

# 系统性红斑狼疮患者 并发 EB 病毒或巨细胞病毒感染的回顾性分析\*

宋宏岩<sup>a</sup>, 王 红<sup>b</sup>, 李 雷<sup>a</sup>, 魏红霞<sup>a</sup>, 陈军浩<sup>a</sup>, 王庆飞<sup>a</sup>

(南京大学医学院附属鼓楼医院 a. 检验科; b. 风湿免疫科, 南京 210008)

**摘要:**目的 探讨系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)患者并发 EB 病毒(epstein barr virus, EBV)或巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染的流行病学特征, 为临床提供参考。方法 回顾性分析 2012 年 1 月~2015 年 4 月南京大学医学院附属鼓楼医院就诊入院的 202 例女性 SLE 患者(SLE 组)的相关临床资料, 以同期的女性肾移植供者和妇产科送检标本共 203 例作为对照组; 根据实时荧光定量 PCR 检测外周血中 EB 病毒 DNA 和巨细胞病毒 DNA 结果, 分析、比较 SLE 组和对照组的感染发生率。结果 SLE 患者中 EBV-DNA 的阳性率(11.39%)显著高于对照组的阳性率(3.45%), 差异具有统计学意义( $\chi^2=8.28, P<0.01$ ); SLE 组 CMV-DNA 的阳性率(7.92%)显著高于对照组的阳性率(1.97%), 差异具有统计学意义( $\chi^2=7.64, P<0.05$ )。128 例育龄期 SLE 患者 EBV-DNA 的阳性率(10.94%)显著高于对照组的阳性率(3.45%), 差异具有统计学意义( $\chi^2=4.99, P<0.05$ ); 育龄期 SLE 组 CMV-DNA 的阳性率(7.75%)显著高于对照组的阳性率(2.22%), 差异具有统计学意义( $\chi^2=4.31, P<0.05$ )。结论 SLE 患者易并发 EB 病毒或巨细胞病毒感染, 提示 SLE 与病毒感染可能具有相关性, 在临床工作中应加以重视。

**关键词:** 系统性红斑狼疮; EB 病毒; 巨细胞病毒; 感染

**中图分类号:** R593.241; R373 **文献标志码:** A **文章编号:** 1671-7414(2016)01-144-03

**doi:** 10.3969/j.issn.1671-7414.2016.01.042

## Retrospective Analysis of Epstein Barr Virus or Cytomegalovirus Infection in Patients with Systemic Lupus Erythematosus

SONG Hong-yan<sup>a</sup>, WANG Hong<sup>b</sup>, LI Lei<sup>a</sup>, WEI Hong-xia<sup>a</sup>, CHEN Jun-hao<sup>a</sup>, WANG Qing-fei<sup>a</sup>

(a. Department of Clinical Laboratory; b. Department of Rhumatism Immunity Nanjing Drum Tower Hospital, Nanjing University School of Medicine, Nanjing 210008, China)

**Abstract:** **Objective** To analyze the epidemiological characteristics of Epstein Barr virus (EBV) or cytomegalovirus (CMV) infection in systemic lupus erythematosus (SLE) patients in order to provide reference for clinic. **Methods** The clinical data of 202 female cases in-patients diagnosed with SLE (SLE group) from January 2012 to May 2015 in Nanjing Drum Tower Hospital were analyzed retrospectively. Meanwhile, 203 cases including female renal transplant donors, obstetrics and gynecology in-patients selected randomly were enrolled as control group. The infection rate between SLE and control groups was analyzed and compared based on the results of EBV-DNA and CMV-DNA in peripheral blood quantified by real time PCR. **Results** The positive rate of EBV-DNA in SLE group was 11.39% (23/202), with significantly statistical difference when comparing with the control group [3.45% (6/174)] ( $\chi^2=8.28, P<0.01$ ). The positive rate of CMV-DNA [7.92% (16/202)] was significantly higher than that in control group [1.97% (4/203)] ( $\chi^2=7.64, P<0.05$ ). In addition, the positive rate of EBV-DNA and CMV-DNA was also greatly higher in reproductive-age (20~45 years old) of SLE patients than those in control group, 10.94% (14/128) vs 3.45% (4/116) ( $\chi^2=4.99, P<0.05$ ) and 7.75% (10/129) vs 2.22% (3/135) ( $\chi^2=4.31, P<0.05$ ), respectively. **Conclusion** SLE patients were more inclined to be accompanying infected by EBV or CMV, indicating the possible correlation between SLE and EBV or CMV infection; and physicians should pay more attention to the viral infection of SLE in clinical treatment.

**Keywords:** systemic lupus erythematosus; epstein barr virus; cytomegalovirus; infection

系统性红斑狼疮(systemic lupus erythematosus, SLE)是一种发病原因不明, 涉及多系统、多器官损害, 临床表现复杂多样的慢性自身免疫性疾病, 多发于育龄期女性。目前认为易感基因可能是 SLE 的病因基础, 致病环境如紫外线、激素、感染、

药物等也是 SLE 发病及病情发展的重要因素。研究表明病毒感染如 EB 病毒(EBV)和巨细胞病毒(CMV)可能与诱发甚至加重 SLE 病情进展有关<sup>[1~3]</sup>。另一方面, 临床上常用糖皮质激素或免疫抑制剂治疗 SLE, 大量研究报道长期使用这些药

\* 基金项目: 南京市医学科技发展专项基金(YKK13066)。

作者简介: 宋宏岩(1986—), 男, 学士, 技师, 主要从事临床免疫学检验工作, E-mail: 43406104@163.com。

通信作者: 王庆飞(1983—), 男, 博士, E-mail: wangqingfei1020@foxmail.com。

物使 SLE 患者免疫功能降低, 容易发生感染<sup>[4]</sup>。因此, 了解相关病毒的感染状况对 SLE 患者具有重要的临床意义。本研究对在鼓楼医院住院治疗的 202 例 SLE 患者进行了 EB 病毒和巨细胞病毒感染情况的调查、分析, 探讨该病与病毒感染的关系。

1 材料与方法

1.1 研究对象 总 SLE 组: 选取 2012 年 1 月~2015 年 5 月南京大学医学院附属鼓楼医院收治的 202 例女性 SLE 患者, 年龄 11~77 岁, 平均年龄 36.3±14.5 岁。对照组: 随机选取同期的女性肾移植供者、妇产科体检者共 203 例, 年龄 13~73 岁, 平均年龄 37.3±13.5 岁。两组年龄差异无统计学意义。所有入组病例均符合美国风湿学会 (American College of Rheumatology) 推荐的诊断标准<sup>[5]</sup>, 在 11 项分类标准中满足其中 4 项及以上即可确诊为 SLE。

1.2 试剂与仪器 EB 病毒核酸扩增荧光定量检测试剂和巨细胞病毒核酸定量检测试剂购自中山大学达安基因股份有限公司。实时荧光定量 PCR 仪 Mx3000p 购自吉泰生物科技有限公司。

1.3 方法 采集受检者外周静脉血 3~5 ml (ED-TA 抗凝), 用 1 ml 生理盐水稀释 1 ml 静脉血, 混合后将 2 ml 混合血液沿试管壁缓慢加入到装有 2 ml 淋巴细胞分离液的试管中, 2 500 r/min 离心 15 min 后, 吸出中间细胞层于离心管中, 1 000 r/min 离心 5 min, 沉淀加 50 μl DNA 提取液混匀。100℃处理 10 min, 1 200 r/min 离心 5 min, 取上清液 (含病毒 DNA) 做 PCR 扩增。PCR 扩增: 在 PCR 管中加入处理后的样品上清液 (EBV 2 μl, CMV 5 μl) 及质控品, 离心后放入仪器样品槽。循环条件: 93℃ 2 min 预变性, 然后按 93℃ 45s, 55℃ 60s, 10 个循环, 最后再按 93℃ 30 s, 55℃ 45s, 30 个循环。在 Stratagene 公司的 Mx3000P 实时荧光定量 PCR 仪中进行扩增、检测。阳性判断标准为 DNA>500 copies/ml。

1.4 统计学分析 采用 EXECL 2007 软件进行数据整理, 应用 SPSS17.0 软件进行统计学分析。采用卡方检验进行组间阳性率比较,  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 EB 病毒 DNA 和巨细胞病毒 DNA 检测结果判定 每批次实验时均以各自对应的定量标准品为模板扩增, 标准品 (Standard) 1, 2, 3 的浓度分别为  $1\times10^4$ ,  $1\times10^5$  和  $1\times10^6$  copies/ml。实验中, 实时检测反应管中的荧光信号, 当荧光信号增强到设定的检测阈值时, 反应管所用的循环次数 ( $Ct$

值) 就被记录下来。  $Ct$  值与标准品模板数量的对数值之间有严格的线性关系, 利用系列标准品的  $Ct$  值, 绘制标准曲线, 根据待测样品的  $Ct$  值, 就可在标准曲线中确定待测样品起始的 DNA 数量, 以  $>500$  copies/ml 为阳性。

2.2 各组 SLE 患者 EB 病毒、巨细胞病毒 DNA 检测阳性率的比较 见表 1。202 例女性住院 SLE 患者 EBV-DNA 阳性率显著高于对照组, 差异具有统计学意义 ( $P<0.01$ )。SLE 组 CMV-DNA 的阳性率显著高于对照组的阳性率, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ )。另外, SLE 组中检出 5 例 EBV-DNA 和 CMV-DNA 同时阳性, 而对照组中未见双阳性患者。128 例育龄期 SLE 患者 EBV-DNA 的阳性率显著高于对照组的阳性率, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ ); 育龄期 SLE 组 CMV-DNA 的阳性率显著高于育龄期对照组的阳性率, 差异具有统计学意义 ( $P<0.05$ )。育龄期 SLE 组中有 4 例 EBV-DNA 和 CMV-DNA 同时阳性, 占有双阳性患者的 80% (4/5), 对照组中未出现双阳性者。

表 1 各组 SLE 患者 EB 病毒、巨细胞病毒 DNA 检测阳性率的比较

组别	EBV-DNA			CMV-DNA		
	阳性	总计	阳性率 (%)	阳性	总计	阳性率 (%)
SLE 组	23	202	11.39 <sup>a</sup>	23	202	11.39 <sup>b</sup>
对照组	6	174	3.45	6	174	3.45
育龄期 SLE 组	14	128	10.94 <sup>c</sup>	10	129	7.75 <sup>d</sup>
育龄期对照组	4	116	3.45	3	135	2.22

注: <sup>a</sup> 与对照组比较,  $\chi^2=8.28, P<0.01$ ; <sup>b</sup> 与对照组比较,  $\chi^2=7.64, P<0.05$ ; <sup>c</sup> 与育龄期对照组比较,  $\chi^2=4.99, P<0.05$ ; <sup>d</sup> 与育龄期对照组比较,  $\chi^2=4.31, P<0.05$ 。

3 讨论 SLE 患者体内存在大量自身抗体, 并与相应的自身抗原结合形成免疫复合物, 从而导致机体多系统损害, 临床表现多样。目前认为其发病及病情发展可能是遗传因素与环境因素共同参与的综合作用。近年来许多研究资料表明, 持续的慢性感染可能与本病密切相关<sup>[3]</sup>。另一方面, 临床上治疗 SLE 的药物主要是糖皮质激素和免疫抑制剂, 使机体处于易感状态, 容易发生细菌、真菌或病毒感染<sup>[4,6]</sup>。

CMV 属于疱疹病毒家族, 是一种广泛细胞亲嗜性的线状双链 DNA 病毒, 能感染上皮细胞、内皮细胞、外周血单个核细胞及神经细胞等。EBV 属人疱疹病毒科, 是一个具有复杂基因组的 DNA 病毒, 主要感染 B 淋巴细胞和鳞状上皮细胞。人群 CMV 或/和 EB 病毒潜伏或既往感染十分普遍, 机体细胞免疫功能下降可导致病毒的激活。近年来关于 SLE 与 CMV 或 EBV 的相关性研究发现,

与健康对照相比, SLE 患者 CMV 或 EBV 的阳性率及病毒 DNA 拷贝数均显著升高<sup>[7~9]</sup>。也有研究表明, CMV 或 EBV 感染是 SLE 重要的促发因素, 并可加快疾病的进展<sup>[10]</sup>。另一方面, SLE 病情的加重也可能更易感染 CMV 或 EBV<sup>[4]</sup>。可见, SLE 与两种病毒关系密切, 互相作用。

本研究中, SLE 患者中 EBV, CMV 感染发生率均显著高于对照组, 与相关研究报道相符。由于 SLE 好发于育龄期女性, 加之育龄期女性体内激素水平的影响, 应重视病毒感染的防治。然而在本研究中, 育龄期 SLE 患者 EBV, CMV 的感染率均略低于全年龄段的总体感染率(无统计学差异), 可能与本研究对象的样本量、检测方法和治疗情况等有关。但是, 育龄期 SLE 组中有 4 例 EBV-DNA 和 CMV-DNA 同时阳性, 占 SLE 组双阳性患者的 80%(4/5), 提示 SLE 组育龄期发生 EBV 和 CMV 双重感染的可能性高, 应加以重视。

CMV 和 EBV 感染活动期时, 患者的一些临床表现(发热、关节痛和皮疹等)与 SLE 患者发病时的症状非常相似, 临床医生很难鉴别病毒感染的 SLE 急性发作, 这就有可能导致增加 SLE 患者的激素或免疫抑制剂的剂量, 病毒感染加重, 使病情恶化<sup>[11,12]</sup>。本研究中有 5 例 SLE 患者并发感染 CMV 和 EBV, 可能是患者在治疗过程中自身免疫受到抑制, 同时感染 CMV 和 EBV; 也有可能是感染其中一种病毒, 加重病情, 导致感染另外一种病毒。同时并发感染 CMV 和 EBV 对患者的预后很不利<sup>[13]</sup>, SLE 患者应定期检测 CMV 和 EBV 的感染情况, 并及时有效地采取抗病毒治疗。

总之, 本研究进一步表明女性 SLE 患者中 CMV 和 EBV 感染率较高, 提示 SLE 的发生或发展中与病毒感染可能具有相关性。但由于本研究仅从 CMV 和 EBV 感染的阳性率方面进行评价, 未深入探究 SLE 患者疾病活动程度以及相关临床指标与病毒拷贝数的关系, 且由于样本量的限制, CMV 或 EBV 感染与 SLE 病情之间的相互关系和作用机制有待于进一步深入探索, 以更好地指导 SLE 的临床治疗, 改善患者的预后。

参考文献:

[1] Draborg AH, Duus K, Houen G. Epstein-barr virus and systemic lupus erythematosus [J]. Clinical and Developmental Immunology, 2012, 2012(3): 370516.

[2] Halenius A, Hengel H. Human cytomegalovirus and autoimmune disease[J]. Biomed Research International, 2014(2014): 472978.

[3] Nelson P, Rylance P, Roden D, et al. Viruses as potential pathogenic agents in systemic lupus erythema-

tosus[J]. Lupus, 2014, 23(6): 596-605.

[4] Esposito S, Bosis S, Semino M, et al. Infections and systemic lupus erythematosus[J]. Eur J Clin Microbiol Infect Dis, 2014, 33(9): 1467-1475.

[5] Feldman CH, Hiraki LT, Liu J, et al. Epidemiology and sociodemographics of systemic lupus erythematosus and lupus nephritis among US adults with Medicaid coverage, 2000-2004[J]. Arthritis Rheum, 2013, 65(3): 753-763.

[6] 费允云, 侍效春, 甘凤英, 等. 系统性红斑狼疮死亡患者感染部位和病原菌分析[J]. 中华风湿病学杂志, 2012, 16(5): 309-312.

Fei YY, Shi XC, Gan FY, et al. Analysis of locations and pathogens of systemic lupus erythematosus cases died from infection[J]. Chinese Journal of Rheumatology, 2012, 16(5): 309-312.

[7] Hrycek A, Kusmierz D, Mazurek U, et al. Human cytomegalovirus in patients with systemic lupus erythematosus[J]. Autoimmunity, 2005, 38(7): 487-491.

[8] Chen J, Zhang H, Chen P, et al. Correlation between systemic lupus erythematosus and cytomegalovirus infection detected by different methods[J]. Clin Rheumatol, 2015, 34(4): 691-698.

[9] Poole BD, Templeton AK, Guthridge JM, et al. Aberrant Epstein-Barr viral infection in systemic lupus erythematosus[J]. Autoimmun Rev, 2009, 8(4): 337-342.

[10] Doria A, Canova M, Tonon M, et al. Infections as triggers and complications of systemic lupus erythematosus[J]. Autoimmun Rev, 2008, 8(1): 24-28.

[11] 王晓冰, 叶文静, 张智勇, 等. EB 病毒感染对系统性红斑狼疮临床表现及 Th1/Th2 平衡的影响[J]. 温州医学院学报, 2013, 43(12): 779-783.

Wang XB, Ye WJ, Zhang ZY, et al. Clinical manifestation of EBV infection on systemic lupus erythematosus and effect of Th1/Th2 balance[J]. Journal of Wenzhou Medical College, 2013, 43(12): 779-783.

[12] James JA, Robertson JM. Lupus and Epstein-Barr [J]. Current Opinion in Rheumatology, 2012, 24(4): 383-388.

[13] 张 瑾, 王 健, 张奉春, 等. 合并人类巨细胞病毒活动性感染系统性红斑狼疮患者的混合感染及其预后[J]. 中华临床免疫和变态反应杂志, 2014, 4(3): 174-180.

Zhang J, Wang J, Zhang FC, et al. Mixed infections and prognosis of systemic lupus erythematosus patients complicated with active human cytomegalovirus infection[J]. Chinese Journal of Allergy and Clinical Immunology, 2014, 4(3): 174-180.

收稿日期: 2015-09-02  
修回日期: 2015-12-09