

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.36.017

# 人巨细胞病毒感染与婴儿肝炎综合征及肝功能损害的相关性研究

刘燕琼, 秦雪, 彭契六, 邓燕, 王健, 谢丽, 李泰阶, 何雨, 李山<sup>△</sup>  
(广西医科大学第一附属医院检验科, 南宁 530021)

**摘要:**目的 探讨人巨细胞病毒(HCMV)感染与婴儿肝炎综合征(IHS)和肝功能损害的关系。方法 采用荧光定量 PCR 对 236 例 IHS 患儿和对照组健康婴儿行尿 HCMV DNA 检测,并对 254 例 HCMV 感染阳性的患儿行肝功能回顾性分析。结果 236 例 IHS 患儿尿 HCMV DNA 阳性率为 62.7%(148/236)。IHS 患儿 HCMV DNA 和 HCMV IgM 阳性率明显高于对照组,差异有统计学意义( $P < 0.01$ )。254 例 HCMV 感染阳性的患儿肝功能指标:血清总胆红素(TBIL)、谷氨酰转氨酶(GGT)、总胆汁酸(TBA)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)和丙氨酸氨基转移酶(ALT)均高于正常参考范围,差异均有统计学意义( $P < 0.01$ )。结论 广西地区 IHS 患儿 HCMV 检出率高,HCMV 是 IHS 的重要病原体,对婴儿肝功能有损害。

**关键词:**人巨细胞病毒;婴儿肝炎综合征;肝功能

中图分类号:R725

文献标识码:A

文章编号:1671-8348(2014)36-4903-03

## Study on correlation between human cytomegalovirus infection with infantile hepatitis syndrome and hepatic function damage

Liu Yanqiong, Qin Xue, Peng Qiliu, Deng Yan, Wang Jian, Xie Li, Li Taijie, He Yu, Li Shan<sup>△</sup>

(Department of Clinical Laboratory, First Affiliated Hospital of Guangxi Medical University, Nanning, Guangxi 530021, China)

**Abstract:** Objective To explore the correlation between human cytomegalovirus(HCMV) infection with infantile hepatitis syndrome(IHS) and hepatic function damage. **Methods** The real-time fluorescent quantitative polymerase chain reaction(PCR) was adopted to test the urine HCMV DNA in 236 infants with IHS and 236 healthy infants, respectively. The hepatic functions in 254 infants with HCMV infection were analyzed retrospectively. **Results** Among these 236 cases of IHS, the positive rates of HCMV DNA in urine sample was 62.7%(148/236). The positive rates of HCMV DNA and HCMV IgM in the IHS group were significantly higher than those in the control group with statistical difference( $P < 0.01$ ). The liver function indexes in 254 infants with HCMV infection showed that the serum concentrations of total bilirubin(TBIL), gamma glutamyl transpeptidase(GGT), total bile acid(TBA), aspartate aminotransferase(AST) and alanine aminotransferase(ALT) were higher than the normal reference ranges, and the differences were statistically significant( $P < 0.01$ ). **Conclusion** The detection rate of HCMV infection is high among the infants with IHS in Guangxi area and HCMV is an important pathogen of IHS. HCMV may lead to hepatic function damage.

**Key words:** human cytomegalovirus; infantile hepatitis syndrome; hepatic function

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是人类疱疹病毒中最大的一种,为双链线状 DNA 病毒。HCMV 感染在发展中国家广泛分布,已经成为先天性感染的最常见的病因,大约 0.25%~2.00% 的新生儿感染 HCMV。在绝大多数免疫功能正常的个体, HCMV 感染常无症状;但在免疫抑制个体,胎儿和幼小婴儿可出现明显病症,婴幼儿以肝炎、肺炎多见<sup>[1]</sup>。

婴儿肝炎综合征(infantile hepatitis syndrome, IHS)是指出生 6 个月以内的婴儿在临床上有黄疸、肝脏肿大及肝功能异常表现而未发现明确病因的疾病统称<sup>[2]</sup>。患儿可有感染如脐炎、皮肤脓疱疮、消化道感染等,亦可出现其他症状如发热、恶心、呕吐、腹泻,少数重症患儿病程较长可致肝硬化、肝衰竭<sup>[3]</sup>。IHS 病因复杂,病毒感染是其主要病因之一,包括 HCMV、肝炎病毒(甲型、乙型和丙型肝炎病毒)、EB 病毒、风疹病毒、单纯疱疹病毒、肠道病毒等<sup>[4-5]</sup>。

近年来,中国已经开展了 ISH 和 HCMV 感染关系的研究<sup>[6-7]</sup>,但现有的研究结果相差较大,样本数量较少,而且在广西人群中并未见有相关报道。本研究对 236 例广西 ISH 患儿(ISH 组)和 236 例健康对照婴儿(对照组)进行了尿液 HCMV DNA 和血清 HCMV IgM 的检测,探讨 ISH 与 HCMV 感染的关系;同时对 254 例 HCMV 感染患儿进行肝功检查,旨在探讨

婴儿 HCMV 感染情况及与肝功能损害间的关系,借以对 ISH 进行早期预防、治疗、干预,延缓各种急慢性并发症的发生、发展,从而改善患儿的生活质量。

### 1 资料与方法

**1.1 一般资料** (1)ISH 组:所选病例为本院 2011 年 1 月至 2013 年 7 月收治的 ISH 患儿 236 例,其中男 148 例,女 88 例。月龄 1~7 个月,其中小于 1 个月 70 例,1~<2 个月 115 例,2~<3 个月 35 例,3~<4 个月 10 例,4~<5 个月 3 例,5~<7 个月 3 例,平均月龄 2.1 个月。患儿临床表现为黄疸、肝脏肿大(右锁骨中线肋下 2.5 cm)、肝脏总胆红素及直接胆红素均增高(直接胆红素/总胆红素 50%~60%)、血清丙氨酸氨基转移酶(alanine aminotransferase, ALT)增高,符合 ISH 的诊断标准<sup>[2]</sup>。(2)对照组:选择 2011 年 11 月至 2013 年 7 月在本院查体的健康儿童 236 例,其中男 148 例,女 88 例,年龄 1~12 个月,平均 3.5 个月。ISH 组和对照组婴儿的性别、年龄间差异无统计学意义( $P > 0.05$ )。收集两组婴儿晨尿采用荧光定量 PCR 技术检测 HCMV DNA,收集血清采用 ELISA 法检测 HCMV IgM。(3)HCMV 阳性病例组:选取本院 2011 年 1 月至 2013 年 7 月收治的 HCMV 感染患儿。患儿尿液检出 HCMV DNA 和(或)血清 HCMV IgM 阳性即诊断为 HCMV 感

染<sup>[8]</sup>,临床诊断为 IHS、胆道闭锁、胆总管囊肿疾病的患儿排除在外。符合条件患儿共 254 例,其中男 159 例(62.6%),女 95 例(37.4%)。HCMV 阳性病例组、对照组行肝功能指标血清总胆红素(total bilirubin, TBIL)、谷氨酰转氨酶(gamma-glutamyl transpeptidase, GGT)、总胆汁酸(total bile acid, TBA)、天冬氨酸氨基转移酶(aspartate aminotransferase, AST)和 ALT 的回顾性分析。所有研究对象的性别、年龄、临床诊断等临床信息以及检验结果均可在本院的实验室信息系统(laboratory information management system, LIS)查询。

## 1.2 方法

**1.2.1 标本采集及保存** 每例尿液标本留取 10 mL,置于 15 mL 离心管中。在无菌操作下采集静脉血 3~5 mL,分离血清,避免溶血标本。如不能马上检测,将标本置于 -20 ℃ 存放。

**1.2.2 HCMV DNA 检测** 荧光定量 PCR 试剂盒由中山大学达安基因股份有限公司提供,PCR 扩增仪为中山大学达安基因股份有限公司的 DA7600 自动荧光检测仪。(1)尿液核酸提取过程:尿液混匀后用带滤芯吸嘴吸取 1 mL 于 1.5 mL 无菌离心管中,12 000 r/min 离心 5 min,弃上清液,在沉淀中加 50  $\mu$ L DNA 提取液,振荡混匀 10 s,100 ℃ 干浴 10 min,取出 12 000 r/min,离心 5 min,取上清液 5  $\mu$ L 加入配套 PCR 反应体系中。(2)PCR 扩增条件:95 ℃ 预变性 5 min,95 ℃ 变性 1 min,65 ℃ 退火 40 s,72 ℃ 延伸 1 min,共 35 个循环,最后 72 ℃ 再延伸 5 min。试剂盒提供的病毒阳性参考品( $10^4 \sim 10^7$ )以及阴性对照同时扩增,得出所测样本中的核酸载量值用拷贝/mL 表示。(3)结果判读:每次试验中,阴性对照的(循环阈值)CT 值不显示任何数值,阳性参考品的标准曲线的  $r$  值大于或等于 -0.98。记录仪器自动分析计算出的未知标本数值,阳性样本的扩增曲线呈标准 S 型,测定拷贝数大于或等于 500 拷贝/mL。

**1.2.3 HCMV 血清学 IgM 抗体检测** 应用 ELISA 法,用北京贝尔生物工程有限公司提供的配套试剂盒进行检测。试验严格按照说明书操作,每次试验都设阳性对照、阴性对照。

**1.2.4 肝功能指标检测** TBIL、GGT、TBA、AST 和 ALT 使用日立 7600 全自动生化仪检测,并采用其配套质控品、校准品及试剂,检测系统具有溯源性,参加卫生部临床检验中心室内质评合格。

**1.3 统计学处理** 采用 SPSS 16.0 统计分析软件处理数据。计数资料用率表示,采用  $\chi^2$  检验;计量资料用  $\bar{x} \pm s$  表示,采用

$t$  检验进行统计学分析, $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 荧光定量 PCR 与 ELISA 检测 HCMV 的结果** 对比 236 例 ISH 患儿尿液 HCMV DNA 阳性 148 例,血清 HCMV IgM 抗体阳性 95 例,IgM 和 DNA 的检出率分别为 62.7% 和 40.3%,见表 1。两种方法检出率比较,差异有统计学意义( $\chi^2 = 23.826, P < 0.01$ ),荧光定量 PCR 阳性检出率更高。

**2.2 肝炎综合征患儿 HCMV 感染水平** 本研究纳入的 236 例 ISH 患儿发病年龄以 2 个月以内者最多,共 185 例,占总数 78.4%,如表 1 所示。236 例 ISH 患儿经荧光定量 PCR 技术检测尿液 HCMV DNA 阳性 148 例,占总数 62.7%,对照组小儿尿液 HCMV DNA 阳性率为 5%。经  $\chi^2$  检验,两组 HCMV DNA 阳性检出率差异有统计学意义( $\chi^2 = 197.8, P < 0.01$ ),ISH 患儿组尿液 HCMV DNA 阳性率更高。236 例 ISH 患儿经 ELISA 技术检测血清 HCMV IgM 抗体阳性 95 例,占总数 40.3%,对照组阳性率 1.3%。经  $\chi^2$  检验,两组 HCMV IgM 抗体阳性率相比差异有统计学意义( $\chi^2 = 109.0, P < 0.01$ ),ISH 患儿组血清 HCMV IgM 抗体阳性率更高。

表 1 两组荧光定量 PCR 与 ELISA 检测结果比较[n(%)]

组别	n	尿 HCMV DNA(+)	血清 HCMV IgM(+)
ISH 组	236	148(62.7)	95(40.3)
<1 个月	70	33(14.0)	26(11.0)
1~<2 个月	115	79(33.5)	48(20.3)
2~<3 个月	35	25(10.6)	14(5.9)
3~<4 个月	10	7(3.0)	4(1.7)
4~<5 个月	3	2(0.8)	2(0.8)
5~<7 个月	3	2(0.8)	1(0.4)
对照组	236	5(2.1)	3(1.3)

**2.3 HCMV 感染与肝功能分析** 本研究共纳入符合条件的 254 例 HCMV 感染患儿,进行肝功能指标分析,结果 TBIL、GGT、TBA、AST 和 ALT 5 个指标平均值均高于参考范围,对照组 5 个肝功能指标平均值在正常参考值范围内,两组 5 个肝功能指标比较,差异均有统计学意义( $P < 0.05$ ),HCMV 感染患儿肝功能指标比对照组差,见表 2。

表 2 HCMV 阳性组和对照组肝功能分析( $\bar{x} \pm s$ )

组别	n	TBIL( $\mu$ mol/L)	GGT(U/L)	TBA( $\mu$ mol/L)	AST(U/L)	ALT(U/L)
HCMV 阳性组	254	44.15 $\pm$ 4.83	195.48 $\pm$ 255.19	60.66 $\pm$ 73.41	104.71 $\pm$ 101.05	85.58 $\pm$ 78.30
对照组	236	8.57 $\pm$ 3.79	32.23 $\pm$ 20.99	5.76 $\pm$ 7.60	27.71 $\pm$ 12.70	22.26 $\pm$ 12.25
t		4.091	3.550	4.142	4.209	4.448
P		<0.01	0.01	<0.01	<0.01	<0.01

参考范围:TBIL 3.4~17.1  $\mu$ mol/L;GGT 10~50 U/L;TBA 0~10  $\mu$ mol/L;AST 15~45 U/L;ALT 9~60 U/L。

## 3 讨论

本研究针对广西 IHS 患儿,采用荧光定量 PCR 技术和传统的 ELISA 技术对 HCMV 病毒进行检测,研究表明,IHS 患儿 HCMV DNA 以及 HCMV IgM 抗体明显高于对照组婴儿,差异有统计学意义( $P < 0.05$ ),即 IHS 与 HCMV 感染有关。IHS 患儿 HCMV DNA 和 HCMV IgM 阳性检出率分别为 62.7% 和 40.3%,其 IgM 阳性检出率与樊志荣等<sup>[7]</sup>的研

究结果(40.0%)相近,但比其 DNA 阳性检出率(44.0%)更高,表明 HCMV 是 IHS 的重要病原,应引起临床医生对此病毒感染的高度重视。HCMV 感染人体后可从唾液、尿液、乳汁、血液中排出病毒,血清和尿液等均可用于临床检测<sup>[8-9]</sup>,血清 HCMV IgM 抗体和尿 HCMV DNA 同时检测可提高 HCMV 感染的诊断率,有利于临床分析患儿的感染情况,以便及时采取合理的治疗方案<sup>[10]</sup>,本研究也与该观点符合。

HCMV 感染在我国广泛流行,胎儿及免疫力低下的婴儿易受侵害。HCMV 临床发病及转归受机体免疫力影响,较大婴幼儿 HCMV 感染后,多无症状或表现为与其他病毒感染类似症状,如发热、呼吸道症状,不留后遗症。婴幼儿 HCMV 感染后常累及肝脏,造成肝功能损害等,可引起 HCMV 肝炎、HCMV 肺炎、多器官功能损害如智力低下、耳聋、视力障碍等<sup>[8]</sup>。本研究选取广西 254 例 HCMV 感染患儿行肝功能指标检测,与对照组相比,ISH 组的肝功能 TBIL、GGT、TBA、AST 和 ALT 5 个指标平均值均高于参考范围,表示 HCMV 感染患儿有不同程度的肝功能损害,这可能与 HCMV 感染后较易侵犯肝上皮系统,引起黄疸及其他肝脏损害有关<sup>[11]</sup>。本研究结果同时也提示,对有肝功能损害患儿要考虑可能存在 HCMV 的感染,应尽早做相应的 HCMV 检查,早排除、早诊断、早治疗,防止 HCMV 对患儿造成更大的损害。

HCMV 感染参与部分 ISH 的发生、发展,鉴于 HCMV 的广泛流行以及 IHS 可能给患儿带来的严重后果,临床医生应该对此高度重视,积极治疗。对于 IHS 患儿,通常采用护肝、退黄、防治出血及病因治疗。查明原因后应按原发疾病的治疗原则进行治疗。有感染时,可适当选用抗菌药物或考虑病毒感染时给予更昔洛韦和干扰素等<sup>[2]</sup>,但要密切关注治疗过程中可能出现的不良反应<sup>[12]</sup>。对于 HCMV 感染的治疗,不仅要对患者进行对症治疗,而且要判断病毒感染的来源,如果来自母乳就应该切断病毒的来源以免反复感染导致治疗的失败。

综上所述,本研究通过回顾性研究发现广西 IHS 患儿 HCMV 感染水平较高,HCMV 感染为 IHS 主要病因之一;HCMV 感染可导致肝功能损害,但确切机制尚不清楚,有待进一步研究阐明。

#### 参考文献:

- [1] 肖咏梅,胡志红.不同年龄阶段儿童巨细胞病毒感染的临床表现差异[J].中国当代儿科杂志,2010,12(1):21-23.
- [2] 何念海.婴儿肝炎综合征[J].实用肝脏病杂志,2012,15(6):484-486.
- [3] 徐灵敏.婴儿肝炎综合征[J].中国临床医生,2011,39(5):13-15.
- [4] 李晓峰,蔡耘,婁娟,等.婴儿肝炎综合征的病因、合并症及治疗分析——附 238 例分析[J].新医学,2009,40(9):592-594.
- [5] 胡怡,刘岚,廖旭东.183 例婴儿肝炎综合征患儿病原检测及分析[J].重庆医学,2000,29(2):148-149.
- [6] 王宝香,朱润庆.婴儿肝炎综合征、胆道闭锁、胆总管囊肿与巨细胞病毒感染的关系[J].世界华人消化杂志,2006,14(17):1745-1747.
- [7] 樊志荣,林彦伟,刘志英.婴儿肝炎综合征巨细胞病毒感染的研究[J].武警医学院学报,2002,11(2):84-86.
- [8] 段泓宇,喻韬,万朝敏.巨细胞病毒感染诊断及治疗进展[J].中华妇幼临床医学杂志,2010,6(1):68-71.
- [9] 赵巍松,刘伶,杨飞.母乳及婴儿血液、尿液人巨细胞病毒 DNA 检测在婴儿 HCMV 感染中的应用[J].中国实验诊断学,2013,17(6):1059-1061.
- [10] Enan KA, Rennert H, El-Eragi AM, et al. Comparison of Real-time PCR to ELISA for the detection of human cytomegalovirus infection in renal transplant patients in the Sudan[J]. Virology J, 2011(8):222.
- [11] 杨波,李刚,孙正芸,等.更昔洛韦治疗婴儿巨细胞病毒性肝炎与肝功能损害相关性研究[J].医学理论与实践,2001,14(6):482-485.
- [12] 孙佃军.更昔洛韦治疗婴儿巨细胞病毒性肝炎不良反应的临床观察[J].重庆医学,2011,40(13):1307-1308.
- [1] 肖咏梅,胡志红.不同年龄阶段儿童巨细胞病毒感染的临床表现差异[J].中国当代儿科杂志,2010,12(1):21-23.
- [8] Quddus MR, Manna P, Sung CJ, et al. Prevalence, distribution, and viral burden of all 15 high-risk human papillomavirus types in adenocarcinoma of the uterine cervix: a multiplex real-time polymerase chain reaction-based study[J]. Hum Pathol, 2014, 45(2):303-309.
- [9] Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice[J]. J Natl Cancer Inst, 2005, 97(14):1072-1079.
- [10] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6):518-527.
- [11] de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(11):1048-1056.
- [12] Chung CH, Gillison ML. Human papillomavirus in head and neck cancer: its role in pathogenesis and clinical implications[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(22):6758-6762.
- [13] Lai CH, Chang CJ, Huang HJ, et al. Role of human papillomavirus genotype in prognosis of early-stage cervical cancer undergoing primary surgery[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(24):3628-3634.
- [14] 孔令蕤.人乳头状瘤病毒不同基因型感染与宫颈病变的关系[D].衡阳:南华大学,2007.
- [15] Asiaf A, Ahmad ST, Mohammad SO, et al. Review of the current knowledge on the epidemiology, pathogenesis, and prevention of human papillomavirus infection[J]. Eur J Cancer Prev, 2014, 23(3):206-224.
- [16] Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(1):11-22.
- [17] Shi Y, Li L, Hu Z, et al. A genome-wide association study identifies two new cervical cancer susceptibility loci at 4q12 and 17q12[J]. Nat Genet, 2013, 45(8):918-922.

(收稿日期:2014-06-08 修回日期:2014-09-19)

(上接第 4902 页)

- [8] Quddus MR, Manna P, Sung CJ, et al. Prevalence, distribution, and viral burden of all 15 high-risk human papillomavirus types in adenocarcinoma of the uterine cervix: a multiplex real-time polymerase chain reaction-based study[J]. Hum Pathol, 2014, 45(2):303-309.
- [9] Khan MJ, Castle PE, Lorincz AT, et al. The elevated 10-year risk of cervical precancer and cancer in women with human papillomavirus (HPV) type 16 or 18 and the possible utility of type-specific HPV testing in clinical practice[J]. J Natl Cancer Inst, 2005, 97(14):1072-1079.
- [10] Munoz N, Bosch FX, de Sanjose S, et al. Epidemiologic classification of human papillomavirus types associated with cervical cancer[J]. N Engl J Med, 2003, 348(6):518-527.
- [11] de Sanjose S, Quint WG, Alemany L, et al. Human papillomavirus genotype attribution in invasive cervical cancer: a retrospective cross-sectional worldwide study[J]. Lancet Oncol, 2010, 11(11):1048-1056.
- [12] Chung CH, Gillison ML. Human papillomavirus in head and neck cancer: its role in pathogenesis and clinical implications[J]. Clin Cancer Res, 2009, 15(22):6758-6762.
- [13] Lai CH, Chang CJ, Huang HJ, et al. Role of human papillomavirus genotype in prognosis of early-stage cervical cancer undergoing primary surgery[J]. J Clin Oncol, 2007, 25(24):3628-3634.
- [14] 孔令蕤.人乳头状瘤病毒不同基因型感染与宫颈病变的关系[D].衡阳:南华大学,2007.
- [15] Asiaf A, Ahmad ST, Mohammad SO, et al. Review of the current knowledge on the epidemiology, pathogenesis, and prevention of human papillomavirus infection[J]. Eur J Cancer Prev, 2014, 23(3):206-224.
- [16] Woodman CB, Collins SI, Young LS. The natural history of cervical HPV infection: unresolved issues[J]. Nat Rev Cancer, 2007, 7(1):11-22.
- [17] Shi Y, Li L, Hu Z, et al. A genome-wide association study identifies two new cervical cancer susceptibility loci at 4q12 and 17q12[J]. Nat Genet, 2013, 45(8):918-922.

(收稿日期:2014-07-08 修回日期:2014-08-19)