

淋巴组织增生性疾病患者外周血 EBV DNA 定量检测临床意义的研究进展

王媛¹, 李文生² (1. 西安医学院, 西安 710068; 2. 陕西省人民医院病理科, 西安 710068)

摘要: 目前发现爱泼斯坦巴尔病毒 (Epstein-Barr virus, EBV) 与多种淋巴组织增生性疾病的关系越来越密切, 主要包括 EBV 相关淋巴瘤、EBV 阳性淋巴组织增殖性疾病 (EBV+LPD) 以及传染性单核细胞增多症 (infectious mononucleosis, IM) 等, 以往研究认为 EBV+LPD 及 IM 的外周血 EBV DNA 有高拷贝数, 而 EBV 相关淋巴瘤的外周血 EBV DNA 拷贝数一般不高, 而近几年有不少文献报道 EBV 相关淋巴瘤外周血 EBV DNA 也出现高拷贝数, 同时一些研究已经证实 EBV DNA 载量的检测不仅可以用于 EBV 相关淋巴组织增生性疾病的诊断, 还可用于评价患者对治疗的反应及预后。该文主要对各种不同类型淋巴组织增生性疾病患者外周血 EBV DNA 定量检测做一综述, 并探讨在治疗反应、预后判断中的价值和意义。

关键词: 爱泼斯坦巴尔病毒; 淋巴组织增生性疾病; 定量聚合酶链反应

中图分类号: R733; R446 **文献标识码:** A **文章编号:** 1671-7414 (2021) 02-155-07

doi:10.3969/j.issn.1671-7414.2021.02.037

Advances in the Clinical Significance of Quantitative Detection of EBV DNA in Peripheral Blood of Patients with Lymphoproliferative Diseases

WANG Yuan¹, LI Wen-sheng² (1. Xi'an Medical University, Xi'an 710068, China; 2. Department of Pathology, Shaanxi Provincial People's Hospital, Xi'an 710068, China)

Abstract: At present, it has been found that Epstein-Barr virus (EBV) is getting closer to lymphoproliferative diseases, including EBV-related lymphoma, EBV-positive lymphoid tissue proliferative disease (EBV+LPD) and infectious mononucleosis (IM), etc. In the past, studies have shown that there are high copies number in the peripheral blood EBV DNA of EBV+LPD and IM, while the peripheral blood EBV DNA copies number of EBV-related lymphoma is generally not high level. In recent years, there have been many reports in the literature of EBV-related lymphoma. There are also high copies numbers. At the same time, some studies have confirmed that the detection of EBV DNA load can not only be used for the diagnosis of EBV-related lymphoproliferative diseases, but can be used to evaluate the response and prognosis of patients to treatment. This article mainly reviews the quantitative detection of EBV DNA in peripheral blood of patients with different types of lymphoproliferative diseases, and discusses its value and significance in treatment response and prognosis judgment.

Keywords: EBV; lymphoproliferative disease; qPCR

爱泼斯坦巴尔病毒 (Epstein-Barr virus, EBV), 也称为人类疱疹病毒 4 型 (HHV-4), 是一种双链 DNA 病毒, 长度约 172 KB^[1]。据估计, 超过 90% 的世界人口感染过 EBV, 进入人体的绝大多数 EBV 被免疫系统所清除, 仅有少数 EBV 潜伏在人体的 B 细胞中, 并终身携带。EBV 感染可对机体免疫系统造成持续慢性刺激, 引起 B 细胞的多克隆激活。1964 年 Epstein 首先从非洲儿童 Burkitt 淋巴组织中分离出 EBV, 随后研究发现 EBV 存在于超过 95% 的地方性 Burkitt 淋巴瘤和大约 20% 的非地方性 Burkitt 淋巴瘤。此外 EBV 是传染性单核细胞增多症的病原体, 并与鼻咽癌、儿童淋巴瘤的发生有密切相关性, 被列为可能致癌的人类肿瘤病毒之一。近年来研究

发现除了传染性单核细胞增多症 (infectious mononucleosis, IM) 和伯基特淋巴瘤以外, 在越来越多的淋巴组织疾病中检测到 EBV 感染, 包括 EBV 阳性淋巴组织增殖性疾病 (EBV+LPD), NK/T 细胞淋巴瘤, 经典霍奇金淋巴瘤、血管免疫母细胞淋巴瘤、EBV(+) 弥漫大 B 细胞淋巴瘤、淋巴瘤样肉芽肿等, 虽然 EBV 感染在这些淋巴组织疾病发生中的作用和机制还不甚清楚, 但说明 EBV 感染与淋巴组织疾病的关系越来越密切。

以往研究认为 EBV (+) LPD 及传染性单核细胞增多症患者的外周血 EBV DNA 有高拷贝数, 而 EBV 相关淋巴瘤的外周血 EBV DNA 拷贝数一般不高。近几年有不少文献报道 EBV 相关淋巴瘤外周

基金项目: 陕西省重点研发计划项目 (2019SF-089)。

作者简介: 王媛 (1994-), 女, 研究生, 研究方向: EBV 相关淋巴瘤, E-mail: 1357752993@qq.com。

通讯作者: 李文生 (1968-), 男, 医学博士, 主任医师, 研究方向: 肿瘤病理诊断及淋巴瘤病理研究, E-mail: liwensheng263@sohu.com。

血 EBV DNA 也出现高拷贝数, 这为此类疾病的鉴别诊断带来了困惑。甚至还有一些研究显示 EBV DNA 载量的检测不仅可以用于 EBV 相关淋巴组织增生性疾病的诊断, 还可用于评价患者对治疗的反应及预后。本文对 EBV 感染的实验室检测方法和各种淋巴组织增生性疾病患者外周血 EBV DNA 定量检测的相关文献进行综述, 并分析其治疗反应、预后判断中的价值和意义。

1 EBV 感染的检测方法

1.1 组织中 EBER 原位杂交检测 EBER (EBV-encoded RNA) 是 EBV 编码的小 RNA, 在 EBV 感染的细胞核中以高拷贝数存在, EBER 原位杂交法因其准确的定位、极高的特异度和灵敏度已成为组织切片中检测 EBV 的首选方法。其具体过程包括切片与脱蜡、预处理、变性、杂交、免疫显色、切片复染。EBER 原位杂交检测方法主要优点在于原位, 可以对靶序列进行组织、细胞的空间定位, 敏感性高、特异度强、定位清晰, 是目前公认检测 EBV 的金标准^[2]。但其属于侵入性检测, 需取组织病理活检, 有时因为病人一般状况差或其它原因可能难以取到活检组织标本, 同时影响染色结果的因素比较多, 操作过程较为繁琐。

1.2 血清 EBV 抗体检测 EBV 抗体检测是检测 EBV 的另一种方法。EBV 具有多种抗原, 包括衣壳抗原 (VCA)、早期抗原 (EA)、膜抗原 (MA)、核心抗原 (EBNA) 等, 感染后产生相应的抗体。临床上 EBV 抗体检测以 VCA-IgM, VCA-IgG, VCA-IgA 为主, 其中, 最早出现的是 VCA-IgM, 2 周左右即可到达峰值, 具有较强的敏感度及特异度, 其可以反映新近感染情况, VCA-IgM 抗体持续时间大约是 4~8 周, 最长约 2~3 个月。一般情况下, VCA-IgG 较 VCA-IgM 晚出现, 大约 3~5 周内达到峰值, 然后略微降低并长时间持续, EBV 抗体检测目前多数采用酶联免疫吸附法 (ELISA) 和全自动酶联免疫分析法, 能动态反映 EBV 感染后的抗体水平, 敏感度高, 检测方法简单, 主要用于传染性单核细胞增多症的诊断, 对于 EBV 相关淋巴组织增生性疾病的疗效判断和预防有一定帮助。缺点在于特异度不强, 需要结合其他检查综合分析判断。

1.3 外周血 EBV DNA 定量检测 外周血 EBV DNA 是 EBV 相关淋巴组织增生性疾病潜在的标志物, 定量检测外周血 EBV DNA 载量对 EBV 相关淋巴组织增生性疾病诊断有重要参考价值^[2], 特别对于传染性单核细胞增多症和 EBV (+) LPD 具有重要的意义。有研究表明 EBV DNA 载量与 EBV 相关淋巴组织增生性疾病严重程度有关, 并且可以估计微小残留病灶, 具有判断预后的价值^[3-4]。目前

有多种核酸诊断方法用于检测 EBV DNA 及其病毒载量, 包括半定量 PCR, 定量 PCR (qPCR), 实时 PCR, 实时定量 PCR (RQ-PCR), 荧光定量 PCR (FQ-PCR), 实时荧光定量 PCR (RT-PCR) 等。定量聚合酶链反应 (quantitative polymerase chain reaction, qPCR) 以耗时少且准确性高成为目前应用最广泛的 EBV DNA 定量检测方法, 其优点是敏感、可靠、特异、简便、快速^[2], 能准确反映体内 EBV 感染复制情况, 尤其 EBV 急性感染。

2 不同淋巴组织增生性疾病外周血 EBV DNA 定量检测及临床意义

2.1 B 细胞淋巴瘤

2.1.1 EBV 阳性弥漫大 B 细胞淋巴瘤: 2016 版 WHO 淋巴造血肿瘤分类新修订种类: EBV 阳性弥漫大 B 细胞淋巴瘤 [EBV(+)DLBCL], 在上一版中被命名为“青年人 EBV(+) 大 B 细胞淋巴瘤”。EBV (+) DLBCL 占亚洲国家 DLBCL 病例的 8%~10%, 并且经常在 50 岁以上具有免疫能力的人中发现, 与 EBV(-)DLBCL 相比, EBV (+) DLBCL 具有侵袭性的临床行为。AU 等^[5]通过 qPCR 检测发现 EBV(+) DLBCL 病人外周血中均可以检测到 EBV DNA, 而 EBV (-) DLBCL 检测不到, 且 EBV DNA 在那些获得缓解的患者中其病毒载量下降到无法检测到的水平, 在那些难治性疾病的患者中保持升高, 并在疾病复发之前上升。2015 年 TISI 等^[6]研究发现在 EBV (+) DLBCL 中, 检测外周血中的 EBV DNA 与较差的预后相关。MONTGOMERY 等^[7]在马拉维的一组 EBV (+) DLBCL 患者中采用 RQ-PCR 检测血浆 EBV DNA 发现 EBV DNA 载量高与总生存期 (OS) 降低有关。研究发现在 37 例 EBER (-) DLBCL 中仍然有 12 例外周血 EBV DNA 检测到高拷贝数, 提示许多 DLBCL 患者的血浆 EBV DNA 可能不是肿瘤来源。同样, 在 2017 年, OKAMOTO 等^[8]通过 EBER 原位杂交和 RQ-PCR 检测患者血液中的 EBV DNA 对比研究发现, 在高达 72% 的 EBER(-) 患者中可以检测到 EBV DNA, 但是其 EBV DNA 载量明显低于 EBER(+) 患者, EBV DNA 载量高于 700copies/ μ g 患者的无进展生存期和总生存率显著低于 EBV DNA 载量低于 700copies/ μ g 的患者, EBER(+) 患者的病情进展更快, 但是外周血 EBV DNA 负荷较高的 EBER(-) 患者也会导致较差的无进展生存期和总体生存率, 从而得出结论, 诊断标本中的 EBV DNA 载量不是 EBER 的简单替代, 可能与 DLBCL 预后有一定相关性。

2.1.2 伯基特淋巴瘤: 伯基特淋巴瘤 (Burkitt lymphoma, BL) 是一种高度侵袭性的 B 细胞淋巴瘤, 其

特征在于MYC(一种多效性的转录调节因子)重排,高增殖率。已知BL的三种流行病学类型:地方性,散发性和免疫缺陷相关性,这三种类型在形态和主要染色体变异方面相似,但是,在地理分布、流行病学、分子发生机制以及与EBV的关联方面都有差异。地方性伯基特淋巴瘤主要发生在非洲地区,超过90%的病例中可检测出EBV, STEVENS等^[9]采用RQ-PCR检测出BL患者全血样品中的EBV DNA载量为 $1.4 \times 10^4 \sim 4.5 \times 10^6$ copies/ml,相应的血清样本中EBV DNA载量在 $4.4 \times 10^3 \sim 1.0 \times 10^6$ copies/ml范围内,表明BL患者的细胞内和体液中都可能存在EBV负荷,但主要部分位于细胞内,所以血清EBV水平远低于全血EBV水平,从而认为血清不宜作为监测EBV DNA载量的临床标本。SOLAS-SOL等^[10]对1例21岁腹型EBV(+)BL患者采用RQ-PCR技术监测诊断时和随访期间血浆、白细胞、腹腔细胞、腹腔积液和脑脊液中的EBV DNA载量,发现EBV DNA载量与化疗后患者的临床和生物学缓解状态有较好的相关性,证实了血浆和外周血EBV DNA定量可作为BL的肿瘤载量标志物,可用于EBV(+)BL的监测。KABYEMERA等^[11]采用qPCR检测坦桑尼亚西北部BL患儿外周血EBV DNA负荷,发现其病毒载量(988~6 250 164 copies/ml)明显高于对照组(1 290~19 452copies/ml),研究表明血液中高水平的EBV DNA载量与预后以及化疗结果有关。VELAVAN等^[12]发现患有疟疾的儿童和孕妇的血浆中EBV DNA水平高于没有疟疾感染的儿童和孕妇,表明在疟疾发作期间EBV DNA复制增加,这可能是由于恶性疟原虫与EBV感染的B细胞相互作用所致。这些发现进一步支持了EBV病毒载量与eBL(热带非洲地区特有的伯基特淋巴瘤)的发生有关。

2.1.3 淋巴瘤样肉芽肿:淋巴瘤样肉芽肿病(lymphomatoid granulomatosis, LyG)是一种罕见的与EBV感染相关的B淋巴细胞增生性疾病,病因至今不明,可能为EBV与B细胞CD20受体结合,激活编码一系列加强EBV感染及B细胞增殖的产物^[13]。病理上主要是以血管为中心并伴血管破坏,以及EBV(+)异型性B细胞和大量反应性T细胞为特点。主要累及肺部,其次常侵犯皮肤和中枢神经系统等,临床上约10%~15%将最终转化为淋巴瘤,由于临床发病罕见,目前相关报道多为个案。OCHI等^[14]采用RQ-PCR检测一例淋巴瘤样肉芽肿患者血液中EBV DNA,其载量高达220copies/ml(正常<100copies/ml)。COSTINIUK等^[15]对一例HIV(+)淋巴瘤样肉芽肿患者采用qPCR方法检测到其外周血EBV DNA载量升高至12 434copies/ml,但其脑部病变中

EBV DNA载量低于检测线。淋巴瘤样肉芽肿临床特点常不典型,目前诊断主要依赖于病理活检,而外周血EBV DNA拷贝数在该病中的作用仍需进一步研究。

2.2 T细胞淋巴瘤

2.2.1 NK/T细胞淋巴瘤: NK/T细胞淋巴瘤(NKTCL)是一种具有高度侵袭性的疾病,其发病构成约占所有非霍奇金淋巴瘤(NHL)的15%,在我国该类肿瘤约占所有NHL的23%。NKTCL最常发生在鼻腔,其发病原因尚无明确研究结果,目前发现其与EBV感染有密切联系,在多数患者的肿瘤组织和血液中能够检测出EBV DNA。张静等^[16]采用RT-PCR检测NKTCL患者外周血EBV DNA载量,发现其外周血白细胞EBV DNA载量($2.58 \times 10^5 \sim 8.11 \times 10^6$ copies/ml)高于外周血血浆EBV DNA载量($1.52 \times 10^5 \sim 9.72 \times 10^6$ copies/ml)。研究证实了血液中EBV DNA检测作为辅助诊断NK/T细胞淋巴瘤和评估患者预后的参考指标具有一定的临床应用价值。KWONG等^[17]对56例NKTCL患者230个SMILE疗程中采集的910份血浆样本进行EBV DNA定量检测发现EBV DNA载量的中位数为1 900(0~ 1.4×10^7)IU/ml, EBV DNA载量和治疗反应显著相关。FEI等^[18]进行荟萃分析发现治疗前EBV DNA阳性与NKTCL的总体存活率显著相关,治疗前EBV DNA阳性的患者预后较治疗前EBV DNA阴性的患者差,证实评估治疗前EBV DNA载量可以预测淋巴结外NKTCL患者的不良预后。SUZUKI等^[19]研究发现治疗前血浆EBV DNA似乎比PBMC测量更能反映临床分期、B症状(超过38℃的发热、夜间大汗、就诊前6个月内体重降低超过基线体重的10%)、临床状态和预后,提示血清EBV DNA检测可作为判断NKTCL总体存活率的重要指标。CHO等^[20]发现缓解后循环EBV DNA的阳性转化可能是在治疗后EBV DNA阴性的情况下完全缓解的NKTCL患者复发和亚生存率的重要预测指标,循环EBV DNA载量较高与复发显著相关。KIM等^[21]研究同样表明血浆EBV DNA水平可为EBV感染提供直接证据,是监测NK细胞淋巴瘤疾病进展和评估预后的重要指标。定量检测EBV DNA载量在EBV(+)NKTCL的诊断和鉴别诊断中发挥重要作用,对评估EBV+NKTCL(鼻型)的治疗效果和预后判断有一定作用,血浆中EBV DNA可用作评估其严重程度或预后的生物标志物^[22]。

2.2.2 血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤: 血管免疫母细胞性T细胞淋巴瘤(Angioimmunoblastic T-cell lymphoma, AITL)是一种特殊的外周性T细胞淋巴瘤,多发于中老年人,临床表现为全身淋巴结肿大,

发热,肝脾肿大,常出现胸腔积液和腹腔积液,已知 AITL 和 EBV 感染有关,在大多数 AITL 病例的淋巴结和骨髓中都可以检测到 EBV (+) B 免疫母细胞。ZHOU 等^[23]通过 RT-PCR 检测到的 EBV 和 HHV6 (人疱疹病毒)载量在 AITL 的发生发展过程中有一定作用,但两种病毒最高载量是互斥的。DELFAU-LARUE 等^[24]证明了外周血中 EBV DNA 的存在与循环中的 AITL 肿瘤细胞密切相关,疾病初期出现较高水平的外周血 EBV DNA 载量对常规治疗存在不良反应。LIANG 等^[25]对 60 例 AITL 患者采用 RQ-PCR 检测外周血 EBV DNA 发现,治疗前 EBV DNA 阳性组 (EBV DNA 载量范围为 $8.36 \times 10^3 \sim 5.58 \times 10^6$ copies/ml) 的总生存率比 EBV DNA 阴性组差,EBV DNA 检测阳性是三年无进展生存率和总生存率的独立预后指标,EBV DNA 载量的减少与治疗反应相关。

2.3 霍奇金淋巴瘤 霍奇金淋巴瘤 (HL) 是一种起源于生发中心或生发中心后 B 淋巴细胞的肿瘤,是一种独特的淋巴瘤亚型,患者男性多于女性,在欧美国家具有双峰疾病分布,分别在 15~39 岁和 50 岁以后,而包括中国在内的东亚地区,发病年龄则多在 30~40 岁之间,呈单峰分布。90% 的 HL 以淋巴结肿大为首诊症状,多起始于一组受累的淋巴结,以颈部和纵隔淋巴结最常见,患者初诊时多无明显全身症状,20%~30% 的患者可伴有 B 症状,此外还可以有瘙痒、乏力等症状。根据 2016 年 WHO 淋巴瘤造血组织肿瘤的分类,HL 分为结节性淋巴细胞为主型和经典型 HL 两大类型,其中结节性淋巴细胞为主型少见,约占 HL 的 5%,经典型 HL 可分为 4 种组织学亚型:淋巴细胞为主型 (LP)、结节硬化型 (NS)、混合细胞型 (MC) 和淋巴细胞消减型 (DL)。EBV 感染与 HL 组织学类型有关,混合细胞病病例中更为常见。HL 病理特征是在炎性浸润的背景下存在 HRS 细胞。研究发现约 30%~50% 的 HL 病例可原位杂交检测出 EBV 感染。GANDHI 等^[26]采用 qPCR 检测 HL 患者外周血 EBV DNA,发现进入缓解期的成人和儿童 HL 患者血浆 EBV DNA 载量显著降低至低水平或无法检测到,而治疗反应较差的患者疾病进展与 EBV DNA 水平迅速升高有关。PARK 等^[27]报道在韩国 HL 患者中,全血中 EBV DNA 阳性可能是三年无事件生存期 (EFS) 和总生存期 (OS) 较差的重要预测指标。SINHA 等^[28]采用 RT-PCR 检测印度南部 33 例成人 HL 患者血浆中 EBV DNA 载量,其中 49% (16/33) 的患者血浆中 (病毒载量为 $1.0 \times 10^3 \sim 51.2 \times 10^3$ copies/ml) 治疗前可检测到 EBV DNA,研究发现血浆 EBV DNA 载量评估可能有助于诊断 EBV (+) HL 并监

测其治疗的反应。DINAND 等^[29]采用 qPCR 检测发现 19 例 HL 患者中外周血 EBV DNA 载量为 $5 \times 10^2 \sim 4.3 \times 10^5$ copies/ml,但在开始治疗后不久后便无法检测到,从而认为在 HL 诊断时,血浆 EBV DNA 载量是疾病活动和预后的相关生物学指标,具有晚期疾病、较高预后评分和 B 症状的 HL 患者血浆中 EBV DNA 载量较高。

2.4 EBV 阳性淋巴组织增殖性疾病 EBV 阳性淋巴组织增殖性疾病 (EBV+LPD) 是指 EBV 阳性的具有谱系的一组淋巴组织疾病,是一种全身性系统性淋巴组织病变,临床表现常出现全身淋巴结肿大、高热、肝脾肿大,病程至少 3 个月以上,血清 EBV 抗体滴度或 EBV DNA 载量升高,该病根据临床病理特征又分为三种:1 级 (良性)、2 级 (交界性)、3 级 (肿瘤性)。EBV (+) LPD 分为 EBV (+) B 淋巴细胞增殖性疾病以及 EBV (+) T/NK 细胞增殖性疾病,本病临床上又称为慢性活动性 EBV 感染 (CAEBV),几乎所有患者血清病毒学检测显示外周血 EBV DNA 载量升高或抗 EBV 抗体阳性。骨髓穿刺细胞学检查提示增生性骨髓象,目前其发病机制尚不清楚。JUN-ICHI 等^[30]比较了 59 例 EBV (+) T/NK 淋巴组织增生性疾病患者血液成分中 EBV DNA 负荷,发现血浆病毒载量明显更高。陈天明等^[31]对 13 例 EBV (+) LPD 患儿行全血 EBV DNA 定量检测,发现患儿外周血 EBV DNA 载量显著增高至 $1 \times 10^8 \sim 1 \times 10^{11}$ copies/L。KAWAMOTO 等^[32]通过 RQ-PCR 检测在 97.3% 的 CAEBV 中可检测到外周血 EBV DNA 载量升高 ($\geq 2 \times 10^2$ copies/ml),证实了外周血 EBV DNA 载量升高对于诊断成人和小儿 CAEBV 有用。最近,ARAI 等^[33]报道,在 CAEBV 中细胞毒性 T 细胞数量减少或显示功能障碍,其外周血中 EBV DNA 载量较高。这些发现表明,不确定的免疫抑制疾病可能是 T 或 NK 细胞持续感染的基础。目前血液中 EBV DNA 载量定量是 CAEBV 疾病谱的有用诊断标记,已被广泛用于诊断 CAEBV。

2.5 传染性单核细胞增多症 传染性单核细胞增多症 (infectious mononucleosis, IM) 是一种由 EBV 引起的急性自限性淋巴增生性疾病。典型特征包括发热、咽扁桃体炎、颈部淋巴结病变、脾肿大、亚临床型肝炎和不典型淋巴细胞增多症。IM 多发生在年龄较大的儿童和青少年中,一般预后良好。其特征是外周淋巴细胞增多和存在循环性非典型淋巴细胞。ARAI 等^[34]在一例 22 岁 IM 患者急性期通过 qPCR 检测外周血单个核细胞 EBV DNA,其载量升高至 2.3×10^5 copies/ug,病情逐渐好转后 EBV DNA 载量降至 24 copies/ug。IKUTA 等^[35]通过 qPCR 在

13例血清EBV抗体(-)IM婴儿中发现8例PBMC中检测到EBV DNA,表明qPCR对EBV抗体检测(-)的IM婴儿诊断有重要意义。CAO等^[36]通过对38例IM患者采用不同EBV检测方法,即荧光原位杂交(FISH)、实时PCR与血清学抗体检测,发现FISH和实时PCR比血清学抗体检测更为敏感,检测血液中EBV DNA载量比FISH检测法更可取,并且优于血浆实时PCR,因为它反映了患者体内循环的绝对病毒负荷。喻晶等^[37]采用FQ-PCR研究发现患者血浆中EBV DNA载量均值明显超过了血液淋巴细胞,但是血浆中EBV DNA载量大于 10^5 copies/ml时才可以检出,这可能是感染初期血浆中EBV DNA载量极低或检测不到的原因,当疾病进入进展期,受感染淋巴细胞中的EBV DNA大量复制裂解释放入血,此时便可以在血浆中检测到EBV DNA。大量相关研究表明qPCR检测外周血EBV DNA可作为一种鉴别IM患者的简单方法。

2.6 EBV阳性皮肤黏膜溃疡 EBV阳性皮肤黏膜溃疡(EBV-positive mucocutaneous ulcer,EBV+MCU)是2016年WHO造血与淋巴组织肿瘤分类中新增的一个暂定类型,临床上,EBV(+)MCU发生于浅表、边界清晰的单灶性黏膜或皮肤溃疡,主要见于免疫抑制患者,包括年龄较大、医源性免疫抑制、原发性免疫紊乱和HIV/AIDS相关的免疫缺陷患者等^[38]。EBV(+)MCU的组织学特征是EBV阳性,多形性浸润的背景中可见异型的大细胞,部分为霍奇金样和HRS样大细胞,外周血EBV DNA阴性。DOJCINOV等^[39]最早报道EBV(+)MCU,研究发现该病临床过程具有自限性、惰性的特点,HART等^[40]在70例EBV(+)移植后淋巴组织增殖性疾病(PTLD)患者中发现7例EBV(+)MCU,其中包括5例肾脏、1例心脏和1例肺脏移植,其外周血EBV DNA均为阴性。目前EBV(+)MCU国内外文献罕见,其与EBV DNA的关系有待进一步研究。

3 结语

综上所述,EBV与淋巴组织增生性疾病关系密切,EBV DNA可在EBV相关淋巴增生性疾病患者外周血单核细胞、血浆、全血和组织标本中进行定量,定量聚合酶链反应(qPCR)操作方便,极其灵敏,能够快速准确重复检测病毒载量,更精准地反映EBV感染和病毒复制情况。近年来,EBV DNA载量评估已在临床实践中广泛用于诊断和监测EBV相关淋巴组织增生性疾病,监测外周血EBV-DNA负荷可提供一种监测EBV相关淋巴组织增生性疾病患者体内EBV感染状态的简单方法,已成为诊断EBV相关淋巴组织疾病的重要工具。目前,EBV在不同淋巴组织增生性疾病中的检出率不同,

外周血EBV DNA拷贝数升高已成为传染性单核细胞增多症、EBV+LPD的确诊依据之一,同时EBV DNA定量检测可作为诊断、临床分期、治疗指导以及评估部分EBV相关淋巴瘤进展及预后情况的重要参考指标。

参考文献:

- [1] MUI U N, HALEY C T, TYRING S K. Viral oncology: molecular biology and pathogenesis[J]. *Journal of Clinical Medicine*, 2017, 6(12): 111.
- [2] ABUSALAH M A H, GAN S H, AL-HATAMLEH M AI, et al. Recent advances in diagnostic approaches for Epstein-Barr virus[J]. *Pathogens*, 2020, 9(3): 226.
- [3] SMATTI M K, AL-SADEQ D W, ALI N H, et al. Epstein-barr virus epidemiology, serology, and genetic variability of LMP-1 oncogene among healthy population: an update[J]. *Frontiers in Oncology*, 2018, 8: 211.
- [4] KIM S J, CHOI J Y, HYUN S H, et al. Risk stratification on the basis of Deauville score on PET-CT and the presence of Epstein-barr virus DNA after completion of primary treatment for extranodal natural killer/T-cell lymphoma, nasal type: a multicentre, retrospective analysis[J]. *The Lancet: Haematology*, 2015, 2(2): e66-e74.
- [5] AU Wingyan, PANG Annie, CHOY C, et al. Quantification of circulating Epstein-barr virus (EBV) DNA in the diagnosis and monitoring of natural killer cell and EBV-positive lymphomas in immunocompetent patients[J]. *Blood*, 2004, 104(1): 243-249.
- [6] TISI M C, CUPELLI E, SANTANGELO R, et al. Whole blood EBV-DNA predicts outcome in diffuse large B-cell lymphoma[J]. *Leukemia & Lymphoma*, 2016, 57(3): 628-634.
- [7] MONTGOMERY N D, RANDALL C, PAINSCHAB M, et al. High pretreatment plasma Epstein-barr virus (EBV) DNA level is a poor prognostic marker in HIV-associated, EBV-negative diffuse large B-cell lymphoma in Malawi[J]. *Cancer Medicine*, 2020, 9(2): 552-561.
- [8] OKAMOTO A, YANADA M, INAGUMA Y, et al. The prognostic significance of EBV DNA load and EBER status in diagnostic specimens from diffuse large B-cell lymphoma patients[J]. *Hematological Oncology*, 2017, 35(1): 87-93.
- [9] STEVENS S J, PRONK I, MIDDELDORP J M. Toward standardization of Epstein-barr virus DNA load monitoring: unfractionated whole blood as preferred clinical specimen[J]. *Journal of Clinical Microbiology*, 2001, 39(4): 1211-1216.
- [10] SOLASSOL J, KREUZER K A, LASS U, et al. Epstein-barr virus DNA quantitation assessed by a real-time polymerase chain reaction in a case of Burkitt's lymphoma[J]. *Leuk Lymphoma*, 2001, 41(5-6): 669-673.
- [11] KABYEMERA R, MASALU N, RAMBAU P, et al. Relationship between non-Hodgkin's lymphoma and blood levels of Epstein-barr virus in children in north-western Tanzania: a case control study[J]. *BMC Pediatrics*, 2013, 13(1): 4.
- [12] VELAVAN T P. Epstein-barr virus, malaria and endemic burkitt lymphoma[J]. *EBio Medicine*, 2019, 39(1): 13-14.
- [13] CARBONE A, GLOGHINI A, DOTTI G. EBV-associated lymphoproliferative disorders: Classification and treatment[J]. *Oncologist*, 2008, 13(5): 577-585.
- [14] OCHI N, YAMANE H, YAMAGISHI T, et al.

- Methotrexate-induced lymphoproliferative disease: Epstein-barr virus-associated lymphomatoid granulomatosis[J]. *Journal of Clinical Oncology*, 2013, 31(20): e348-e350.
- [15] COSTINIUK C T, KARAMCHANDANI J, BESSIS-SOW A, et al. Angiocentric lymph proliferative disorder (lymphomatoid granulomatosis) in a person with newly-diagnosed HIV infection: a case report[J]. *BMC Infectious Diseases*, 2018, 18(1): 210.
- [16] 张静, 岳磊, 李颖璐. NK/T 细胞淋巴瘤患者外周血 EB 病毒检测价值分析 [J]. *中国实验血液学杂志*, 2017, 25(2): 460-464.
ZHANG Jing, YUE Lei, LI Yinglu. Clinical significance of peripheral blood EB virus detection in NK/T cell lymphoma patients [J]. *Journal of Experimental Hematology*, 2017, 25(2): 460-464.
- [17] KWONG Y L, PANG A W K, LEUNG A, et al. Quantification of circulating Epstein-Barr virus DNA in NK/T-cell lymphoma treated with the SMILE protocol: diagnostic and prognostic significance[J]. *Leukemia*, 2014, 28(4): 865-870.
- [18] FEI Qian, TIAN Xiaokang, WU Jing, et al. Prognostic significance of Epstein-barr virus DNA in NK/T-cell lymphoma: a meta-analysis[J]. *Onco Targets and Therapy*, 2018, 11: 997-1004.
- [19] SUZUKI R, YAMAGUCHI M, IZUTSU K, et al. Prospective measurement of Epstein-barr virus-DNA in plasma and peripheral blood mononuclear cells of extranodal NK/T-cell lymphoma, nasal type[J]. *Blood*, 2011, 118(23): 6018-6022.
- [20] CHO J, KIM S J, PARK S, et al. Significance of circulating Epstein-Barr virus DNA monitoring after remission in patients with extranodal natural killer T cell lymphoma[J]. *Annals of Hematology*, 2018, 97(8): 1427-1436.
- [21] KIM S J, YOON D H, JACCARD A, et al. A prognostic index for natural killer cell lymphoma after non-anthracycline-based treatment: a multicentre, retrospective analysis[J]. *Lancet Oncology*, 2016, 17(3): 389-400.
- [22] KIMURA H, KWONG Y L. EBV viral loads in diagnosis, monitoring, and response assessment[J]. *Frontiers in Oncology*, 2019, 9: 62.
- [23] ZHOU Yuanping, ATTYGALLE A D, CHUANG S S, et al. Angioimmunoblastic T-cell lymphoma: histological progression associates with EBV and HHV6B viral load[J]. *British Journal of Haematology*, 2007, 138(1): 44-53.
- [24] DELFAU-LARUE M H, DE LEVAL L, JOLY B, et al. Targeting intratumoral B cells with rituximab in addition to CHOP in angioimmunoblastic T-cell lymphoma. A clinicobiological study of the GELA[J]. *Haematologica*, 2012, 97(10): 1594-1602.
- [25] LIANG Jinhua, LU Luo, ZHU Huayuan, et al. The prognostic role of circulating Epstein-barr virus DNA copy number in angioimmunoblastic T-cell lymphoma treated with dose-adjusted EPOCH[J]. *Cancer Research and Treatment*, 2019, 51(1): 150-157.
- [26] GANDHI M K, TELLAM J T, KHANNA R. Epstein-barr virus-associated Hodgkin's lymphoma[J]. *British Journal of Haematology*, 2004, 125(3): 267-281.
- [27] PARK J H, YOON D H, KIM S, et al. Pretreatment whole blood Epstein-barr virus-DNA is a significant prognostic marker in patients with Hodgkin lymphoma[J]. *Annals of Hematology*, 2016, 95(5): 801-808.
- [28] SINHA M, RAO C R, SHAFIULLA M, et al. Plasma Epstein-barr viral load in adult-onset hodgkin lymphoma in South India[J]. *Hematology/Oncology and Stem Cell Therapy*, 2016, 9(1): 8-13.
- [29] DINAND V, SACHDEVA A, DATTA S, et al. Plasma Epstein barr virus (EBV) DNA as a biomarker for EBV associated hodgkin lymphoma[J]. *Indian Pediatrics*, 2015, 52(8): 681-685.
- [30] JUN-ICHI K, YASUKO K, AKIHISA S, et al. Viral DNA loads in various blood components of patients with Epstein-barr virus-positive T/NK cell lymphoproliferative diseases[J]. *J Infect Dis*, 2019, 220(8): 1307-1311.
- [31] 陈天明, 邓志娟, 胡冰, 等. EB 病毒阳性淋巴组织增殖性疾病 13 例临床与病理特征 [J]. *中华儿科杂志*, 2018, 56(10): 759-764.
CHEN Tianming, DENG Zhijuan, HU Bing, et al. Clinical and pathological features of 13 children with Epstein-barr virus-positive lymphoproliferative disease [J]. *Chinese Journal of Pediatrics*, 2018, 56(10): 759-764.
- [32] KAWAMOTO K, MIYOSHI H, SUZUKI T, et al. A distinct subtype of Epstein-barr virus-positive T/NK-cell lymphoproliferative disorder: adult patients with chronic active Epstein-Barr virus infection-like features[J]. *Haematologica*, 2018, 103(6): 1018-1028.
- [33] ARAI A. Advances in the study of chronic active Epstein-barr virus infection: clinical features under the 2016 WHO classification and mechanisms of development[J]. *Frontiers in Pediatrics*, 2019, 7: 14.
- [34] ARAI A, YAMAGUCHI T, KOMATSU H, et al. Infectious mononucleosis accompanied by clonal proliferation of EBV-infected cells and infection of CD8-positive cells[J]. *International Journal of Hematology*, 2014, 99(5): 671-675.
- [35] IKUTA K, SAIGA K, DEGUCHI M, et al. Epstein-barr virus DNA is detected in peripheral blood mononuclear cells of EBV-seronegative infants with infectious mononucleosis-like symptoms[J]. *Virus Genes*, 2003, 26(2): 165-173.
- [36] CAO Pengfei, ZHANG Meili, WANG Wei, et al. Fluorescence in situ hybridization is superior for monitoring Epstein-barr viral load in infectious mononucleosis patients[J]. *BMC Infectious Diseases*, 2017, 17(1): 323.
- [37] 喻晶, 王琳, 卢丽华, 等. 淋巴细胞及血浆 EB 病毒 DNA 在 EBV 感染相关疾病中表达的研究 [J]. *现代检验医学杂志*, 2017, 32(6): 15-18.
YU Jing, WANG Lin, LU Lihua, et al. Expression of Epstein-barr virus DNA in peripheral blood lymphocytes and plasma in patients with EBV-associated diseases [J]. *Journal of Modern Laboratory Medicine*, 2017, 32(6): 15-18.
- [38] IKEDA T, GION Y, YOSHINO T, et al. A review of EBV-positive mucocutaneous ulcers focusing on clinical and pathological aspects[J]. *Journal of Clinical and Experimental Hematopathology*, 2019, 59(2): 64-71.
- [39] DOJCINOV S D, VENKATARAMAN G, RAFFELD M, et al. EBV positive mucocutaneous ulcer-a study of 26 cases associated with various sources of immunosuppression[J]. *The American Journal of Surgical Pathology*, 2010, 34(3): 405-417.
- [40] HART M, THAKRAL B, YOHE S, et al. EBV-positive mucocutaneous ulcer in organ transplant recipients: a localized indolent posttransplant lymphoproliferative disorder[J]. *The American Journal of Surgical Pathology*, 2014, 38(11): 1522-1529.

收稿日期: 2020-11-03

修回日期: 2020-11-23