HIV/AIDS 患者血清自身抗体检测结果分析*

钟 敏, 谢 祺, 张桂仙, 张 念, 杨绍敏[△] (云南省传染病专科医院检验科, 昆明 650301)

【摘要】目的 了解 HIV/AIDS 患者血清中自身抗体的检出率, 探讨自身免疫在 HIV/AIDS 患者中的意义。

方法 选择 2008 年 1 月至 2012 年 10 月云南省传染病专科医院门诊和住院就诊, 并检测血清抗核抗体(ANA)和抗可提取性核抗原(ENA)等 15 种抗体的 HIV/AIDS 患者 198 例为观察组, 另选择 2012 年健康体检者 50 例为健康对照组。采用间接免疫荧光法检测 HIV/AIDS 患者血清 ANA; 欧蒙印迹法检测自身抗体; 流式细胞术检测 CD4⁺T 淋巴细胞。比较两组间自身抗体检出率。结果 观察组患者自身抗体总阳性率为 27.8%, 以 Ro-52 阳性检出率最高, ANA 和 Ro-52 与健康对照组比较差异有统计学意义($P < 0.05$)。CD4⁺T 淋巴细胞低于 200 个/ μL 的 HIV 患者自身抗体检出率为 37.1%, 与高于 200 个/ μL 的 HIV 患者比较差异有统计学意义($P < 0.01$)。结论 HIV 感染能诱导自身免疫反应, 使患者出现多种自身抗体, 自身抗体的检出率与 CD4⁺T 淋巴细胞密切相关, 监测 HIV 患者自身抗体对患者的诊断和治疗有一定的指导意义。

【关键词】 艾滋病; 自身抗体; 自身免疫

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2014.20.004 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2014)20-2808-02

Analysis on serum autoantibodies among HIV/AIDS individuals* ZHONG Min, XIE Qi, ZHANG Gui-xian, ZHANG Nian, YANG Shao-min[△] (Department of Clinical Laboratory, Infectious Disease Hospital of Yunnan, Kunming, Yunnan 650301, China)

【Abstract】 Objective To study the detection rate of serum autoantibodies and investigate the clinical significance of autoimmune in patients infected with acquired immune deficiency syndrome(AIDS). Methods A total of 198 patients with AIDS were selected as observation group, fifty healthy people were selected as control group. Indirect immunofluorescence assay method was used to detect antinuclear antibody(ANA) in serum. ANA Profile 3 EURO-LIN was used to detect autoantibodies. Flow cytometry method was used to detect CD4⁺T cells. The detection rates of the two groups were compared. Results The positive rate of autoantibodies in HIV/AIDS infected patients was 27.8%. The positive rate of Ro-52 appeared most. The differences on the ANA and Ro-52 were statistical significant in the two groups($P < 0.05$). The positive rate of autoantibodies in infected patients whose CD4⁺T cells less than 200/ μL was 37.1%, which had a significant difference compared with that more than 200/ μL ($P < 0.05$). Conclusion HIV infection may induce autoimmune reaction, and produce autoantibodies. The positive rate of autoantibodies was associated CD4⁺T cells. Autoantibodies detection is helpful for diagnosis and treatment of AIDS infected patients.

【Key words】 human immunodeficiency virus; autoantibody; autoimmunity

人类免疫缺陷病毒(HIV)可侵犯人体每个器官系统^[1], 国内有关 HIV 感染者的研究多集中在机会性感染, 如肺脏、消化道、心脏、眼部及神经系统表现^[2-3], 但 HIV 相关的自身免疫性疾病报道较少。本文通过分析本院 198 例 HIV/AIDS 患者血清抗核抗体(ANA)和抗可提取性核抗原(ENA)等抗体的检测结果, 探究自身抗体在 HIV/AIDS 患者诊断及治疗中的意义, 现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2008 年 1 月至 2012 年 10 月本院门诊和住院就诊, 并检测血清 ANA 和 ENA 等 15 种抗体的 HIV/AIDS 患者 198 例为观察组, 其中男 112 例, 年龄 6~87 岁, 平均年龄(43±11)岁; 女 86 例, 年龄 11~71 岁, 平均年龄(38±8)岁。所有患者均由本院实验室通过蛋白印迹试验(WB)确诊。选择 2012 年本院健康体检者 50 例为健康对照组, 健康对照组均排除病毒感染及自身免疫性疾病。其中男 30 例, 女 20 例, 年龄 18~60 岁。两组在性别构成比、年龄等一般资料比

较, 差异无统计学意义($P > 0.05$), 组间具有可比性。

1.2 方法

1.2.1 ANA 及 ANA 谱 3 检测方法 采用间接荧光免疫法检测 ANA, 采用欧蒙印迹法检测 ANA 谱 3, 试剂盒均来自德国欧蒙公司。其中欧蒙印迹法检测 ANA 谱 3, 可检测抗核糖核蛋白(nRNP)、抗 Sm(Sm)、抗干燥综合征 A 抗原(SS-A)、自身抗原 Ro-52(Ro-52)、抗干燥综合征 B 抗原(SS-B)、硬皮病抗原 70(Scl-70)、多发性肌炎-硬皮病抗原(PM-Scl)、组氨酸 tRNA 合成酶(Jo-1)、着丝点蛋白 B (CENP B)、增殖性细胞核抗原(PCNA)、抗双链 DNA(dsDNA)、核小体(NUC)、组蛋白(HI)、核糖体 P 蛋白(RIB)、抗线粒体抗体 M2(AMA-M2)等 15 种抗原抗体。

1.2.2 CD4⁺T 淋巴细胞检测 采用美国 BD 公司 FACSCalibur 流式细胞仪及 TriTEST CD3 FITC/CD8 PE/CD45 PreCP/CD4 APC 和含有已知数量标准微球的 TruCOUNT 管。在 TruCOUNT 管中加入 20 μL TriTEST CD3 FITC/CD8 PE/

* 基金项目:“十二五”国家重大科技专项资助课题资助项目(2012ZX10001-002)。

作者简介:钟敏,女,本科,副主任技师,主要从事临床免疫学及艾滋病实验室诊断方面的研究。△ 通讯作者,E-mail:smy57@sina.com。

CD45 PreCP/CD4 APC 抗体和 50 μ L 抗凝血,充分混匀,室温暗处反应 15 min 后,加入 1 $\times$ FACS 溶血素 450 μ L,充分混匀,室温暗处反应 15 min,24 h 内上流式细胞仪,运用 MuliSET 软件进行自动分析。

1.3 统计学处理 采用 SPSS15.0 软件对数据进行统计学分析,计数资料采用百分率表示,组间比较采用 χ^2 检验。若理论频数小于 1,且概率接近检验水准时,用精确概率法。以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

表 1 两组研究对象的血清自身抗体检测结果[n(%)]

组别	n	ANA	Ro-52	HI	PCNA	AMA M2	SS-A	PM-Scl
观察组	198	25(12.6) ^a	27(13.6) ^a	11(5.6)	9(4.5)	7(3.5)	7(3.5)	6(3.0)
健康对照组	50	1(2.0)	1(2.0)	1(2.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$ 。

表 2 两组研究对象自身抗体重叠检测结果[n(%)]

组别	n	血清自身抗体阳性种类						
		1 种	2 种	3 种	4 种	5 种	8 种	总阳性
观察组	198	38(19.2)	11(5.6)	3(1.5)	1(0.5)	1(0.5)	1(0.5)	55(27.8) ^a
健康对照组	50	2(4.0)	1(2.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	0(0.0)	3(6.0)

注:与健康对照组比较,^a $P<0.05$ 。

表 3 不同 CD4⁺T 淋巴细胞水平与血清自身抗体检出阳性率比较[n(%)]

项目	CD4 ⁺ T 淋巴细胞(个/ μ L)	
	≤ 200 (n=105)	> 200 (n=93)
ANA	22(20.9) ^a	3(3.2)
Ro-52	25(23.8) ^a	2(2.2)
HI	6(5.7)	5(5.4)
PCNA	7(6.7)	2(2.2)
AMA M2	6(5.7)	1(1.1)
SS-A	6(5.7)	1(1.1)
PM-Scl	3(2.9)	3(3.2)
dsDNA	3(2.9)	2(2.2)
Sm	4(3.8)	1(1.1)
抗 nRNP	4(3.8)	0(0.0)
SS-B	2(1.9)	2(2.2)
CENP B	2(1.9)	1(1.1)
Jo-1	2(1.9)	0(0.0)
NUC	2(1.9)	0(0.0)
Scl-70	1(1.0)	0(0.0)
RIB	1(1.0)	0(0.0)
总阳性	39(37.1) ^a	16(17.2)

注:与 CD4⁺T >200 个/ μ L 比较,^a $P<0.05$ 。CD4⁺T ≤ 200 的患者中出现 1 种抗体阳性 27 例,2 种抗体阳性 7 例,3 种抗体阳性 2 例,4 种抗体阳性 1 例,5 种抗体阳性 1 例,8 种抗体阳性 1 例,一共 39 例;CD4⁺T >200 的患者中出现 1 种抗体阳性 11 例,2 种抗体阳性 4 例,3 种抗体阳性 1 例,一共 16 例。

2.2 HIV/AIDS 患者自身抗体检出率与 CD4⁺T 淋巴细胞关

2 结 果

2.1 两组研究对象的血清自身抗体检测结果 观察组患者中共有 55 例患者血清自身抗体阳性,总阳性率为 27.8%,明显高于健康对照组的 6.0%(3/50),差异有统计学意义($P<0.05$)。其中以 Ro-52 阳性检出率最高,且 ANA 和 Ro-52 结果与健康对照组比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。同一患者有自身抗体重叠现象。见表 1,表 2。

系 根据 CD4⁺T 淋巴细胞将 198 例 HIV/AIDS 患者分为两组,CD4⁺T ≤ 200 个/ μ L 有 105 例,自身抗体检出率为 37.1%(39/105),其中 1 例患者同时出现 8 种抗体阳性,其 CD4⁺T 淋巴细胞仅为 5 个/ μ L。CD4⁺T >200 个/ μ L 的患者有 93 例,自身抗体检出率为 17.2%(16/93),两组检出率比较,差别有统计学意义($P<0.05$)。且 ANA 和 Ro-52 在这两组间检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。见表 3。

3 讨 论

HIV 与多种自身免疫性疾病密切相关,其主要临床表现为关节痛、关节炎、银屑病性关节炎等。在 HIV 感染者血清中可检测到多种自身抗体和免疫复合物,最容易出现的自身抗体是类风湿因子、抗平滑肌抗体和抗心磷脂抗体^[4-6]。文献报道 HIV 患者出现抗平滑肌抗体的阳性率较高,并且重组亚型患者比 C 亚型患者更易出现抗平滑肌抗体^[9]。本研究结果显示,HIV/AIDS 患者在 15 种相关自身抗体中总阳性率为 27.8%,与健康对照组检出率比较,差异有统计学意义($P<0.05$)。而且在这 15 种相关自身抗体中,以 ANA 和 Ro-52 检出率最高,并且 CD4⁺T 淋巴细胞降低至 200 个/ μ L 以下患者中更容易检出自身抗体。其原因可能是 HIV 病毒通过分子模拟作用引起 CD4⁺细胞耗竭,进一步破坏免疫系统,或在其他组织中引起自身免疫反应。并且 HIV 和机会性感染病原体及其代谢产物通过介导机体免疫反应,而使体内出现多种免疫球蛋白增高,自身抗体产生增加,导致出现类似自身免疫性疾病表现^[10]。也有可能是由于 HIV 感染导致免疫缺陷,引起反复机会性感染,而这些病原体是关节炎或神经纤维病变以及皮肤肌肉病变的直接原因^[11]。

综上所述,HIV 感染后自身免疫反应细胞的潜在作用值得进一步研究,监测自身免疫应答应该成为预防 HIV 感染方法评价中的一部分。

参考文献

[1] 中国疾病预防控制中心. 艾滋病临床治(下转第 2812 页)

TLR3 除在免疫细胞有表达外,在体内其他细胞中也有表达,如胰岛 β 细胞、神经细胞等^[14]。PIC 刺激可以抑制神经祖细胞的增殖并诱导其功能障碍^[15];PIC 刺激内皮细胞能明显抑制其增殖并诱导细胞凋亡^[4]。然而胰岛 β 细胞上 TLR3 被激活,是否影响其细胞增殖及生物学功能却并不清楚。本研究结果表明,胰岛 β 细胞 TLR3 被激活后,能诱导大量炎性因子 IL-1 β 、IL-6 及 TNF- α 合成和释放,进而抑制胰岛 β 细胞增殖及胰岛素的释放。此外,研究结果与 TLR3 信号传导,调节下游炎性因子释放机制相吻合。

综上所述,胰岛 β 细胞 TLR3 被激活,可抑制胰岛 β 细胞增殖,推测其在 1 型或 2 型糖尿病 β 细胞衰竭中起着重要作用。后续的实验可进一步在基因水平观察激活 TLR3 对胰岛 β 细胞功能的影响。本研究将有助于更全面地认识 TLR3 信号对胰岛 β 细胞功能的调节作用,并为糖尿病的预防和治疗提供新的思路。

参考文献

- [1] Ehses JA, Meier DT, Wuest S, et al. Toll-like receptor 2-deficient mice are protected from insulin resistance and beta cell dysfunction induced by a high-fat diet[J]. *Diabetologia*, 2010, 53(8):1795-1806.
- [2] Hans M, Hans VM. Toll-like receptors and their dual role in periodontitis: a review[J]. *J Oral Sci*, 2011, 53(3):263-271.
- [3] Bruno ME, Frantz AL, Rogier EW, et al. Regulation of the polymeric immunoglobulin receptor by the classical and alternative NF- κ B pathways in intestinal epithelial cells [J]. *Mucosal Immunol*, 2011, 4(4):468-478.
- [4] Zimmer S, Steinmetz M, Asdonk T, et al. Activation of endothelial Toll-Like receptor 3 impairs endothelial function [J]. *Circ Res*, 2011, 108(11):157-158.
- [5] Santini E, Fallahi P, Ferrari SM, et al. Effect of PPAR-Activation and inhibition on Glucose-Stimulated insulin release in INS-1e cells[J]. *Diabetes*, 2004, 53(3):79-83.
- [6] Hu FB, Meigs JB, Li TY, et al. Inflammatory markers and

risk of developing type 2 diabetes in women[J]. *Diabetes*, 2004, 53(5):693-700.

- [7] Cai D, Yuan M, Frantz DF, et al. Local and systemic insulin resistance resulting from hepatic activation of IKK-beta and NF-kappa B[J]. *Nat Med*, 2005, 11(2):183-190.
- [8] Yamamoto OM, Sato S, Hemmi H, et al. Role of adapt or TRIF in the MyD88-independent Toll-like receptor signaling pathway[J]. *Science*, 2003, 301(5633):640-643.
- [9] Reyna SM, Ghosh S, Tantiwong P, et al. Elevated toll-like receptor 4 expression and signaling in muscle from insulin-resistant subjects [J]. *Diabetes*, 2008, 57(10):2595-2602.
- [10] Dasu MR, Devaraj S, Park S, et al. Increased Toll-Like receptor(TLR)activation and TLR ligands in recently diagnosed type 2 diabetic subjects[J]. *Diabetes Care*, 2010, 33(4):861-868.
- [11] Himes RW, Smith CW. Tlr2 is critical for diet-induced metabolic syndrome in a murine model [J]. *FASEB J*, 2010, 24(3):731-739.
- [12] Kuo LH, Tsai PJ, Jiang MJ, et al. Toll-like receptor 2 deficiency improves insulin sensitivity and hepatic insulin signalling in the mouse [J]. *Diabetologia*, 2011, 54(1):168-179.
- [13] Shi H, Kokoeva MV, Inouye K, et al. TLR4 links innate immunity and fatty acid-induced insulin resistance [J]. *J Clin Invest*, 2006, 116(11):3015-3025.
- [14] Wen L, Peng J, Li ZJ, et al. The effect of innate immunity on autoimmune diabetes and the expression of toll-like receptors on pancreatic islets [J]. *J Immunol*, 2004, 172(5):3173-3180.
- [15] Lathia JD, Okun E, Tang SC, et al. Toll-Like receptor 3 is a negative regulator of embryonic neural progenitor cell proliferation [J]. *J Neurosci*, 2008, 28(51):13978-13984.

(收稿日期:2014-03-12 修回日期:2014-06-07)

(上接第 2809 页)

- 疗与护理培训教材[M].北京:北京大学医学出版社,2003:64-83.
- [2] 刘彦春,李杏红,李兴旺,等.北京地坛医院 HIV/AIDS 首诊患者 690 例临床分析[J]. *中国皮肤性病学杂志*, 2008, 22(2):98-99.
  - [3] 戴懿,李太生,王爱霞,等.143 例首诊发现的中国艾滋病患者临床特征分析[J]. *中国医学科学院学报*, 2006, 28(5):651.
  - [4] Avcin T, Toplak N. Antiphospholipid antibodies in response to infection[J]. *Curr Rheumatol Rep*, 2007, 23(9):212-218.
  - [5] Metlas R, Srdic T, Veljkovic V. Anti-IgG antibodies from sera of healthy individuals neutralize HIV-1 primary isolates[J]. *Curr HIV Res*, 2007, 20(5):261-265.
  - [6] Haynes BF, Nicely NI, Alam SM. HIV-1 autoreactive antibodies: are they good or bad for HIV-1 prevention[J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2010, 37(17):543-545.
  - [7] Hernandez GT, Critchfield JM, Rodriguez RA. Interpreta-

tion of serologic tests in an HIV-infected patient with kidney disease[J]. *Nat Clin Pract Nephrol*, 2006, 17(2):708-712.

- [8] Shoenfeld Y, Blank M, Abu-Shakra M, et al. The mosaic of autoimmunity: prediction, autoantibodies, and therapy in autoimmune diseases [J]. *Isr Med Assoc J*, 2008, 27(10):13-19.
- [9] Adeyemi OM, Attar B, Jensen D, et al. Serological markers of autoimmunity in patients infected with hepatitis C virus: impact of HIV co-infection [J]. *HIV Med*, 2005, 6(6):371-374.
- [10] [美]利维(Jay A. Levy),邵一鸣.艾滋病病毒与艾滋病的发病机制[M].3版.北京:科学出版社,2010:250-254.
- [11] Cuellar ML, Espinoza LR. Rheumatic manifestations of HIV-AIDS [J]. *Best Pract Res Clin Rheumatol*, 2000, 14(7):579-593.

(收稿日期:2014-02-11 修回日期:2014-04-17)