

肺炎伴巨细胞病毒感染患儿 外周血免疫功能分析

尚文雯 赵鸿 戎国栋 吴蕾 黄珮珺 王芳 徐婷

【摘要】目的 探讨肺炎伴巨细胞病毒感染患儿的外周血免疫功能状态。**方法** 选取2012年1月至2016年9月南京医科大学第一附属医院收治的2个月~2岁肺炎患儿共154例,按照巨细胞病毒(CMV)病原学检测结果分为CMV阳性组(90例)和CMV阴性组(64例),对两组患儿的临床资料和实验室指标进行回顾性分析。比较两组肺炎患儿的外周血细胞计数以及住院时间,根据血细胞参数分析系统性炎症反应相关指标包括中性粒细胞/淋巴细胞(NLR)、血小板/淋巴细胞(PLR)、淋巴细胞/单核细胞(LMR)和系统性免疫性炎症指数(SII)(中性粒细胞/淋巴细胞×血小板)的差异。**结果** 与CMV阴性组患儿相比,CMV阳性组患儿外周血白细胞[(7.83±2.92)×10⁹/L vs. (9.59±4.03)×10⁹/L, Z=-4.291、P<0.001]、单核细胞[(0.63±0.35)×10⁹/L vs. (0.78±0.47)×10⁹/L, Z=-3.104、P=0.002]、中性粒细胞[(1.73±1.60)×10⁹/L vs. (2.64±1.65)×10⁹/L, Z=-5.017、P<0.001]和血小板[(331.50±140.50)×10⁹/L vs. (364.00±163.80)×10⁹/L, Z=-2.013、P=0.044]计数均显著降低,差异均有统计学意义。CMV阳性组患儿NLR[(0.35±0.35) vs. (0.51±0.50), Z=-3.388、P<0.001]和SII[(107.10±133.16) vs. (182.40±173.3), Z=-4.029、P<0.001]较CMV阴性组患儿亦显著降低,差异均有统计学意义。CMV阳性组患儿较CMV阴性组患儿住院时间延长[(9.12±2.88) vs. (8.28±1.79) d, Z=-2.063、P=0.039],住院时间超过2周的患儿比例亦升高(14.44% vs. 1.56%, $\chi^2=7.510$ 、P=0.006),差异均有统计学意义。**结论** 伴巨细胞病毒感染的肺炎患儿存在外周血细胞免疫功能紊乱。

【关键词】 巨细胞病毒; 婴幼儿肺炎; 免疫功能紊乱; 中性粒细胞/淋巴细胞; 住院时间

Peripheral immune function of pneumonia infants with cytomegalovirus infection Shang Wenwen, Zhao Hong, Rong Guodong, Wu Lei, Huang Peijun, Wang Fang, Xu Ting. Department of Laboratory Medicine & National Key Clinical Department of Laboratory Medicine, the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China
Corresponding Author: Xu Ting, Email: tingxu@njmu.edu.cn

【Abstract】Objective To evaluate the peripheral immune status of pneumonia infants with cytomegalovirus (CMV) infection. **Methods** Total of 154 infants aged 2 to 24 months with pneumonia were recruited from January 2012 to September 2016 in the First Affiliated Hospital of Nanjing Medical University. According to the results of cytomegalovirus pathogen detection, 154 cases were divided into two groups: CMV positive group (90 cases) and CMV negative group (64 cases). The clinical data and laboratory results were analyzed, retrospectively. The peripheral blood cell counts and the hospitalization stay of two groups of children with pneumonia were compared, respectively. According to the parameters of blood cells, the related indexes of systemic inflammatory reaction including neutrophil/lymphocyte (NLR), platelet/lymphocyte (PLR), differences of lymphocyte/monocyte (LMR) and systemic immune inflammatory index (SII) (neutrophil/lymphocyte × platelet) were analyzed, respectively. **Results** Compared with CMV negative group, the counts of peripheral leukocytes [(7.83±2.92)×10⁹/L vs. (9.59±4.03)×10⁹/L, Z=-4.291, P<0.001], monocytes

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2019.02.004

基金项目: 江苏省实验诊断学重点实验室(No. ZDXKB2016005); 国家自然科学基金(No. 81772779); 南京医科大学“十三五”教育研究课题(No. QN2017139)

作者单位: 210029 南京市, 南京医科大学第一附属医院检验学部, 国家重点临床检验专科建设单位

通信作者: 徐婷, Email: tingxu@njmu.edu.cn

[(0.63 ± 0.35) × 10⁹/L vs. (0.78 ± 0.47) × 10⁹/L; $Z = -3.104$, $P = 0.002$], neutrophils [(1.73 ± 1.60) × 10⁹/L vs. (2.64 ± 1.65) × 10⁹/L; $Z = -5.017$, $P < 0.001$] and platelets counts [(331.50 ± 140.50) × 10⁹/L vs. (364.00 ± 163.80) × 10⁹/L; $Z = -2.013$, $P = 0.044$] of cases in CMV positive group decreased significantly; NLR [(0.35 ± 0.35) vs. (0.51 ± 0.50); $Z = -3.388$, $P < 0.001$] and SII [(107.10 ± 133.16) vs. (182.40 ± 173.3); $Z = -4.029$, $P < 0.001$] also decreased significantly. The hospitalization stay of cases in CMV-positive group was significantly longer than that of the CMV-negative group [(9.12 ± 2.88) vs. (8.28 ± 1.79) d; $\chi^2 = -2.063$, $P = 0.039$], and the proportion of children with hospitalization stay longer than 2 weeks in CMV-positive group was higher than that of CMV-negative group, with significant difference (14.44% vs. 1.56%; $\chi^2 = 7.510$, $P = 0.006$). **Conclusions** Peripheral blood immune dysfunction exists in pneumonia infants with cytomegalovirus infection.

【Key words】 Cytomegalovirus; Infantile pneumonia; Immunologic dysfunction; Neutrophil to lymphocyte ratio; Hospitalization stay

巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 属于疱疹病毒, 机体免疫系统不能将之杀灭或清除, 一旦机体免疫力下降, CMV大量复制侵犯免疫系统及内脏并长期定植^[1-2]。CMV具有细胞和组织泛嗜性, 可累及肺、肝脏、血液循环系统以及中枢神经系统等, 导致多器官损伤和功能障碍。婴幼儿因免疫系统发育尚不完善, 为CMV感染的高危人群^[3-4]。

根据世界卫生组织 (World Health Organization, WHO) 统计, 肺炎是造成全球5岁以下儿童死亡的首位感染性疾病。1985年至2008年, 我国5岁以下儿童肺炎发病率为0.06~0.27次·人⁻¹·年⁻¹, 每100 000人中就有184~1 223人因肺炎死亡^[5-6]。婴幼儿免疫系统还处于发育阶段, 其免疫功能尚不完善, 是婴幼儿肺炎发生、发展的重要危险因素。

以往研究对先天性CMV感染较为重视^[7-8], 然而对婴幼儿CMV感染的认识尚不足。本研究比较感染CMV和未感染CMV肺炎患儿的临床资料, 旨在探讨伴随CMV感染肺炎患儿的外周血免疫状态, 为个体化治疗提供更为直观的证据, 报道如下。

资料与方法

一、研究对象

选取2012年1月至2016年9月于南京医科大学第一附属医院住院且经病原学检测联合胸部X线确诊为肺炎的2岁以下婴幼儿共154例, 对其临床资料进行回顾性分析。排除标准: 巨细胞病毒以外的病毒共感染、肺炎以外的并发症如肾损伤、免疫功能缺陷如人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 感染、机体处于免疫抑制状态如移植等。

二、方法

1. 分组: 入组病例根据病原学检测结果分为CMV阳性组和CMV阴性组, 尿CMV DNA拷贝数 > 5 × 10² 拷贝/ml为CMV阳性组。

尿CMV DNA拷贝数检测方法如下: 收集入院后患儿的晨尿标本, 用荧光定量PCR (Applied Biosystems® 7500型荧光定量PCR仪, 美国) 检测CMV DNA拷贝数。所有程序均参照制造商说明进行 (人巨细胞病毒核酸定量检测试剂盒, 中山大学达安基因股份有限公司)。本法检测下限为5 × 10² 拷贝/ml, 检测上限为5 × 10⁸ 拷贝/ml, 低于检测下限判定为阴性, 高于检测下限判定为阳性。

2. 检测指标: 收集所有患儿入院时由全自动血液分析仪 (Sysmex XS-800i, 日本) 检测的外周血细胞计数结果。根据血细胞参数计算系统性炎症反应相关指标, 包括中性粒细胞淋巴细胞比值 (neutrophil-to-lymphocyte ratio, NLR)、血小板淋巴细胞比值 (platelet-to-lymphocyte ratio, PLR)、淋巴细胞单核细胞比值 (lymphocyte to monocyte ratio, LMR) 和[系统性免疫性炎症指数 (systemic immune-inflammation index, SII), 中性粒细胞/淋巴细胞 × 血小板], 并比较两组患儿的住院时间。

三、统计学处理

采用SPSS 20.0软件进行统计学分析, 外周血细胞计数、系统性炎症反应相关指标和住院时间等参数均为计量资料, 不服从正态分布, 故采用中位数 ± 四分位数间距 (M ± IQR) 描述, 两组样本比较采用非参数检验。住院时间超过2周患者比例为计数资料, 两组间比较采用 χ^2 检验。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

一、两组肺炎患儿的一般资料

2012年1月至2016年9月南京医科大学第一附属医院婴幼儿肺炎发病率为56.6% (963/1 700)，远高于东亚和太平洋地区(24%)。本研究收集的963例肺炎患儿中427例(44.34%)检测到CMV DNA，其中198例(20.60%)肺炎患儿CMV > 5 × 10²拷贝/ml (CMV阳性组)，229例(23.78%) CMV < 5 × 10²拷贝/ml (CMV阴性)。根据排除标准，排除病毒共感染如呼吸道合胞病毒、肺炎以外的并发症如肝功能异常后，共收集154例肺炎患儿，其中CMV阳性组患儿90例(58.40%)，CMV阴性组患儿64例(41.60%)。两组患儿性别、年龄、身高以及体重差异均无统计学意义(P均> 0.05)，见表1。

二、伴CMV感染肺炎患儿外周血免疫功能状态

CMV阳性组肺炎患儿外周血白细胞、单核细胞、中性粒细胞和血小板计数较CMV阴性组患儿降低，差异均有统计学意义(P均< 0.05)，见表2。提示CMV感染可引起外周血细胞异常，并抑制

肺炎患儿的外周血免疫应答。

三、CMV感染肺炎患儿系统性炎症反应相关指标

全身炎性指标如NLR、PLR、LMR和SII，能准确反映机体的全身炎症状态和免疫反应。根据血细胞计数结果进一步计算并分析系统性炎症反应相关指标的变化，CMV阳性组肺炎患儿NLR和SII较CMV阴性组患儿显著下降，差异均有统计学意义；而两组患儿PLR和LMR差异无显著统计学意义，详见表3。提示CMV感染可能影响肺炎患儿的外周血免疫应答，系统性炎症反应相关指标NLR与SII变化可作为识别肺炎患儿合并CMV感染的重要检测指标。

四、CMV感染延长肺炎患儿住院时间

CMV阳性组肺炎患儿住院时间[(9.12 ± 2.88) d]较CMV阴性组[(8.28 ± 1.79) d]长，差异有统计学意义(Z = -2.063、P = 0.039)。CMV阳性组肺炎患儿中住院时间超过2周的患儿比例(14.44%)较CMV阴性组(1.56%)显著增高，差异有统计学意义(χ² = 7.510、P = 0.006)。

表1 CMV阳性组和CMV阴性组肺炎患儿的基本资料

组别	例数	性别(男/女)	年龄(M ± IQR, 月)	身高(M ± IQR, cm)	体重(M ± IQR, kg)
CMV阳性组	90	55/35	6.00 ± 6.00	69.5 ± 8.70	8.87 ± 3.12
CMV阴性组	64	41/23	6.50 ± 6.75	67.2 ± 6.78	8.12 ± 3.12
统计量		χ ² = 0.139	Z = -0.155	Z = -0.157	Z = -0.169
P值		0.710	0.877	0.871	0.783

表2 CMV阳性组和CMV阴性组肺炎患儿外周血细胞计数(M ± IQR, × 10⁹/L)

组别	例数	白细胞	单核细胞	中性粒细胞	血小板	淋巴细胞
CMV阳性组	90	7.83 ± 2.92	0.63 ± 0.35	1.73 ± 1.60	331.50 ± 140.50	4.92 ± 2.48
CMV阴性组	64	9.59 ± 4.03	0.78 ± 0.47	2.64 ± 1.65	364.00 ± 163.80	5.67 ± 2.87
Z值		-4.291	-3.104	-5.017	-2.013	-1.324
P值		< 0.001	0.002	< 0.001	0.044	0.186

表3 CMV阳性组和CMV阴性组肺炎患儿系统性炎症反应相关指标(M ± IQR)

组别	例数	NLR	SII	PLR	LMR
CMV阳性组	90	0.35 ± 0.35	107.10 ± 133.16	64.44 ± 49.47	8.20 ± 4.51
CMV阴性组	64	0.51 ± 0.50	182.40 ± 173.3	69.23 ± 29.06	6.89 ± 4.92
Z值		-3.388	-4.029	-0.458	-1.767
P值		< 0.001	< 0.001	0.647	0.077

讨 论

CMV感染多呈无症状隐性感染,人体可长期处于病毒携带状态而无任何临床表现,当免疫系统未发育成熟或免疫功能低下时,病毒不断复制可导致机体发病,出现相应临床症状和体征,故婴幼儿是CMV感染的高危人群^[9-10]。CMV感染可累及多个系统及器官,而婴幼儿CMV感染主要累及呼吸系统和血液系统^[11-12]。本研究对CMV感染的肺炎患儿血常规分析发现,CMV阳性患儿外周血白细胞、单核细胞、中性粒细胞和血小板计数均显著下降,表明CMV感染可引起血液系统异常。CMV感染引起血液系统损伤的机制复杂,目前报道可能与以下机制有关:CMV可下调粒细胞集落刺激因子(granulocyte colony stimulating factor, G-CSF),并诱导产生抑制性细胞因子如白细胞介素-6(interleukin 6, IL-6)和白细胞介素-8(IL-8),以及直接感染单核细胞及造血干细胞等,从而抑制造血功能^[13-16]。此外,血液系统异常可能与CMV免疫逃逸有关,据报道CMV通过调节宿主免疫反应而促进病毒传播,CMV通过表达由UL119~UL118和RL11基因编码的I型跨膜糖蛋白gp68和gp34并与IgG的Fc段结合,从而阻断IgG的Fc段与Fc受体(receptors for the Fc domain of IgG, FcγRs)结合所介导的一系列免疫反应,以逃避体液免疫监视,减少功能性CD4⁺T细胞和CD8⁺T细胞,并干扰细胞免疫,诱导受感染的单核细胞分化和迁移,产生趋化因子以招募中性粒细胞等^[17-20]。这表明CMV感染可引起广泛的血细胞分布异常,影响肺炎患儿的外周血免疫应答。

NLR、PLR、LMR和SII等全身炎症指标极易获取,能准确反映机体的全身炎症状态和免疫反应,在评估感染性疾病方面具有一定优势^[21-23]。本研究发现CMV阳性组肺炎患儿NLR与SII显著降低,表明当肺炎患儿合并CMV感染时,中性粒细胞数降低,不能进行有效的抗感染免疫应答,同时淋巴细胞有降低趋势,从而导致NLR降低更为显著,进而导致SII显著降低。因此,CMV感染可能导致肺炎患儿的外周血免疫功能受到抑制,从而导致住院时间延长,应动态检测CMV载量,及时采取有效的抗病毒治疗方案^[24-25]。此外,系统性炎症反应相关指标NLR和SII可能是识别肺炎患儿合并CMV感染的重要指标,尚待进一步探究。

本研究仍然存在局限性,肺炎患儿合并CMV感染为排除性诊断(诊断为肺炎患儿合并CMV感染,需排除其他细菌和病毒的共感染),且仅分析了患儿外周血细胞计数和系统性炎症反应相关指标,需扩大样本量进一步探究。此外,尚需对各类免疫细胞的亚型和功能进行综合分析。

综上,本研究提示CMV感染肺炎患儿外周血免疫功能紊乱,需及时采取积极有效的治疗方案。

参 考 文 献

- [1] Griffiths P, Lumley S. Cytomegalovirus[J]. *Curr Opin Infect Dis*,2014,27(6):554-559.
- [2] Sanbonmatsu Gamez S, Ruiz MP, Navarro Mari JM. Infection by human cytomegalovirus[J]. *Enferm Infecc Microbiol Clin*,2014,32(Suppl 1):15-22.
- [3] Bohm V, Seckert CK, Simon CO, et al. Immune evasion proteins enhance cytomegalovirus latency in the lungs[J]. *J Virol*,2009,83(19):10293-10298.
- [4] Restrepo-Gualteros SM, Jaramillo-Barberi LE, Gonzalez-Santos M, et al. Characterization of cytomegalovirus lung infection in non-HIV infected children[J]. *Viruses*,2014,6(5):2038-2051.
- [5] Walker CL, Rudan I, Liu L, et al. Global burden of childhood pneumonia and diarrhoea[J]. *Lancet*,2013,381(9875):1405-1416.
- [6] Guan X, Silk BJ, Li W, et al. Pneumonia incidence and mortality in Mainland China: systematic review of Chinese and English literature, 1985-2008[J]. *PLoS One*,2010,5(7):e11721.
- [7] Fowler KB, Boppana SB. Congenital cytomegalovirus infection[J]. *Semin Perinatol*,2018,42(3):149-154.
- [8] 张鑫婷,于泽堃,韩宗来,等. 新生儿巨细胞病毒肺炎诊断及治疗[J]. *中国妇幼保健*,2018,33(15):3597-3600.
- [9] Pawelec G. Immunosenescence: role of cytomegalovirus[J]. *Exp Gerontol*,2014,54:1-5.
- [10] 卢光全,李儒贵,谭华炳,等. 85例巨细胞病毒感染婴幼儿的临床特征[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2017,11(3):282-286.
- [11] Goncalves C, Cipriano A, Videira Santos F, et al. Cytomegalovirus acute infection with pulmonary involvement in an immunocompetent patient[J]. *IDCases*,2018,14:e00445.
- [12] 宋恩杰. 巨细胞病毒性肺炎儿童体内淋巴细胞亚群的变化特点[J]. *中国疗养医学*,2018,27(1):65-67.
- [13] Simmons P, Kaushansky K, Torok-Storb B. Mechanisms of cytomegalovirus-mediated myelosuppression: perturbation of stromal cell function versus direct infection of myeloid cells[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*,1990,87(4):1386-1390.
- [14] Botto S, Streblov DN, DeFilippis V, et al. IL-6 in human cytomegalovirus secretome promotes angiogenesis and survival of endothelial cells through the stimulation of survivin[J]. *Blood*,2011,117(1):352-361.
- [15] Murayama T, Mukaida N, Khabar KS, et al. Potential involvement of IL-8 in the pathogenesis of human cytomegalovirus infection[J]. *J Leukoc Biol*,1998,64(1):62-67.
- [16] Almeida-Porada GD, Ascensao JL. Cytomegalovirus as a cause of pancytopenia[J]. *Leuk Lymphoma*,1996,21(3-4):217-223.

- [17] Jackson SE, Sedikides GX, Mason GM, et al. Human cytomegalovirus (HCMV)-specific CD4(+) T cells are polyfunctional and can respond to HCMV-infected dendritic cells in vitro[J]. *J Virol*,2017,91(6):e02128-16.
- [18] Vieira Braga FA, Hertoghs KM, van Lier RA, et al. Molecular characterization of HCMV-specific immune responses: Parallels between CD8(+) T cells, CD4(+) T cells, and NK cells[J]. *Eur J Immunol*,2015,45(9):2433-2445.
- [19] Stevenson EV, Collins-McMillen D, Kim JH, et al. HCMV reprogramming of infected monocyte survival and differentiation: a Goldilocks phenomenon[J]. *Viruses*,2014,6(2):782-807.
- [20] Yamin R, Lecker LSM, Weisblum Y, et al. HCMV vCXCL1 binds several chemokine receptors and preferentially attracts neutrophils over NK cells by interacting with CXCR2[J]. *Cell Rep*,2016,15(7):1542-1553.
- [21] Zhao Z, Liu J, Wang J, et al. Platelet-to-lymphocyte ratio (PLR) and neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) are associated with chronic hepatitis B virus (HBV) infection[J]. *Int Immunopharmacol*,2017,51:1-8.
- [22] Kim HA, Jung JY, Suh CH. Usefulness of neutrophil-to-lymphocyte ratio as a biomarker for diagnosing infections in patients with systemic lupus erythematosus[J]. *Clin Rheumatol*,2017,36(11):2479-2485.
- [23] Jenne CN, Kubes P. Platelets in inflammation and infection[J]. *Platelets*,2015,26(4):286-292.
- [24] Britt WJ, Prichard MN. New therapies for human cytomegalovirus infections[J]. *Antiviral Res*,2018,159:153-174.
- [25] Izadnegahdar R, Cohen AL, Klugman KP, et al. Childhood pneumonia in developing countries[J]. *Lancet Respir Med*,2013,1(7):574-584.
- (收稿日期: 2018-09-20)
(本文编辑: 孙荣华)

尚文雯, 赵鸿, 戎国栋, 等. 肺炎伴巨细胞病毒感染患儿外周血免疫功能分析[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*, 2019,13(2):105-109.

