

高危人群中红细胞 Duffy 抗原与 HIV 感染关系研究*

王胜蓝, 吴明瞬, 魏禄川(四川省凉山彝族自治州中心血站, 四川西昌 615000)

【摘要】 目的 探讨红细胞 Duffy 抗原和人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的关系。方法 2008 年在凉山州疾病预防控制中心和凉山州皮肤病性病防治站检测的高危人群 427 例, 根据 HIV-1 检测筛查和确诊试验结果分为试验组和对照组, 两种试验结果不一致者不纳入该研究。应用血清学方法进行 Duffy 血型表型鉴定, 比较两组 Duffy 血型表型分布及其与该地区已知报道的差异, 以及不同 Duffy 血型表型的 HIV 感染率。结果 共 322 例高危人群进行 Duffy 血型抗原鉴定, 其中 HIV 感染 156 例(试验组), 未感染 166 例(对照组), 高危人群 Duffy 血型表型分布与同地区同民族人群比较差异无统计学意义($P>0.05$)。322 例高危人群中 Fy(a+b-) 304 例(94.41%), 其中试验组 146 例, 对照组 158 例; Fy(a+b+) 14 例(4.35%), 其中试验组 6 例, 对照组 8 例; Fy(a-b+) 4 例(1.24%), 均在试验组; 两组均未检出 Fy(a-b-) 表型; 两组 Duffy 血型表型分布比较差异无统计学意义($P>0.05$)。Fy(a-) 与 Fy(a+) 高危人群, 以及 Fy(b+) 与 Fy(b-) 高危人群 HIV-1 感染率比较差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论 流行病学调查尚不能认为红细胞 Duffy 抗原与 HIV 感染相关, 需进一步的深入研究。

【关键词】 Duffy 抗原/趋化因子受体; 人类免疫缺陷病毒; 血型; 高危人群

DOI: 10.3969/j.issn.1672-9455.2015.05.002 文献标志码: A 文章编号: 1672-9455(2015)05-0580-02

Research on relationship between erythrocyte Duffy antigen and HIV infection in high-risk group* WANG Sheng-Lan, WU Ming-Shun, WEI Lu-Chuan (Central Blood Stations of Liangshan Autonomous Prefecture, Xichang, Sichuan 615000, China)

【Abstract】 **Objective** To investigate the relationship between erythrocyte Duffy antigen and human immunodeficiency virus(HIV) infection. **Methods** 427 cases of high-risk group in the Liangshan Prefecture Center for Disease Control and Prevention and the Liangshan Prefecture Satation for Dermatoses and Venereal Disease Prevention and Treatment during 2008 were divided into experimental group and control group according to the results of screening and confirming test, and cases with inconsistent results were not enrolled in this study. The serological method was adopted to identify the Duffy blood group phenotype. The difference in the distribution of Duffy blood group phenotype between the two groups, the differences of the distribution between this report and other published reports in this area, and HIV infection rate in different Duffy blood group phenotypes were compared. **Results** A total of 322 cases were carried out Duffy blood group antigen identification, 156 cases were HIV infection(experimental group) and 166 cases were non-HIV infection(control group). The distribution of the Duffy blood group phenotype had no statistical difference between the high-risk population and the population of the same nationality in the same area ($P>0.05$). Among 322 high-risk cases, 304 cases (94.41%) were the phenotype Fy(a+b-), in which the experimental group had 146 cases and the control group had 158 cases; 14 cases(4.35%) were the phenotype Fy(a+b+), in which the experimental group had 6 cases and the control group had 8 case; only 4 cases (1.24%) were phenotype Fy(a-b+), which all were in the experimental group; no case of phenotype Fy(a-b-) was detected in the two groups; the distribution of the Duffy blood group phenotype had no statistical difference between the two groups($P>0.05$). The HIV infection rate in the high-risk population had no statistical difference between the Fy(a-) and Fy(a+) high-risk populations and between the Fy(b+) and Fy(b-) high-risk populations($P>0.05$). **Conclusion** It may not be considered from the epidemiological investigation that the erythrocyte Duffy antigen is related with the HIV infection, which needs to conduct further deep research.

【Key words】 Duffy antigen/receptor for chemokines; human immunodeficiency virus; blood group; high risk group

Duffy 血型是人类红细胞血型系统中较为重要的血型之一, 其表现型由红细胞表面携带的血型抗原蛋白决定, 在新生儿溶血病、自身免疫性疾病、移植排斥反应、炎症及肿瘤等方面有着重要的临床意义^[1]。红细胞 Duffy 抗原与人类免疫缺陷病毒(HIV)感染的关系目前尚存在争议。本研究应用血清学方法对 HIV-1 感染者和高危人群中非感染者进行 Duffy 血型表型检测, 由此调查红细胞 Duffy 抗原和 HIV 感染是否相关。

现将研究结果报道如下。

1 资料与方法

1.1 标本来源 2008 年在凉山州疾病预防控制中心、凉山州皮肤病性病防治站检测者中, 经病史询问有下列高危行为之一者视为 HIV 高危人群: 静脉吸毒、性工作者及多性伴侣^[2]。共 427 例, 其中男 304 例、女 123 例; 年龄 12~63 岁, 年龄中位数为 26 岁; 均为彝族; 互为性伴侣者 26 例, 未见同性伴侣。所有

* 基金项目: 四川省卫生计生厅科研项目(130525); 四川省凉山州科技局科研项目(12YYJS0013)。

作者简介: 王胜蓝, 男, 本科, 副主任检验师, 主要从事输血检验研究。

研究对象均采集乙二胺四乙酸二钾 (EDTA-K₂) 抗凝全血 5 mL, 血样均经 EDTA 抗凝后离心, 血浆部分用于 HIV 检测, 红细胞用于 Duffy 表现型检测。

1.2 仪器与试剂 微量移液器 (上海百德公司, 型号 BI0HIT); 洗板机 (奥地利安图斯公司, 型号 Fluido); 酶标仪 (奥地利安图斯公司, anthos 2010); 孵育箱 (天津泰斯特仪器公司, 型号 IDH4000AB); 酶联免疫吸附试验 (ELISA) 试剂 (上海梅里埃生物工程有限公司, 批号 20071205); 全自动免疫印迹仪 (美国 MP 公司, 型号 AutoBlot System 20); 免疫印迹试剂 (上海英旻泰生物技术有限公司, 批号 IMT0712002); 血清学离心机 (日本 KuBoTa 公司, 型号 KA-2200); 水浴箱 (上海跃进医疗器械厂制造, 型号 HHW21600s); IgG 型抗-Fya、抗-Fyb 单克隆试剂 (美国 Immucor 公司, 批号 FYA64H-1、6061002280、Fyb70H-1、6021004300); 抗球蛋白血清 (中国医学科学院输血研究所, 批号 20091012)。所有试剂均在有效期内使用。

1.3 方法

1.3.1 HIV-1 检测和 Duffy 血型表型鉴定方法 HIV-1 检测筛查试验为固相 ELISA, 确认试验为免疫印迹法 (WB); Duffy 血型表型鉴定使用 IgG 型抗-Fya 和抗-Fyb, 采用间接抗球蛋白法, 根据抗原抗体反应可以鉴定出 4 种红细胞表面抗原表型: Fy(a+b-), Fy(a+b+), Fy(a-b+), Fy(a-b-)。所有试验方法和步骤参考试剂说明书。表型分布结果与本课题前期研究结果^[3]、本地区彝族人群众 Duffy 血型表型分布^[4] 进行比较。

1.3.2 研究分组 HIV-1 检测筛查和确认试验均为阳性则视为感染者纳入试验组; 筛查试验阴性视为未感染者纳入对照组; 筛查和确认试验结果不一致者未纳入本研究; 为防止窗口期检测结果干扰研究, 对照组于 3 个月后再次抽取标本进行 HIV 检测, 并根据结果重新进行分组。

1.4 统计学处理 采用 SPSS19.0 统计学软件进行数据处理与统计学分析, 计数资料以百分比表示, 组间比较采用 χ^2 检验; 以 $\alpha=0.05$ 为检验水准, $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HIV 筛查、确认试验及分组结果 427 例高危人群中 HIV-1 筛查试验阳性者 261 例, 其中经确认试验重复阳性者 156 例, 筛查试验阳性而确认试验阴性者 105 例未纳入本研究, 筛查试验阴性者 166 例经 3 个月复查均仍为阴性。根据分组方法, 试验组 156 例 (48.45%), 对照组 166 例 (51.55%), 共 322 例进行 Duffy 血型抗原鉴定。

2.2 血清学 Duffy 血型抗原鉴定结果 Fy(a+b-) 者 304 例 (94.41%), Fy(a+b+) 者 14 例 (4.35%), Fy(a-b+) 者 4 例 (1.24%), 未检出 Fy(a-b-) 表型, 表型分布结果与本课题前期研究结果比较差异无统计学意义 ($\chi^2=8.80, P>0.05$), 同时与本地区彝族人群众 Duffy 血型表型分布比较, 差异无统计学意义 ($\chi^2=6.12, P>0.05$)。

2.3 Duffy 血型表型与 HIV-1 感染率 322 例高危人群中, 确认 HIV-1 感染者 156 例, 每种 Duffy 血型表型的 HIV-1 感染者和未感染者例数和百分比, 见表 1。试验组与对照组 Duffy 血型表型比较差异无统计学意义 ($\chi^2=4.45, P>0.05$)。按照 Fya 抗原的状态分为 Fy(a+) 和 Fy(a-) 组, Fy(a-) 组 HIV-1 感染率为 100.00% (4/4), Fy(a+) 组为 47.80% (152/318), Fy(a-) 组比 Fy(a+) 组的 HIV-1 感染率高, 但组间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=2.47, P>0.05$); 按照 Fyb 抗原的状态分为 Fy(b+) 和 Fy(b-) 组, Fy(b-) 组 HIV-1 感染率为 48.03% (146/304), Fy(b+) 组的 HIV-1 感染率为 55.56%

(10/18), Fy(b+) 组比 Fy(b-) 组的 HIV-1 感染率高, 但组间比较差异无统计学意义 ($\chi^2=0.39, P>0.05$)。

表 1 各 Duffy 血型表型 HIV-1 感染率 [n (%)]

组别	n	Duffy 血型表型		
		Fy(a+b-) (n=304)	Fy(a+b+) (n=14)	Fy(a-b+) (n=4)
试验组	156	146(48.03)	6(42.86)	4(100.00)
对照组	166	158(51.97)	8(57.14)	0(0.00)

3 讨 论

近年来 Duffy 抗原在 HIV-1 感染过程中的作用引起了研究者的关注^[5]。He 等^[6]发现个体对 HIV-1 的易感性与红细胞 Duffy 抗原的表达相关, HIV-1 通过 Duffy 抗原与红细胞结合, 已经感染 HIV 的个体其 Duffy 抗原的缺失可减缓疾病的发展进程。而 Beck 等^[7]研究表明, 红细胞 Duffy 抗原阳性或阴性的个体, 其红细胞在体外均可选择性地与富集感染性 HIV-1 病毒颗粒结合, 因此推测红细胞可能并非通过 Duffy 抗原与 HIV-1 结合。所以, 尽管 Duffy 抗原/趋化因子受体 (DARC) 对 HIV-1 感染性和疾病进展的影响在理论上是完全可能的, 但实际情况仍有待于进一步的研究^[8]。流行病学研究表明, 不同民族、地区的 Duffy 血型系统分布不同, 本研究旨在流行病学调查的基础上探讨 Duffy 抗原是否与 HIV-1 感染有关。结果显示: 高危人群的 Duffy 血型抗原分布与相同地区同一民族比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 高危人群中 HIV-1 感染者与未感染者的 Duffy 血型表型分布比较差异无统计学意义 ($P>0.05$)。

Duffy 抗原和 DARC 是同一物质^[9]。Duffy 血型不同的表现型, 决定其红细胞表面是否表达 DARC 及其表达量。Fy(a-b-) 的个体红细胞表面没有 DARC, 而其他表现型个体的红细胞膜表面具有不同的 DARC 配体结合力和 DARC 结合数量。Fy(a+) 个体比 Fy(a-) 个体表达更多的 DARC^[10], Fy(a+) 个体很可能比 Fy(a-) 个体具有更强的趋化因子结合能力^[9], 这似乎可以推论, 就 DARC 而言 Fya 个体更不容易感染 HIV-1。但在本研究中, HIV-1 感染者中发现了 4 例 Fy(a-) 个体, 未感染者中却未发现, 虽然比较差异无统计学意义 ($P>0.05$), 尚不能据此认为 DARC 的数量与 HIV-1 感染无关, 但这至少为红细胞 Duffy 抗原与 HIV 感染的相关性提供了相反的证据。

综上所述, 本研究显示流行病学调查尚不能认为红细胞 Duffy 抗原与 HIV 感染相关。这与文献^[6]的结论相反, 而与文献^[7, 11]的研究结果相似。造成结论不一致的原因可能与试验设计、样本量大小、试验方法的差异等因素有关。

(本研究得到中国医学科学院输血研究所宋宁教授、凉山州疾病预防控制中心卫大英教授、凉山州皮肤病性病防治站朱国平主任的大力支持, 特此感谢!)

参考文献

[1] Daniels GL. The molecular genetics of blood group polymorphism[J]. Hum Genet, 2009, 126(2): 729-742.
 [2] 方鹏鹰, 张佳慧, 徐娟. 我国艾滋病高危人群定义与范畴的界定[J]. 中国艾滋病性病, 2006, 12(5): 470-471.
 [3] 王胜蓝, 吴明瞬, 刘红英, 等. 凉山地区彝族人群众 Duffy 血型表型、基因型分布[J]. 中国输血杂志, 2014, 27(2): 158-159.

临界值标本阳(阴)性率均不小于95%,95%CI分别为:96.6%~99.5%、97.6%~99.5%、97.6%~99.5%、94.7%~99.5%、98.6%~99.5%。CV_{批内}均在10%左右,CV_{批间}均小于15%。见表6。

表6 ADDCAER1100 检测仪 HBV 血清学标志物 重复性试验结果

检测指标	临界值		-20%		+20%	
	S/CO	CV	S/CO	CV	S/CO	CV
	($\bar{x}\pm s$)	(%)	($\bar{x}\pm s$)	(%)	($\bar{x}\pm s$)	(%)
HBsAg	0.99±0.10	9.59	0.84±0.08	9.87	1.15±0.09	7.97
HBsAb	0.97±0.13	12.91	0.80±0.08	9.92	1.45±0.11	7.87
HBeAg	0.99±0.09	9.05	0.88±0.08	9.43	1.24±0.10	8.25
HBeAb	0.94±0.10	9.46	1.23±0.11	9.01	0.66±0.06	8.71
HBcAb	0.99±0.10	9.67	1.16±0.09	7.62	0.39±0.04	9.74

注:-20%为临界值-20%分析物浓度;+20%为临界值+20%分析物浓度。

3 讨论

本研究以HBV血清学标志物HBsAg、HBsAb、HBeAg、HBeAb、HBcAb为例,进行方法学对比和重复性试验,用于ELISA的方法学评价,结果显示:在方法学对比中,以化学发光法为原理的Architect I2000和ELISA为原理的ADD-CAER1100同时检测HBV血清学标志物的结果一致性较强;在重复性试验中HBV血清学标志物标本浓度在±20%临界值标本位于95%CI内,对于临界浓度不小于20%的标本也能得到稳定的结果。

在临床实验室使用新的试剂、系统或更换试剂、系统时,为了保证标本检测结果的准确性和可靠性,在开展检测项目前需要进行性能评价。在性能评价的方法学对比中,定性试验通常运用2种或2种以上的检测方法(仪器)。由于最终的诊断结果未知,或无诊断的金标准,定性方法又分为已知诊断的定性试验和未知诊断的定性试验,未知诊断的定性试验往往对比几种检测方法的一致性,采用几种检测方法的阴性和阳性符合率表示^[2-4]。本试验以HBV血清学标志物检测为例,以化学发光法为原理的Architect I2000作为参考仪器,以新引入科室的以ELISA为原理的ADDCAER1100为试验仪器。两种方法

学对比时,需注意标本的选择应具有代表性,阳性标本应该随机选择,用Kappa检验判断两套检测系统一致性的强弱^[3-5]。

定性试验的重复性研究是检验测量临界值精密度的方法。检测高值的阳性标本或阴性低值是不合适的,因为它们的结果明显超出了医学决定值。而在临界值附近同一份标本常出现不一样的结果^[6],本试验根据EP12-A文件的重复性试验方法,评估浓度在临界值附近的标本的精密度,通过重复测量±20%临界值的标本是否在该检测方法的临界值95%CI(重复测定临界值附近的标本,得到95%阳性并且95%阴性的结果的浓度范围,称为该检测方法的临界值的95%CI)来评价该试验方法的精密度^[2]。

本研究在方法学对比中显示两套系统同时检测HBV的5项血清学标志物的结果一致性较强。在重复性试验中,±20%临界值的标本均在95%CI内,对于临界浓度不小于20%的标本能够得到稳定的结果。临界值的CV_{批内}值均在10%左右,CV_{批间}<15%,说明ADDCAER1100全自动酶免工作站的稳定性和准确性符合临床标本检测要求,可运用于临床HBV的检测。

参考文献

- [1] 中华医学会肝病分会,中华医学会感染学分会.慢性乙型肝炎防治指南(2010年版)[J].中华肝脏病杂志,2011,19(1):13-24.
- [2] NCCLS. User protocol for evaluation of qualitative test performance proposed guideline[S]. Wayne, PA, USA: NCCLS, 2002.
- [3] 夏邦世,吴金华. Kappa一致性检验在检验医学研究中的应用[J]. 中华检验医学杂志, 2006, 29(1): 83-84.
- [4] 中国合格评定国家认可委员会. CNAS CL39:医学实验室质量和能力认可准则在临床免疫学检验领域的应用说明[S]. 北京:中国合格评定国家认可委员会. 2012.
- [5] 黄妍娇,黄宪章,庄俊华,等. CLSI EP12-A2文件在HBeAb定性检测性能评价中的应用[J]. 检验医学, 2012, 27(11): 900-903.
- [6] 陈桂三,张秀明,熊继红,等. 未知诊断定性试验分析性能评价方法探讨[J]. 检验医学, 2010, 25(12): 978-981.

(收稿日期:2014-10-20 修回日期:2014-12-10)

(上接第581页)

- [4] 辛友盼,田力,宋宁,等. 四川地区彝族 ABO 等 8 个血型的分子遗传学研究[J]. 中国输血杂志, 2013, 26(1): 41-45.
- [5] 周昌华. Duffy 抗原的研究进展[J]. 国际输血及血液学杂志, 2011, 34(5): 246-248.
- [6] He W, Neil S, Kulkarni H, et al. Duffy antigen receptor for chemokines mediates trans-infection of HIV-1 from red blood cells to target cells and affects HIV-AIDS susceptibility[J]. Cell Host Microbe, 2008, 4(1): 52-62.
- [7] Beck Z, Brown BK, Wieczorek L, et al. Human erythrocytes selectively bind and enrich infectious HIV-1 virions[J]. PLoS One, 2009, 4(12): e8297-e8300.
- [8] 郑敬民,尹广. 达菲抗原——一个既老又新的多功能分子

[J]. 医学研究生学报, 2010, 23(5): 551-556.

- [9] 刘小丰,欧周罗,邵志敏. 汉族女性乳腺疾病患者的 Duffy 表型多态性与乳腺癌的关系[J]. 中国癌症杂志, 2007, 17(12): 935-938.
- [10] Woolley IJ, Hotmire KA, Sramkoski RM, et al. Differential expression of the Duffy antigen receptor for chemokines according to RBC age and FY genotype[J]. Transfusion, 2000, 40(8): 949-953.
- [11] Winkler CA, An P, Johnson R, et al. Expression of Duffy antigen receptor for chemokines (DARC) has no effect on HIV-1 acquisition or progression to AIDS in African Americans[J]. Cell Host Microbe, 2009, 5(5): 411-413.

(收稿日期:2014-11-10 修回日期:2014-12-10)