

婴儿肝炎综合征肝脏巨细胞病毒低基质磷酸化蛋白的检测意义^{*}

龙 梅¹, 朱 莉¹, 刘文莉¹, 饶 燕¹, 庞勤辉¹, 全小丽¹, 张 萧²

(1. 贵阳市妇幼保健院 消化科, 贵州 贵阳 550001; 2. 中国人民解放军第 302 医院 病理科, 北京 100039)

[摘 要] 目的: 观察人巨细胞病毒(HCMV)低基质磷酸化蛋白(pp65)在婴儿肝炎综合征肝脏组织中的表达, 为诊断婴儿巨细胞病毒性肝炎提供科学依据。方法: 选择 30 例婴儿肝炎综合征患儿, 在 B 超介导下进行肝组织活检, 免疫组化法检测肝组织中 HCMV pp65 抗原, 观察婴儿巨细胞病毒性肝炎特异性病理改变, 同时用 ELISA 方法检测血清 HCMV IgM 水平, 计算并比较两指标的阳性率。结果: 30 例婴儿肝炎综合征患儿肝组织 HCMV pp65 抗原阳性 18 例, 血清 IgM 阳性 6 例, 阳性率分别为 60%、20%。两者阳性率比较差异有显著性($P < 0.01$)。结论: 通过免疫组织化学检测婴儿肝组织中 HCMV pp65 抗原表达, 可用于诊断婴儿巨细胞病毒性肝炎。

[关键词] 巨细胞病毒; 基质磷酸化蛋白; 婴儿; 肝炎综合征; 肝; 活组织检查

[中图分类号] R512.69; R725.75 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1000-2707(2014)01-0064-03

The Clinical Value of Hepatic Cytomegalovirus pp65 in Diagnosis of Infantile Hepatitis Syndrome

LONG Mei¹, ZHU Li¹, LIU Wenli¹, RAO Yan¹, PANG Qinhui¹, QUAN Xiaoli¹, ZHANG Xiao²

(1. Department of Gastroenterology, Maternal and Child Health Hospital, Guiyang 550001, Guizhou, China;

2. Department of Pathology, 302 Hospital of the People's Liberation Army, Beijing 100039, China)

[Abstract] **Objective:** To observe the expression of low substrate phosphorylation protein (pp65) of human cytomegalovirus (HCMV) in liver tissues of infants with hepatitis syndrome, and so as to provide scientific basis for CMV-hepatitis diagnosis. **Methods:** Thirty infants with hepatitis syndrome were involved, liver biopsy was carried out under b-ultrasound guidance; HCMV pp65 antigen was detected with immunohistochemistry assay, HCMV-IgM level was detected with ELISA; The sensitivity of the two methods was compared. **Results:** Positive rates of HCMV pp65 antigen and HCMV-IgM were 60% (18/30) and 20% (6/30), respectively ($P < 0.01$). **Conclusions:** Testing liver HCMV pp65 antigen with immunohistochemistry assay can offer reliable evidence for CMV-hepatitis diagnosis, having clinical value.

[Key words] cytomegalovirus; pp65; infant; hepatitis syndrome; liver; biopsy

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)感染在我国广泛流行,是疱疹病毒科 B 属的一种 DNA 病毒,易引起胎儿、新生儿和婴幼儿慢性感染,具有潜伏-活化的生物学特征,绝大多数免疫正常人群为病毒携带者,但无相应的临床表

现。由于婴儿免疫功能发育不完善, HCMV 易活化,而引起巨细胞病毒性肝炎。因此,对 HCMV 感染进行早期确诊具有重要的临床意义。婴儿肝炎综合征是婴儿期最常见肝脏疾病,其中 HCMV 感染是婴儿肝炎综合征最主要病因,婴儿出现肝细胞

^{*}[基金项目] 贵阳市科技局计划项目(2012103)

网络出版时间:2014-02-26 网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/52.5012.R.20140226.1304.011.html>

性黄疸、肝脏肿大、质地异常和肝功能异常为主要特征的临床综合症候群。低基质磷酸化蛋白(pp65)是 HCMV 的特异性抗原,肝组织上检测到该抗原可作为临床诊断巨细胞病毒性肝炎实验室检查依据^[1]。本研究对 30 例肝炎综合征患儿肝组织进行活检,检测 HCMVpp65 的表达,同时检测血清 HCMV-IgM 的表达。

1 资料与方法

1.1 研究对象

30 例肝炎综合征患儿(男 19 例,女 11 例),月龄 1~2 月,表现为肝细胞性黄疸、肝功能损害、肝脏肿大、脾脏肿大。血培养阴性,血气分析、血液筛查及尿液筛查初步除外代谢性疾病,病毒性肝炎血清标志物阴性,腹部 B 超及肝胆 MRI 未见胆道闭锁,按照婴儿肝炎综合征诊治修订方案诊断为婴儿肝炎综合征^[2]。

1.2 肝细胞 HCMV pp65 检测

B 超引导下进行肝组织活检,甲醛固定肝组织,制备石蜡切片,采用鼠抗 HCMV pp65 单克隆抗体作为 I 抗(CSA 试剂盒由丹麦 DAKO 公司提供),检测肝组织中的 pp65 抗原,采用 SP 法染色,光学显微镜下观察肝组织中 HCMV pp65 抗原表达,以 HCMV pp65 抗原阳性细胞 ≥ 3 个判为阳性。

1.3 血清 HCMV IgM ELISA 检测

用 ELISA 方法进行检测,试剂为意大利 Dia-Sorin 公司生产。定量检测 HCMV IgM 数量。

1.4 统计学方法

采用 SPSS 软件进行 χ^2 检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 肝组织 HCMV pp65 检测结果

30 例肝炎综合征患儿的肝脏活检标本中,HCMV pp65 阳性表达 18 例,HCMV pp65 阳性表达主要位于汇管区的胆管和毛细胆管上皮细胞,肝细胞中表达相对较少,经 SP 染色显示棕褐色,见图 1;另外通过 HE 染色肝细胞,出现空泡样、气球样及巨肝细胞样变,胆管及毛细胆管内有不同程度淤胆,出现淤胆性肝炎,见图 2。

2.2 血清 HCMV IgM 检测结果

30 例肝炎综合征患儿中,6 例患儿血清 HCMV

IgM 阳性,其中 HCMV pp65 为阳性的 5 例,HCMV pp65 为阴性的 1 例。

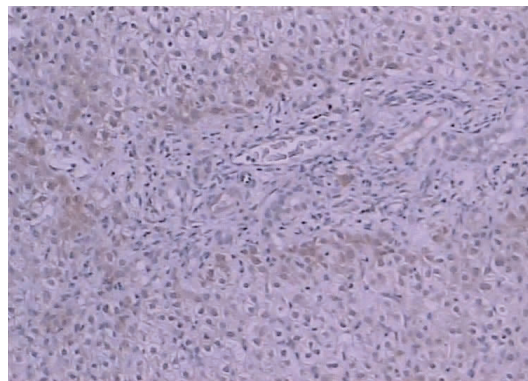


图 1 患儿肝组织中 HCMV pp65 的表达(SP, $\times 20$)

Fig. 1 The expression of HCMV pp65 in liver tissue of infant

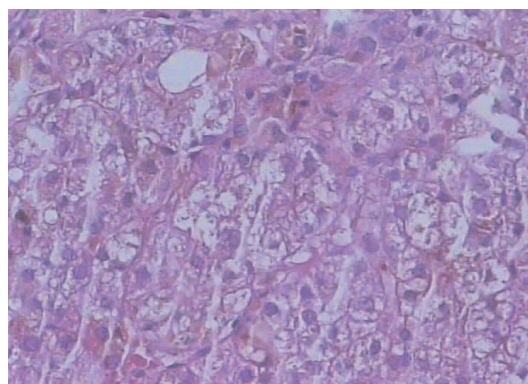


图 2 患儿肝组织 HE 染色($\times 40$)

Fig. 2 HE stained liver tissue of infant

2.3 肝组织中 HCMV pp65 血清 HCMV IgM 阳性率比较

肝组织中 HCMV pp65 的阳性率为 60%,血清 HCMV IgM 阳性率为 20%,两者阳性率比较差异有统计学意义($\chi^2 = 10, P = 0.0016$)。

3 讨论

通过极早期、早期和晚期基因的连锁表达,HCMV 获得临床感染能力。HCMV pp65 属于晚期表达的抗原之一,是病毒在宿主细胞内活动复制的有力证据,因而成为临床病毒感染活动性的指标^[2]。HCMV 嗜细胞性较广,对人体的上皮细胞、内皮细胞、白细胞普遍易感^[3];其对特殊的实质细胞如脑和视网膜的神经细胞、胃肠道细胞和肝细胞

也能感染。而婴儿期感染巨细胞病毒,常导致巨细胞病毒性肝炎的发生,从而使肝细胞坏死,胆管及毛细胆管胆汁淤积,出现淤胆型肝炎^[4]。

检测肝炎综合征患儿肝组织 HCMV 特异性抗原 pp65 蛋白,30 例肝炎综合征患儿,其中 18 例 HCMV pp65 抗原表达阳性,灵敏度及特异性均高,阳性率为 60%,提示巨细胞病毒感染是婴儿肝炎综合征最主要病因^[5]。婴儿肝炎综合征的肝脏病理主要表现肝细胞空泡及气球样变性,凋亡小体出现,不同程度的肝细胞及毛细胆管胆汁淤积,符合淤胆性肝炎肝脏病理改变^[6]。另外,30 例婴儿肝炎综合征患儿中血清 HCMV IgM 阳性为 6 例,阳性率为 20%,表明 HCMV 血清免疫学检查阳性率并不高。进一步研究 18 例 HCMV pp65 抗原阳性的患儿血清学 HCMV IgM 阳性 6 例,阳性率较低,这可能与婴儿期免疫系统发育不完全,导致产生 IgM 能力低下,出现假阴性可能,综上所述,HCMV pp65 诊断巨细胞病毒性肝炎具有较好特异性、敏感性,可为临床诊断提供可靠而实验室依据,有较好临床应用价值,但患儿年龄小,获取肝组织风险较成人较高,需积极术前准备及术后观察,将风险

降到最低,为婴儿肝炎综合征病因诊断提供科学依据。

4 参考文献

- [1] 董永绥. 婴儿巨细胞病毒性肝炎(下)[J]. 临床儿科杂志, 2006(2):157-160.
- [2] 朱启镛, 王晓红, 王建设, 等. 婴儿肝炎综合征诊治修订方案[J]. 中华传染病杂志, 2004(5):357.
- [3] 方峰. 关于儿童巨细胞病毒感染性疾病诊断与防治的几点认识[J]. 国际儿科杂志, 2006(2):143-145.
- [4] 黄志华, 崔雯, 董永绥, 等. 淤胆型婴儿巨细胞病毒性肝炎肝胆核素显像及意义[J]. 中国实用儿科杂志, 2003(7):417-418.
- [5] Chan Y, Kean-Chong M, Gonzalez D, et al. Cytomegalovirus hepatitis during pregnancy[J]. Infect Dis Obstet Gynecol, 1995(4):164-165.
- [6] 吴蔽, 黄志华. 肝组织病理学检查在肝外胆道闭锁与婴儿肝炎综合征鉴别诊断中的意义[J]. 临床儿科杂志, 2009(10):912-915.

(2013-11-01 收稿, 2013-12-06 修回)

中文编辑:文箫颖;英文编辑:周 凌

(上接第 63 页)

反应收率及争取尽可能地减少损失目标化合物的目的;虽然本实验目标化合物收率不低,但由于前期原料累积过程繁琐、费时费力,应努力寻找新方法或者优化实验工艺以提高效率。

4 参考文献

- [1] 杨春娥, 李宏力, 高苏莉. 抗肿瘤药物临床应用的现状与研究进展[J]. 国外医药抗生素分册, 2004(1):3.
- [2] 朱莉, 王驰. 抗肿瘤前药在肿瘤靶向治疗中的新进展, [J]. 中药新药杂志, 2007(17):1348.
- [3] 韩锐. 肿瘤化学预防及药物治疗[M]. 北京:北京医科

大学中国协和医科大学联合出版社, 1991:206.

- [4] Rowe PM. What is all the hullabaloo about endostatin [J]. Lancet, 1999(9):732.
- [5] Kumar R, Harring LE, Hopper TM et al. Correlation of the anti-tumor and anti-angiogenic activity of VEGFR inhibitors with inhibition of VEGFR2 phosphorylation in mice [J]. 41st Annu Meet Am Soc Clin Oncol, Orlando, 2005:9537.
- [6] John Hynes. Design, Synthesis, and anti inflammatory properties of orally active [J]. Med Chem, 2007(19):355-367.

(2013-10-30 收稿, 2013-12-15 修回)

中文编辑:潘 娅;英文编辑:苏晓庆