

传染性单核细胞增多症患儿外周血淋巴细胞亚群分布

——特征及与EB病毒载量的相关性分析

方慧娟, 阮梦琦, 徐 勤, 王 琴, 周 强*

安徽医科大学第二附属医院检验科, 安徽 合肥

收稿日期: 2025年8月15日; 录用日期: 2025年9月8日; 发布日期: 2025年9月18日

摘 要

目的: 探讨传染性单核细胞增多症(IM)患儿外周血淋巴细胞亚群分布特征及与EB-DNA载量的相关性。方法: 选取在安徽医科大学第二附属医院就诊的传染性单核细胞增多症患儿45例, 依据EB-DNA载量分为低病毒载量组($<10^5$ copies/mL) 22例和高病毒载量组($\geq 10^5$ copies/mL) 23例。分析患儿外周血淋巴细胞亚群百分比的分布情况及与EB病毒DNA载量的相关性分析。采用受试者特征曲线(ROC)评估外周血淋巴细胞亚群对疾病转归的预测价值。结果: 与低病毒载量组相比, 高病毒载量组淋巴亚群CD3⁺T细胞和CD8⁺T细胞频率明显上升($P < 0.01$, $P < 0.001$); CD4⁺T细胞、CD19⁺B细胞和调节性T细胞(Treg)频率及CD4⁺/CD8⁺比值显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); CD3-CD16⁺CD56⁺NK细胞频率则无显著性差异($P > 0.05$)。Pearson相关性分析结果显示CD3⁺T细胞和CD8⁺T细胞频率均与EB-DNA载量呈正相关($P < 0.001$, $P < 0.001$); CD4⁺T细胞频率、CD19⁺B细胞频率、Treg细胞频率及CD4⁺/CD8⁺比值与EB-DNA载量呈负相关($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.001$)。ROC曲线分析表明CD3⁺T细胞、CD4⁺T细胞、CD8⁺T细胞频率和Treg细胞频率以及CD4⁺/CD8⁺比值均具有较好的预测疾病转归的价值。结论: 传染性单核细胞增多症患儿外周血CD3⁺T细胞频率和CD8⁺T细胞频率与EB-DNA载量呈正相关; CD4⁺T细胞频率、CD19⁺B细胞频率、Treg细胞频率和CD4⁺/CD8⁺比值与EB-DNA载量呈负相关, 对预测疾病转归具有较好的临床意义。

关键词

传染性单核细胞增多症, EB病毒, EB-DNA, 淋巴细胞亚群

*通讯作者。

Distribution of Peripheral Blood Lymphocyte Subsets in Pediatric Patients with Infectious Mononucleosis

—Characterization and Correlation Analysis with Epstein-Barr Viral Load

Huijuan Fang, Mengqi Ruan, Qing Xv, Qing Wang, Qiang Zhou*

Department of Clinical Laboratory, The Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University, Hefei Anhui

Received: Aug. 15th, 2025; accepted: Sep. 8th, 2025; published: Sep. 18th, 2025

Abstract

Objective: To investigate the distribution characteristics of peripheral blood lymphocyte subsets and their correlation with Epstein-Barr virus DNA (EB-DNA) load in children with infectious mononucleosis (IM). **Methods:** A total of 45 children with IM who were treated in the Second Affiliated Hospital of Anhui Medical University were enrolled. According to the EB-DNA load, they were divided into the low viral load group ($<10^5$ copies/mL, $n = 22$) and the high viral load group ($\geq 10^5$ copies/mL, $n = 23$). The distribution of peripheral blood lymphocyte subset percentages and their correlation with EB-DNA load were analyzed. Receiver operating characteristic (ROC) curves were used to evaluate the predictive value of peripheral blood lymphocyte subsets for disease outcome. **Results:** Compared with the low viral load group, the high viral load group showed significantly increased frequencies of CD3⁺ T cells and CD8⁺ T cells ($P < 0.01$, $P < 0.001$); significantly decreased frequencies of CD4⁺ T cells, CD19⁺ B cells, and regulatory T cells (Treg), as well as a significantly reduced CD4⁺/CD8⁺ ratio ($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); while no significant difference was observed in the frequency of CD3⁺CD16⁺CD56⁺ natural killer (NK) cells ($P > 0.05$). Pearson correlation analysis revealed that the frequencies of CD3⁺ T cells and CD8⁺ T cells were positively correlated with EB-DNA load ($P < 0.001$, $P < 0.001$); the frequencies of CD4⁺ T cells, CD19⁺ B cells, and Treg cells, as well as the CD4⁺/CD8⁺ ratio, were negatively correlated with EB-DNA load ($P < 0.001$, $P < 0.001$, $P < 0.01$, $P < 0.001$). ROC curve analysis indicated that the frequencies of CD3⁺ T cells, CD4⁺ T cells, CD8⁺ T cells, and Treg cells, as well as the CD4⁺/CD8⁺ ratio, all had good value in predicting disease outcome. **Conclusion:** In children with IM, the frequencies of peripheral blood CD3⁺ T cells and CD8⁺ T cells are positively correlated with EB-DNA load; the frequencies of CD4⁺ T cells, CD19⁺ B cells, and Treg cells, as well as the CD4⁺/CD8⁺ ratio, are negatively correlated with EB-DNA load, which have good clinical significance for predicting disease outcome.

Keywords

Infectious Mononucleosis, Epstein-Barr Virus, EB-DNA, Lymphocyte Subsets

Copyright © 2025 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

传染性单核细胞增多症(Infectious mononucleosis, IM)是一种自限性、儿科常见的急性感染性疾病,大多数患儿预后良好,但部分患儿会有多脏器受累的现象发生,进一步引发肝炎、脾破裂以及噬血综合征等并发症,少数患儿可进展为重症 IM,严重者影响预后[1] [2]。EB 病毒(EBV)是一种双链 DNA 病毒,原发性 EB 病毒感染通常发生在儿童早期,无症状。如果延迟到青春期或更晚,它可能与传染性单核细胞增多症的临床综合征有关,这种疾病的主要特征是发热、咽炎、淋巴结肿大和不适,该病毒在人类宿主中建立终生潜伏期,并善于逃避宿主先天性和适应性免疫反应[3]。有研究报道淋巴细胞亚群的数量表型等免疫学特征与 EBV 感染相关性疾病的发生发展及治疗预后相关[4]-[7]。因此,本研究对在我院就诊的 45 例 IM 患儿的外周血 EB 病毒载量和淋巴细胞亚群分布特征及其相关性进行了回顾性分析,旨在探讨 IM 患儿外周血淋巴细胞亚群分布特征,及其与 EB 病毒载量的相关性分析和对疾病转归的预测价值。

2. 材料和方法

2.1. 一般资料

选取在安徽医科大学第二附属医院就诊的 IM 患儿 45 例,其中男 26 例,女 19 例,年龄范围 1.3~10.3 岁,平均年龄(4.9 ± 2.2)岁。传染性单核细胞增多症诊断符合临床和实验室诊断标准[8]。

2.2. 标本采集

抽取传染性单核细胞增多症患儿外周血 EDTA 抗凝血,采血后立即颠倒混匀 8~10 次,用于外周血 EB 病毒 DNA 和淋巴细胞亚群的检测。

2.3. 检测方法

2.3.1. 流式细胞术检测淋巴细胞亚群

向 15 ml 离心管中加 2 ml 淋巴细胞分离液,再加 3 ml 抗凝血,800 g 离心 20 min,吸取血清和分离液中间的一层,加入适量磷酸盐缓冲液(PBS),350 g 离心 5 min,弃去上清收集细胞沉淀,适量 PBS 重悬制备淋巴细胞悬液。向分选的淋巴细胞中加入相应抗体避光孵育 15~20 min,洗涤后利用流式细胞仪检测。检测方法严格按照试剂说明书进行。仪器检测前需进行清洗并依照通道进行调试。

2.3.2. 外周血单核细胞 EB 病毒 DNA 检测

EB 病毒 DNA 检测试剂盒购自苏州天隆生物科技有限公司,检测方法为实时荧光定量聚合酶链反应,由实时荧光定量 PCR 仪(ABI QuantStudio5)扩增完成,操作严格按照 SOP 文件进行,EB 病毒 DNA 检测线性范围: $1.0E+3 \sim 1.0E+8$ copies/mL。

2.4. 统计方法

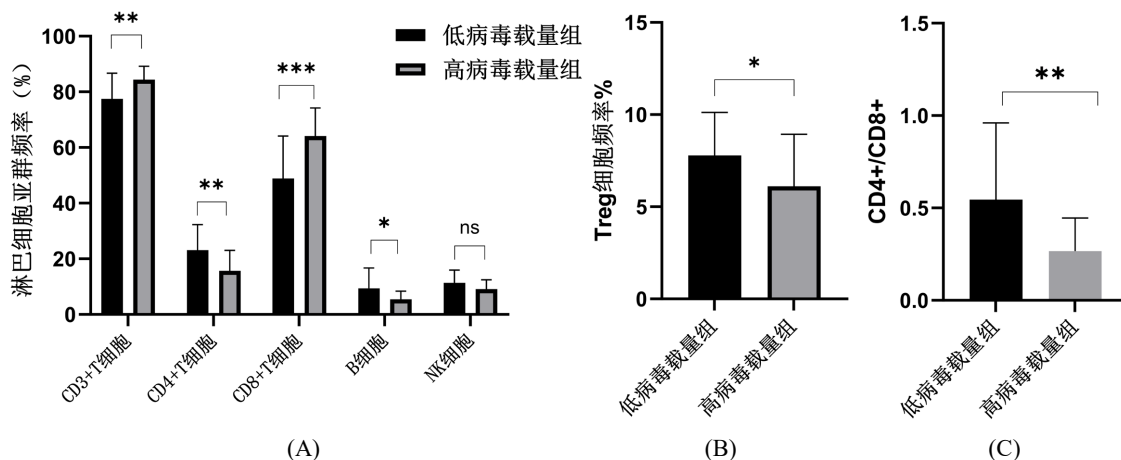
采用 SPSS 27.0 软件分析数据,连续变量根据是否符合正态分布,正态分布的数据使用 t 检验进行比较,否则采用 Mann-Whitney U 检验。Pearson 相关性分析淋巴细胞亚群频率与 EB 病毒载量的相关性,采用 ROC 曲线评估淋巴细胞亚群对 IM 患儿疾病转归的预测价值。 $P < 0.05$ 被认为差异具有统计学意义。

3. 结果

3.1. IM 患儿 EB-DNA 不同载量淋巴细胞亚群的比较

45 例 IM 患儿依据 EB-DNA 载量[9]分为低病毒载量组($<10^5$ copies/mL) 22 例,占比 48.9%;高病毒载量组($\geq 10^5$ copies/mL)患者 23 例,占比 51.1%。如图 1 所示,高病毒载量组 IM 患儿与低病毒载量组相

比,淋巴细胞亚群中 $CD3^+$ T 细胞频率和 $CD8^+$ T 细胞频率明显上升($P < 0.01$, $P < 0.001$); $CD4^+$ T 细胞频率、 $CD19^+$ B 细胞频率、 $CD4^+CD25^+CD127^{low}$ Treg 细胞频率和 $CD4^+/CD8^+$ 比值显著降低($P < 0.01$, $P < 0.05$, $P < 0.05$, $P < 0.01$); $CD3^+CD16^+CD56^+$ NK 淋巴细胞频率则无显著性差异($P > 0.05$)。

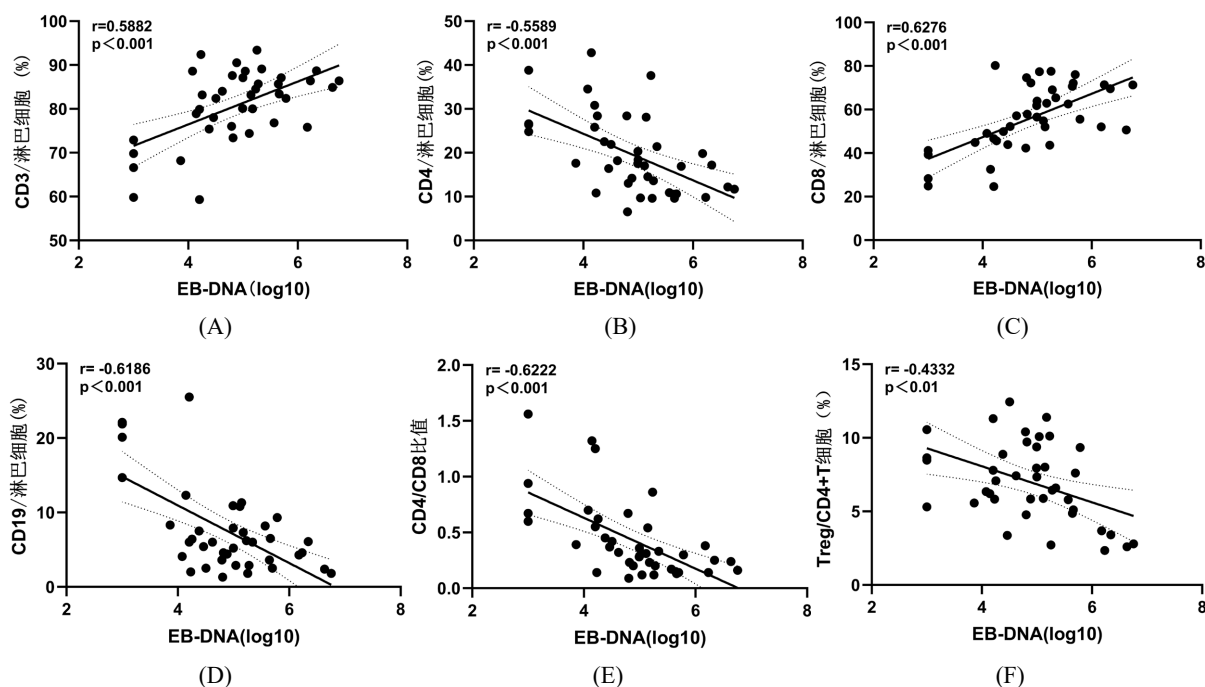


(A) 不同 EB 病毒载量 T、B、NK 淋巴细胞亚群频率比较; (B) 不同 EB 病毒载量 Treg 淋巴细胞频率比较; (C) 不同 EB 病毒载量 $CD4^+/CD8^+$ 比值的比较。* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

Figure 1. Distribution characteristics of lymphocyte subset frequencies in children with IM

图 1. IM 患儿淋巴细胞亚群频率分布特征

3.2. IM 患儿 EB-DNA 载量与淋巴细胞亚群的相关性分析



传染性单核细胞增多症患者 EB-DNA 载量与 $CD3^+$ T 细胞频率(A), $CD4^+$ T 细胞频率(B), $CD8^+$ T 细胞频率(C), $CD19^+$ B 细胞频率(D), $CD4^+/CD8^+$ 比值(E)和调节性 T 细胞 Treg 频率(F)的相关性。

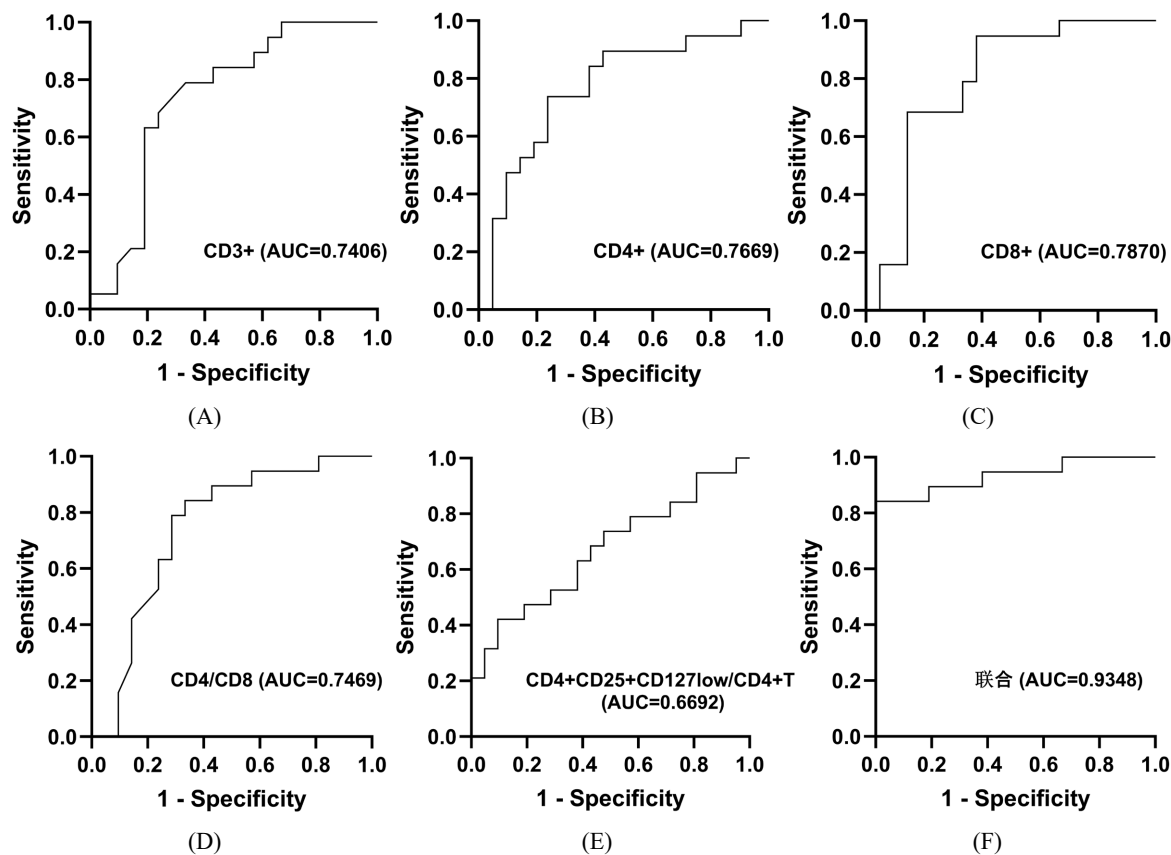
Figure 2. Correlation analysis between EBV-DNA load and lymphocyte subset frequencies

图 2. EB-DNA 载量与淋巴细胞亚群频率的相关性分析。

IM 患儿 EB-DNA 载量与 CD3⁺、CD8⁺ T 细胞频率呈正相关($r=0.5882, P<0.001$; $r=0.6276, P<0.001$); 与 CD4⁺ T 细胞频率、CD19⁺B 细胞频率、CD4⁺/CD8⁺比值、CD4⁺CD25⁺CD127^{low} Treg 细胞频率呈负相关($r=-0.5589, P<0.001$; $r=-0.6186, P<0.001$; $r=-0.6222, P<0.001$; $r=-0.4332, P<0.01$), 见图 2。

3.3. 外周血淋巴细胞亚群频率对传染性单核细胞增多症疾病转归的预测价值

采用 ROC 曲线分析评估外周血淋巴细胞亚群频率对传染性单核细胞增多症疾病转归的预测价值。其中 CD3⁺ T 细胞频率曲线下面积为 0.7406, CD4⁺ T 细胞频率曲线下面积为 0.7669, CD8⁺ T 细胞频率曲线下面积为 0.7870, CD4⁺/CD8⁺比值曲线下面积为 0.7469, CD4⁺CD25⁺CD127^{low} Treg 细胞频率曲线下面积为 0.6692, CD3⁺ T 细胞频率、CD4⁺/CD8⁺比值和 Treg 细胞频率联合曲线下面积为 0.9348 (图 3 和表 1)。因此, T 淋巴细胞亚群联合检测优于各单项指标, 具有较好地预测疾病转归的临床价值。



CD3⁺ T 细胞频率(A), CD4⁺ T 细胞频率(B), CD8⁺ T 细胞频率(C), CD4⁺/CD8⁺比值(D)和调节性 T 细胞 Treg 频率(E)以及联合组(F)对传染性单核细胞增多症疾病转归的预测价值, 其中联合组包括 CD3⁺ T 细胞频率、CD4⁺/CD8⁺比值和 Treg 细胞频率。

Figure 3. ROC curves of T lymphocyte subsets for predicting disease outcomes in children with IM

图 3. T 淋巴细胞亚群预测 IM 患儿疾病转归的 ROC 曲线

Table 1. Area under the ROC curve of T lymphocyte subsets for predicting disease outcomes in children with IM

表 1. T 淋巴细胞亚群预测 IM 患儿疾病转归的 ROC 曲线下面积

检测指标	AUC	95% CI	P
CD3 ⁺ T 细胞	0.7406	0.5809~0.9003	0.0093
CD4 ⁺ T 细胞	0.7669	0.6149~0.9189	0.0039

续表

CD8 ⁺ T 细胞	0.7870	0.6384~0.9355	0.0019
CD4 ⁺ /CD8 ⁺ 比值	0.7469	0.5875~0.9063	0.0076
CD4 ⁺ CD25 ⁺ CD127 ^{low} /CD4 ⁺ Treg 细胞	0.6692	0.4987~0.8396	0.0675
联合检测	0.9348	0.8530~1.0000	< 0.001

注：联合检测包括 CD3⁺ T 细胞、CD4⁺/CD8⁺比值和 CD4⁺CD25⁺CD127^{low}/CD4⁺ Treg。

4. 讨论

EB 病毒是导致传染性单核细胞增多症(IM)的嗜淋巴细胞病毒[10] [11]。有研究[12]表明, IM 症状可能与激活增殖的 CD8⁺ T 淋巴细胞对病毒的免疫应答有关, 而非病毒感染本身所导致。此外, 也有研究[13]显示 IM 中 EB-DNA 载量与 CD8⁺ T 淋巴细胞表达呈正相关, 可能是高病毒载量激活 CD8⁺ T 淋巴细胞的增殖有关。亦有研究[14]验证 T 细胞中的高 EBV DNA 载量可以作为 EBV-相关噬血细胞综合症发展的潜在预测因子。本研究主要分析了外周血淋巴细胞亚群与 IM 患儿 EB-DNA 载量之间的相关性及其对疾病转归的预测价值。研究表明 EB 病毒载量与 IM 患儿疾病严重程度密切相关。CD3⁺ T 细胞频率, CD4⁺ T 细胞频率, CD8⁺ T 细胞频率, CD4⁺/CD8⁺比值和调节性 T 细胞 Treg 频率联合检测能够很好地预测病毒学指标 EB-DNA 载量, 进而用于临床预判 IM 患儿病情转归情况, 指导临床治疗。

一般情况下, EBV 主要通过 CD21 受体感染 B 淋巴细胞, 感染 B 淋巴细胞后, 进一步引起 CD4⁺和 CD8⁺ T 淋巴细胞增殖。现有研究表明, EBV 感染的免疫控制主要依赖于细胞免疫反应, 尤其是 CD8⁺ T 细胞的细胞毒作用。外周血中 CD8⁺ T 细胞的频率与 EBV 载量呈正相关, 而 B 淋巴细胞和 CD4⁺ T 淋巴细胞的频率则与 EBV 载量呈负相关[15]。CD4⁺ 和 CD8⁺ T 淋巴细胞各自发挥作用, CD4⁺ T 淋巴细胞借助细胞因子调节炎症反应, CD8⁺ T 淋巴细胞通过细胞毒作用杀伤被感染的 B 淋巴细胞, CD4⁺/CD8⁺ T 淋巴细胞比值反映机体的免疫水平, 比值降低提示机体免疫功能减弱[16]-[18], 因此认为细胞免疫对 EB 病毒感染起决定性作用[19] [20]。本研究中已经证实了 IM 患儿高病毒载量组 CD3⁺ T 淋巴细胞频率、CD8⁺ T 淋巴细胞频率显著上调, 提示患儿 EB 病毒感染后机体 T 淋巴细胞发生剧烈免疫反应; CD4⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺明显下降, 说明机体细胞免疫功能下降。近年来有文献报道了 Treg 细胞的新标志物 CD4⁺CD25⁺CD127^{low} 细胞在 IM 患儿外周血中比例明显下降, 该现象涉及多因素共同作用, 可能伴随功能耗竭和凋亡增加, 也可能因向病灶组织迁移在外周血中比例降低, 需进一步实验验证, 这表明它可能与 IM 疾病的发生和发展有关[21]-[24]。同时本文结果也显示 Treg 细胞与 EB-DNA 载量呈负相关, 可见患儿机体感染 EB 病毒时 Treg 细胞在病毒清除以及维持机体稳定过程中发挥了重要作用。

综上所述, EBV 病毒载量与淋巴细胞亚群存在相关性, CD3⁺ T 淋巴细胞、CD4⁺/CD8⁺比值和 Treg 细胞频率联合检测可用于临床预判 IM 患儿疾病转归。IM 疾病发生发展过程中, 可借助淋巴细胞亚群分析判断机体的免疫应答, 预判疾病转归。治疗过程中, 在使用抗病毒治疗的同时, 依据机体免疫状况加强免疫疗法, 从而更有利于疾病转归。

基金项目

本研究获得安徽医科大学第二附属医院医学伦理委员会批准(审批号: 2023-036)。

参考文献

[1] Lupo, J., Truffot, A., Andreani, J., Habib, M., Epaulard, O., Morand, P., *et al.* (2023) Virological Markers in Epstein-Barr Virus-Associated Diseases. *Viruses*, **15**, Article 656. <https://doi.org/10.3390/v15030656>

- [2] 徐云霞. 外周血 T 淋巴细胞亚群检测对 IM 诊断及治疗效果的预测价值[J]. 现代实用医学, 2024, 36(2): 254-257.
- [3] Damania, B., Kenney, S.C. and Raab-Traub, N. (2022) Epstein-Barr Virus: Biology and Clinical Disease. *Cell*, **185**, 3652-3670. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2022.08.026>
- [4] Fujiwara, S. and Nakamura, H. (2020) Chronic Active Epstein-Barr Virus Infection: Is It Immunodeficiency, Malignancy, or Both? *Cancers*, **12**, Article 3202. <https://doi.org/10.3390/cancers12113202>
- [5] Liou, A.K., Soon, G., Tan, L., Peng, Y., Cher, B.M., Goh, B.C., *et al.* (2020) Elevated IL18 Levels in Nasopharyngeal Carcinoma Induced PD-1 Expression on NK Cells in TILs Leading to Poor Prognosis. *Oral Oncology*, **104**, Article 104616. <https://doi.org/10.1016/j.oraloncology.2020.104616>
- [6] Zaki, A. (2021) Primary Epstein-Barr Virus Infection in Healthy Children in Saudi Arabia: A Single Hospital-Based Study. *Journal of Tropical Pediatrics*, **67**, fmaa121. <https://doi.org/10.1093/tropej/fmaa121>
- [7] Yang, Y. and Gao, F. (2020) Clinical Characteristics of Primary and Reactivated Epstein-Barr Virus Infection in Children. *Journal of Medical Virology*, **92**, 3709-3716. <https://doi.org/10.1002/jmv.26202>
- [8] 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[J]. 中华儿科杂志, 2021, 59(11): 905-911.
- [9] 沈燕琴, 冯俊杰, 蔡慧琳. 传染性单核细胞增多症患者 EB 病毒载量与临床特征相关性分析[J]. 中国乡村医药, 2021, 28(14): 13-14.
- [10] 胡杰, 李文博, 张帆. 血清 ADA、LDH 及 EBV-DNA 对儿童传染性单核细胞增多症的诊断意义[J]. 分子诊断与治疗杂志, 2022, 14(1): 28-31.
- [11] Gonzalez Quintela, A., Paez-Guillan, E., Campos-Franco, J. and Alende, R. (2023) Hematological Abnormalities Beyond Lymphocytosis during Infectious Mononucleosis: Epstein-Barr Virus-Induced Thrombocytopenia. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, **15**, e2023023. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2023.023>
- [12] 章婷婷, 金速速, 陈华乐. EB 病毒 DNA 载量在传染性单核细胞增多症中的应用价值[J]. 温州医科大学学报, 2022, 52(1): 57-60.
- [13] 赵侗玲. EB 病毒感染患儿 T 淋巴细胞亚群水平变化及临床意义分析[J]. 检验医学与临床, 2022, 19(11): 1559-1561.
- [14] Fang, X., Xu, S., Cai, K., Cong, X., Li, Y., Li, Y., *et al.* (2025) High Epstein-Barr Virus DNA Load in T Cells Predicts Hemophagocytic Lymphohistiocytosis. *The Journal of Infectious Diseases*, **232**, 212-219. <https://doi.org/10.1093/infdis/jiaf065>
- [15] Zhang, Y., Huang, C., Zhang, H., Duan, Z., Liu, Q., Li, J., *et al.* (2023) Characteristics of Immunological Events in Epstein-Barr Virus Infection in Children with Infectious Mononucleosis. *Frontiers in Pediatrics*, **11**, e1060053.
- [16] Li, Y., Zhang, W., Liu, X., *et al.* (2025) Clinical Characteristics and Prognosis of EBV-Positive Mature B-Cell Lymphoma in Children: A Retrospective Study. *Annals of Hematology*, **104**, 365-378.
- [17] 刘晓宇, 呼娟娟, 张俊红. EBV 感染致传染性单核细胞增多症患者外周血淋巴细胞亚群和免疫球蛋白变化研究[J]. 传染病信息, 2021, 34(6): 545-548.
- [18] 叶翠燕, 苏宝凤. 传染性单核细胞增多症患者外周血淋巴细胞亚群及自然杀伤细胞的变化及临床意义[J]. 中国医药, 2019, 14(12): 1830-1833.
- [19] Forrest, C., Hislop, A.D., Rickinson, A.B. and Zuo, J. (2018) Proteome-Wide Analysis of CD8+ T Cell Responses to EBV Reveals Differences between Primary and Persistent Infection. *PLOS Pathogens*, **14**, e1007110. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1007110>
- [20] Khatiwada, P., Soni, M. and Muranski, P. (2023) Highly Active Cytotoxic CD4 + T Cells Targeting EBV Oncoproteins with Enhanced *in Vivo* Anti-Tumor and Self-Renewal Properties. *Blood*, **142**, 3464-3464. <https://doi.org/10.1182/blood-2023-190690>
- [21] 郭娟娟, 常虹, 郝国平. 传染性单核细胞增多症患者外周血 EBV-DNA 载量与 T 细胞亚群的相关性分析[J]. 中国现代医生, 2011, 49(34): 1-2+5.
- [22] 赵青松, 方瑞, 刘亢亢. CD4⁺ CD25⁺调节性 T 淋巴细胞在儿童传染性单核细胞增多症的变化及作用[J]. 安徽医学, 2019, 40(2): 175-177.
- [23] Wang, J., Luo, Y., Bi, P., *et al.* (2020) Mechanisms of Epstein-Barr Virus Nuclear Antigen 1 Favors Accumulation in Nasopharyngeal Carcinoma. *Cancer Medicine*, **9**, 5598-5608.
- [24] Wang, H., *et al.* (2025) The PD-1/PD-L1 Pathway and Epstein-Barr Virus. *European Journal of Medical Research*, **30**, 486.