSCT 后疾病缓解,后病情复发,拟行第 2 次 HSCT;例 17、18 仍有反复肝功能异常及短期发热。14 例死亡病例从发病至死亡为 1.4~76.7 个月,中位生存期 8.6 个月。非 HLH 起病的 13 例患儿,生存期为 1.4~76.7 个月(中位生存期 11.9 个月),7 例(例 1~4、6~8)在病程 1.1~76.4 个月(中位时间 3.7 个月)时诊断 HLH,诊断 HLH 后生存期 0.3~14.6 个月(中位生存期 1.0 个月)。5 例起病时诊断 HLH 的患儿(例 12~16),生存期为 2.1~19.3 个月(中位生存期 7.4 个月),在起病后 1.0~11.6 个月(中位时间 5.8 个月)诊断为 CAEBV,之后短期内病情进展死亡,生存期 0.8~7.7 月(中位生存期 3.5 个月)。

3 讨论

随着儿科医生对 CAEBV 了解的不断加深及 EBV 相关检测技术的不断进步,CAEBV 病例有增多趋势。与西方国家 CAEBV 患者表现为 EBV 感染的 B 细胞增殖^[8]不同,中国和日本等东亚国家 CAEBV 患者表现为 EBV 感染的 T 细

胞或 NK 细胞克隆性扩增^[9]。

本文 18 例患儿首次就诊时 VCA-IgG 均为强阳性, VCA-IgM 均为阴性,即表现为非 EBV 原发感染状态,且初次感染时间不明确;5 例(27.8%)起病时即诊断为 EBV-HLH,而非单纯的 IM 样症状;1 例 T 淋巴细胞瘤自体 HSCT 术后患儿发生 CAEBV。由此可见,CAEBV 起病形式多样,但本文无重症 EBV 原发感染发展导致的 CAEBV 病例。因此,对首次即以 EBV 再激活非原发感染住院的患儿,应注意随访,以早期识别 CAEBV,因其 EBV 原发感染的症状往往不严重,不易引起家属重视,但反复 EBV 感染>6 个月,即发展为 CAEBV。

18 例患儿中,CD4⁺T 细胞、CD8⁺T 细胞和 NK 细胞降低者分别占 39%、56%和 67%,与茅君卿等^[10]、Cohen 等^[8]报告结果相近;IL-4、IL-10 和 IFN- γ 升高者分别占 67%、89%和 72%,与 Kimura 等^[11]、Ohga 等^[12]、Cohen 等^[8]报告结果基本一致。Murakami 等^[13]认为 IL-10 可能是 CAEBV 发病的重要因素之一。

在治疗方面,本文 18 例均使用了抗病毒药物,病情无改善,可能是因 CAEBV 的 EBV 处于无裂解期基因表达的 II 或 III 型潜伏^[11,14],从而对抗病毒药物治疗无反应。已证实糖皮质激素、环孢素等免疫抑制剂对 EBV 相关性 HLH 有效,本文病例应用糖皮质激素、环孢素等免疫抑制剂后,发热、肝脾淋巴结肿大等短暂缓解,但上述临床表现仍会再现,不能维持长期缓解^[8]。目前关于利妥昔单抗治疗 CAEBV 的资料有限。Cohen 等^[8]报道 5 例 CAEBV 接受利妥昔单抗单药或联合化疗治疗,3 例虽治疗后仍有 EBV 感

染,但病变仅存在于 CD20⁺ B 细胞。Chellapandian 等^[15]报道,利妥昔单抗联合免疫抑制剂治疗 EBV-HLH 后,43% (18/42 例)患者临床状态改善,EBV 载量和血清铁蛋白显著降低。例 10 接受利妥昔单抗治疗,发热、肝功能损害、血细胞减少等暂时好转,但因失访无法判断预后。Sawada 等^[4]认为,CAEBV 患者一旦确立诊断,应立即进行第 1 步治疗(泼尼松、环孢素,HLH 需加用依托泊苷),第 2 步多药联合化疗,同时准备行 HSCT。本文 18 例患儿的诊疗方案存在较大差异,以非 HLH 起病的患儿第 1 步治疗(即抑制被激活的 T 细胞、NK 细胞和巨噬细胞)强度不够,而以 HLH 起病的患儿第 1 步治疗方案基本与日本方案相同,大部分患者未接受第 2 步治疗(多药联合化疗以清除 EBV 感染的 T 细胞和 NK 细胞)及异基因 HSCT。关于 CAEBV 患者输注自体 EBV 特异性细胞毒性 T 淋巴细胞的疗效,研究结果并不一致^[8,6]。本文纳入病例均未接受细胞毒性 T 淋巴细胞(CTLs)治疗。HSCT 目前被认为是 CAEBV 唯一根治性的治疗手段。本文仅 1 例行 HSCT 治疗,后复发,拟行第 2 次 HSCT。因此,应在疾病早期能够良好耐受移植的情况下,尽早考虑异基因低强度 HSCT。

本文 18 例 CAEBV 患儿的总生存率为 17.6%,低于 Kimura 等^[16]和 Cohen 等^[8]报告结果(5 年总生存率: T 细胞型分别为 59%和 66%,NK 细胞型分别为 87%和 73%),但接近日本学者^[4]报道的联合化疗后病情未控制、持续活动患者的 3 年总生存率(16.7%),提示这些患儿可能化疗耐药,预后较差。本文患儿总体生存率偏低可能与大部分患儿确诊后病情反复、呈持续活动性感染状态,且根治性治疗比例低等因素有关。

参考文献

[1] Rickinson AB. Chronic, symptomatic Epstein-Barr virus infections. *Immunol Today*, 1986, 7(1): 13-14
 [2] 中华医学会儿科学分会感染学组,全国儿童 EB 病毒感染协作组. 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. *中华儿科杂志*, 2016, 54(8): 563-568
 [3] Maeda A, Sato T, Wakiguchi H. Epidemiology of Epstein-Barr virus (EBV) infection and EBV-associated diseases. *Nihon*

Rinsho, 2006, 64(Suppl 3): 609-612
 [4] Sawada A, Inoue M, Kawa K. How we treat chronic active Epstein-Barr virus infection. *Int J Hematol*, 2017, 105(4): 406-418
 [5] Arai A. Advances in the study of chronic active Epstein-Barr virus infection: Clinical features under the 2016 WHO classification and mechanisms of development. *Front Pediatr*, 2019, 7: 14
 [6] Okano M, Kawa K, Kimura H, et al. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection. *Am J Hematol*, 2005, 80(1): 64-69
 [7] Henter JI, Horne A, Aricó M, et al. HLH-2004: Diagnostic and therapeutic guidelines for hemophagocytic lymphohistiocytosis. *Pediatr Blood Cancer*, 2007, 48(2): 124-131
 [8] Cohen JI, Jaffe ES, Dale JK et al. Characterization and treatment of chronic active Epstein-Barr virus disease: A 28-year experience in the United States. *Blood*, 2011, 117(22): 5835-5849
 [9] Fujiwara S, Kimura H, Imadome K, et al. Current research on chronic active Epstein-Barr virus infection in Japan. *Pediatr Int*, 2014, 56(2): 159-166
 [10] 茅君卿,杨世隆,宋华,等. 儿童慢性活动性 EB 病毒感染临床及实验室检查特征. *中国当代儿科杂志*, 2014, 16(11): 1081-1085
 [11] Kimura H, Hoshino Y, Hara S, et al. Differences between T cell-type and natural killer cell-type chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis*, 2005, 191(4): 531-539
 [12] Ohga S, Nomura A, Takada H, et al. Epstein-Barr virus (EBV) load and cytokine gene expression in activated T cells of chronic active EBV infection. *J Infect Dis*, 2001, 183(1): 1-7
 [13] Murakami M, Hashida Y, Imajoh M, et al. PCR array analysis of gene expression profiles in chronic active Epstein-Barr virus infection. *Microbes Infect*, 2014, 16(7): 581-586
 [14] Iwata S, Wada K, Tobita S, et al. Quantitative analysis of Epstein-Barr virus (EBV)-related gene expression in patients with chronic active EBV infection. *J Gen Virol*, 2010, 91(Pt 1): 42-50
 [15] Chellapandian D, Das R, Zellek K, et al. Treatment of Epstein Barr virus-induced haemophagocytic lymphohistiocytosis with rituximab-containing chemo-immunotherapeutic regimens. *Br J Haematol*, 2013, 162(3): 376-382
 [16] Kimura H, Morishima T, Kanegame H, et al. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection. *J Infect Dis*, 2003, 187(4): 527-533

(收稿日期: 2019-03-27 修回日期: 2019-06-26)
 (本文编辑: 孙晋枫)