

# PIK3CD 功能获得性突变致慢性 EB 病毒感染 1 例并文献复习

牛和娣<sup>1,2</sup> 柏翠<sup>1</sup> 王高燕<sup>3</sup> 王大海<sup>1</sup> 张冉冉<sup>1</sup> 王加兰<sup>1</sup> 常红<sup>1</sup> 邵乐平<sup>4</sup> 林毅<sup>1</sup>

(1 青岛大学附属医院儿童肾脏风湿免疫科, 山东 青岛 266003; 2 平邑县人民医院;

3 青岛大学附属医院平度院区综合儿科; 4 青岛市市立医院肾内科)

**[摘要]** 目的 报道 1 例 *PIK3CD* 基因功能获得性(GOF)突变致慢性 EB 病毒(EBV)感染患儿,探讨该病临床表现及基因突变特点。方法 收集患儿的临床资料,提取患儿及直系亲属外周血 DNA,通过全外显子组测序技术检测其基因突变情况,并检索相关文献进行复习。结果 患儿自 2 岁始反复出现呼吸道感染,伴肝脾淋巴结肿大,反复出现种痘样皮疹;血清 EBV 抗体水平显著升高,淋巴组织活检提示 T 淋巴细胞增殖性改变,EBV 编码 RNA(EBER)阳性。13 岁时患儿血液中免疫球蛋白水平显著升高伴多种自身抗体阳性。基因检测提示 *PIK3CD* 基因杂合突变 c.3061G>A(p.E1021K),文献复习提示该突变为 GOF 突变。结论 *PIK3CD* 基因 GOF 突变可导致 EBV 易感及 EBV 慢性感染,临床表现为淋巴组织增生、特征性皮疹出现。该患儿亦可表现为血液中免疫球蛋白水平的显著升高,可能与自身免疫反应所致自身抗体大量形成有关。

**[关键词]** *PIK3CD* 基因;PI3K $\delta$  过度活化综合征;功能获得性突变;爱泼斯坦巴尔病毒感染;全外显子组测序;体征和症状;突变

**[中图分类号]** R394.3;R512.99

**[文献标志码]** A

**CHRONIC EPSTEIN-BARR VIRUS INFECTION DUE TO A GAIN-OF-FUNCTION MUTATION OF THE *PIK3CD* GENE: A CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW** NIU Hedi, BAI Cui, WANG Gaoyan, WANG Dahai, ZHANG Ranran, WANG Ji-lan, CHANG Hong, SHAO Leping, LIN Yi (Pediatric Renal Rheumatology and Immunology Department, The Affiliated Hospital of Qingdao University, Qingdao 266003, China)

**[ABSTRACT]** **Objective** To investigate the clinical manifestations and gene mutation characteristics of chronic Epstein-Barr virus (EBV) infection caused by a gain-of-function (GOF) mutation of the *PIK3CD* gene through a case report. **Methods** The clinical data of a pediatric patient was collected, and whole-exome sequencing was used to detect gene mutations. Related articles were searched and reviewed. **Results** The pediatric patient experienced recurrent respiratory infection since 2 years of age accompanied by enlargement of liver, spleen, and lymph nodes and recurrent varicella-like rash. There was a significant increase in the serum level of EBV antibody, and lymphoid tissue biopsy showed T lymphocyte proliferative changes and positive EBV-encoded RNA. At the age of 13 years, the pediatric patient experienced a significant increase in the level of immunoglobulins in blood with various positive autoantibodies. Genetic testing revealed a heterozygous mutation in the *PIK3CD* gene, c.3061G>A(p.E1021K), and literature review showed that this mutation was a GOF mutation. **Conclusion** The GOF mutation of the *PIK3CD* gene can lead to susceptibility to EBV and chronic EBV infection, with the clinical manifestations of lymphoid hyperplasia and characteristic rash. Pediatric patients with this disease can also present with significant increases in the levels of immunoglobulins in blood, which may be associated with the formation of massive autoantibodies caused by autoimmune response.

**[KEY WORDS]** *PIK3CD* gene; Activated PI3K- $\delta$  syndrome; Gain of function mutation; Epstein-barr virus infection; Whole exome sequencing; Signs and symptoms; Mutation

原发性免疫缺陷病(primary immunodeficiency, PID),又名免疫出生错误(IEI),是基因突变导致免疫细胞或免疫分子缺陷的一类疾病。根据 2022 年 IEI 分类标准<sup>[1]</sup>,目前免疫缺陷病有 10 大类 485 种疾病。*PIK3CD* 基因的功能获得性(GOF)突变可导致活化 PI3K- $\delta$  综合征(APDS),属抗体缺陷病的一种,临床较为罕见<sup>[2-3]</sup>,*PIK3CD* 基因突变可导

致 EB 病毒(EBV)易感。根据国外一项研究显示,*PIK3CD* 基因突变所致 APDS 患者中 EBV 血症的检出率为 26%<sup>[4]</sup>。免疫力低下或存在免疫缺陷的患者易出现慢性活动性 EBV 感染(CAEBV),预后不良<sup>[5]</sup>。CAEBV 患者需警惕免疫缺陷病的可能。本研究报道了 1 例 *PIK3CD* 基因 GOF 突变且合并 CAEBV 的患者。不同于既往文献报道,该例患儿血液中免疫球蛋白水平显著升高。本研究通过对该例患者的全面分析,旨在提高临床医师对该疾病的认识。

**[收稿日期]** 2022-10-19; **[修订日期]** 2022-12-18

**[基金项目]** 国家自然科学基金资助项目(81873594)

**[通讯作者]** 林毅,Email:qylinyi@163.com

## 1 临床资料

患儿,男,14岁。自2岁始反复出现血小板减少伴肝脾、淋巴结肿大。血小板计数 $67 \times 10^9/L \sim 120 \times 10^9/L$ ,经静脉输注人免疫球蛋白治疗后,血小板计数可回升至正常范围。2015年4月21日首次就诊于我院。既往有“肺炎”史,约每年发病2~3次,否认家族性疾病及遗传性疾病史。入院查体示腺样体面容,双侧颈部、腋窝、腹股沟触及数个肿大的淋巴结,大者约 $1.5 \text{ cm} \times 0.6 \text{ cm}$ ,双侧扁桃体近Ⅲ度肿大。血清EBV抗体及EBV-DNA水平检测示EBV核抗原IgG(EBV-NA-IgG)阳性,EBV早期抗原IgG(EBV-EA-IgG)阳性,EBV-DNA阴性;血清中IgG 7.23 g/L,IgM 1.32 g/L,IgA 0.53 g/L,IgE 75.72 kU/L。腹部超声检查示肝脏体积增大,右叶最大斜径约11.2 cm,脾厚2.8 cm,长11.4 cm;胸部CT示双肺炎症可能性大,双侧腋窝多发肿大淋巴结;骨髓细胞学检查示骨髓增生活跃,红系增生减低,淋巴细胞比例增高,偶见幼稚淋巴细胞,巨核细胞数量增多,血小板易见。抗感染治疗后患儿颈部淋巴结缩小,扁桃体稍有缩小,夜间仍有憋气情况,逐渐好转出院。出院后1周,患儿憋气加重,2015年5月26日于我院耳鼻咽喉科行扁桃体及腺样体摘除术。术后病理提示双侧扁桃体呈急慢性炎症伴淋巴组织增生,以T细胞增生为主伴不典型性增生;免疫组化示CD3(+),CD20(+),Bcl-2(+),CD10(+),Bcl-6(+),Mum-1(+),CD21示滤泡树突网,ki-67(+),TIA1(+),CD56少量散在(+).EBV编码RNA(EBER)原位杂交:EBER少量散在(+).结合免疫组化结果诊断为EBV阳性T细胞淋巴瘤组织增殖性疾病。之后患儿呼吸道感染频次较前减少(每年约4~5次),血小板计数稳定在 $100 \times 10^9/L$ 左右,无明显出血倾向。2018年1月患儿出现咳嗽,持续约1月,无明显咳痰,当地抗感染治疗后咳嗽好转,但胸部CT检查示肺炎无明显改善,再次来我院治疗。行电子纤维支气管镜检查及支气管肺泡灌洗,术中见局部支气管黏膜隆起阻塞气道,取隆起部位的组织行病理学检查,结果显示符合T细胞淋巴瘤组织增殖性疾病(以CD4阳性的T细胞为主)。2021年7月患儿出现颈部包块增大,伴全身反复皮疹,遂再次就诊于我院。查体见全身散在陈旧性皮疹,表现为丘疹,皮肤溃疡、坏死、结痂,部分呈暗棕色色素沉着,双下肢散在数枚暗紫色皮疹,颈部及腋下触及多枚肿大淋巴结,大者约为 $3.5 \text{ cm} \times$

2 cm;肝肋下2 cm,脾肋下2 cm。实验室检查:血清免疫球蛋白测定示IgG为22.50 g/L,IgM为5.24 g/L,IgA为2.05 g/L,IgE $>2\ 500 \text{ kU/L}$ ;血清抗核抗体以及滴度测定示颗粒型滴度1:10 000,均质型滴度1:3 200;血清中EBV-DNA测定示 $1.49 \times 10^6$ 拷贝/L;血清可提取核抗原抗体检测结果示抗核小体抗体阳性(++),抗SSA抗体阳性;外周血COOMBS试验示直接抗人球蛋白试验阳性;血清抗中性粒细胞胞浆抗体(ANCA)测定显示核周型ANCA阳性,蛋白酶3型ANCA弱阳性,抗肾小球基底膜抗体弱阳性,髓过氧化物酶型ANCA阴性;细胞因子全套示IL-5 13.19 ng/L,其余无明显异常;红细胞沉降率为66.00 mm/1 h;外周血淋巴细胞精细分群显示幼稚未成熟B淋巴细胞明显升高(57.25%),其余无明显异常。术后超声引导下颈淋巴结穿刺活检结果为T淋巴细胞增殖性疾病。

考虑患儿存在PID的可能,外送全外显子基因检测,结果示PIK3CD基因杂合突变c.3061G>A(p.E1021K)(图1),明确诊断为APDS。

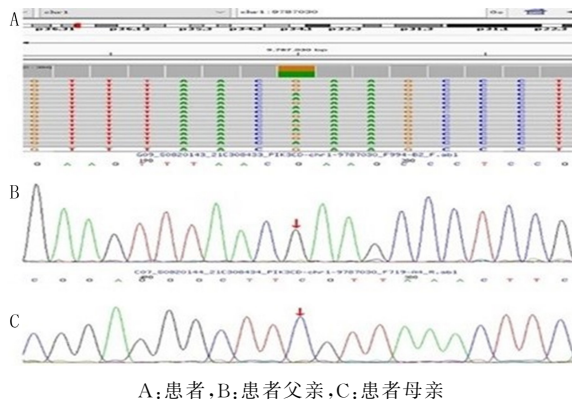


图1 先证者及其父母的全外显子基因检测结果

## 2 讨论

EBV感染通常无症状或仅表现为低热、咽部充血、咳嗽等非特异性症状。EBV初次感染可表现为传染性单核细胞增多症(IM),临床特征包括发热、咽峡炎、肝脾及淋巴结肿大,外周血异型淋巴细胞增高<sup>[6]</sup>。此外,EBV还可引起CAEBV、淋巴细胞增生性疾病、EBV相关嗜血细胞性淋巴组织细胞增多症,甚至恶性肿瘤,如淋巴瘤、鼻咽癌等<sup>[7]</sup>。CAEBV是一种罕见的、可危及生命的淋巴增生性疾病,表现为持续性IM样综合征和EBV血症及相关组织损伤。主要表现为发热、淋巴结肿大、肝脾肿大和肝功能异常、血小板减少、贫血、皮疹、腹泻及视网膜炎等<sup>[8]</sup>。血液检测可发现高拷贝数的EBV-DNA,血

清 EBV 抗体滴度异常增高,受累组织 EBV-EBER 原位杂交阳性。

本研究中患儿自 2 岁始反复出现呼吸道感染伴淋巴组织增生,反复出现种痘样皮疹,EBV 抗体分析示多种抗体显著升高,多部位(扁桃体、腺样体、肺组织)活检提示 EBV 相关性 T 细胞淋巴瘤增殖性疾病,据 2005 年 CAEBV 的诊断建议<sup>[9]</sup>,可明确 CAEBV 诊断。该患儿基因检测示 *PIK3CD* 基因杂合突变,此突变可使患者对 EBV 易感<sup>[10]</sup>,这也是该患儿发生 CAEBV 的原因。

反复皮疹出现是本例患儿的一个重要临床特征。EBV 感染可有皮疹出现。总结 EBV 感染的皮疹共有如下几种情况:①约 15%~20% 的 IM 患者可伴有皮疹,多为泛发性斑丘疹、荨麻疹、瘀点状皮疹,偶见结节性红斑;②CAEBV 患者有两种典型皮肤表现,一种为严重的蚊虫叮咬过敏现象,另一种为 EBV 相关牛痘样疱疹(种痘样水疱病)<sup>[11]</sup>。本例患儿反复出现种痘样皮疹,也属于 CAEBV 感染的典型表现之一。

EBV 感染不良预后(如 CAEBV 及恶性疾病)多与原发免疫缺陷病有关。本例患儿携带的基因突变为 *PIK3CD* 基因 c.3061G>A(p.E1021K)<sup>[12]</sup>,该突变引起 1 型 APDS(APDS1)<sup>[13]</sup>,据统计目前国内 APDS1 患儿的 c.3061G>A(p.E1021K)突变发生率分别为 91.7%、84.6%<sup>[14-17]</sup>,属于该基因突变中的热点突变。磷酸酰肌醇 3 激酶  $\delta$ (PI3K $\delta$ )是机体 PI3K-AKT-mTOR 信号通路功能的重要调节蛋白,PI3K 在维持淋巴细胞正常功能方面发挥重要作用。PI3K $\delta$  是由 2 个蛋白亚基组成的异源二聚体,这 2 个蛋白亚基分别为具有催化活性的催化亚基和调节催化亚基活性的调节亚基<sup>[2]</sup>。由 *PIK3CD* 编码的催化亚基 p110 $\delta$  以及调节亚基 p85 $\alpha$  共同组成 PI3K $\delta$ ,主要存在于淋巴细胞当中。*PIK3CD* 基因突变可能产生两种结果,分别为蛋白催化活性下降的功能降低性突变(LOF)和 GOF。既往研究显示,c.3061G>A(p.E1021K)突变型 p110 $\delta$  细胞膜亲和力远高于野生型 p110 $\delta$ ,并能去除调节亚基 p85 $\alpha$  结构域的抑制作用,使 PI3K $\delta$  活性增强,并使细胞内磷酸化 AKT 增多,致 PI3K-AKT-mTOR 信号通路过度激活<sup>[18]</sup>,属于 GOF 突变<sup>[10]</sup>。

*PIK3CD* 的 GOF 突变属 PID 抗体缺陷病大类,该病主要临床表现为血液中 IgG 水平显著降低,IgM 水平可正常或偏高<sup>[3]</sup>。但本例患儿的末次就诊时血液中免疫球蛋白水平存在显著升高。通过

复习相关文献,目前尚没有相关报道,本研究为首次报告。由于 PID 患者免疫功能存在缺陷,免疫防御、免疫自稳、免疫监视作用均有不同程度下降,故易发生反复感染,易发生自身免疫性疾病及恶性肿瘤。但回顾该例患儿初次于我院就诊时血液中 IgG 处于该年龄段儿童正常低限水平。结合其末次入院时 ANA 滴度检测结果为强阳性,且 ENA 抗体谱、ANCA、COOMBS 试验等均为阳性,提示该患儿存在自身免疫反应。由此推测该患儿异常增高的血液中免疫球蛋白水平,可能与自身免疫反应有关。本研究中患儿 ENA 示 SSA 抗体(++) ,且涎腺超声检查提示存在密度不均表现,应警惕合并早期干燥综合征可能,但该患儿并无眼干、口干等相关表现,必要时需行唇腺活检以明确是否有干燥综合征。

异体基因造血干细胞移植(allo-HSCT)是治疗 CAEBV 的唯一有效手段。因为 allo-HSCT 不仅能够重建机体免疫功能,使机体对 EBV 可以产生有效的免疫,还可以根除 EBV 感染的 T 细胞或 NK 细胞<sup>[19-20]</sup>。该治疗方案同样适用于该例患儿。另外,*PIK3CD* 基因 GOF 突变患者体内 PI3K-AKT 通路存在异常激活。正常情况下,AKT 的活性受磷脂酰肌醇依赖的激酶/雷帕霉素哺乳动物靶靶复合物调控。而雷帕霉素(西罗莫司)可通过抑制磷脂酰肌醇依赖的激酶/雷帕霉素哺乳动物靶靶复合物,抑制 AKT 的激活<sup>[21]</sup>。雷帕霉素作为基于通路的靶向治疗已应用于 APDS 患者中,在治疗 APDS 相关的非肿瘤性淋巴组织增生方面有显著益处,但长期使用雷帕霉素治疗 APDS 的疗效和安全性仍不确定,有待于进一步临床试验验证<sup>[22-23]</sup>。免疫球蛋白治疗可以减少反复的呼吸道感染,但是不能阻止淋巴组织增生、自身免疫性疾病及淋巴瘤的发生。

综上,CAEBV 患者主要表现为长时间或反复出现的 IM 样症状,此外可伴有两种典型的皮肤症状,即蚊虫叮咬过敏和水痘样皮疹。*PIK3CD* 基因 GOF 突变所致 APDS1 是一种罕见的免疫缺陷病,临床可导致 EBV 易感,并可引起 EBV 相关的淋巴组织增生性疾病。本例患儿血液中免疫球蛋白水平显著升高,可能与自身免疫紊乱所致自身抗体生成有关。治疗方面,免疫球蛋白治疗可预防该类患儿的反复感染;对合并 EBV 慢性感染者,建议尽早进行 allo-HSCT 治疗,雷帕霉素治疗可能对该类疾病患者有益。

作者声明:林毅、牛和娣、柏翠、王高燕、王大海、张冉冉、王加兰、常



红、邵乐平参与了研究设计;牛和娣、林毅参与了论文的写作和修改。所有作者均阅读并且同意发表该论文。所有作者均声明不存在利益冲突。

## [参考文献]

- [1] TANGYE S G, AL-HERZ W, BOUSFIHA A, et al. Human inborn errors of immunity: 2022 update on the classification from the international union of immunological societies expert committee[J]. *J Clin Immunol*, 2022,42(7):1473-1507.
- [2] YANG Q Y, JIA Y J, WANG Y P, et al. Clinical and immunological characteristics of a case with activated phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  syndrome 2[J]. *Chin J Pediatr*, 2020,58(5):413-417.
- [3] YAZDANI R, HAMIDI Z, BABAHA F, et al. PIK3R1 mutation associated with hyper IgM (APDS2 syndrome): A case report and review of the literature[J]. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*, 2019,19(7):941-958.
- [4] COULTER T I, CHANDRA A, BACON C M, et al. Clinical spectrum and features of activated phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  syndrome: A large patient cohort study[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2017,139(2):597-606.e4.
- [5] 中华人民共和国国家卫生健康委员会. 儿童慢性活动性 EB 病毒感染诊疗规范(2021 年版)[J]. *全科医学临床与教育*, 2021,19(11):964-965,984.
- [6] MALPICA L, MARQUES-PIUBELLI M L, BELTRAN B E, et al. EBV-positive diffuse large B-cell lymphoma, not otherwise specified: 2022 update on diagnosis, risk-stratification, and management[J]. *Am J Hematol*, 2022,97(7):951-965.
- [7] COHEN J I, IWATSUKI K, KO Y H, et al. Epstein-Barr virus NK and T cell lymphoproliferative disease: Report of a 2018 international meeting[J]. *Leuk Lymphoma*, 2020,61(4):808-819.
- [8] KIMURA H, MORISHIMA T, KANEGANE H, et al. Prognostic factors for chronic active Epstein-Barr virus infection [J]. *J Infect Dis*, 2003,187(4):527-533.
- [9] OKANO M, KAWA K, KIMURA H, et al. Proposed guidelines for diagnosing chronic active Epstein-Barr virus infection [J]. *Am J Hematol*, 2005,80(1):64-69.
- [10] SHOJAEE S, CHAN L N, BUCHNER M, et al. PTEN opposes negative selection and enables oncogenic transformation of pre-B cells[J]. *Nat Med*, 2016,22(4):379-387.
- [11] 任发亮,张韡,朱进,等. 种痘样水疱病样 EB 病毒感染相关淋巴细胞增生性疾病临床与病理分析[J]. *中国中西医结合皮肤性病杂志*, 2015,14(2):75-80.
- [12] JOU S T, CHIEN Y H, YANG Y H, et al. Identification of variations in the human phosphoinositide 3-kinase p110delta gene in children with primary B-cell immunodeficiency of unknown aetiology[J]. *Int J Immunogenet*, 2006,33(5):361-369.
- [13] LUCAS C L, CHANDRA A, NEJENTSEV S, et al. PI3K $\delta$  and primary immunodeficiencies[J]. *Nat Rev Immunol*, 2016,16(11):702-714.
- [14] JAMEE M, MONIRI S, ZAKI-DIZAJI M, et al. Clinical, immunological, and genetic features in patients with activated PI3K $\delta$  syndrome (APDS): A systematic review[J]. *Clin Rev Allergy Immunol*, 2020,59(3):323-333.
- [15] 郑静,肖阳阳,刘利群,等. PIK3CD 基因突变致 PI3K- $\delta$  过度活化综合征 1 例报告并文献复习[J]. *临床儿科杂志*, 2019,37(4):301-303.
- [16] 何波,崔清洋,逯军. PIK3CD 基因变异致活化的 PI3K $\delta$  综合征一例临床资料及基因变异分析[J]. *中国全科医学*, 2020,23(30):3859-3863.
- [17] LUO Y, XIA Y, WANG W J, et al. Identification of a novel de novo gain-of-function mutation of PIK3CD in a patient with activated phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  syndrome[J]. *Clin Immunol*, 2018,197:60-67.
- [18] ANGULO I, VADAS O, GARÇON F, et al. Phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  gene mutation predisposes to respiratory infection and airway damage[J]. *Science*, 2013,342(6160):866-871.
- [19] SAWADA A, INOUE M. Hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of Epstein-Barr virus-associated T- or NK-cell lymphoproliferative diseases and associated disorders [J]. *Front Pediatr*, 2018,6:334.
- [20] ARAI A. Chronic active Epstein-Barr virus infection: A bifaceted disease with inflammatory and neoplastic elements[J]. *Immunol Med*, 2018,41(4):162-169.
- [21] CONCIATORI F, CIUFFREDA L, BAZZICHETTO C, et al. mTOR cross-talk in cancer and potential for combination therapy[J]. *Cancers (Basel)*, 2018,10(1):23.
- [22] COULTER T I, CANT A J. The treatment of activated PI3K $\delta$  syndrome[J]. *Front Immunol*, 2018,9:2043.
- [23] KANG J M, KIM S K, KIM D, et al. Successful sirolimus treatment for Korean patients with activated phosphoinositide 3-kinase  $\delta$  syndrome 1: The first case series in Korea[J]. *Yonsei Med J*, 2020,61(6):542-546.

(本文编辑 耿波 厉建强)

(上接第 46 页)

- [18] 刘治学,王金菊. 纤维支气管镜肺泡灌洗佐治儿童重症肺炎支原体肺炎 65 例疗效观察[J]. *精准医学杂志*, 2020,35(3):234-236.
- [19] 陈凯,陈媛媛. 讨论纤维支气管镜介入治疗儿童重症肺炎支原体肺炎的可行性及安全性[J]. *现代诊断与治疗*, 2019,30(22):4012-4014.
- [20] 方识进,张宇,方芳. 支气管肺泡灌洗治疗在儿童重症肺炎支原体肺炎的应用价值[J]. *安徽医学*, 2020,41(7):816-819.
- [21] XU Q Y, ZHANG L Q, HAO C L, et al. Prediction of bronchial mucus plugs formation in patients with refractory mycoplasma pneumoniae pneumonia[J]. *J Trop Pediatr*, 2017,63(2):148-154.
- [22] 黄晶晶,袁林,卓志强,等. 儿童腺病毒肺炎并塑型性支气管炎 9 例临床分析[J]. *中华实用儿科临床杂志*, 2020,35(16):1260-1263.

(本文编辑 耿波 厉建强)