

先天性青光眼患儿房水及血清疱疹病毒抗体检测分析

冯丽丽 王晓蕾 王朱健* 曹文俊* 陈雪莉

【摘要】 目的 研究原发性先天性青光眼(PCG)患儿房水及血清中的疱疹病毒感染情况,并比较分析病毒抗体阳性和阴性 PCG 患儿临床特点的差异。方法 抽取 13 例 PCG 患儿首次手术眼 13 眼的房水及血清,采用酶联免疫吸附试验(ELISA)检测房水单纯疱疹病毒(HSV)、水痘-带状疱疹病毒(VZV)、巨细胞病毒(CMV) IgG 抗体,血清中 HSV、VZV、CMV IgG 和 IgM 抗体,并采用聚合酶链反应(PCR)验证房水中病毒情况。抽取 13 例老年性白内障患者的房水作为房水对照组;抽取 50 例同年龄健康儿童外周血作为血清对照组。对 PCG 疱疹病毒抗体阳性组和阴性组间年龄、性别、眼别、最高眼压、杯盘比、角膜直径、房角结构、Haab 纹等临床特点进行比较分析。结果 13 例 PCG 患儿中 9 例(69.2%)血清疱疹病毒抗体检测阳性,对照组 50 例儿童无血清疱疹病毒抗体检测阳性病例;在所有 13 例 PCG 患儿中,房水病毒抗体阳性 1 例(CMV-IgG),另 1 例 CMV PCR 阳性,此 2 例患者血清疱疹病毒 IgG 抗体检测均为阳性,其余房水样本及对照组房水病毒检测均为阴性。PCG 患儿中,起病最高眼压、角膜直径、杯盘比和 Haab 纹所占比例在病毒阳性组和阴性组间差异均无统计学意义。结论 超过一半(69.2%)的 PCG 患者存在血清疱疹病毒抗体阳性。病毒阳性组与阴性组的起病最高眼压、角膜直径、杯盘比及 Haab 纹占比基本相似。

【关键词】 原发性先天性青光眼;疱疹病毒;房水;眼压;杯盘比

Analysis of antibody to herpes virus in aqueous and serum of primary congenital glaucoma patients FENG Li-li, WANG Xiao-lei, WANG Zhu-jian*, CAO Wen-jun*, CHEN Xue-li. Department of Ophthalmology, Eye Ear Nose and Throat Hospital of Fudan University, Shanghai 200031, China

Corresponding author: CHEN Xue-li, Email: Xueli_chen@fudan.edu.cn

【Abstract】 Objective To analyze the antibody to herpes virus in aqueous and serum of primary congenital glaucoma (PCG) patients and to compare the clinical characteristics between virus-positive and virus-negative eyes. **Methods** Thirteen PCG patients were enrolled in this cross-sectional study. All patients underwent aqueous and serum analysis for antibody to herpes virus by enzyme linked immune-sorbent assay (ELISA) and polymerase chain reaction (PCR). Thirteen aqueous from age-related cataract patients and 50 normal children's serum were set as the control group. The main clinical features were compared between virus-positive and virus-negative groups, including age, sex, affected eye, the highest intraocular pressure (IOP), cup to disc ratio (C/D), iris atrophy, corneal diameter, Haab striae and anterior chamber angle of the affected eyes. **Results** Thirteen PCG patients were tapped, of which 9/13 (69.2%) were herpes virus antibody-positive in serum. Meanwhile, there was only one case with CMV IgG-positive, and one PCR of CMV positive in aqueous. Both cases have positive virus antibody results in the serum. There was no significant statistical differences between virus positive and negative groups in average IOP, corneal diameter, C/D rate. Meanwhile, there was no herpes virus infection in serum and aqueous for the contrast group. **Conclusions** More than a half of the PCG patients were herpes virus antibody-positive in serum. Herpes virus-positive PCG patients presented similar IOP, corneal diameter, C/D ratio compared to the virus-negative PCG patients.

【Key words】 Primary congenital glaucoma; Herpes virus; Aqueous; Intraocular pressure; Cup to disk ratio

原发性先天性青光眼(primary congenital glaucoma, PCG)又称水眼、牛眼或发育性青光眼,是由于胚胎时期发育障碍,导致房角结构先天性异常或房角残留胚胎组织,阻碍房水正常排出,进而眼压升高和整个眼球不断增大,以视神经受到不可逆性损害为主要特征的

一种疾病。因大多数降眼压药物均有不同程度的全身副作用,临床上针对 PCG 的治疗以手术控制眼压为主^[1]。关于其确切病因尚不清楚。近年来几项研究显示,在部分青光眼患者的房水中检测到疱疹病毒(herpes virus),并表明病毒感染在青光眼的发病机制

作者单位:复旦大学附属眼耳鼻喉科医院眼科 * 检验科 上海 200031

通信作者:陈雪莉(Email: Xueli_chen@fudan.edu.cn)

DOI: 10.14166/j.issn.1671-2420.2018.05.011

中起到一定作用^[2-3]。但对于 PCG 患者,母体的病毒感染,尤其是疱疹病毒感染是否在其发病机制中发挥作用,目前尚无明确结论。临床上将受到疱疹病毒感染及未受到疱疹病毒感染的 PCG 患者区分开来是极为重要的。对于疱疹病毒感染的患者而言,如果降眼压手术治疗的同时联合抗病毒药物治疗,可能会收到更好的治疗效果。然而,目前判断 PCG 患者是否伴有疱疹病毒感染的常用方法是采用聚合酶链反应 (polymerase chain reaction, PCR) 检测眼内病毒的含量,但此方法不仅价格昂贵,而且房水样本不易获得,并非适用于所有患者。本研究目的在于结合 PCR 和相关病毒抗体生成 2 种方法检测 PCG 患者的房水情况,结合血清抗体生成情况,进而比较病毒阳性和病毒阴性 PCG 患者临床特点的差异。

1 资料与方法

1.1 资料 收集 2011 年 1~12 月在本科就诊的 PCG 患儿 13 例,作为 PCG 组,其中男性 9 例、女性 4 例。诊断依据:婴幼儿出现不明原因的畏光、流泪和眼睑痉挛,进行性眼球增大、眼轴增长,角膜水肿、混浊,伴/不伴后弹力层破裂,眼压异常升高 [>21 mmHg (1 mmHg = 0.133 kPa)],视乳头凹陷病理学扩大 (杯盘比 >0.3),房角结构发育异常 (中胚叶组织残留小梁或房角膜样组织生长等异常导致房水排出受阻)。详细询问所有患儿的病史及治疗情况,并在基础麻醉下,对患儿进行详细的眼部检查,包括眼压、角膜直径、角膜形态、房角结构及眼底检查等,记录一般资料。手术 (均为首次手术眼) 开始前抽取部分前房水及外周静脉血进行病毒相关检测。选取同期年龄相关性白内障患者 13 例 (13 眼) 作为房水对照组,所选患者均排除疱疹病毒感染病史,行白内障超声乳化手术前抽取房水;选取与 PCG 患儿年龄及性别匹配的健康儿童 50 例作为血清对照组,所选儿童无 PCG 病史,排除主要系统性疾病,各器官、组织发育正常,具备有效抵御各种疾病的能力。所有样本的获取均由患者监护人或患者本人签署知情同意书。

根据 13 例 PCG 患儿的病毒感染情况分为 2 组,病毒阳性组:PCR 结果及房水相关病毒 IgG 抗体生成结果,任一阳性;病毒阴性组:PCR 结果及房水相关病毒 IgG 抗体生成结果,均为阴性。

1.2 房水及静脉取材方法 卧位取材:患儿在全身麻醉下平卧于手术床,常规手术前结膜囊消毒、铺巾。在手术显微镜下进行操作,开睑器开睑,一手拿显微镊子固定眼球,另一手用 1 mL 空针从角膜缘平行穿刺进入

前房,抽取房水 0.1 mL,拔出针头,前房水立即送检。静脉取材:患儿在全身麻醉下平卧于手术床,于股静脉或肘静脉抽取 3 mL 外周静脉血。

1.3 病毒检测方法

1.3.1 房水和血清相关病毒抗体的测定 采用酶联免疫吸附试验 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) 试剂盒 (Virion/Serion, 德国) 检测受试者房水中单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus, HSV)、水痘-带状疱疹病毒 (varicella zoster virus, VZV)、巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 的 IgG 抗体及血清相应病毒的 IgG 及 IgM 抗体。检测步骤依据试剂盒说明书进行操作,酶标仪型号为 Tecan Sunrise (TECAN, 瑞士)。房水检测的吸光度 (optical density, OD) 值 $>$ 正常对照组样本的基准值,即平均 OD 值 + 2 倍标准差 (95% 可信区间) 为检出; \leq 基准值为未检出。同时采用散射免疫比浊法 (Nephstar, Goldsite Diagnostics, 中国) 检测房水及血清中的白蛋白浓度。房水中检测出的病毒 IgG 抗体以房水/血清白蛋白比值进行校正,校正比值的计算公式为: (房水病毒 IgG/血清病毒 IgG) / (房水白蛋白浓度/血清白蛋白浓度)。当房水中检出相关病毒 IgG 抗体,且房水/血清校正值 $>$ ROC 曲线计算出的最佳临界值时,可认为有眼内相关病毒 IgG 抗体产生。血清检测的 OD 值 $>$ 正常对照组样本的基准值,即平均 OD 值 + 2 倍标准差 (95% 可信区间) 为检出; \leq 基准值为未检出。

1.3.2 房水病毒 DNA 的检测 采用 DNA 检测试剂盒 (FlexiGene DNA Kits, QIAGEN) 从房水中提取病毒 DNA,检测具体步骤根据试剂盒说明书进行操作。采用 PG biotech 人相关病毒 (HHSV、HVZV、HCMV) 核酸扩增荧光检测试剂盒,使用实时 PCR 进行相关病毒 DNA 检测。

1.4 统计学处理 应用 SPSS 23.0 软件对所有数据进行处理分析。对 PCG 组与房水/血清对照组疱疹病毒感染情况的比较,用独立样本 t 检验;对疱疹病毒阳性组和阴性组间年龄、性别、眼别、房角结构、Haab 纹的比较,用 Fisher 精确检验;对疱疹病毒阳性组和阴性组间最高眼压、杯盘比、角膜直径的比较,用独立样本 t 检验; $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 PCG 组与房水/血清对照组的疱疹病毒及抗体检测情况 房水/血清对照组的房水/血清相关病毒抗体均为阴性。PCG 患者的疱疹病毒感染阳性率明显高于对照组 (表 1)。

表 1 PCG 组与房水/血清对照组的疱疹病毒及抗体检测情况

检测项目		PCG 组(13 例)	房水对照组(13 例)	血清对照组(50 例)
房水	HSV IgG	0	0	-
	CMV IgG	1	0	-
	VZV IgG	0	0	-
	CMV	1	0	-
血清	HSV IgG	3	-	0
	HSV IgM	0	-	0
	CMV IgG	8	-	0
	CMV IgM	1	-	0
	VZV IgG	0	-	0
	VZV IgM	0	-	0

注“-”表示无此项

2.2 PCG 患者中病毒抗体阳性组和阴性组的临床特征分析 PCG 组中病毒抗体阳性组和阴性组分别为 9 例和 4 例。2 组的平均年龄: 阳性组为(10.2 ± 18.9) 个月, 阴性组为(15.7 ± 7.2) 个月; 单眼患病: 双眼患病 = 7: 6; 起病最高眼压: 阳性组为(27.4 ± 10.7) mmHg, 阴性组为(36.3 ± 7.4) mmHg; 角膜直径: 阳性组为(13.06 ± 0.73) mm, 阴性组为(12.83 ± 0.58) mm; 杯盘比: 阳性组为 0.83 ± 0.11, 阴性组为 0.84 ± 0.11; Haab 纹所占比例: 阳性组为 88.9%, 阴性组为 75%。各项临床指标在 2 组间差异无统计学意义 (P 值均 < 0.05)。

2.3 PCG 患者房水病毒阳性组的临床资料 在 PCG 患儿中, 几乎所有的患儿均存在下面一项以上检查结果异常: 眼压增高、角膜直径增大、房角虹膜根部附着点前移、中胚叶组织残留、杯盘比明显增大及出现 Haab 纹等。其中, 房水病毒抗体阳性 1 例(CMV-IgG), 另 1 例 CMV PCR 阳性, 此 2 例患者血清 HSV IgG 抗体检测均为阳性。CMV-IgG 阳性患儿右眼发病, 最高眼压 52 mmHg, 杯盘比 1.0, 角膜直径 13 mm, 角膜水肿、混浊, 房角结构窥不清, 具有明显的 Haab 纹; 另 1 例 CMV PCR 阳性患儿双眼发病, 最高眼压 25.8 mmHg, 双眼杯盘比均为 0.8, 角膜直径 13.5 mm, 角膜水肿、混浊, 房角结构窥不清, 未见 Haab 纹。

3 讨论

疱疹病毒家族是一系列侵略细胞的微小有机体, 可以分裂细胞的正常活动。感染人类的疱疹病毒有 8 种, 包括 HSV-1、HSV-2、VZV、EB 病毒(EB virus, EBV)、CMV、人类疱疹病毒 6 型(HHV-6)、人类疱疹病毒 7 型(HHV-7) 以及人类疱疹病毒 8 型(HHV-8) [4]。

大多数 HSV-1 感染发生在幼年, 因绝大多数症状轻微或不明显而完全被忽略, 有症状者通常在嘴唇、鼻子等部位出现颜面部疱疹。有研究表明, 美国 14 岁以

上人群约有 56% 的人口感染过 HSV-1 [5]; 我国及日本、泰国等亚洲国家 HSV-1 的人群感染率为 50% ~ 60% [6]。HSV-2 感染通常造成生殖器疱疹。最新的研究数据表明美国 HSV-2 感染率高达 25%; 此外, 全球人群 HSV-2 感染也十分广泛: 挪威 24%、墨西哥 40%、澳大利亚 16%、瑞典 20%, 全球最高感染率为非洲撒哈拉南部女性的 70% [6]。几乎所有人在成年前都接触过 VZV, 但绝大多数患者为隐性感染而无症状。有症状者通常在皮损愈合后, 病毒潜伏于神经节细胞中, 以后可再度活动导致身体单边的疼痛性水疱皮损, 通常发作于胸、背或面部 [7-8]。

有关 HSV 和 VZV 感染型前部葡萄膜炎导致继发性青光眼的研究中, 47% ~ 90% 发生眼压升高 [9-11], 2% ~ 54% 发展为继发性青光眼 [9-10, 12-13]。关于 HSV 感染与青光眼的相关性, Falcon 等 [2] 曾经研究在英国 Moorfields 眼科医院因感染 HSV 而出现高眼压的 50 例患者, 发现 HSV 反复感染后的数周 ~ 30 年中, 绝大部分患者出现了眼压增高。没有患者在首次出现病毒感染性眼部症状时出现眼压升高。Hogan 等 [3] 首次对具有绝对期青光眼和疱疹性角结膜炎尸眼标本进行病理学研究发现, 在 HSV 感染的角结膜炎青光眼患者中, 小梁网的阻塞和炎症是眼压增高的主要原因。炎症细胞、纤维蛋白和血浆蛋白等的聚积导致小梁网的阻塞, 而角膜后膜(retrocorneal membrane) 的形成破坏了房角结构。因炎症反应而导致的增厚和水肿的小梁网也阻塞了房水的外流。虹膜后粘连导致瞳孔阻塞, 从而进一步发展为闭角型青光眼 [3]。但是在 Falcon 等 [2] 研究的 50 例患者中, 房角关闭并非是眼压增高的根本原因。

关于 CMV, 全球感染率超过 70%, 我国人群感染率为 95%。感染人群通常没有症状, 孕期感染 CMV 通常会新生儿产生严重影响 [14]。有研究表明, 胎儿宫内感染 CMV, 可导致视网膜脉络膜炎、视神经缺损

以及角膜混浊等病变^[15]; 在成人青光眼睫状体炎综合征患者中, 感染 CMV 可能导致小梁网炎症反应以及继发性青光眼发作^[16]。

本研究中 PCG 患者按照临床准入标准严格入组, 其中首次诊断时均进行了角膜直径、眼压、房角结构、杯盘比检查, 排除了先天性大角膜、产伤所致角膜混浊等疾病。另外, 本次研究选取的多为需要手术治疗的患儿, 均为多次就诊, 临床资料较完整。在收集的所有 PCG 患者中, 血清疱疹病毒 IgG 抗体的阳性率为 69.2%。由于婴儿自身免疫状况尚不完善, 且 IgG 相对分子量较小, 可通过胎盘, 故考虑此部分患儿母体感染病毒的可能性大。但由于本研究并未对患儿母亲进行相关的血清学检查, 故疱疹病毒感染可能来自于母体的结论仅限于猜测, 需要更详尽的检测数据支持。

目前关于 PCG 的发病机制尚无定论, 来源于母体的病毒感染或新生儿新发生的病毒感染, 是否在 PCG 的发病机制中发挥作用尚无相关研究。鲜有报道研究疱疹病毒感染与 PCG 发病相关性。尽管由于样本数量较少等原因并未证实病毒感染与 PCG 发病之间的确切相关性, 但我们的结果显示: 与正常对照组儿童相比, PCG 患儿血清中的病毒感染阳性率明显升高。由于病例样本数较少, 尚未发现血清病毒抗体阳性组和血清病毒抗体阴性组之间临床特征上的差异。但我们的结果提示, 疱疹病毒感染可能与 PCG 的发生存在相关性, 更大样本的研究有待进行; 同时, 关于疱疹相关病毒感染在 PCG 发病中的病理生理机制也需要进一步的深入研究。

参考文献

- [1] Faiq M, Sharma R, Dada R, et al. Genetic, biochemical and clinical insights into primary congenital glaucoma [J]. *J Curr Glaucoma Pract*, 2013, 7(2): 66-84.
- [2] Falcon MG, Williams HP. Herpes simplex kerato-uveitis and glaucoma [J]. *Trans Ophthalmol Soc U K*, 1978, 98(1): 101-104.

- [3] Hogan MJ, Kimura SJ, Thygeson P. Pathology of herpes simplex kerato-iritis [J]. *Trans Am Ophthalmol Soc*, 1963, 61(4): 75-99.
- [4] Eberle R, Jones-Engel L. Understanding primate herpesviruses [J]. *J Emerg Dis Virol* 2017, 3(1).
- [5] Xu F, Sternberg MR, Gottlieb SL, et al. Seroprevalence of herpes simplex virus type 2 among persons aged 14-49 years - United States, 2005-2008 [J]. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 2010, 59(15): 456-459.
- [6] Fernandes ND, Badri T. Herpes, simplex, congenital [M/OL] // *StatPearls*. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing, 2018. [2018-05-23]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK5078971>.
- [7] Steiner I, Kennedy PG, Pachner AR. The neurotropic herpes viruses: herpes simplex and varicella-zoster [J]. *Lancet Neurol*, 2007, 6(11): 1015-1028.
- [8] Nagel MA, Cohrs RJ, Mahalingam R, et al. The varicella zoster virus vasculopathies: clinical, CSF, imaging, and virologic features [J]. *Neurology*, 2008, 70(11): 853-860.
- [9] Tugal TI. Clinical features and prognosis of herpetic anterior uveitis: a retrospective study of 111 cases [J]. *Int Ophthalmol*, 2010, 30(5): 559-565.
- [10] Sungur GK, Hazirolan D, Yalvac IS, et al. Incidence and prognosis of ocular hypertension secondary to viral uveitis [J]. *Int Ophthalmol*, 2010, 30(2): 191-194.
- [11] Zandi S, Bodaghi B, Garweg JG. Review for disease of the year: treatment of viral anterior uveitis: a perspective [J]. *Ocul Immunol Inflamm* 2018.
- [12] Wensing B, Relvas LM, Caspers LE, et al. Comparison of rubella virus- and herpes virus-associated anterior uveitis: clinical manifestations and visual prognosis [J]. *Ophthalmology*, 2011, 118(10): 1905-1910.
- [13] Wensing B, Mochizuki M, De Boer JH. Clinical characteristics of herpes simplex virus associated anterior uveitis [J]. *Ocul Immunol Inflamm*, 26(3): 333-337.
- [14] Britt WJ. Maternal immunity and the natural history of congenital human cytomegalovirus infection [J]. *Viruses*, 2018, 10(8): 405.
- [15] Mets MB, Chhabra MS. Eye manifestations of intrauterine infections and their impact on childhood blindness [J]. *Surv Ophthalmol*, 2008, 53(2): 95-111.
- [16] Wong MG, Goldstein DA, Tessler HH. Presumed fuchs heterochromic iridocyclitis and Posner-Schlossman syndrome: comparison of cytomegalovirus-positive and -negative eyes [J]. *Am J Ophthalmol*, 2009, 146(6): 1106-1107.

(收稿日期 2018-07-18)

(本文编辑 诸静英)

试题 1. 答案: C。24 h 眼压波动范围正常值为 ≤ 4 mmHg, 病理值为 > 8 mmHg。

试题 2. 答案: D。运动可使正常人的眼压降低 3 ~ 6 mmHg, 且持续运动数小时, 其降眼压效果与噻吗洛尔滴眼液相似; 运动对青光眼和高眼压症患者的降眼压幅度更大。牵拉运动可引起眼压升高, 这可能与上巩膜静脉压升高和眼轮匝肌张力增加等因素有关。

试题 3. 答案: A。根据动态视野计定性检查, 青光眼视野缺损大致可分为早、中、晚 3 期。①早期: 旁中心暗点、鼻侧阶梯及颞侧楔形压陷; ②中期: 弓形暗点、环形暗点及鼻侧象限性缺损; ③晚期: 仅残留管状视野或伴有颞侧视岛。

试题 4. 答案: B。原发性婴幼儿型青光眼原则上一旦诊断应尽早手术治疗。抗青光眼药物在儿童的安全性难以评价, 且如有不良反应患儿通常也不会自诉。因此, 仅用作短期的过渡治疗, 或适用于不能手术的患儿。

试题 5. 答案: D。导致表层巩膜静脉压升高继发青光眼的原因可归为以下 3 类。①静脉回流受阻, 可以是 Graves 眼病的眶静脉部分回流障碍所致; 也可以是先天性发育异常的血管组织如 Sturge-Weber 综合征继发青光眼。②动-静脉瘘, 由于血流量增加造成静脉压升高, 颈动脉-海绵窦瘘最为多见, 常见于颅底骨折外伤。③特发性, 原因不明, 临床上以年轻女性多见, 往往双眼发病。