文章编号:1000-5404(2007)07-0623-03

论著

细胞因子水平改变在婴儿巨细胞病毒感染中的临床意义

熊 菀[1],刘 瑜[2],陈 琼[3],吴 扬[3] (重庆医科大学附属儿童医院:[1]感染消化科,[2]临床微生物实验室,[3]检验科,重庆 400014)

提 要:目的 了解巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染婴儿血清TNF-α、IFN-γ、IL-4水平变化,探讨其在炎症发生过程中的作用。**方法** 41例CMV-IgM阳性、其他疾病组和30例CMV-IgM阳性、肝炎组作为观察对象,30例健康婴儿作为对照(对照组),ELISA法检测血清TNF-α、IFN-γ、IL-4,并分析TNF-α和ALT的相关性。**结果** 与对照组相比,两组CMV-IgM阳性患儿TNF-α、IFN-γ、IL-4均高于对照组,IFN-γ/IL-4值显著低于对照组。肝炎组与其他疾病组相比较,TNF-α、IL-4、IFN-γ/IL-4值的改变具有显著性差异,且肝炎组TNF-α和ALT值呈显著正相关($r=0.76$, $P<0.01$),而IFN-γ在其他疾病组和肝炎组增高均不明显。**结论** CMV感染后导致患儿细胞因子分泌紊乱,表现为TNF-α水平增高,且与肝功能损害的程度密切相关;同时IFN-γ/IL-4值变化则提示由于Th_2功能异常增高而导致Th_1和Th_2平衡失调。该研究结果对于阐明CMV感染的发病机制,改善CMV感染的防治措施提供了免疫学依据。

关键词:巨细胞病毒感染;肿瘤坏死因子-α;γ-干扰素;白细胞介素-4
中图法分类号:R392.11;R725.1 **文献标识码**:A

Changes of serum cytokines and their clinical significance in infants with cytomegalovirus infection

XIONG Wan[1], LIU Yu[2], CHEN Qiong[3], WU Yang[3] ([1]Department of Infectious Diseases and Gastroenterology, [2]Microbiological Laboratory, [3]Department of Laboratory Medicine, Children's Hospital, Chongqing Medical University, Chongqing 400014, China)

Abstract: Objective To investigate the changes of serum cytokines and explore their role in infants with cytomegalovirus (CMV) infection. **Methods** We recruited 41 positive CMV-IgM plus normal ALT infants (other disease group), 30 positive CMV-IgM plus abnormal ALT infants (hepatitis group) and 30 healthy infants (control group) in the study. The levels of tumor necrosis factor-α (TNF-α), interferon-γ (IFN-γ) and interleukin-4 (IL-4) in serum were measured with ELISA. The association between TNF-α and ALT was analyzed. **Results** The levels of TNF-α, IFN-γ, IL-4 were higher, and IFN-γ/IL-4 was significantly lower in the two CMV infection groups than the control group. Compared with other disease group, the changes of TNF-α, IL-4, and IFN-γ/IL-4 showed significance in hepatitis group. The level of TNF-α showed a positive association with ALT in hepatitis group ($r=0.76$, $P<0.01$), but IFN-γ increased slightly in both groups. **Conclusion** Abnormal cytokines secretion is corroborated in CMV-infected infants exhibited by the high levels of TNF-α as well as a close correlation with the inflammation extent. The changes of IFN-γ/IL-4 suggest the imbalance of Th_1/Th_2 induced by the abnormal elevation of Th_2. The conclusion will provide the immunological basis to clarify the pathogenesis of CMV infection and improve the prevention and cure measures.

Key words: cytomegalovirus infection; tumor necrosis factor-α; interferon-γ; interleukin-4

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)为常见人体感染病毒。在健康宿主中,CMV感染多为隐性感染,但是在免疫能力低下时,如胎儿和新生儿、先天性免疫缺陷病、器官移植和艾滋病患者则可发生危及生命的病变。临床上可引起肝炎、肺炎、脑炎、多发性神经根炎、某些肿瘤等疾病[1]。而在有症状的新生儿CMV感染中,CMV肝炎发病率最高,其死亡率高达20%。因此,对CMV感染的研究一直是国际上医学界

作者简介:熊 菀(1962-),女,上海市人,硕士,副教授,主要从事小儿肝病方面的研究。电话:(023)63622914, E-mail:xiongwan1962@yahoo.com.cn

收稿日期:2006-10-13;修回日期:2006-12-25

关注的热点[2]。目前的研究已证实其发病机制与CMV感染后导致的机体免疫功能异常有关，而细胞因子的改变和细胞因子网络的失衡在其发病机制中起到重要的作用。为了探讨CMV感染后相关细胞因子水平的变化情况，我们检测了2组CMV感染患儿血清中TNF-α、IFN-γ、IL-4的含量，并结合肝功能(ALT)的变化情况进行相关分析，现将结果报告如下。

1 资料与方法

1.1 临床资料

根据中华医学会儿科学分会感染消化学组制定的诊断标准[3]收集2005年3－8月在我院住院诊断为CMV感染患儿，共71例，其中男性43例，女性28例，年龄为1～12(7.45±4.62)个月。临床主要表现为肝炎、肺炎、血小板减少性紫癜、先天性胆道畸形等。根据有无肝功能损害(以ALT值为主要参考指标)分为CMV阳性/其他疾病组，共41例(肺炎32例、血小板减少性紫癜7例、先天性胆道畸形2例)，其中男性25例，女性16例，年龄为1～12(7.89±4.13)个月；CMV阳性/肝炎组，共30例，其中男性17例，女性13例，年龄为1～12(8.54±3.96)个月；正常对照组30例，为门诊体检健康的婴儿，其中男性19例，女性11例，年龄为1～12(6.85±5.16)个月。3组患儿的性别、年龄等构成均无显著性差异($P>0.05$)。

1.2 方法

1.2.1 病原学检查　采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测血清CMV-IgM。抗体试剂由晶美生物技术有限公司(深圳，批号2005-04)提供，操作过程严格按试剂盒说明进行。CMV-IgM(+)定为CMV感染。

1.2.2 细胞因子检测　血清TNF-α、IFN-γ和IL-4的检测采用ELISA方法，试剂盒购自晶美生物技术有限公司(深圳，批号2005-04)，操作过程严格按试剂盒说明进行。并设阳性和阴性对照。

1.2.3 肝功能检测　ALT采用美国德林公司杜邦全自动生化分析仪(BIMEN SION RSL)检测，操作过程严格按试剂盒说明进行。

1.3 统计学处理

数据以$\bar{x}\pm s$表示，应用SPSS 10.5统计软件进行单因素方差分析，组间均数比较行t检验。TNF-α和ALT值之间的关系采用直线相关性分析。

2 结果

2.1 各组血清TNF-α、IFN-γ、IL-4水平及IFN-γ/IL-4值

两组CMV感染患儿血清TNF-α、IFN-γ、IL-4水平均呈不同程度增高，与对照组相比较均有显著性差异($P<0.05$，$P<0.01$)；而两组CMV感染患儿IFN-γ/IL-4值与对照组相比则均有明显的降低，尤以肝炎组降低更为显著($P<0.05$，$P<0.01$)。见表1。

表1 3组血清TNF-α、IFN-γ、IL-4水平及IFN-γ/IL-4值比较($\bar{x}\pm s$)

组别	n	TNF-α(ng/L)	IFN-γ(ng/L)	IL-4(ng/L)	IFN-γ/IL-4
CMV/其他疾病组	41	324.74±39.70[b]	281.22±37.83[b]	64.11±19.81[b]	4.02±1.98[a]
CMV/肝炎组	30	448.07±122.7[bd]	308.73±51.62[b]	103.62±36.53[bd]	2.99±1.35[bc]
正常对照组	30	190.64±48.79	156.97±26.25	23.82±8.48	6.78±2.42

a：$P<0.05$，b：$P<0.01$，与正常对照组比较；c：$P<0.05$，d：$P<0.01$，与其他疾病组比较

2.2 血清TNF-α与ALT水平相关性分析

将肝炎组患儿血清TNF-α水平与ALT水平进行相关分析，结果显示TNF-α水平的变化与ALT水平的变化呈显著的正相关($r=0.76$，$P<0.01$)。

3 讨论

巨细胞病毒感染已成为严重威胁儿童健康的常见病，围产期胎儿及婴儿是感染该病毒的高发期，可导致多种器官系统的损害。在CMV感染机体的免疫应答过程中，免疫细胞及其分泌的细胞因子在免疫防御和免疫病理过程中发挥着重要的作用。

细胞因子(cytokine)是由多种细胞分泌的、能调节免疫功能、参与细胞生长分化及炎症反应的一种分泌型蛋白质。细胞因子的变化与病毒感染密切相关：一方面有些病毒的感染能诱导宿主细胞产生某些细胞因子，另一方面细胞因子又能刺激或抑制病毒在宿主细胞中的增殖。

本研究选择TNF-α、IFN-γ和IL-4 3种细胞因子作为检测指标来观察他们在CMV感染后的变化情况，其主要目的是：①CMV感染引起的炎症反应，必然会导致炎症因子如TNF-α的变化，而TNF-α的变化与炎症的关系如何是我们观察的重点之一。②CMV感染后将导致机体的免疫反应，即细胞免疫和体液免疫，其目的是抵御CMV对机体的侵袭。在此过程中，辅助性T细胞(Th)(包括Th_1和Th_2细胞)发挥着非常重要的作用，而Th_1细胞主要分泌IL-2、IFN-γ，这些细胞因子在对抗胞内病原体(如病毒)感染中发挥重要作用；Th_2细胞主要分泌IL-4、IL-13等，与体液免疫的发生和调节有关。在正常情况下，Th_1/Th_2功能处于相对的平衡状态，在某些疾病或炎症状态下，两者将出现平衡失调[4]。故我们以IFN-γ代表Th_1功能，IL-4代表Th_2功能，观察CMV感染后IFN-γ/IL-4平衡状态的变化情况，用以探讨CMV感染的免疫病理机制。

众所周知，TNF-α主要由激活的单核巨噬细胞和淋巴细胞分泌产生，TNF-α和IFN-γ在HCMV感染中有双重作用，表现为抵抗HCMV复制发挥抗感染效应和促进HCMV复制，加重HCMV感染和局部组织浸润、加重肝等部位的免疫损伤两个方面[5]。本研究结

果显示，2组患儿血清TNF-α水平均明显升高，肝炎组TNF-α水平较其他疾病组增高更为显著，且TNF-α升高的水平与ALT升高的水平成高度的正相关。此与Numazaki[6]的临床观察相一致。金红等[7]将CMV肝炎患儿与正常新生儿血清TNF-α水平进行比较显示CMV肝炎患儿血清TNF-α水平明显高于对照组，TNF-α水平可能肝功能损害的病理变化和病损程度有密切联系。因此，我们认为TNF-α的高低与CMV感染严重程度有较密切的相关性，可以作为CMV活动性感染及估计预后的一项参考指标。

IFN-γ主要由活化的T淋巴细胞和NK细胞产生，可诱导MHCⅡ类抗原的表达，进而增强这些细胞的免疫原性及T细胞对其的识别能力，产生免疫应答。IFN-γ可以使抗原MHCⅡ类抗原的表达异常，为加重自身免疫反应损伤的重要因素。

白细胞介素4-(IL-4)是由活化的Th_2细胞产生的一种细胞因子，具有多种生物学功能。概括起来，IL-4主要在下述几个方面发挥重要作用：①B细胞生长分化及抗体同种型表达的调节；②促进B细胞表达CD23和MHC-Ⅰ类分子；③刺激T细胞生长分化和杀伤T细胞(CTL)的生成；④诱导单核-巨噬细胞表达MH C-Ⅱ类抗原及促进其杀伤寄生虫和某些肿瘤细胞效应等。

2组血清IFN-γ、IL-4水平均呈不同程度升高，表明细胞免疫和体液免疫都参与了CMV感染的免疫应答，但两者升高程度却不一致，即IL-4升高幅度明显高于IFN-γ，从而导致IFN-γ/IL-4的值也发生变化。细胞因子可阻止CMV蛋白产生，虽然此作用是部分的、暂时的，但有助于早期控制感染，直到更有利的、特异的免疫机制出现[8]。我们的研究结果与文献[9]报道均表明IFN-γ/IL-4比值是随着炎症程度的轻重而发生变化的，肝功能异常越明显者，IFN-γ/IL-4比值的降低也越明显，提示CMV感染后由于机体Th_2功能异常增高(IL-4水平的升高远远大于IFN-γ水平的升高)，从而导致Th_1/Th_2功能失衡。徐翼等[9]通过建立小鼠巨细胞病毒感染模型，检测了IFN-γ、IL-10的水平和转录因子GATA-3、T-bet表达强度，证实CMV感染后在基因转录水平和蛋白表达水平，均通过调节转录因子的表达，促进Th_2类细胞分化及其因子的分泌，使机体特异性细胞免疫功能的正常发挥受到严重的限制[10]。冯凤仪等[11]在研究中发现HCMV感染婴幼儿后，细胞免疫功能降低，活动期与潜伏期比较，活动期细胞免疫功能降低更明显。而婴幼儿细胞免疫功能不完善，容易出现活动性感染，而感染CMV感染后又导致细胞免疫功能受损，而且儿童的损害比成人更严重，持续时间更长[12]，故在临床上应引起儿科医师的高度重视。

由此，我们认为可以将IFN-γ/IL-4的值作为观察CMV感染免疫功能紊乱的重要指标，将TNF-α的高低作为估计CMV感染严重程度、判断预后的参考指标。CMV与细胞因子之间则有密切关系，近年来不断有人利用细胞因子来监测CMV感染或是利用细胞因子来治疗CMV感染。因此进一步研究细胞因子与CMV的关系，对于阐明CMV感染的发病机制及提高对CMV的防治提供了免疫学依据和有效途径。

参考文献：

[1] 胡亚美，江载芳. 诸福棠实用儿科学[M]. 第7版. 北京：人民卫生出版社，2002：816.

[2] Joseph S A, Beliveau C, Muecke C J, *et al*. Risk factors for cytomegalovirus seropositivity in a population of day care educators in Montreal, Canada[J]. Occup Med (Lond), 2005, 55(7): 564-567.

[3] 方　峰，董永绥. 巨细胞病毒感染诊断方案[J] 中华儿科杂志，1999，37(7)：441.

[4] Romagnani S. The Th1/Th2 paradigm [J]. Immunol Today, 1997, 18(6): 263-266.

[5] 黄文林. 分子病毒学[M]. 北京：人民卫生出版社，2002：350-353.

[6] Numazaki K, Asanuma H, Ikehata M, *et al*. Detection of cytokines and cytomegalovirus DNA in serum as test for congenital infection[J]. Early Hum Dev, 1998, 52(1): 43-48.

[7] 金　红，李雪丹. 巨细胞病毒肝炎患儿gB基因型分析及细胞因子水平测定[J]. 微生物学杂志，2005，25(4)，1-3.

[8] Torigoe S, Campbell D E, Starr S E. Cytokines released by human peripheral blood mononuclear cells inhibit the production of early and late cytomegalovirus proteins[J]. Microbiol Immunol, 1997, 41(5): 403-413.

[9] 徐　翼，方　峰，董永绥，等. 巨细胞病毒感染对Th_1/Th_2细胞分化特异性转录因子T-bet/GATA-3表达的影响[J]. 临床儿科杂志，2005，23(7)：437-440.

[10] van-Den-Broek M, Bachmann M F, Kohler G, *et al*. IL-4 and IL-10 antagonize IL-12-mediated protection against acute vaccinia virus infection with a limited role of IFN-gamma and nitric oxide synthetase 2 [J]. J Immunol, 2000, 164(1): 371-378.

[11] 冯凤仪，上官明. 活动性巨细胞病毒感染患儿免疫状态的变化及其意义[J]. 右江民族医学院学报，2006，(1)：34-36.

[12] 闫凤亭，李　芬. 孕期巨细胞病毒感染的免疫学变化[J]. 国外医学：妇幼保健分册，2000，11(1)：27-31.

(编辑　王　红)