

EBER检测在儿童淋巴结活检中的意义

褚红艳, 姜 健, 王丹旗, 孙立荣*

青岛大学附属医院儿科, 山东 青岛
Email: *13206488825@163.com

收稿日期: 2020年10月21日; 录用日期: 2020年11月10日; 发布日期: 2020年11月17日

摘 要

目的: 儿童淋巴结肿大在临床中很常见, 病因很多, 通过临床详细体格检查、实验室检查以及病理检查, 能够确诊。EB病毒(Epstein Barr Virus, EBV)感染是引起儿童期淋巴结肿大的重要原因, EBER检测是确定EBV感染的金标准, 探讨其在儿童淋巴结活检中的意义。方法: 收集伴有浅表淋巴结肿大的行淋巴结活检术的患者60例, 病理标本全部行EBER检测, 对其临床、实验室资料、病理、预后进行统计分析。结果: 60例淋巴结肿大患儿, 19例行淋巴结切除活检, 39例行淋巴结穿刺活检术, 组织坏死性淋巴结炎占22例(36.7%), 肿瘤性疾病占15例(25%), EBV感染和传染性单核细胞细胞增多症占11例(18.3%), 其余诊断占12例(20%)。所有患者行组织病理检查, 其中EBER检测阳性的14例, 在传染性单核细胞疾病中占比例最高(100%)。中位随访37个月, EBER阳性患者的无事件生存期明显短于EBER阴性患者, 有统计学意义($P < 0.01$)。结论: EBV感染是导致小儿浅表淋巴结肿大的重要原因, EBER阳性患者更容易出现疾病复发, 需要动态长期随访。

关键词

淋巴结肿大, EB病毒, EBER

Significance of EBER Detection in Lymph Node Biopsy of Children

Hongyan Chu, Jian Jiang, Danqi Wang, Lirong Sun*

Department of Pediatrics, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao Shandong
Email: *13206488825@163.com

Received: Oct. 21st, 2020; accepted: Nov. 10th, 2020; published: Nov. 17th, 2020

*通讯作者。

文章引用: 褚红艳, 姜健, 王丹旗, 孙立荣. EBER 检测在儿童淋巴结活检中的意义[J]. 临床医学进展, 2020, 10(11): 2532-2537. DOI: 10.12677/acm.2020.1011383

Abstract

Objective: The children lymph node enlargement is very common in the clinic, the etiology is many, through the clinical detailed physical examination, the laboratory examination and the pathological examination, can diagnose. EB virus infection is an important cause of infantile lymphadenopathy. EBER test is the gold standard for determining EB virus infection and discusses its significance in pediatric lymph node biopsy. **Methods:** 60 cases of lymph node biopsy with superficial lymphatic enlargement were collected. All pathological specimens were examined with EBER, and their clinical, laboratory data, pathology, and prognosis were statistically analyzed. **Results:** 60 children with lymph node enlargement, 19 lymph node resection biopsies, 39 lymph node puncture biopsy procedures, 22 cases (36.7%) of tissue necrotizing lymphadenitis, 15 cases (25%) of tumor diseases, EB virus infection and infectious monocytes increased 11 cases (18.3%). The remaining diagnosis accounted for 12 cases (20%). Histopathological examinations were performed in all patients, of which 14 were positive for EBER and accounted for the highest proportion of infectious mononuclear cell diseases (100%). In 37 months of median follow-up, the non-event lifetime of EBER positive patients was significantly shorter than that of EBER negative patients and was statistically significant ($P < 0.01$). **Conclusion:** EB virus infection is an important cause of superficial lymphadenopathy in children. EBER positive patients are more likely to relapse and require dynamic long-term follow-up.

Keywords

Lymphoma, EB Virus, EBER

Copyright © 2020 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

儿童浅表淋巴结肿大在临床工作中很常见,通过临床详细的体格检查和辅助检查一般能确诊病因[1];但一些特殊感染或肿瘤相关疾病导致的淋巴结肿大,需要活检才能确诊。EBV 是一种常见的人类疱疹病毒,人类感染后可终生潜伏,儿童典型的 EBV 感染表现为传染性单核细胞增多症,以发热,肝脾淋巴结肿大,咽峡炎为特点[2],近年来,非典型 EBV 感染有所增多,表现为其他多样的临床表现[3];且很少从病理方面做出诊断,更少进行免疫表型和 EB 病毒原位杂交研究[4]。因此淋巴结活检对明确诊断至关重要,本文探讨原位杂交方法 EBER 检测在儿童淋巴结活检中的意义。

2. 资料与方法

2.1. 一般资料

收集从 2014 年 6 月至 2018 年 7 月,在血液儿科住院行淋巴结活检的 135 例患儿,其中 60 例患者做了 EBER 检测。纳入标准:因淋巴结肿大于我科住院治疗,并行淋巴结活检的患儿;排除标准:患有导致淋巴结肿大的基础性疾病。

2.2. 检查和诊断方法

1) 进行淋巴结穿刺,取淋巴结组织做病理活检。2) 手术摘除淋巴结,做病理学检查诊断。3) 标本

均经 4%中性甲醛固定,常规脱水、透明、石蜡包埋,切成厚 4~5 μm 的组织切片行 HE 染色。EBER 为人工检测,选用 EBER 原位杂交试剂盒(购自北京中杉金桥生物技术有限公司)并严格按照试剂说明书进行实验操作。EBER 的原位杂交检测阳性为细胞核着色。阳性标准:仅观察细胞针对所标记抗原或核酸的表达和标记情况,为确保准确,规定在 5%以上细胞有定位准确的阳性信号时方可判断为染色结果阳性 [1]。4) 特异性病毒学、免疫学检查,血清 EBV 抗体(VCA-IgG、VCA-IgM、EA-IgM、NA-IgG)、EBV DNA 检测。

2.3. 随访

结合临床治疗反应,观察病情的动态变化,随访至发生事件或 2019 年 1 月,至少随访 6 个月以上。无事件生存时间(EFS, event-free survival)定义为从确诊到发生事件的时间,事件包括原发病病情反复或进展。

2.4. 统计学分析

使用 SPSS 23.0 统计学软件分析,配对四格表资料用卡方检验,生存分析用 Kaplan-Meier 生存分析。

3. 结果

3.1. 临床特点

全部 60 例患儿中男 43 例,女 17 例,男女之比为 2.5:1,年龄 1~13 岁,中位年龄 7.5 岁。单个部位或单个淋巴结肿大 13 例,多部位或多个淋巴结肿大 47 例,其中颈部淋巴结肿大 54 例,颌下淋巴结肿大 5 例,腹股沟淋巴结肿大 1 例,伴有全身症状 35 例。全身症状为发热有 33 例,伴有肝大、脾大有 8 例,鼻塞 1 例,腹痛呕吐 2 例。

3.2. 疾病诊断

组织坏死性淋巴结炎 22 例,霍奇金淋巴瘤 8 例,反应性增生 6 例,非霍奇金淋巴瘤 6 例(间变大细胞淋巴瘤 4 例,伯基特淋巴瘤 1 例,未分类 1 例),EB 病毒感染 5 例,传染性单核细胞细胞增多症 6 例,淋巴细胞增殖性疾病 3 例,慢性活动性 EB 病毒感染 1 例,鼻咽癌 1 例,慢性淋巴结炎 2 例。

3.3. EBV 病原学检测

EBV 衣壳抗原 IgM 阳性有 14 例,EBV 核抗原 IgG 阳性 28 例,EBV 血清 DNA 载量阳性 15 例,阴性 45 例。

3.4. EBER 原位杂交检测结果

淋巴结活检病理中,EBER 阳性为 14 例,EBER 阴性 46 例。EBER 阳性 14 例中,EBV 抗体分析阳性有 4 例,阴性有 10 例,EBV 血清 DNA 载量阳性 8 例,载量阴性 6 例。

其中 EBER 阳性表达中,传染性单核细胞细胞增多症 6 例,霍奇金淋巴瘤 3 例,EBV 感染 2 例,淋巴细胞增殖性疾病 1 例,鼻咽癌 1 例,慢性活动性 EBV 感染 1 例。EBER 阳性率在疾病种类中有统计学意义。不同性别的 EBER 阳性率无差异($\chi^2 = 0.982, P > 0.01$)。年龄因素,小于 10 岁组比大于等于 10 岁年龄组 EBER 阳性率高($\chi^2 = 11.187, P < 0.01$)。EBV 抗体阳性组与阴性组的 EBER 阳性率无统计学差异($\chi^2 = 4.467, P > 0.01$),而 EBV 血清 DNA 载量阳性组比阴性组的 EBER 阳性率高,有统计学意义($\chi^2 = 15.031, P < 0.01$)。

3.5. 生存时间

最长随访时间为 54 个月，最短随访时间是 7 个月，中位随访时间为 37 个月。其中 2 例死亡，其余存活，EBER 阳性患者中有事件的 5 例(35.7%)，EBER 阴性患者中有事件的 1 例(2.17%)，EBER 阳性患者的 EFS 明显短于 EBER 阴性患者，有统计学意义(如图 1)，Log Rank 检验($\chi^2 = 15.031, P < 0.01$)。

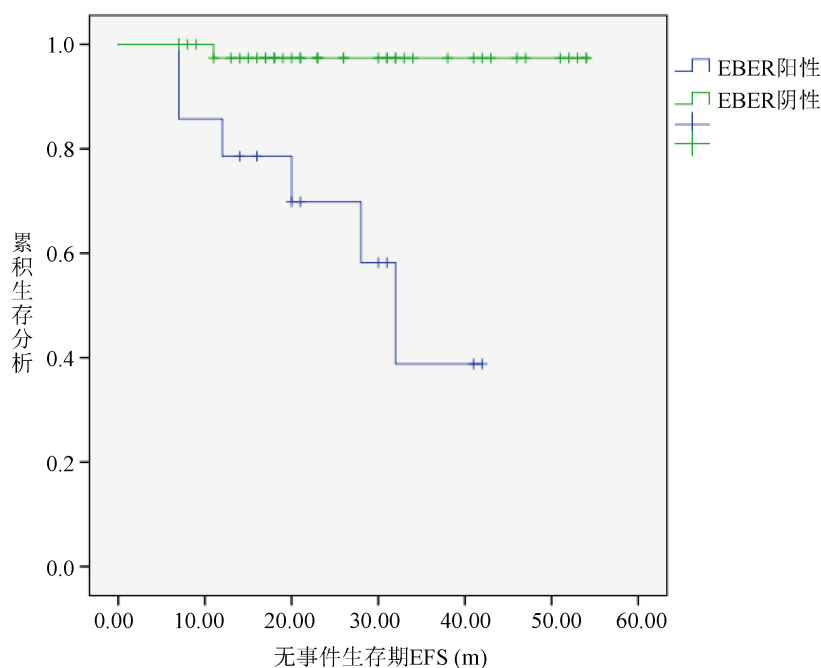


Figure 1. Survival curve of EBER positive and negative groups

图 1. EBER 阳性和阴性两组患者生存曲线

4. 讨论

淋巴结是人体重要的免疫器官，临床工作中，儿童淋巴结肿大并不少见。因为儿童自身发育的特点，免疫系统活跃，淋巴组织较成人增生明显，尤其是颈部淋巴结肿大尤为常见。正常儿童颈部淋巴结最大垂直直径一般不超过 1 cm，婴幼儿则可达 1~2 cm，质地柔软，表面光滑，可移动，无压痛。否则为病理性淋巴结肿大。儿童淋巴结肿大往往反映局部或全身淋巴组织增生，包括感染、免疫、肿瘤等多种原因[5]，随着医学技术的进步，发现很多疾病的早期表现为淋巴结肿大。因此儿童淋巴结肿大，尤其是反复出现的，一定不能漏诊，需查明原因。儿童淋巴结活检是最准确有效的明确病因的方法。由于儿童自身特点、手术风险、麻醉风险等，近年来，细针穿刺细胞学检查(fine needle aspiration cytology, FNAC)作为一种可靠的诊断方式，成为一种快速、微创、准确性高的诊断方法，被临床医师及患者广泛接受[6] [7]。本组 60 例浅表淋巴结肿大患儿，最后诊断组织坏死性淋巴结炎比例最高(36.7%)，肿瘤性疾病共占 25%，非肿瘤性 EBV 相关疾病占 25%，其余病人占 13.3%，以上结果与文献报道一致，表明小儿浅表淋巴结肿大的病因复杂多样[8]。

EBV 感染是导致儿童淋巴结肿大的重要病因，目前已被广泛重视[9]。该病毒主要以潜伏感染的形式存在于健康人群，而潜伏感染状态时，膜潜伏蛋白(LMP)及 EBV 核抗原(EBNA)等病毒蛋白产物都相对较少，检测时容易出现假阴性结果。Lerner 等(1981) [10]发现，EBV 编码的小 RNA (EBV-encoded RNA, EBER)是 EBV 的非编码 RNA，大量存在于 EBV 潜伏感染的细胞中。研究证明，EBER 可以诱导几种细

胞因子的活化, 进而促进 EBV 感染的肿瘤细胞的增殖。EBER 对固有免疫信号的调节作用, 是 EBV 致癌的重要因素[11]。同时, EBER 具有稳定的二级结构, 因此不像细胞内其他的 RNA 分子容易降解。所以针对 EBER 的检测就变得至关重要。EBV 检测常用的方法有血清 EBV 抗体检测、血清 EBV-DNA 滴度检测、聚合酶链反应、免疫组化和原位杂交技术[12]。前 3 种方法主要用于病毒的普查、筛选及分型; 后两种方法由于能够确定病毒与组织和细胞的关系而具有定位作用。免疫组化方法检测的是 LMP 或 EBNA 等 EBV 蛋白产物。原位杂交检测的则是 EBV 编码的 RNA。免疫组化方法对于细胞内低拷贝数的 EBV 感染, 阳性检出率远不及原位杂交方法。所以, 在 EBV 的定位检测上, EBER 原位杂交方法具有更高的敏感性和特异性。本研究中, 儿童淋巴结肿大 EBER 检测阳性占 23.3%。其中 EBER 阳性表达的疾病分布, 传染性单核细胞细胞增多症 6 例, 霍奇金淋巴瘤 3 例, EBV 感染 2 例, 淋巴细胞增殖性疾病 1 例, 鼻咽癌 1 例, 慢性活动性 EBV 感染 1 例。EBER 阳性率在疾病种类中有统计学意义。本研究中, 组织坏死性淋巴结炎患者病例数最多, 但是无 EBER 阳性病例, 这也提示组织坏死性淋巴结炎与 EBV 感染关系不明确, 与文献报道一致[13]。不同性别的 EBER 阳性率无差异, 小于 10 岁组比大于等于 10 岁年龄组 EBER 阳性率更高, 这可能与本科收治儿童年龄最大为 14 岁, 大于 10 岁年龄组患者数量相对少有关。EBV 抗体阳性组与阴性组的 EBER 阳性率无统计学差异($\chi^2 = 4.467, P > 0.01$), 而 EBV 血清 DNA 载量阳性组比阴性组的 EBER 阳性率高, 有统计学意义($\chi^2 = 15.031, P < 0.01$)。从理论上符合 EBV 在体内复制过程, 提示 EBER 检测的重要意义, 对于诊断 EBV 感染相关疾病具有确诊价值。EBV 与肿瘤的相关研究已经非常广泛, 尤其儿童常见的霍奇金淋巴瘤几乎 90%以上有 EBV 感染[14], 在本研究中, 肿瘤性疾病 EBER 阳性率占 26.7% (4/15), 分析原因可能与样本量小有关。在本研究中我们同样关注非肿瘤性疾病中 EBER 阳性表达, 我们发现所有传染性单核细胞细胞增多症的 EBER 检测均为阳性, 有研究[15]表明患过传染性单核细胞细胞增多症的患者发生霍奇金淋巴瘤的几率比普通人高 4 倍。而本研究也发现 EBER 阳性与阴性在无事件生存时间有显著的统计学差异, 研究中我们也观察到传染性单核细胞增多症患者生发中心的 EBER 阳性细胞, 这可能为解释 EBV 相关霍奇金淋巴瘤的发生提供参考[4]。因此, 在儿童淋巴结肿大者, 对 EBER 检测阳性的患者注意长期随访管理, 可能比 EBER 阴性患者更容易出现病情反复, 甚至恶性转化。不足之处: 淋巴结穿刺活检中, 尽管多方向、多点取材等, 仍有取材少或者涂片不清等易致漏诊; 且病理诊断往往被认为是诊断的金标准, 因此对病理医师的要求较高。

参考文献

- [1] 蒋洪燕. 儿童颈淋巴结肿大 66 例临床与病因分析[J]. 中国实用医刊, 2008, 35(14): 93-94.
- [2] 申昆玲. 加强儿童 EB 病毒感染疾病的相关研究[J]. 中国实用儿科杂志, 2010(8): 577-579.
- [3] 石莉. 儿童感染引起的颈部淋巴结肿大 25 例临床分析[J]. 求医问药(下半月), 2013, 2(11): 749-750.
- [4] 陈云昭, 周小鸽, 金妍, 等. 传染性单核细胞增多症的临床病理及 EB 病毒定位性研究[J]. 中华病理学杂志, 2008, 37(7): 440-444.
- [5] 时云飞, 李向红. 北方地区 235 例霍奇金淋巴瘤临床病理特征及其 EB 病毒感染的相关性分析[J]. 中华病理学杂志, 2015, 44(2): 84-89.
- [6] Rathod, K.M. and Shah, S.A. (2013) A Study of Metastatic Lesion of Lymph Node by Fine Needle Aspiration Cytology. *National Journal of Community Medicine*, 3, 708-710.
- [7] 吕敏, 侯良超, 林琼琼, 等. 细针穿刺细胞学检查在门诊诊断儿童颈部肿块的应用价值[J]. 临床小儿外科杂志, 2014, 13(1): 58-59.
- [8] 丁雄, 唐新玉, 卢立标, 等. 儿童浅表淋巴结肿大 356 例病因分析及诊断体会[J]. 广西医学, 2011, 33(3): 326-328.
- [9] 王叶红. 33 例儿童颈淋巴结肿大临床与病因分析[J]. 中华儿科杂志, 2007(45): 299-300.
- [10] Lerner, M.R., et al. (1981) Two Small RNAs Encoded by Epstein-Barr Virus and Complexed with Protein Are Precipitated by Antibodies from Patients with Systemic Lupus Erythematosus. *Proceedings of the National Academy of*

-
- Sciences of the United States of America*, **78**, 805-809. <https://doi.org/10.1073/pnas.78.2.805>
- [11] Clemens, M. (2006) Epstein-Barr Virus: Inhibition of Apoptosis as a Mechanism of Cell Transformation. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, **38**, 164-169. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2005.09.014>
- [12] 滕孝静, 周小鸽, 毕阔, 等. 骨髓活检在 EBER 原位杂交检测中消化时间的优化[J]. 临床和实验医学杂志, 2016, 15(19): 1963-1964.
- [13] 罗丽娟, 曹清, 周云芳. 儿童组织细胞坏死性淋巴结炎 38 例分析[J]. 中国小儿急救医学, 2017, 24(9): 677-679.
- [14] Lee, J.H., Kim, Y., Choi, J.W., *et al.* (2014) Prevalence and Prognostic Significance of Epstein-Barr Virus Infection in Classical Hodgkin's Lymphoma: A Meta-Analysis. *Archives of Medical Research*, **45**, 417-431. <https://doi.org/10.1016/j.arcmed.2014.06.001>
- [15] Hjalgrim, H., Askling, J., Rostgaard, K., *et al.* (2003) Characteristics of Hodgkin's Lymphoma after Infectious Mononucleosis. *New England Journal of Medicine*, **349**, 1324-1332. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa023141>