

巨细胞病毒在炎症性肠病中的临床意义及其诊治策略

贾国葆 吴建胜 吴 亮 黄智铭 陈向荣

摘 要 **目的** 探讨巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)在炎症性肠病(inflammatory bowel disease, IBD)临床意义及其诊治策略。**方法** 从IBD患者[其中溃疡性结肠炎(UC)39例,克罗恩病(CD)15例]及对照组患者(肠易激综合征患者55例)血液中检测CMV抗体,并从UC患者(其中手术标本11例,肠镜下活检标本39例),以及克罗恩病患者(其中手术标本4例,肠镜下活检标本15例),及对照组肠镜下活检标本55例,检测CMV抗体及CMV包涵体。**结果** IBD伴CMV感染肠道病变更广泛,多为全结肠炎或右半结肠炎。IBD组CMV抗体阳性率高于对照组($P < 0.01$),重度、激素难治性UC组全身激素治疗多于非激素难治性UC组($P < 0.05$),重度、激素难治性UC组CMV IgM抗体阳性率高于非重度(和/或)激素难治性UC组($P < 0.05$),手术UC组血清CMV抗体阳性率高于非手术IBD组($P < 0.01$),重度、激素难治性UC组CMV包涵体(HE染色)阳性率与非重度(和/或)激素难治性UC组比较,差异无统计学意义($P > 0.05$),重度、激素难治性UC组CMV包涵体(IHC)阳性率高于非重度(和/或)激素难治性UC组($P < 0.01$),手术UC组CMV包涵体(IHC)阳性率高于非手术IBD组($P < 0.01$),重度或难治性IBD常合并或继发性CMV感染经适当的抗病毒治疗可明显改善病情。**结论** 血清学和组织学(特别是IHC)联合检测可提高CMV感染诊断的准确性。在重症或激素难治性UC患者检测CMV是特别重要的,如果检测到CMV感染,更昔洛韦抗病毒治疗应立即开始,逐渐减弱激素剂量,并停用免疫抑制剂。

关键词 巨细胞病毒 炎症性肠病 溃疡性结肠炎 克罗恩病

中图分类号 R4 **文献标识码** A **DOI** 10.11969/j.issn.1673-548X.2017.03.026

Clinical Significance and Management of Cytomegalovirus Infection in Patients with Inflammatory Bowel Disease. Jia Guobao, Wu Jiansheng, Wu Liang, et al. Department of Gastroenterology, The First Affiliated Hospital, Wenzhou Medical University, Zhejiang 325000, China

Abstract **Objective** To explore the clinical significance and management of cytomegalovirus infection in patients with inflammatory bowel disease (IBD). **Methods** All patients who were divided into the case group (IBD 54 cases) and the control group (irritable bowel syndrome 55 cases) underwent a blood sample extraction and a colonoscopy. Laboratory studies included CMV – IgG and CMV – IgM antibodies. Colonic biopsies were obtained by colonoscopy. Surgical specimens taken from IBD patients were examined for CMV infection. CMV infection rates were evaluated and a comparison of clinical parameters was made between CMV – positive and CMV – negative patients. The diagnosis was confirmed by a viral – like prodrome, a positive CMV IgM titer and /or presence of higher avidity IgG antibodies to CMV in the plasma, and /or immunohistological detection of CMV positive cells in colonic mucosa and /or surgical specimens. **Results** IBD patients with CMV – positive were more likely to pancolitis as compared to CMV – negative ones. CMV involvement occurs more frequent in the right colon. Anti – CMV IgM positive rate was more frequent in active steroid – refractory UC versus the control group ($P < 0.01$). Anti – CMV IgM was more frequent in severe UC or refractory UC than mild UC or moderate UC ($P < 0.05$). Anti – CMV IgM was more frequent in need operative UC group than non operative UC group ($P < 0.05$). CMV inclusions on H&E staining positive rate in severe UC or refractory UC was no different with mild UC or moderate UC ($P > 0.05$). CMV inclusions on IHC was more frequent in severe UC or refractory UC than mild UC or moderate UC ($P < 0.05$). CMV inclusions on IHC was more frequent in need operative UC group than non operative IBD group ($P < 0.05$). Treatment with ganciclovir gives rapid clinical, biochemical, and haematological response. **Conclusion** Serological and histological (especially IHC) combined detection can improve the accuracy of diagnosis of CMV infection. Detection of CMV was particularly important in patients with severe or hormone refractory UC, If CMV infection was detected, antiviral therapy with ganciclovir should be started immediately by tapering the steroid dose and discontinuing immunomodulators.

Key words Cytomegalovirus; Inflammatory bowel disease; Ulcerative colitis; Crohn's disease

基金项目:温州市科技局基金资助项目(Y20130061)

作者单位:325000 温州医科大学附属第一医院消化科(贾国葆、吴建胜、黄智铭、陈向荣),病理科(吴亮)

通讯作者:陈向荣,电子信箱:jgb93699@21cn.com

免疫功能完整的个体原发巨细胞病毒(cytomegalovirus, CMV)感染表现为一个温和的、自限性、单核细胞增多综合征。然而,在免疫抑制患者继发CMV感染可能会导致疾病恶化^[1]。炎症性肠病(inflamma-

tory bowel disease, IBD)患者常用激素或免疫抑制剂治疗,易继发或合并 CMV 感染,而且,炎症本身为 CMV 感染的易感因素。CMV 感染已被报道是难治性溃疡性结肠炎(ulcerative colitis, UC)的原因,认识 CMV 结肠炎作为 IBD 并发症是重要的,本研究旨在探讨 CMV 在重症或难治性 IBD 形成中的作用。

资料与方法

1. 资料:经笔者医院伦理委员会批准,选取温州医科大学附属第一医院消化内科 2012 年 1 月~2016 年 3 月确诊的 IBD 患者 54 例,其中 UC 39 例,克罗恩病(Crohn's disease, CD)15 例,对照组(肠易激综合征患者)55 例。

2. 诊断标准:(1)CMV 原发感染诊断标准:CMV-IgM 阳性,CMV-IgG 阴性。(2)CMV 继发感染诊断标准:CMV-IgM 阴性,但 IgG 浓度短期内升高(第 2 次的抗体效价和第 1 次比较呈现明显上升)。(3)CMV 结肠炎诊断标准:结肠组织学苏木精-伊红染色法(HE)和(或)免疫组织化学(immunohistochemistry IHC)检测到 CMV 包涵体。(4)重度 UC 诊断标准:腹泻>6 次/日,有明显黏液脓血便,体温>37.5℃、脉搏>90 次/分,血红蛋白<100g/L,血沉>30mm/h。(5)激素难治性 UC 诊断标准:对 2 周以上的大剂量激素无效或停药后复发,需使用免疫抑制剂、生物制剂甚至外科手术才能得到缓解,称为难治性 UC(IUC)^[2,3]。从 IBD 组及对照组患者血液中检测 CMV 抗体,并分别从 IBD 组及对照组肠镜下活检标本检测 CMV 抗体和 CMV 包涵体,评价 CMV 感染与 IBD 的关系。

3. 统计学方法:采用 SPSS 13.0 软件进行统计,计数资料比较采用 χ^2 检验及 Fisher's 精确检验,计量资料比较采用 *t* 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

IBD 伴 CMV 感染临床上多表现为发热、颈部淋巴结大、脾大、白细胞计数减少、血小板计数减少、肠道病变更广泛,多为全结肠炎或右半结肠炎。CMV IgM 为一迅速、非侵入性检测 CMV 感染的诊断方法。肠镜下活检是诊断 CMV 性结肠炎较为迅速和可靠的方法。重度、激素难治性 UC 组全身激素治疗多于非激素难治性 UC 组($P<0.05$,表 1),IBD 的 CMV 抗体阳性率高于对照组($P<0.01$,表 2),HE 染色检测到 CMV 包涵体 1 例(激素难治性 UC1 例),IHC 检测到 CMV 包涵体 7 例[重度 and (或)激素难治

性 UC 组 6 例与非重度、非难治性组(中度 UC)1 例]。重度和(或)激素难治性 UC 组与非重度、非难治性组 CMV 包涵体阳性率(HE 染色)差异无统计学意义($P=0.487$)。重度和(或)激素难治性 UC 组 CMV 包涵体阳性率(IHC 方法)高于非重度、非难治性组($P=0.035$,表 3)。IHC 检测 CMV 比 HE 染色更敏感。手术 UC 组血清 CMV 抗体阳性率高于非手术 IBD 组($P<0.01$),手术 UC 组包涵体阳性率高于非手术 IBD 组($P<0.01$,表 4)。IHC 结果表明 CMV 主要存在于肠道内皮细胞。IBD 无原发 CMV 感染病例,都为长期免疫抑制剂或激素治疗后继发激活。重症或难治性 IBD 经适当的抗病毒治疗可明显改善病

表 1 重度、激素难治性 UC 组和非激素难治性 UC 组临床数据

组别	重度、难治性 (<i>n</i> = 19)	非重度、非难治性 (<i>n</i> = 20)	<i>P</i>
年龄	41.1 ± 13.2	39.8 ± 16.1	>0.05
病程(年)	5.5 ± 3.1	4.4 ± 2.9	>0.05
全身激素[<i>n</i> (%)]	13(68.4)	7(35)	0.031

表 2 IBD 组和对照组血液 CMV 抗体阳性率对比[*n*(%)]

项目	对照组 (<i>n</i> = 55)	IBD (<i>n</i> = 54)	UC (<i>n</i> = 39)	CD (<i>n</i> = 15)
CMV IgG +	53(96)	54(100) *	39(100) **	15(100)
CMV IgM +	1(1.8)	6(11.1) *	5(12.8) **	1(6.7) **
CMV IgG 短期升高	2(0.4)	12(22.2) **	9(23.1) **	3(20.0) **

与对照组相比,* $P<0.05$,** $P<0.01$

表 3 重度、激素难治性 UC 组和非重度、非激素难治性 UC 组 CMV 抗体及包涵体阳性率对比

项目	重度、激素难治性 UC 组(<i>n</i> = 19)	非重度、非难治性 UC 组(<i>n</i> = 20)	<i>P</i>
CMV IgM + CMV IgG 短期升高	4 + 7	1 + 2	0.006
HE[<i>n</i> (%)]	1(5.3)	0	0.487
IHC[<i>n</i> (%)]	6(31.6)	1(5.0)	0.035

表 4 手术 IBD 组和非手术 IBD 组 CMV 抗体及包涵体阳性率对比[*n*(%)]

项目	非手术 IBD 组 (<i>n</i> = 39)	手术 UC 组 (<i>n</i> = 11)	手术 CD 组 (<i>n</i> = 4)
CMV IgM +	1(5.3)	4(36.4) *	1(25.0)
CMV IgG 短期升高	2(5.3)	8(72.7) **	2(50.0) *
HE	0(5.3)	1(9.0)	0(0.0)
IHC	1(5.3)	5(45.5) *	1(25.0)

与非手术 IBD 组比较,* $P<0.05$,** $P<0.001$

情。IBD 患者 CMV - IgM 阳性 6 例, IgG 浓度短期内升高 12 例, 80% (12 例) CMV 阳性的重度 UC 患者在更昔洛韦抗病毒治疗 4 周后改善, 抗病毒治疗使这些患者避免结肠切除术。仍有 3 例患者临床表现未能改善和并需要结肠切除术。

讨 论

IBD 的 CMV 感染多表现为发热、淋巴结大、脾大、白细胞减少和轻度肝炎^[4]。外周血单核细胞是病毒潜伏期的主要部位。与免疫抑制剂引起乙型肝炎病毒复燃相似, CMV 同样会复燃。当病毒重新活跃, 医源性免疫抑制极有可能加重病情。即使没有用免疫抑制剂, CMV 也可能作为 UC 复燃的扳机。本研究显示 CD 组 CMV 包涵体和 CMV 抗体阳性率都低于 UC 组, 提示 CMV 感染在 UC 和 CD 中的临床意义是不同的, CMV 不会改变 CD 临床病程, 但是 CMV 复燃在重症或激素难治性 UC 是常见的。CMV 可能加剧了 UC 临床过程。因本研究 CD 例数较少, 有待大样本观察 CMV 感染在 UC 和 CD 中的临床意义中的差异。

CMV 感染早期、准确的诊断可使患者得到合适的治疗。疾病活动期, 何为 CMV 最好的诊断和监测工具? CMV - DNA 为最敏感的方法, 但易假阳性, 因而特异性低。为了澄清 IBD 患者是原发还是继发感染 CMV, 血清中 CMV - IgM 水平增加提示最近 CMV 感染, 其有高度的敏感度和特异性, 而抗 CMV - IgG 提示曾经 CMV 感染。IgG CMV 抗体阳性率成人高于 60%, CMV 血清学对活动性感染的诊断价值有限。然而, CMV - IgM 或 IgG 浓度的改变能够诊断近期感染^[5]。本研究所有患者的顽固性 IBD 患者 CMV - IgG 抗体检测阳性。9 例使用免疫抑制药物的 IBD 患者结肠黏膜组织学证实 CMV 感染, 但 CMV - IgM 阴性, CMV - IgM 不表达是由于免疫抑制, >30% 的重度及激素难治性 UC 患者结肠组织中检测到 CMV。没有发现单独 CMV IgM 阳性的患者, 表明本研究中没有原发性 CMV 感染的病例。

结肠镜肠黏膜活检是诊断 CMV 结肠炎较为迅速和可靠的方法。但是由于包涵体检出的低敏感度, 需要血清学和组织学 (特别是 IHC) 联合检测方可提高 CMV 感染诊断的准确性。CMV 结肠炎在肠镜下结肠黏膜表现可基本正常, 也可表现为微小糜烂、鸟眼状溃疡和假性肿瘤。CMV 阳性的患者典型各种类型结肠镜图像包括穿凿样溃疡, 地图样溃疡和不规则溃疡, 穿凿样溃疡, 地图样溃疡或许为 CMV 阳性 UC 患

者的内镜下特征性表现, 可指导区分活动性 CMV 结肠炎与 IBD 结肠炎。

在严重的 IBD 患者, 内镜下活检是一个高风险、不能耐受的侵入性方法, 因而肠镜检查并不是很好的筛查 CMV 的方法^[6]。组织学显示黏膜感染 CMV 经典外观为鹰眼包涵体, 是诊断 CMV 结肠炎的金标准。CMV 嗜增殖细胞的肉芽组织, 内皮细胞是体内 CMV 感染的通常靶点^[6]。IBD 患者结肠黏膜溃疡部位的固有层和黏膜下层, 以及在血管内皮细胞中检测出 CMV 包涵体, 提示 IBD 重叠 CMV 感染。H&E 染色检测到激素难治性 UCCMV 包涵体 1 例, 但是, IHC 检测到 CMV 包涵体 7 例 [其中重度 (或) 激素难治性 UC 组 6 例与非重度、非难治性组 (中度 UC) 1 例]。HE 的敏感度 <10%, 可能是由于组织检测的低敏感度, 活检取材部位, 组织的数量也影响包涵体检测结果。IHC 比 HE 更敏感, 应视为难治性 UC 常规评价。UC 结肠切除术标本的 CMV 检出率高于活检标本, 显示以结肠切除术后的标本诊断 CMV 感染比活检标本更准确。由于单次活检的局限性, 仅全结肠手术切除标本的病理分析能明确 CMV 结肠炎的真实发生率。因此, IBD 常伴 CMV 结肠炎被低估^[7]。

值得注意的是, 本研究结肠 CMV 病血清 CMV - IgG 全部阳性, 表明 CMV 感染为复燃而不是原发感染。8 例未接受抗病毒治疗的 IBD 患者行结肠切除术后病情缓解, 在残余的肠黏膜中未检测到 CMV。CMV 激活所致的活动性结肠炎病变仅限于手术切除部分, 证实了 IBD 患者 CMV 原发感染是极不可能的。激素难治性 UC 患者 CMV 病的发生率高。CMV 感染与激素难治性 UC 有显著相关性。本研究显示 UC 活动比使用免疫抑制剂治疗更重要, 没有非活动性 UC 发展为 CMV 疾病。严重 UC 的 CMV 感染程度高于中等 UC 或 CD 及对照组。CMV 阳性组全身性激素治疗剂量高于 CMV 阴性组, 但差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 且与激素剂量无关。CMV 感染与 UC 恶化, 疾病严重程度, 和激素难治性相关。CD 和 UC 激素治疗常常是相似的, 但 UC 感染 CMV 多于 CD, 显示 UC 为 CMV 感染特异性靶目标, 激素抵抗是 CMV 感染的特点^[8]。因此, 严重 UC 患者需要排除 CMV 感染。

活动性 IBD 合并 CMV 感染的最佳治疗策略是什么? 由于隐性或亚临床 CMV 感染不是免疫抑制剂治疗的禁忌, 开始免疫抑制剂治疗前, CMV 感染的常

规筛查是没有必要的。大多数感染 CMV 的 IBD 患者没有抗病毒治疗, CMV 也消失了, CMV 的激活和发病的严重程度之间的关系仍有争议, CMV 阳性的 IBD 患者没有绝对的抗病毒治疗的指征^[9,10]。对激素或免疫抑制剂抵抗的 CMV 阳性的难治或重度 IBD 患者, 临床医生常面临的治疗困境是应该开始抗病毒治疗, 还是应减少免疫抑制水平? 本研究 80% (12 例) CMV 阳性的 UC 患者抗病毒治疗后改善, 避免结肠切除术。但是, 即使在成功的抗病毒治疗后, 本研究仍有 3 例患者临床表现未能改善和并需要结肠切除术。在免疫抑制剂治疗期间, 那些有严重的结肠炎的肠黏膜中检测到 CMV 感染, 更昔洛韦抗病毒治疗应立即开始, 逐渐减弱激素剂量, 并停用免疫抑制剂。更昔洛韦治疗 CMV 感染可恢复免疫抑制治疗的反应, 并防止结肠切除术。重度或难治性 IBD 经适当的抗病毒治疗可明显改善病情。

总之, IBD 患者继发或伴发 CMV 感染不罕见, 血清学和组织学 (特别是 IHC) 联合检测可提高 CMV 感染诊断的准确性。CMV 在 IBD 发病机制中并不仅为旁观者, CMV 在触发 IBD 炎症中扮演了关键的作用, 并导致 IBD 并发症。CMV 显然与更严重的 IBD 相关^[11]。顽固 IBD 或 IBD 患者迅速恶化, 在强免疫抑制剂治疗前应排除 CMV 感染。认识 CMV 结肠炎作为 IBD 的并发症是重要的, 特别是在严重的激素抵抗的结肠炎抗病毒治疗失败的患者, 还需要进行彻底的手术治疗。

参考文献

- 1 Hamlin PJ, Shah MN, Scott N, *et al.* Systemic cytomegalovirus infection complicating ulcerative colitis; a case report and review of the lit-

- erature[J]. *Postgrad Med J*, 2004, 80:233 - 235
- 2 沈凯, 薛猛, 曹倩. 难治性溃疡性结肠炎诊治进展[J]. *浙江临床医学*, 2015, 17(3):489 - 491
- 3 曹倩, 薛猛, 雷敏. 234 例难治性溃疡性结肠炎患者临床特征及治疗分析[J]. *中华消化杂志*, 2011, 31(9):577 - 581
- 4 Maha M, Maher, Mahmoud I, *et al.* Acute cytomegalovirus infection is a risk factor in refractory and complicated inflammatory bowel disease [J]. *Dig Dis Sci*, 2009, 54:2456 - 2462
- 5 Yi FM, Zhao J, Luckheeram RV, *et al.* The prevalence and risk factors of cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease in Wuhan, Central China[J]. *Virology Journal*, 2013, 10:43
- 6 Hommes DW, Sterringa G, Sander JH, *et al.* The pathogenicity of cytomegalovirus in inflammatory bowel disease, A systematic review and evidence - based recommendations for future research [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2004;10:245 - 250
- 7 Kojima T, Watanabe T, Hata K, *et al.* Cytomegalovirus infection in ulcerative colitis [J]. *Scandinavian J Gastroenterol*, 2006, 41:706 - 711
- 8 Kuwabara A, Okamoto H, Suda T, *et al.* Clinicopathologic characteristics of clinically relevant cytomegalovirus infection in inflammatory bowel disease [J]. *J Gastroenterol*, 2007, 42:823 - 829
- 9 Matsuoka K, Iwao Y, Mori T, *et al.* Cytomegalovirus is frequently reactivated and disappears without antiviral agents in ulcerative colitis patients [J]. *Am J Gastroenterol*, 2007, 102:331 - 337
- 10 Le've`que N, Brixi - Benmansour H, Reig T, *et al.* Low frequency of cytomegalovirus infection during exacerbations of Inflammatory bowel diseases [J]. *J Med Virol*, 2010, 82:1694 - 1700
- 11 Iida T, Ikeya K, Watanabe F, *et al.* Looking for endoscopic features of cytomegalovirus colitis; a study of 187 patients with active ulcerative colitis, positive and negative for cytomegalovirus [J]. *Inflamm Bowel Dis*, 2013, 19:1156 - 1163

(收稿日期:2016 - 07 - 09)

(修回日期:2016 - 08 - 23)

291 例溃疡性结肠炎患者中溶质相关载体 26A3 基因多态性分析

陈一鹏 杨 威 吴超群 吴小丽 金 捷 俞俐琴 蒋 益

摘 要 目的 探讨溶质相关载体 (SLC)26A3 基因单核苷酸多态性 (SNP) 与溃疡性结肠炎 (UC) 的关系。**方法** 收集 291 例 UC 患者和 380 例正常对照者, 采用多重 SNaPshot 技术检测 SLC26A3 (rs7810937、rs7785539 和 rs2108225) 3 个 SNP 位点的等位基因及基因型, 并进行连锁不平衡和单倍型分析。**结果** UC 组中 (rs2108225) 突变等位基因 (G) 和基因型 (AG + GG) 的频率

作者单位:325000 温州医科大学附属第二医院消化内科 (陈一鹏、杨威、吴超群、蒋益); 温州医科大学附属第一医院 (吴小丽); 温州市中心医院 (金捷); 温州市人民医院 (俞俐琴)

通讯作者:蒋益, 电子信箱: wzjiangyi@yeah.net