

研究论著

DOI: 10.3969/j.issn.0253-9802.2023.09.009

传染性单核细胞增多症儿童的维生素 D 水平与肝功能的相关性研究

张玉凤 何一秀 赵少杰 潘梦澜 陈炳章 朱亚非

【摘要】 目的 探讨血清 25-羟维生素 D [25(OH)D] 在儿童传染性单核细胞增多症 (IM) 中的水平及与肝功能的相关性。方法 选取 90 例急性期 IM 患儿作为 IM 组, 同期同地点体检的 40 例健康儿童作为对照组。用电化学发光法检测 2 组的血清 25(OH)D 水平, 并用实时荧光定量 PCR 技术测定血浆 EB 病毒 DNA (EBV-DNA) 载量。比较 2 组的临床资料及血清 25(OH)D 水平; 并将 IM 组 25(OH)D 水平与异型淋巴细胞、肝功能指标及血浆 EBV-DNA 等指标进行相关分析。结果 IM 组血清 25(OH)D 水平低于对照组, 25(OH)D 不充足率高于对照组 (P 均 < 0.05)。IM 组血清 25(OH)D 水平与异型淋巴细胞呈负相关 ($P < 0.05$)。IM 组中维生素 D 不充足亚组的 ALT、AST、谷酰转氨酶 (GGT) 和腺苷脱氨酶 (ADA) 水平均高于维生素 D 充足亚组, 胆碱酯酶 (CHE) 的水平则相对低 (P 均 < 0.05); 充足亚组与不充足亚组总胆红素、直接胆红素及血浆 EBV-DNA 载量比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。IM 组血清 25(OH)D 水平与 ALT、GGT 及 ADA 均呈负相关, 与 CHE 呈正相关 (P 均 < 0.05), 与 AST、总胆红素、直接胆红素均无相关性 (P 均 > 0.05)。结论 IM 患儿存在血清维生素 D 缺乏的情况, 维生素 D 可能参与 IM 患儿病程的发生发展并与肝功能损害相关。

【关键词】 儿童; EB 病毒; 25-羟维生素 D; 肝功能

Study of the correlation between vitamin D level and liver function in children with infectious mononucleosis Zhang Yufeng, He Yixiu, Zhao Shaojie, Pan Menglan, Chen Bingzhang, Zhu Yafei. Department of Pediatrics, the Affiliated Hospital of Hangzhou Normal University, Hangzhou 310000, China

Corresponding author, Zhu Yafei, E-mail: lszhuyafei@sina.com

【Abstract】 **Objective** To investigate the correlation between the serum level of 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) and liver function in children with infectious mononucleosis (IM). **Methods** Ninety children with acute IM were enrolled into the IM group, and 40 healthy children who underwent physical examination during the same period were allocated into the control group. Serum level of 25(OH)D was determined by electrochemiluminescence and the viral load of Epstein-Barr virus DNA (EBV-DNA) in plasma was determined by quantitative fluorescent RT-PCR. Clinical data and serum 25(OH)D levels were compared between two groups. The correlation between 25(OH)D level and atypical lymphocytes, liver function parameters and plasma EBV-DNA in children with IM was analyzed. **Results** Serum 25(OH)D level in the IM group was significantly lower, whereas the 25(OH)D inadequacy rate was significantly higher than those in the control group (both $P < 0.05$). Serum 25(OH)D level was negatively correlated with atypical lymphocytes in the IM group ($P < 0.05$). The levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), glutamyl transpeptidase (GGT), and adenosine deaminase (ADA) in IM children with serum 25(OH)D inadequacy were higher than those in their counterparts with adequate serum 25(OH)D (all $P < 0.05$). No significant differences were found in total bilirubin (TBIL), direct bilirubin (DBIL) and plasma EBV-DNA load between the adequate and inadequate subgroups (all $P > 0.05$). In the IM group, serum 25(OH)D level was negatively correlated with ALT, GGT, and ADA (all $P < 0.05$), whereas positively correlated with CHE ($P < 0.05$) and had no correlation with AST, TBIL or DBIL (all $P > 0.05$). **Conclusions** Serum vitamin D insufficiency occurs in children with IM. Vitamin D may be involved in the incidence and development of the course of IM, which is probably associated with liver function impairment.

【Key words】 Children; Epstein-Barr virus; 25(OH) vitamin D; Liver function

基金项目: 杭州市科技计划项目 (20191203B107)

作者单位: 310000 杭州, 杭州师范大学附属医院儿科

通信作者, 朱亚非, E-mail: lszhuyafei@sina.com

EB病毒(EBV)是一种常见嗜人类淋巴细胞的疱疹病毒,人类普遍易感,在全球约90%的人口中造成了终身感染^[1]。原发性EBV感染常在儿童和青少年中发生,多表现为隐性感染和传染性单核细胞增多症(IM)^[1]。部分患儿会出现气道损伤、脾破裂、肝衰竭等严重并发症而危及生命^[2]。维生素D是儿童生长发育过程中所需要的营养素,也在机体免疫调节及抗感染中具有重要的作用^[3]。研究表明机体维生素D水平降低可增加IM的患病风险^[4]。Zwart等(2011年)的研究显示,补充维生素D可以阻止EBV的再激活。25-羟维生素D[25(OH)D]半衰期长、稳定性高,是人体血液中维生素D的主要形式,能较好地反映机体维生素D水平^[5]。目前国内外尚没有关于儿童体内维生素D水平与IM的相关报道。由此,本研究探讨了IM患儿血清25(OH)D水平及其与异型淋巴细胞、肝功能的相关性。

对象与方法

一、研究对象

纳入2021年3月至2022年3月在杭州师范大学附属医院儿科住院治疗的被确诊为EBV感染致IM的90例患儿为IM组,选择同期在该院儿童保健门诊体检的40名健康儿童为对照组。本研究已通过杭州师范大学附属医院伦理委员会的审批(2022 E2-KS-113)。

二、诊断标准

纳入标准:①符合《儿童EB病毒感染相关疾病的诊断和治疗原则专家共识》中IM的诊断依据;②临床资料完整;③近期无其他病毒感染^[6]。排除标准:①曾服用过肝损伤相关药物;②既往有IM及重症EBV感染病史;③检验前4周补充过钙或维生素D;④伴维生素D代谢性疾病,如甲状旁腺功能亢进症。

三、样本的采集和检测指标

抽取IM组入院第1日(对照组体检当日)的静脉血,进行血常规、外周血异型淋巴细胞计数、肝功能、血浆EBV-DNA、25(OH)D等指标的检测。采用电化学发光法检测25(OH)D的水平,检测仪器为电化学发光免疫分析仪,配套试剂盒

生产厂家为德国罗氏公司。25(OH)D正常参考值范围:25 nmol/L ≤ 25(OH)D < 50 nmol/L为维生素D缺乏;50 nmol/L ≤ 25(OH)D < 75 nmol/L为维生素D不足;25(OH)D ≥ 75 nmol/L为维生素D充足^[7]。将25(OH)D不足与缺乏统称为维生素D不充足,此类患儿被纳入不充足亚组,反之则被纳入充足亚组。采用实时荧光定量PCR技术测定血浆EBV-DNA载量,检测仪器为上海宏石医疗科技有限公司SLAN-96S实时荧光定量PCR系统,所用DNA提取及核酸扩增荧光定量检测试剂盒生产厂家为湖南圣湘生物科技股份有限公司。

四、统计学处理

使用SPSS 25.0处理数据。计量资料通过Shapiro-Wilk进行正态性检验,服从正态及近似正态分布的数据以 $\bar{x} \pm s$ 表示,在方差齐时进行独立样本 t 检验;非正态分布数据以 $M(P_{25}, P_{75})$ 表示,组间比较采用秩和检验。计数资料以例(%)表示,组间资料比较采用 χ^2 检验。指标相关性采用双变量相关分析,正态资料使用Pearson相关分析,非正态分布资料采用Spearman秩相关分析。 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结果

一、一般资料

IM组与对照组的年龄分别为4.67(3.18, 6.00)岁和4.75(2.48, 6.38)岁,男女性别比例分别为46/44和17/23,均具可比性(P 均 > 0.05)。

二、IM组与对照组血清25(OH)D水平及不充足率比较

IM组血清25(OH)D水平低于对照组,25(OH)D不充足率高于对照组(P 均 < 0.05)。见表1。

表1 IM组与对照组25(OH)D水平和不充足率的比较

组别	25(OH)D/(nmol/L)	维生素D不充足/例(%)
IM组(90例)	80.68(59.30, 109.53)	40(44.4)
对照组(40例)	95.82(80.72, 148.20)	8(20.0)
Z/χ^2 值	-3.087	7.105
P 值	0.002	0.008

三、IM 组血清 25 (OH) D 不同水平与肝功能指标及血浆 EBV-DNA 载量的比较

IM 组中的不充足亚组的异型淋巴细胞计数、ALT、AST、谷酰转氨酶 (GGT) 和腺苷脱氨酶 (ADA) 水平均多 / 高于充足亚组, 而胆碱酯酶 (CHE) 水平低于充足亚组 (P 均 < 0.05)。充足亚组及不充足亚组的总胆红素 (TBIL)、直接胆红素 (DBIL) 及血浆 EBV-DNA 载量比较差异无统计学意义 (P 均 > 0.05)。见表 2。

四、IM 患儿血清 25 (OH) D 水平与肝功能指标及异型淋巴细胞的相关性分析

IM 患儿血清 25 (OH) D 水平与 ALT、GGT、ADA 及异型淋巴细胞均呈负相关, 与 CHE 呈正相关 (P 均 < 0.05), 与 AST、TBIL 及 DBIL 无线性相关关系 (P 均 > 0.05)。见表 3。

讨 论

近年来维生素 D 在感染反应中的免疫调节功能受到广泛关注。维生素 D 可以促进抗菌肽的生成, 包括防御素和 cathelicidin, 人 cathelicidin 被称为 LL-37, 具有抑制病毒复制的作用^[8]。此外, 维生素 D 是一种直接作用于免疫系统的激素, 可抑制促炎细胞因子的分泌, 促进抗炎细胞因子的产生, 减轻炎症反应^[9]。维生素 D 缺乏会增加病毒或其他微生物的易感性^[10]。在机体感染 EBV 时, 维生素 D 能提高调节性 T 细胞 (Treg) 抑制 T 淋巴

细胞增殖的能力, 抑制 CD4⁺T 和 CD8⁺T 细胞的增殖和细胞因子的产生, 可将原发性 EBV 感染控制在亚临床水平状态, 这种保护机制的失调可能导致 IM 的发生^[11-13]。Zwart 等 (2011 年) 对南极工作者定期补充维生素 D, 发现其中血清 25 (OH) D 水平较高的受试者不太可能通过唾液排出 EBV。Yenamandra 等 (2010 年) 发现 EBV 蛋白核抗原 -3 (EBNA3) 与维生素 D 受体 (VDR) 位于同一蛋白质复合体中, EBNA3 可以在基础水平上阻断 (或下调) VDR 依赖基因的激活。EBV 可能通过阻断 VDR 的作用导致维生素 D 缺乏。可见, 维生素 D 与 EBV 之间存在相互作用。Maghzi 等 (2016 年) 发现成人 IM 患者维生素 D 水平明显低于健康组。Lossius 等 (2014 年) 在研究不同纬度地区 IM 的季节和多发性硬化的发病风险时发现, IM 的发生可能与紫外线照射不充足致使维生素 D 合成不足有关。本研究与上述研究结论一致: IM 组的血清 25 (OH) D 水平低于对照组, 25 (OH) D 的不充足率高于对照组, 这可能是由于 IM 患儿的维生素 D 缺乏增加了 EBV 的活跃度, 或 EBV 的活跃度影响了维生素 D 的吸收。

感染 EBV 时, EBV 会攻击 B 淋巴细胞, B 淋巴细胞抗原性改变, T 淋巴细胞被激活转化为以 CD8⁺T 细胞为主的细胞毒性 T 细胞, 从而杀伤感染 EBV 的 B 淋巴细胞, 这种具有杀伤能力的 T 淋巴细胞就是患儿血中的异型淋巴细胞。研究表明, 维生素 D 对 T 淋巴细胞有直接和间接的影响, 且 CD8⁺T 细胞和恒定自然杀伤 T 细胞 (iNKT) 是维

表 2 IM 患儿血清 25 (OH) D 不同水平与肝功能指标及血浆 EBV-DNA 载量的比较

项 目	充足亚组 (50 例)	不充足亚组 (40 例)	Z/t 值	P 值
异型淋巴细胞计数 / ($\times 10^9/L$)	7.00 (5.00, 10.50)	10.00 (7.00, 16.00)	-2.478	0.013
ALT / (U/L)	27.00 (14.75, 64.25)	47.50 (27.00, 85.25)	-2.388	0.017
AST / (U/L)	46.00 (36.75, 63.25)	55.50 (44.50, 92.75)	-2.567	0.010
GGT / (U/L)	12.50 (10.00, 23.50)	19.00 (13.25, 40.50)	-2.821	0.005
ADA / (U/L)	37.75 (24.35, 51.80)	54.60 (42.00, 74.70)	-3.862	0.001
CHE / (U/L)	8 082.70 \pm 1 902.68	7 184.68 \pm 1 387.04	2.500	0.014
TBIL / ($\mu\text{mol/L}$)	5.72 \pm 2.21	5.95 \pm 2.70	-0.453	0.652
DBIL / ($\mu\text{mol/L}$)	1.20 (0.80, 1.43)	1.15 (0.90, 1.78)	-1.103	0.270
血浆 EBV-DNA 载量 / (copies/mL)	1965.00 (736.75, 5197.50)	3620.00 (680.25, 6477.50)	-0.311	0.756

表 3 IM 患儿血清 25 (OH) D 水平与肝功能指标及异型淋巴细胞相关性分析

项 目	CHE	TBIL	DBIL	ALT	AST	GGT	ADA	异型淋巴细胞计数
r/r_s	0.314 ^r	-0.148 ^r	-0.058 ^r	-0.238 ^r	-0.188 ^r	-0.340 ^r	-0.425 ^r	-0.317 ^r
P 值	0.003	0.164	0.589	0.024	0.075	0.001	0.001	0.002

生素 D 的靶细胞,提示低维生素 D 状态可能增强 CD8⁺T 细胞在 EBV 感染细胞时的免疫应答^[14]。结合本研究结果,25(OH)D 与异型淋巴细胞呈负相关,提示 25(OH)D 可能参与 IM 患儿的发病过程。

肝损伤是 IM 常见的并发症。而维生素 D 对肝损伤具有保护作用,维生素 D 可通过抗炎与免疫调节等特性来抑制肝脏炎症及氧化应激等病理变化的发生发展,从而减缓急慢性肝损伤的进程^[15-16]。在诱导形成的小鼠肝损伤模型中可发现,维生素 D 长期缺乏会加重小鼠的肝损伤程度,而补充维生素 D 能显著降低小鼠模型血清 ALT、AST 水平,由于维生素 D 能抑制炎症反应及氧化应激,因此能减轻小鼠肝损伤模型的肝组织细胞受损和坏死程度^[17-18]。ALT、AST、GGT、ADA 及 CHE 等能较全面地反映肝功能状态,TBIL 及 DBIL 等可反映胆红素代谢及胆汁淤积的状态,其中 ALT 是测定肝功能异常的最直接指标。在本研究中,IM 患儿不充足亚组的 ALT 的水平高于 40 U/L,且 AST、GGT 及 ADA 水平均高于充足亚组,提示 IM 患儿在维生素 D 不充足的情况下,其肝细胞受损或坏死的数目可能会增多。相关性分析也提示 25(OH)D 水平与肝功能指标有一定的相关性。感染 EBV 时,病毒并非直接损害肝细胞,EBV 感染激活的 CD8⁺T 细胞被肝脏捕获,肝 Kuppfer 细胞表达干扰素(IFN)- γ 、TNF- α 等可溶性分子导致肝脏出现免疫损伤^[19]。1,25-双羟维生素 D [1,25-(OH)₂D] 能抑制 CD8⁺T 细胞刺激产生的 IFN- γ 和 TNF- α 以减轻肝损伤,提示维生素 D 可能通过调节免疫反应缓解 IM 患儿的肝损伤,但目前相关研究甚少^[20]。此外,本研究显示尽管比较差异无统计学意义,但不充足亚组的血浆 EBV-DNA 载量稍高于充足亚组,考虑样本量较少有可能造成一定的影响,因此未来仍需要进行更多的大样本研究来深入探索。

综上所述,IM 患儿存在血清维生素 D 水平低的情况,维生素 D 可能在参与 IM 患儿病程的发生发展中发挥着重要作用,维生素 D 水平低可能与肝损伤程度加重有关。

参 考 文 献

[1] Chakravorty S, Afzali B, Kazemian M. EBV-associated diseases:

- current therapeutics and emerging technologies. *Front Immunol*, 2022, 13 : 1059133.
- [2] Fugl A, Andersen C L. Epstein-Barr virus and its association with disease - a review of relevance to general practice. *BMC Fam Pract*, 2019, 20 (1) : 62.
- [3] Bouillon R, Marcocci C, Carmeliet G, et al. Skeletal and extraskeletal actions of vitamin D: current evidence and outstanding questions. *Endocr Rev*, 2019, 40 (4) : 1109-1151.
- [4] Stahlman S, Williams V F, Ying S. Infectious mononucleosis, active component, U.S. armed forces, 2002-2018. *MSMR*, 2019, 26 (7) : 28-33.
- [5] Tripathi A, Ansari M, Dandekar P, et al. Analytical methods for 25-hydroxyvitamin D: advantages and limitations of the existing assays. *J Nutr Biochem*, 2022, 109 : 109123.
- [6] 中华医学会儿科学分会感染学组,全国儿童 EB 病毒感染协作组. 儿童 EB 病毒感染相关疾病的诊断和治疗原则专家共识. *中华儿科杂志*, 2021, 59 (11) : 905-911.
- [7] Bacchetta J, Edouard T, Laverny G, et al. Vitamin D and calcium intakes in general pediatric populations: a French expert consensus paper. *Arch Pediatr*, 2022, 29 (4) : 312-325.
- [8] Teymoori-Rad M, Shokri F, Salimi V, et al. The interplay between vitamin D and viral infections. *Rev Med Virol*, 2019, 29 (2) : e2032.
- [9] Sîrbe C, Rednic S, Grama A, et al. An update on the effects of vitamin D on the immune system and autoimmune diseases. *Int J Mol Sci*, 2022, 23 (17) : 9784.
- [10] Siddiqui M, Manansala J S, Abdulrahman H A, et al. Immune modulatory effects of vitamin D on viral infections. *Nutrients*, 2020, 12 (9) : 2879.
- [11] Sassi F, Tamone C, D'Amelio P. Vitamin D: nutrient, hormone, and immunomodulator. *Nutrients*, 2018, 10 (11) : 1656.
- [12] Suwandi J S, Laban S, Vass K, et al. Multidimensional analyses of proinsulin peptide-specific regulatory T cells induced by tolerogenic dendritic cells. *J Autoimmun*, 2020, 107 : 102361.
- [13] Shafiee A, Shamsi S, Kohandel Gargari O, et al. EBV associated T- and NK-cell lymphoproliferative diseases: a comprehensive overview of clinical manifestations and novel therapeutic insights. *Rev Med Virol*, 2022, 32 (4) : e2328.
- [14] Cantorna M T, Snyder L, Lin Y D, et al. Vitamin D and 1, 25 (OH)₂D regulation of T cells. *Nutrients*, 2015, 7 (4) : 3011-3021.
- [15] Reda D, Elshopakey G E, Albukhari T A, et al. Vitamin D₃ alleviates nonalcoholic fatty liver disease in rats by inhibiting hepatic oxidative stress and inflammation via the SREBP-1-c/PPAR α -NF- κ B/IR-S2 signaling pathway. *Front Pharmacol*, 2023, 14 : 1164512.
- [16] 余超,陈利,蔺红梅,等.血清 25-羟基维生素 D 水平与非酒精性脂肪性肝病患者肝脏纤维化风险的关系. *新医学*, 2019, 50 (1) : 32-36.
- [17] 弓玉祥,倪维杰,倪海锋,等.活性维生素 D₃对脓毒血症小鼠急性肝损伤的保护作用及机制. *南京医科大学学报(自然*

- 科学版), 2021, 41 (9): 1289-1295, 1321.
- [18] 潘丽莎, 华美云, 徐思雅, 等. 维生素 D 对急性肝衰竭小鼠肝脏的保护作用. 中华肝脏病杂志, 2021, 29 (6): 545-550.
- [19] 钟绍文, 刘泽, 司秋圆, 等. EB 病毒所致相关疾病肝损害的研究进展. 临床医药文献电子杂志, 2020, 7 (14): 194-195.
- [20] Vural T, Yilmaz V T, Koksoy S, et al. Evaluation of the effect and predictive role of vitamin D and vitamin D receptor expression in CD4⁺, CD8⁺, CD14⁺, CD56⁺ cells on the development of chronic rejection and graft functions in kidney transplant patients. *Int Urol Nephrol*, 2023 Mar 17. doi: 10.1007/s11255-023-03550-z. Epub ahead of print.

(收稿日期: 2023-02-30)

(本文编辑: 洪悦民)

