

• 临床检验研究 •

某省 HIV 阳性的静脉吸毒人群淋巴细胞免疫功能研究

朱红艳, 欧阳红梅[△], 宋建新, 向自金, 张 芹, 蒋雅先

(昆明医学院附属昆华医院/云南省第一人民医院检验科, 昆明 650032)

摘要:目的 探讨人类免疫缺陷病毒(HIV)阳性的静脉吸毒者细胞免疫功能的变化。方法 对静脉吸毒人员组成的 HIV 阳性组和 HIV 阴性组与健康对照组检测丙型肝炎病毒(HCV)感染率及淋巴细胞绝对值。结果 HIV 阳性组和 HIV 阴性组 HCV 感染率分别是 94.59%和 82.93%; HIV 阳性组 T 淋巴细胞亚群及自然杀伤(NK)细胞群均有不同程度的变化。结论 HIV 阳性的静脉吸毒人群淋巴细胞免疫功能发生了不同程度的变化。

关键词: HIV; 静脉吸毒者; 淋巴细胞免疫

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.15.013

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)15-1686-02

Study on the lymphocyte immunity function in intravenous drug users with HIV infection in certain area

Zhu Hongyan, Ouyang Hongmei[△], Song Jianxin, Dian Zijin, Zhang Qin, Jiang Yaxian

(Department of Clinical Laboratory, Affiliated Kunhua Hospital of Kunming Medical College/the First People's Hospital of Yunnan Province, Kunming 650032, China)

Abstract: Objective To explore the lymphocyte immunity function in intravenous drug users with HIV infection. **Methods** HCV infection and absolute counts of T-lymphocyte subsets were analyzed for intravenous drug users with or without HIV infection and healthy controls. **Results** The infection rates of HCV were 82.9% and 94.59% in HIV negative and HIV positive drug users respectively. There were changes of T-lymphocyte subsets and natural killer cells for different degree in HIV positive drug users. **Conclusion** There could be certain alternations of lymphocyte immunity function in HIV positive intravenous drug users.

Key words: HIV; intravenous drug users; lymphocyte immunity

人类免疫缺陷病毒(HIV)的传播与静脉注射毒品密切相关。有资料显示,云南省静脉注射吸毒人群中的 HIV 感染率从 1995 年的 6.8% 上升到 1999 年的 27.8%, 2002 年后,感染率在 18.3%~22.7% 之间波动。感染 HIV 后,机体免疫系统将发生一系列复杂变化,本研究对 HIV 阳性的静脉吸毒者淋巴细胞免疫功能进行初步探讨,现报道如下。

1 资料与方法

1.1 一般资料 HIV 阳性组:HIV 确认试验阳性的本省静脉吸毒人员 37 例,其中男 30 例,女 7 例,年龄 20~57 岁,平均 34.26 岁。HIV 阴性组:HIV 筛查试验阴性的本省静脉吸毒人员 41 例,其中男 33 例,女 8 例,年龄 20~53 岁,平均 32.72 岁。健康对照组:35 例,均来自健康体检者,其中男 26 例,女 9 例,年龄 18~50 岁,平均 31 岁。

1.2 仪器与试剂 采用日本 Hitachi 7600-020 全自动生化分析仪及原装配套 Roche/Hitachi 试剂;上流式细胞仪、单克隆抗体、Flow-count 试剂均购自美国 Beckman Coulter 公司;ELISA 法试剂盒购自上海科华生物股份有限公司。

1.3 方法 丙氨酸氨基转移酶(ALT)、天门冬氨酸氨基转移酶(AST)采用日本 Hitachi 7600-020 全自动生化分析仪及原装配套 Roche/Hitachi 试剂进行测定;丙型肝炎病毒(HCV)-IgG 测定采用 ELISA 法。淋巴细胞亚群检测:新抽取的 150 μ L EDTA 抗凝全血,室温保存不超过 4 h,取两试管,分别加入 20 μ L 三色标记单克隆抗体及同型对照,分别加入 100 μ L 全血,混匀,室温避光放置 20 min 分别加入 500 μ L 溶血素,混匀,室温避光放置 8~10 min 再分别加入 500 μ L 磷酸盐缓冲液(PBS),混匀,室温避光放置 8~10 min 至液体透亮为止,1 500 r/min 离心 5 min,弃上清液,每管加入 0.75~1.0 mL

PBS,重悬细胞,加入 100 μ L Flow-count 试剂,上流式细胞仪检测。

1.4 统计学处理 采用 SPSS13.0 统计软件进行分析,对 HCV 感染率比较采用 χ^2 检验;对每组淋巴细胞绝对值数据均经过正态分布检验,非正态分布的数据均进行对数转换为正态分布数据,然后采用单因素方差分析进行数据比较。以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结 果

2.1 HIV 阴性和 HIV 阳性静脉吸毒人员的 HCV 感染状况比较 HIV 阳性组和 HIV 阴性组 HCV 的感染率分别是 94.59%和 82.93%,见表 1。

表 1 HIV 阴性与 HIV 阳性静脉吸毒人员 HCV 感染状况

组别	n	HCV 阴性例数	HCV 阳性例数	χ^2	P
HIV 阴性组	41	7	34	—	—
HIV 阳性组	37	2	35	1.577	0.209

—:无数据。

2.2 HIV 阴性和 HIV 阳性静脉吸毒人员淋巴细胞免疫功能比较 $CD3^+$ 及 $CD4^+$ T 淋巴细胞绝对值在健康对照组、HIV 阴性组及 HIV 阳性组依次降低,3 组间差异有统计学意义 ($P < 0.05$);3 组中 $CD8^+$ 淋巴细胞绝对值最高的是 HIV 阳性组。HIV 阴性组和 HIV 阳性组 $CD4^+DR^+$ 淋巴细胞绝对值均明显高于健康对照组。HIV 阳性组 $CD3^-CD56^+$ 、 $CD3^+CD56^+$ 、 $CD3^-CD16^+CD56^+$ 及 $CD3^+CD16^+CD56^+$ 淋巴细胞绝对值均低于 HIV 阴性组及健康对照组。四者变化均一致。见表 2。

[△] 通讯作者, E-mail: ouyhmei@163.com。

表 2 HIV 阴性与 HIV 阳性静脉吸毒人员淋巴细胞免疫功能的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	CD3 ⁺ (/μL)	CD4 ⁺ (/μL)	lg(CD8 ⁺)	CD4/CD8	lg(CD4 ⁺ DR ⁺)
HIV 阴性组	1 256.42±440.24	687.07±228.67	2.72±0.21	1.27±0.51	1.36±0.32
HIV 阳性组	1 474.68±586.99	343.61±248.81	2.96±0.24	0.36±0.21	1.31±0.30
健康对照组	1 842.12±667.13	816.48±293.39	2.87±0.28	1.25±0.33	0.99±0.26
F	6.557	32.863	9.745	69.262	16.271
P	0.002	<0.001	<0.001	<0.001	<0.001

续表 2 HIV 阴性与 HIV 阳性静脉吸毒人员淋巴细胞免疫功能的变化 ($\bar{x} \pm s$)

组别	lg(CD3 ⁻ CD56 ⁺)	lg(CD3 ⁺ CD56 ⁺)	CD3 ⁻ CD16 ⁺ CD56 ⁺	CD3 ⁺ CD16 ⁺ CD56 ⁺
HIV 阴性组	2.46±0.29	2.14±0.75	348.68±236.11	103.45±90.50
HIV 阳性组	2.19±0.36	1.89±0.37	231.35±191.61	81.83±62.09
健康对照组	2.60±0.14	1.98±0.37	441.97±111.66	162.47±92.33
F	18.563	4.821	10.014	8.286
P	<0.001	0.010	<0.001	<0.001

3 讨 论

CD4⁺T 淋巴细胞是 HIV 感染的主要靶细胞。HIV 侵犯 CD4⁺T 淋巴细胞后,可播散至 B 淋巴细胞以及来源于外周血、肺、骨髓的单核细胞。有些病毒可通过产生诱导细胞因子来增强 HIV 复制,如疱疹病毒、乳多空病毒、肝炎病毒和逆转录病毒在内的一些病毒共感染细胞,可以通过其他机制提高 HIV-1 的表达和复制水平。本研究中,HIV 阳性组和 HIV 阴性组 HCV 感染率分别为 94.59% 和 82.93%,略高于上海地区的 79.31%^[1],由此可见,HIV、HCV 共感染率高。有研究显示,HIV、HCV 共感染后机体呈现病毒高复制状态和低 CD4⁺T 淋巴细胞计数^[2]。

本研究中,HIV 阳性组 CD4⁺T 淋巴细胞绝对值和 CD4/CD8 比值均显著低于 HIV 阴性组及健康对照组,与有关研究结果基本一致^[3]。HIV 诱导 CD4⁺T 淋巴细胞数目减少及免疫功能下降的可能因素有^[4]:HIV 及其蛋白对 CD4⁺T 淋巴细胞的直接致细胞病变效应;HIV 对细胞膜通透性的作用,CD4⁺T 淋巴细胞脆性的增加;HIV 对 CD4⁺T 淋巴细胞功能所需的细胞因子生成的影响;对 CD4⁺记忆细胞的优先破坏;骨髓的破坏;淋巴组织的破坏;免疫复合物及病毒蛋白的免疫抑制作用;通过循环的包膜蛋白与正常 CD4⁺T 淋巴细胞的结合来破坏细胞等。除自然杀伤(NK)细胞外,通常与病毒感染细胞反应的是细胞毒性 CD8⁺淋巴细胞。经典的 CD8⁺淋巴细胞的细胞毒反应是人类白细胞抗原(HLA)限制的、抗原特异性的,并且需要细胞与细胞的接触,这对某些病毒感染的控制十分重要^[5-6]。有研究显示,CD8⁺淋巴细胞除了有抗 HIV 的细胞毒活性外,还能抑制 HIV 在 CD4⁺T 淋巴细胞中的复制,但并不能杀死细胞。在本研究中,HIV 阳性组 CD8⁺淋巴细胞计数却显著高于 HIV 阴性组,可能是因为在 HIV 阳性组中未按疾病的分期进行分组所致。HIV 阳性组淋巴细胞亚群的改变显示其免疫状态异常。

NK 细胞能以一种不依赖于主要组织相容性复合体(MHC)的方式识别和杀死被病毒感染的细胞,在健康个体中,大部分 NK 细胞为 CD3⁻CD56⁺淋巴细胞。NK 细胞通过产生 I 型细胞因子如干扰素(IFN)-γ 和肿瘤抑制因子(TNF)-α 对抗原特异的过继免疫反应具有重要的作用。NK 细胞也产生趋化因子,在感染反应过程中,参与单核细胞/巨噬细胞的募集,是逆转录病毒进入靶细胞的抑制因子。这些趋化因子同时

还可以抑制 HIV 的复制,而一旦出现病毒血症,可以明显降低 NK 细胞对 HIV 复制的抑制作用^[7]。有研究发现,在 HIV 感染者中存在与疾病发生相关的 NK 细胞渐进性缺失及 NK 细胞群的异常。在本研究中,笔者发现 HIV 阳性组 CD3⁻CD56⁺、CD3⁻CD16⁺CD56⁺及 CD3⁺CD56⁺、CD3⁺CD16⁺CD56⁺淋巴细胞绝对值均低于 HIV 阴性组及健康对照组。NK 细胞的缺失进一步促进了病毒诱导的免疫缺陷。HIV 诱导的 NK 细胞缺失部分是由穿孔素和颗粒酶的缺失介导的^[8]。进一步研究发现,NK 细胞缺陷是由于 HIV-1 Tat 蛋白通过封阻功能性苯基烷基胺类敏感性 L 型钙离子通道,从而抑制 NK 细胞的细胞毒功能。

感染 HIV 后,机体淋巴细胞免疫功能发生了很大的变化,因此,研究机体淋巴细胞免疫功能,有可能为治疗和预防 HIV 感染提供更好的方法。

参考文献

- [1] 朱莉莉,施苗盛.吸毒者 HCV、HBsAg、梅毒的感染状况及 ALT 水平的关系[J].国际检验医学杂志,2010,31(10):1085-1086.
- [2] 刘映霞,周洪,张路坤,等. HIV/HCV 共感染者细胞免疫功能及临床研究[J].中华实验和临床感染病杂志,2010,4(4):402-407.
- [3] 曾华书,张世英,张勇,等. HIV 感染者免疫状态及其与淋巴细胞周期变化关系探讨[J].中国热带医学,2009,9(7):1203-1204.
- [4] Levy JA. 艾滋病病毒与艾滋病的发病机制[M]. 邵一鸣,译. 2 版. 北京:科学出版社,2010:163.
- [5] Byrne JA, Oldstone MB. Biology of cloned cytotoxic T lymphocytes specific for lymphocytic choriomeningitis virus: clearance of virus in vivo[J]. J Virol, 1984, 51(3): 682-686.
- [6] Doherty PC, Knowles BB, Wettstein PJ. Immunological surveillance of tumors in the context of major histocompatibility complex restriction of T cell function[J]. Adv Cancer Res, 1984, 42: 1-65.
- [7] Kottlilil S, Chun TW, Moir S, et al. Innate immunity in human immunodeficiency virus infection; effect of viremia on natural killer cell function[J]. J Infect Dis, 2003, 187(7): 1038-1045.
- [8] Tarazona R, Casado JG, Delarosa O, et al. Selective depletion of CD56(dim) NK cell subsets and maintenance of CD56(bright) Nkcells in treatment-naive HIV-1seropositive individuals [J]. J Clin Immunol, 2002, 22(3): 796-183.