

房水与角膜样本对疱疹病毒阳性角膜移植后不同层次病毒 DNA 检测效率比较

臧云晓 彭荣梅 肖格格 何林辉 洪晶

北京大学第三医院眼科 眼部神经损伤的重建保护与康复北京市重点实验室,北京 100191

通信作者:洪晶,Email:hongjing196401@163.com

【摘要】 目的 研究疱疹病毒 DNA 在疱疹病毒阳性角膜移植患者不同角膜层次中的分布,比较角膜和房水样本在该人群中的病毒 DNA 检测效率。方法 采用诊断试验研究方法,通过临床病历系统收集 2015 年 5 月至 2021 年 8 月于北京大学第三医院眼科中心行角膜移植且术中角膜和/或房水疱疹病毒 DNA 阳性患者。分析疱疹病毒 DNA 阳性患者的一般资料和分布层次。计算疱疹病毒在角膜和房水中的检出率,通过受试者工作特征曲线分析角膜和房水病毒 DNA 检测灵敏度,记录曲线下面积(AUC)和 95%置信区间(CI)。结果 角膜移植术中疱疹病毒 DNA 阳性患者共 166 例 166 眼,其中巨细胞病毒(CMV)75 眼(占 45.2%),单纯疱疹病毒 1 型(HSV-1)34 眼(占 20.5%),水痘-带状疱疹病毒(VZV)30 眼(占 18.1%),EB 病毒(EBV)27 眼(占 16.3%)。CMV 和 VZV DNA 在角膜内皮层分布者分别为 47 眼(占 62.7%)和 26 眼(占 86.7%),明显多于基质层的 28 眼(占 37.3%)和 4 眼(占 13.3%),差异均有统计学意义($\chi^2=4.813, 16.133$, 均 $P<0.05$)。HSV-1 和 EBV DNA 在角膜内皮层分布者分别为 8 眼(占 23.5%)和 5 眼(占 18.5%),分别少于基质层的 26 眼(占 76.5%)和 22 眼(占 81.5%),差异均有统计学意义($\chi^2=9.529, 10.704$, 均 $P<0.001$)。疱疹病毒 DNA 阳性样本的检测灵敏度结果显示,角膜样本的病毒 PCR 检测总体灵敏度为 71.6%,高于房水的 54.1%,其中,CMV 和 VZV DNA 阳性的角膜样本检测灵敏度分别为 64.3% (AUC = 0.821, 95% CI: 0.705 ~ 0.938) 和 35.7% (AUC = 0.679, 95% CI: 0.475 ~ 0.882), 分别低于房水样本的 71.4% (AUC = 0.875, 95% CI: 0.750 ~ 0.964) 和 85.7% (AUC = 0.929, 95% CI: 0.816 ~ 1.000)。HSV-1 和 EBV DNA 阳性的角膜样本检测灵敏度分别为 100% (AUC = 1.000, 95% CI: 1.000 ~ 1.000) 和 92.3% (AUC = 0.962, 95% CI: 0.875 ~ 1.000), 明显高于房水样本的 27.8% (AUC = 0.639, 95% CI: 0.455 ~ 0.823) 和 23.1% (AUC = 0.615, 95% CI: 0.395 ~ 0.835)。结论 在疱疹病毒 DNA 阳性的角膜移植患者中,CMV DNA 的检出率最高,CMV 和 VZV DNA 多在角膜内皮层被检出,HSV-1 和 EBV DNA 多在角膜基质层被检出。相较房水样本,角膜组织病毒 DNA 的检测灵敏度更高。

【关键词】 角膜移植; 疱疹病毒; DNA; 角膜; 房水; 分布层次; 病毒 DNA 检测; 样本

基金项目: 国家自然科学基金项目 (81970768)

DOI: 10.3760/cma.j.cn115989-20220115-00018

Comparison of the efficiency of aqueous humor and corneal samples for the viral DNA detection at different layers in herpesvirus-positive keratoplasty patients

Zang Yunxiao, Peng Rongmei, Xiao Gege, He Linhui, Hong Jing

Department of Ophthalmology, Peking University Third Hospital, Beijing Key Laboratory of Restoration of Damaged Ocular Nerve, Beijing 100191, China

Corresponding author: Hong Jing, Email: hongjing196401@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the distribution of herpesvirus DNA in the corneal layers of herpesvirus-positive corneal transplantation patients and to compare the efficiency of viral DNA detection in corneal and aqueous humor samples in these patients. **Methods** A diagnostic test study was conducted. Data from patients, who underwent keratoplasty in Peking University Third Hospital from May 2015 to August 2021 and tested positive for herpesvirus in corneal tissue and/or aqueous humor samples obtained during surgery, were collected through the clinical medical record system. The demographic data and virus distribution layers of these patients were analyzed. The rate of herpesvirus detection in different samples was analyzed. The sensitivity of different samples for

viral DNA detection was analyzed by receiver operating characteristic curves, and area under the curve (AUC) and 95% confidence interval (CI) were recorded. This study adhered to the Declaration of Helsinki and the study protocol was approved by the Ethics Committee of Peking University Third Hospital (No. M2021283). Written informed consent was obtained from each patient before entering the cohort. **Results** A total of 166 herpesvirus-positive patients (166 eyes) were collected. Of the 166 eyes, 75 eyes (45.2%) were positive for cytomegalovirus (CMV), 34 eyes (20.5%) for herpes simplex virus 1 (HSV-1), 30 eyes (18.1%) for varicella zoster virus (VZV), and 27 eyes (16.3%) for Epstein-Barr virus (EBV). CMV DNA and VZV DNA were detected in the endothelial layers of 47 eyes (62.7%) and 26 eyes (86.7%), respectively, which were significantly higher than the 28 eyes (37.3%) and 4 eyes (13.3%) with virus located in stromal layers ($\chi^2 = 4.813, 16.133$; both at $P < 0.05$). HSV-1 DNA and EBV DNA were detected in the endothelial layer of 8 eyes (23.5%) and 5 eyes (18.5%), respectively, which were less than the 26 eyes (76.5%) and 22 eyes (81.5%) with virus located in stromal layers, and the differences were statistically significant ($\chi^2 = 9.529, 10.704$; both at $P < 0.001$). The sensitivity of corneal samples for herpesvirus DNA positivity was 71.6%, which was higher than 54.1% of aqueous humor. The detection sensitivities of corneal samples for CMV DNA and VZV DNA positivity were 64.3% (AUC = 0.821, 95% CI: 0.705–0.938) and 35.7% (AUC = 0.679, 95% CI: 0.475–0.882), respectively, which were lower than 71.4% (AUC = 0.875, 95% CI: 0.750–0.964) and 85.7% (AUC = 0.929, 95% CI: 0.816–1.000) of aqueous humor samples. The detection sensitivities of corneal samples for HSV-1 DNA and EBV DNA were 100% (AUC = 1.000, 95% CI: 1.000–1.000) and 92.3% (AUC = 0.962, 95% CI: 0.875–1.000), respectively, which were higher than 27.8% (AUC = 0.639, 95% CI: 0.455–0.823) and 23.1% (AUC = 0.615, 95% CI: 0.395–0.835) of aqueous humor samples. **Conclusions** The detection rate of CMV DNA is highest among herpesvirus-positive keratoplasty patients. CMV DNA and VZV DNA are primarily located in the corneal endothelial layers, while HSV-1 DNA and EBV DNA are more predominant in the corneal stromal layer. The sensitivity of virus DNA detection is higher in the cornea than in aqueous humor.

[Key words] Corneal transplantation; Herpesvirus; DNA; Cornea; Aqueous humor; Distribution layer; Viral DNA detection; Sample

Fund program: National Natural Science Foundation of China (81970768)

DOI:10.3760/cma.j.cn115989-20220115-00018

目前已知感染角膜组织的病毒多为疱疹病毒,包括 1 型单纯疱疹病毒 (herpes simplex virus 1, HSV-1)、水痘-带状疱疹病毒 (varicella-zoster virus, VZV)、巨细胞病毒 (cytomegalovirus, CMV) 和 EB 病毒 (Epstein-Barr virus, EBV), 上述疱疹病毒可以分布于角膜任何层次,造成不同层次的角膜感染^[1]。在既往研究中, HSV-1 相关的角膜感染多见于角膜上皮层和基质层。有研究显示,在 357 例新发 HSV 角膜炎中,角膜上皮炎和基质炎分别占 66% 和 30%^[2]。HSV 角膜内皮炎未见流行病学报道; VZV 可以感染角膜各个层次,但常见于角膜基质炎和内皮炎^[3-4]; CMV 主要造成角膜内皮炎^[5], 在亚洲人群中常见,日本一项研究显示,在 29 例病因未明的角膜内皮炎中,CMV DNA 阳性率为 24%^[6]。CMV 角膜上皮炎和基质炎仅有少量病例报道^[7-8]; 目前对 EBV 角膜感染知之甚少,仅在干燥性角结膜炎患者的泪液、角膜基质炎和角膜内皮炎的房水中检测到 EBV DNA 存在^[5,9-10]。本课题组前期研究显示,在连续收集的 44 例病毒性角膜内皮炎患者中,CMV、HSV、VZV 和 EBV 的占比分别为 45%

(20/44)、18% (8/44)、23% (10/44) 和 14% (6/44)^[4]。当前,疱疹病毒性角膜炎的诊断主要依据临床症状和体征,例如 HSV 角膜上皮炎在特殊时期存在典型的树枝状或地图状角膜上皮缺损; VZV 角膜基质炎表现为对应部位的基质混浊,通常发生在皮疹痊愈后; 大多数 CMV 角膜内皮炎可见钱币状角膜后沉着物、局限性角膜水肿以及轻度前葡萄膜炎^[11]。然而,一些不被人们熟知的疱疹病毒性角膜炎,如 HSV 角膜内皮炎、CMV 角膜基质炎等往往无法通过临床特征诊断。实时荧光定量 PCR 是近年来广泛应用于眼部疱疹病毒感染的一种检测方法,该方法可以帮助诊断之前无法确诊病原体的病毒性角膜炎^[12-13]。病毒 DNA PCR 检测可以帮助确定疱疹病毒种类^[14],从而明确诊断和调整用药。在疱疹病毒性角膜炎的病毒 DNA 检测中,角膜和房水是 2 种常用的取材检测样本,在角膜移植患者中非常容易获取^[13]。然而,对于非角膜移植患者,角膜通常难以获取,房水也需要进行前房穿刺才能获得,因其为有创操作,增加了眼部感染和出血的风险,很多患者不愿接受,因此经验性诊治仍然是目前的临床现状。

然而,经验性治疗使得在抗病毒药物的选择上存在困难,往往贻误最佳治疗时机。本研究选取疱疹病毒 DNA 阳性的角膜移植患者,通过分析疱疹病毒 DNA 在角膜层次中的分布,比较角膜和房水样本在该人群中的病毒 DNA 检测效率,旨在提高临床疱疹病毒 DNA 的检出率,明确疱疹病毒性角膜炎的分类诊断,尽早开展合理治疗。

1 资料与方法

1.1 一般资料

采用诊断试验研究方法,收集 2015 年 5 月至 2021 年 8 月在北京大学第三医院眼科行角膜移植手术且术中行房水和/或角膜组织病毒学检测的患者资料。纳入患者至少有 1 种样本病毒检测结果阳性。病毒检测包括 CMV、VZV、HSV-1、HSV-2 和 EBV。纳入标准:(1)既往或目前存在角膜炎症反应;(2)存在相应部位角膜病变;(3)符合不同疱疹病毒角膜感染的临床症状和体征;(4)房水和/或角膜组织的病毒检测阳性。排除标准:(1)2 种或 2 种以上疱疹病毒阳性的患者;(2)由于临床证据不足无法判断角膜病变层次的患者。本研究遵循《赫尔辛基宣言》,研究方案经北京大学第三医院医学伦理委员会批准(批文号:M2021283),入组患者均已签署知情同意书。

1.2 方法

1.2.1 资料收集和分析指标 通过北京大学第三医院临床病历系统收集疱疹病毒 DNA 阳性患者的一般资料,包括性别、年龄、疱疹病毒类别和病变层次。分析疱疹病毒 DNA 在角膜的分布层次和比例。样本检测种类包括角膜和房水。病变层次依据手术方式和辅助检查结果进行判断。病变层次分为角膜内皮层和基质层。因角膜基质病变行前部板层角膜移植术(anterior lamellar keratoplasty, ALK)或穿透角膜移植术(penetrating keratoplasty, PKP)而术中观察内皮层正常者视为基质层病变,因角膜水肿无基质浸润和瘢痕而行角膜内皮移植术(Descemet stripping automated endothelial keratoplasty, DSAEK)的患者视为内皮层病变。

通过北京大学第三医院临床医嘱系统收集同时存在角膜和房水双样本病毒 DNA 检测结果患者的临床和样本资料,分析不同种类疱疹病毒在角膜和房水中病毒 DNA 检测的样本数和比率,通过受试者工作特征曲线(receiver operating characteristic curve, ROC)的曲线下面积(area under curve, AUC)评估不同疱疹病毒在角膜和房水中的病毒检测效率,即灵敏度。

1.2.2 样本收集 角膜移植手术操作均由同一经验

丰富的眼科医生完成,手术方式分为 PKP、ALK 和 DSAEK。在角膜移植术中采集角膜和房水样本。在钻取角膜组织前,用 1 ml 注射器行前房穿刺抽取足量房水,然后处理患者病变角膜组织。术中刮除患者角膜上皮组织,取下的病变角膜若为板层组织,撕除角膜前部板层,留取角膜后部基质层送检;若为全层角膜,则分别撕取角膜内皮层和基质层,并分别送检;若为内皮层则直接送检。

1.2.3 PCR 法检测病毒种类 取出的房水和角膜分别放入 1.5 ml EP 管中,送至北京大学第三医院眼科临床检验中心进行检测。根据产品说明,使用 QIAamp DNA 微量试剂盒(德国 Qiagen 公司),从获取的角膜或房水中提取 DNA。将检测样品置于 1.5 ml 离心管中并用加有蛋白酶 K 的缓冲液 ATL 消化。将提取到的 DNA 在 DEPC 水(上海碧云天生物技术公司)中稀释;DNA 均定量 50 ng 进行 PCR。按照说明,使用荧光定量 PCR 仪(美国 PE Biosystems 公司),通过基于 TaqMan 探针荧光定量 PCR 的方法(HSV-1、HSV-2 RT-PCR 试剂盒, Z-SD-0136-02; VZV RT-PCR 试剂盒, OD-0024-02; CMV RT-PCR 试剂盒, Z-OD-002-02; EBV RT-PCR 试剂盒, Z-OD-0023-02; 上海之江生物科技股份有限公司)进行检测。病毒 DNA 的检测限度为每个样品大小 10 个拷贝。每个样品均添加内部对照以评估分离和扩增功效。试剂盒制造商提供阳性、阴性和内部对照。

1.3 统计学方法

采用 SPSS 23.0 统计学软件进行统计分析。计量资料数据经 Kolmogorov-Smirnov 检验证实呈正态分布,以 $\bar{x} \pm s$ 表示。分类变量以百分数表示,分类变量的组内比较采用 χ^2 检验,使用 AUC 评估患者角膜和房水病毒检测的灵敏度。采用双侧检验, $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 疱疹病毒 DNA 阳性的病毒种类

共纳入角膜移植术中疱疹病毒 DNA 阳性患者 166 例 166 眼,其中 CMV DNA 检出率最高,阳性 75 眼(占 45.2%),男 34 眼,女 41 眼,平均年龄(40±29)岁;其次为 HSV-1 DNA,阳性 34 眼(占 20.5%),男 27 眼,女 7 眼,平均年龄(59±21)岁;第 3 位为 VZV DNA,阳性 30 眼(占 18.1%),男 17 眼,女 13 眼,平均年龄(45±26)岁;第 4 位为 EBV DNA,阳性 27 眼(占 16.3%),男 12 眼,女 15 眼,平均年龄(46±29)岁;未检测到 HSV-2 阳性者。

2.2 疱疹病毒 DNA 在角膜的层次分布比较

CMV 和 VZV DNA 在角膜内皮层分布者分别为 47 眼 (占 62.7%) 和 26 眼 (占 86.7%), 明显多于基质层的 28 眼 (占 37.3%) 和 4 眼 (占 13.3%), 差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 4.813$ 、16.133, 均 $P < 0.05$)。HSV-1 和 EBV DNA 在角膜内皮层分布者分别为 8 眼 (占 23.5%) 和 5 眼 (占 18.5%), 分别少于基质层的 26 眼 (占 76.5%) 和 22 眼 (占 81.5%), 差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 9.529$ 、10.704, 均 $P < 0.001$) (表 1)。

2.3 疱疹病毒 DNA 在角膜和房水样本中的检测效率

在疱疹病毒 DNA 阳性患者的 166 眼中, 具有房水和角膜双样本病毒检测结果者 73 眼, 其中 CMV、VZV、HSV-1、EBV DNA 阳性的样本数分别为 28、14、18 和 13 眼。在 73 眼 146 例检测样本中, CMV、VZV、EBV 角膜阳性房水阴性、房水阳性角膜阴性、角膜和房水均阳性占比总体比较差异均有统计学意义 ($\chi^2 = 5.143$ 、6.143、11.231, 均 $P < 0.05$) (表 2)。疱疹病毒 DNA 阳性样本的检测灵敏度结果显示, 角膜样本的病毒 PCR 检测总体灵敏度为 71.6%, 高于房水的 54.1%, 其中, CMV 和 VZV DNA 阳性的角膜样本检测灵敏度分别为 64.3% (AUC = 0.821, 95% CI: 0.705 ~ 0.938) 和 35.7% (AUC = 0.679, 95% CI: 0.475 ~ 0.882), 分别低于房水样本的 71.4% (AUC = 0.875, 95% CI: 0.750 ~ 0.964) 和 85.7% (AUC = 0.929, 95% CI: 0.816 ~ 1.000)。HSV-1 和 EBV DNA 阳性的角膜样本检测灵敏度分别为 100% (AUC = 1.000, 95% CI: 1.000 ~ 1.000) 和 92.3% (AUC = 0.962, 95% CI: 0.875 ~ 1.000), 明显高于房水样本的

27.8% (AUC = 0.639, 95% CI: 0.455 ~ 0.823) 和 23.1% (AUC = 0.615, 95% CI: 0.395 ~ 0.835) (表 3, 图 1)。

表 1 疱疹病毒 DNA 在角膜的检出层次分布比较 [眼数 (%)]
Table 1 Comparison of layer distribution of herpesvirus DNA detection in cornea [eyes (%)]

病变层次	总眼数	CMV DNA 阳性	VZV DNA 阳性	HSV-1 DNA 阳性	EBV DNA 阳性
基质层	80	28(37.3)	4(13.3)	26(76.5)	22(81.5)
内皮层	86	47(62.7)	26(86.7)	8(23.5)	5(18.5)
χ^2 值		4.813	16.133	9.529	10.704
P 值		<0.05	<0.001	<0.001	<0.001

注: (χ^2 检验) CMV: 巨细胞病毒; VZV: 水痘-带状疱疹病毒; HSV: 单纯疱疹病毒; EBV: EB 病毒
Note: (χ^2 test) CMV: cytomegalovirus; VZV: varicella-zoster virus; HSV: herpes simplex virus; EBV: Epstein-Barr virus

表 2 疱疹病毒 DNA 在角膜和房水中的病毒检测结果比较 [眼数 (%)]
Table 2 Comparison of herpesvirus DNA detection in corneal and aqueous humor samples [eyes (%)]

类别	总眼数	CMV DNA 阳性	VZV DNA 阳性	HSV-1 DNA 阳性	EBV DNA 阳性
角膜阳性房水阴性	33(44.6)	8(28.6)	2(14.3)	13(72.2)	10(77.0)
房水阳性角膜阴性	20(27.0)	10(35.7)	9(64.3)	0(0.0)	1(7.7)
角膜和房水均阳性	20(27.0)	10(35.7)	3(21.4)	5(27.8)	2(15.4)
χ^2 值	4.243	5.143	6.143	3.559	11.231
P 值	0.120	0.023	0.046	0.059	0.004

注: (χ^2 检验) CMV: 巨细胞病毒; VZV: 水痘-带状疱疹病毒; HSV: 单纯疱疹病毒; EBV: EB 病毒
Note: (χ^2 test) CMV: cytomegalovirus; VZV: varicella-zoster virus; HSV: herpes simplex virus; EBV: Epstein-Barr virus

表 3 疱疹病毒 DNA 在角膜和房水中的病毒检测效率 [例数 (%)]
Table 3 Efficiency of herpesvirus DNA detection in corneal and aqueous humor samples [cases (%)]

样本类别	总例数	CMV DNA 阳性	VZV DNA 阳性	HSV-1 DNA 阳性	EBV DNA 阳性
角膜组织 PCR 阳性	53(36.3)	18(32.1)	5(17.9)	18(50.0)	12(46.1)
角膜组织 PCR 阴性	20(13.7)	10(17.9)	9(32.1)	0(0.0)	1(3.8)
AUC	0.858	0.821	0.679	1.000	0.962
95% CI	0.793-0.923	0.705-0.938	0.475-0.882	1.000-1.000	0.875-1.000
灵敏度	71.6%	64.3%	35.7%	100%	92.3%
房水样本 PCR 阳性	40(27.4)	20(35.7)	12(42.9)	5(13.9)	3(11.5)
房水样本 PCR 阴性	33(22.6)	8(14.3)	2(7.1)	13(36.1)	10(38.5)
AUC	0.770	0.875	0.929	0.639	0.615
95% CI	0.692-0.849	0.750-0.964	0.816-1.000	0.455-0.823	0.395-0.835
灵敏度	54.1%	71.4%	85.7%	27.8%	23.1%

注: CMV: 巨细胞病毒; VZV: 水痘-带状疱疹病毒; HSV: 单纯疱疹病毒; EBV: EB 病毒; AUC: 曲线下面积; CI: 置信区间

Note: CMV: cytomegalovirus; VZV: varicella-zoster virus; HSV: herpes simplex virus; EBV: Epstein-Barr virus; AUC: area under curve; CI: confidence interval

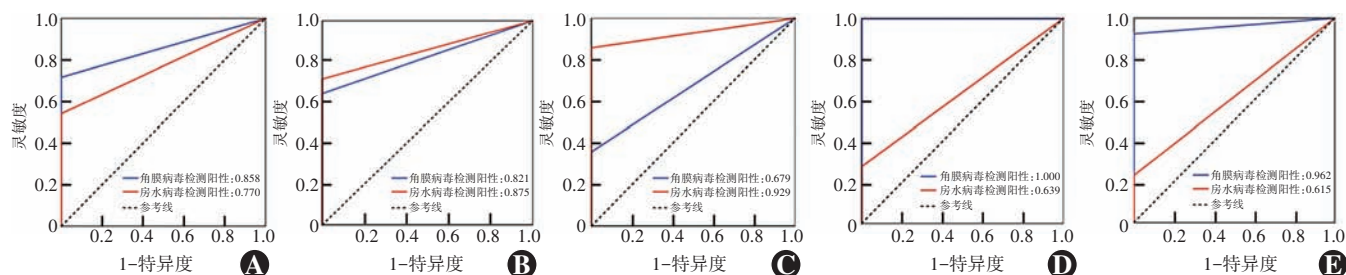


图 1 疱疹病毒 DNA 在角膜和房水中的病毒检测 ROC 曲线 A: 病毒检测 ROC 曲线 角膜样本 AUC=0.858, 房水样本 AUC=0.770 B: CMV 检测 ROC 曲线 角膜样本 AUC=0.821, 房水样本 AUC=0.875 C: VZV 检测 ROC 曲线 角膜样本 AUC=0.679, 房水样本 AUC=0.929 D: HSV-1 检测 ROC 曲线 角膜样本 AUC=1.000, 房水样本 AUC=0.639 E: EBV 检测 ROC 曲线 角膜样本 AUC=0.962, 房水样本 AUC=0.615

Figure 1 ROC curves for herpesvirus DNA detection in corneal and aqueous humor samples A: ROC curves for overall viral detection AUC for corneal samples was 0.858, and for aqueous humor samples was 0.770 B: ROC curves for CMV detection AUC for corneal samples was 0.821, and for aqueous humor samples was 0.875 C: ROC curves for VZV detection AUC for corneal samples was 0.679, and for aqueous humor samples was 0.929 D: ROC curves for HSV-1 detection AUC for corneal samples was 1.000, and for aqueous humor samples was 0.639 E: ROC curves for EBV detection AUC for corneal samples was 0.962, and for aqueous humor samples was 0.615

3 讨论

针对不同种类的疱疹病毒,抗病毒药物选择存在差异。美国 HEDS(The Herpetic Eye Disease Studies) 提出,阿昔洛韦对 HSV/VZV 感染治疗效果较好,之后发现伐昔洛韦、泛昔洛韦作为其前体药物更为有效,且给药方式更为简单^[15]。更昔洛韦是治疗 CMV 感染的一线用药^[16],在更昔洛韦出现耐药后,可选择性使用膦甲酸作为二线用药。眼部样本病毒 DNA 检测是目前明确诊断疱疹病毒种类的最有效方法,但病毒 DNA 检测结果假阴性率较高,一些患者往往需要多次送检才能得到阳性结果^[17]。研究不同眼部样本病毒 DNA 的检测效率有助于尽早明确疱疹病毒种类,及时开展治疗。

本研究排除了同一个体多种疱疹病毒 DNA 阳性的患者,避免了同一个体不同疱疹病毒在角膜分布层次上造成的混杂。本组疱疹病毒阳性的角膜移植患者中,CMV DNA 的检出率最高,与欧美等国家的报道有所区别。CMV 在亚裔人群中检出率较高,尤其在在皮层病变患者中发生率更高^[18]。在角膜内皮层的疱疹病毒 DNA 分布中,CMV 和 VZV DNA 分别位于第 1 位和第 2 位,因此应引起眼科医生警觉。

本研究发现,疱疹病毒在角膜和房水样本中病毒 DNA 检测效率可能与疱疹病毒 DNA 的角膜分布层次和潜伏位点有关。CMV 和 VZV DNA 多分布于角膜内皮层,在病毒 DNA 检测中,房水的检出率和检测效率均高于角膜。这可能是由于病毒在角膜内皮细胞内不断复制,裂解细胞释放病毒,从而引起房水中病毒滴度升高^[18];而角膜内皮层在移植术前往往往仅残留极少量内皮细胞,因此病毒滴度低于其在房水中的滴度。研究认为 CMV 角膜炎可能来自体内疱疹病毒的再激活,

CMV 透过血-房水屏障到达前房,感染角膜内皮细胞、小梁网内皮细胞等,进而引发广泛的眼前节炎症反应^[19-22]。HSV-1 和 EBV 的角膜感染多发生于基质层,在病毒 DNA 检测中,角膜的检出率和检测效率高于房水。这可能是由于 HSV-1 复制产生的病毒难以突破后弹力层及内皮层进入房水,从而积聚在角膜中造成的。研究显示,HSV-1 和 EBV 在角膜、房水、泪液中均可检测到^[5,23],但未见各种样本检出率的比较研究。对于 HSV-1 角膜感染,动物实验认为其来自于潜伏神经节细胞的病毒再激活,沿神经轴突逆行引起角膜上皮炎或基质炎^[24],这与本研究中 HSV-1 DNA 角膜分布层次的研究结果相一致。

本研究探讨了疱疹病毒阳性的角膜移植患者这一特定人群中疱疹病毒 DNA 在角膜组织中的分布,属于抽样调查,在一定程度上反映了人群中疱疹病毒阳性患者在角膜组织间的分布特点,为今后的相关研究提供了参考。

总之,本研究结果显示在疱疹病毒阳性的角膜移植患者中,CMV DNA 的检出率最高,CMV 和 VZV DNA 多在角膜内皮层被检出,HSV-1 和 EBV DNA 多在角膜基质层被检出。在针对角膜和房水对疱疹病毒角膜感染检测效率的评估中,对疱疹病毒整体而言,角膜的病毒检测灵敏度高于房水;对于具体的疱疹病毒而言,CMV 和 VZV 房水检测敏感性高于角膜组织,HSV-1 和 EBV 角膜检测敏感性高于房水。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 臧云晓:直接参与选题、酝酿和设计试验、实施研究、采集数据、分析/解释数据、起草及修改文章;彭荣梅:设计试验、分析/解释数据,对文章内容审阅和修改;肖格格:采集数据、起草文章、对文章内容审阅和修改;何林辉:设计试验、实施研究、采集数据、起草文章;洪晶:采集数据、对文章内容审阅和修改及定稿

参考文献

- [1] Kaye SB, Baker K, Bonshek R, et al. Human herpesviruses in the cornea [J]. Br J Ophthalmol, 2000, 84(6): 563-571. DOI: 10. 1136/bjo. 84. 6. 563.
- [2] Labetoulle M, Auquier P, Conrad H, et al. Incidence of herpes simplex virus keratitis in France [J]. Ophthalmology, 2005, 112(5): 888-895. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2004. 11. 052.
- [3] Shifera AS. Potential clue to the pathogenesis of varicella-zoster virus stromal keratitis [J/OL]. Cornea, 2017, 36(10): e27-e28 [2022-10-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28799957/>. DOI: 10. 1097/ICO. 0000000000001311.
- [4] Peng RM, Guo YX, Xiao GG, et al. Clinical manifestations and characteristics of *in vivo* confocal microscopy in varicella zoster virus-related corneal endotheliitis [J]. Ocul Immunol Inflamm, 2019, 27(8): 1270-1279. DOI: 10. 1080/09273948. 2018. 1521435.
- [5] Kobayashi R, Hashida N, Maruyama K, et al. Clinical findings of specular microscopy images in cytomegalovirus corneal endotheliitis [J]. Asia Pac J Ophthalmol (Phila), 2022, 11(3): 273-278. DOI: 10. 1097/APO. 0000000000000522.
- [6] Kandori M, Inoue T, Takamatsu F, et al. Prevalence and features of keratitis with quantitative polymerase chain reaction positive for cytomegalovirus [J]. Ophthalmology, 2010, 117(2): 216-222. DOI: 10. 1016/j. ophtha. 2009. 06. 059.
- [7] Altan-Yaycioglu R. An unusual case with unilateral epithelial basement membrane detachment [J]. Ocul Immunol Inflamm, 2019, 27(8): 1342-1344. DOI: 10. 1080/09273948. 2018. 1532015.
- [8] Inoue T, Hayashi K, Omoto T, et al. Corneal infiltration and CMV retinitis in a patient with AIDS [J]. Cornea, 1998, 17(4): 441-442. DOI: 10. 1097/00003226-199807000-00016.
- [9] Willoughby CE, Baker K, Kaye SB, et al. Epstein-Barr virus (types 1 and 2) in the tear film in Sjögren's syndrome and HIV infection [J]. J Med Virol, 2002, 68(3): 378-383. DOI: 10. 1002/jmv. 10214.
- [10] Matoba AY, Wilhelmus KR, Jones DB. Epstein-Barr viral stromal keratitis [J]. Ophthalmology, 1986, 93(6): 746-751. DOI: 10. 1016/s0161-6420(86)33668-6.
- [11] Labetoulle M, Boutolleau D, Burrel S, et al. Herpes simplex virus, varicella-zoster virus and cytomegalovirus keratitis: facts for the clinician [J]. Ocul Surf, 2023, 28: 336-350. DOI: 10. 1016/j. jtos. 2021. 07. 002.
- [12] Hafidi M, Janin-Manificat H, Denis P, et al. Acute retinal necrosis: virological features using quantitative polymerase chain reaction, therapeutic management, and clinical outcomes [J]. Am J Ophthalmol, 2019, 208: 376-386. DOI: 10. 1016/j. ajo. 2019. 08. 007.
- [13] Jeng YT, Tsai CY, Kuo LL, et al. The presence and impact of herpes virus DNA in recipient cornea and aqueous humor on graft survival following penetrating keratoplasty [J]. J Formos Med Assoc, 2020, 119(11): 1650-1657. DOI: 10. 1016/j. jfma. 2019. 12. 009.
- [14] Kaneko H, Higaki S, Fukuda M, et al. The quantitative detection of herpes simplex virus, varicella zoster virus, and cytomegalovirus DNAs in recipient corneal buttons [J]. Cornea, 2010, 29(12): 1436-1439. DOI: 10. 1097/ICO. 0b013e3181d3d69d.
- [15] Tsatsos M, MacGregor C, Athanasiadis I, et al. Herpes simplex virus keratitis: an update of the pathogenesis and current treatment with oral and topical antiviral agents [J]. Clin Exp Ophthalmol, 2016, 44(9): 824-837. DOI: 10. 1111/ceo. 12785.
- [16] La Distia Nora R, Putera I, Mayasari YD, et al. Clinical characteristics and treatment outcomes of cytomegalovirus anterior uveitis and endotheliitis: a systematic review and meta-analysis [J]. Surv Ophthalmol, 2022, 67(4): 1014-1030. DOI: 10. 1016/j. survophthal. 2021. 12. 006.
- [17] Hsiao CH, Hwang YS, Chuang WY, et al. Prevalence and clinical consequences of cytomegalovirus DNA in the aqueous humour and corneal transplants [J/OL]. Br J Ophthalmol, 2018, bjophthalmol-2018-312196 [2022-10-09]. <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29954783/>. DOI: 10. 1136/bjophthalmol-2018-312196.
- [18] Ang M, Sng CC, Chee SP, et al. Outcomes of corneal transplantation for irreversible corneal decompensation secondary to corneal endotheliitis in Asian eyes [J]. Am J Ophthalmol, 2013, 156(2): 260-266. DOI: 10. 1016/j. ajo. 2013. 03. 020.
- [19] Qu JH, Peng RM, Xiao GG, et al. Loss of endothelial cells in viral DNA-positive grafts after keratoplasty: a 2-year follow-up study [J]. Br J Ophthalmol, 2022, 106(1): 26-31. DOI: 10. 1136/bjophthalmol-2020-317629.
- [20] Voigt V, Andoniou CE, Schuster IS, et al. Cytomegalovirus establishes a latent reservoir and triggers long-lasting inflammation in the eye [J/OL]. PLoS Pathog, 2018, 14(5): e1007040 [2022-10-10]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5978784/>. DOI: 10. 1371/journal.ppat. 1007040.
- [21] Tan TE, Tan D. Cytomegalovirus corneal endotheliitis after Descemet membrane endothelial keratoplasty [J]. Cornea, 2019, 38(4): 413-418. DOI: 10. 1097/ICO. 0000000000001847.
- [22] Shimizu D, Miyazaki D, Shimizu Y, et al. Infection of endotheliotropic human cytomegalovirus of trabecular meshwork cells [J]. Jpn J Ophthalmol, 2018, 62(6): 667-676. DOI: 10. 1007/s10384-018-0618-1.
- [23] Fukuda M, Deai T, Higaki S, et al. Presence of a large amount of herpes simplex virus genome in tear fluid of herpetic stromal keratitis and persistent epithelial defect patients [J]. Semin Ophthalmol, 2008, 23(4): 217-220. DOI: 10. 1080/08820530802111366.
- [24] Ohara PT, Chin MS, LaVail JH. The spread of herpes simplex virus type 1 from trigeminal neurons to the murine cornea: an immunoelectron microscopy study [J]. J Virol, 2000, 74(10): 4776-4786. DOI: 10. 1128/jvi. 74. 10. 4776-4786. 2000.

(收稿日期:2023-02-25 修回日期:2023-08-20)

(本文编辑:刘艳 施晓萌)

读者·作者·编者

本期英文缩略语名词解释

- MMP:基质金属蛋白酶(matrix metalloproteinase)
- miR:微小RNA(microRNA)
- Nrf2:核因子 E2 相关因子 2(nuclear factor-E2-related factor 2)
- RPE:视网膜色素上皮(retinal pigment epithelium)
- oGVHD:眼部移植抗宿主病(ocular graft-versus-host disease)
- DME:糖尿病性黄斑水肿(diabetic macular edema)
- HSCT:造血干细胞移植术(hematopoietic stem cell transplantation)

(本刊编辑部)