

HIV/AIDS 患者 KIR3DS1 基因与部分环境因素对其疾病进展的影响

朱 一¹, 张学宁¹, 吴建茹¹, 张 钰¹, 郭宏雄², 傅更锋², 徐金水², 还锡萍², 王 蓓^{1*}

(¹东南大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 教育部环境医学工程重点实验室, 江苏 南京 210009; ²江苏省疾病预防控制中心性病艾滋病防治所, 江苏 南京 210024)

[摘要] 目的:探讨 KIR3DS1 基因及部分环境因素与人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)-1 感染者疾病进展的关系。方法:收集 86 例通过自愿咨询检测确认为 HIV+ 患者的抗凝全血标本,采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法,检测其 KIR3DS1 基因,并进行问卷调查(调查内容包括人口学基本信息、临床表现、高危行为、是否接受抗病毒治疗等)收集部分环境因素信息。结果:Cox 回归分析显示,风险比(RR)值为 0.217(95%CI:0.098~0.480)。结论:抗病毒治疗可以延缓 HIV-1 感染者疾病进程,携带 KIR3DS1 基因可能延缓 HIV-1 感染者疾病进程。

[关键词] 人类免疫缺陷病毒; 杀伤细胞免疫球蛋白样受体; 环境因素

[中图分类号] Q786

[文献标识码] A

[文章编号] 1007-4368(2013)02-191-04

doi:10.7655/NYDXBNS20130210

Correlation of KIR3DS1 alleles, environmental factors with the progression of HIV-1 infection in HIV/AIDS patients

Zhu Yi¹, Zhang Xuening¹, Wu Jianru¹, Zhang Yu¹, Guo Hongxiong², Fu Gengfeng², Xu Jinshui², Huan Xiping², Wang Bei^{1*}

(¹Department of Epidemiology and Biostatistics, School of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009; ²Institute of Venereal Disease and AIDS Control, Jiangsu Center for Disease Control and Prevention, Nanjing 210024, China)

[Abstract] **Objective:** To evaluate the correlation of KIR3DS1 alleles, environmental factors with the progression of HIV-1 infection in Chinese population. **Methods:** In total, 86 cases of newly reported HIV/AIDS were recruited from people receiving voluntary counseling and testing (VCT). KIR3DS1 genes was assessed using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism (PCR-RFLP). Meanwhile, questionnaire survey was conducted to collect the environmental information. **Results:** Cox regression analysis showed that, compared with non-antivirus treatment group, the risk ratio (RR) of antivirus treatment was 0.217 (95% CI = 0.098~0.480). **Conclusion:** Antivirus treatment can delay the progression to AIDS, and KIR3DS1 gene may potentially be associated with slower progression to AIDS in Chinese population.

[Key words] HIV-1; killer cell Ig-like receptors; environmental factors

[Acta Univ Med Nanjing, 2013, 33(2): 191-194]

国内外大量的临床资料与长期的人群观察结果显示,从人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染发展到获得性免疫缺陷综合征(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)有数月至

数年长短不一的潜伏期,不同的个体在感染 HIV 后其病程的发展与预后存在很大的差异^[1-2]。影响 AIDS 进程的因素主要包括病毒生物学特性和宿主的遗传特征、免疫状态等^[3-4]。杀伤细胞免疫球蛋白样受体(killer cell Ig-like receptors, KIR)是自然杀伤细胞(natural killer cell, NK)表面一类重要的识别受体,分为抑制性(KIR-L)和活化性(KIR-S),转导抑制或者活化信号,调节 NK 的活性^[5],其基因复合

[基金项目] 国家自然科学基金资助(30872156)

*通信作者 (Corresponding author), E-mail: wangbeilxb@seu.edu.cn

体定位于人染色体 19q13.4, 跨度约为 150 kb, 具有高度的多态性^[6-7]。本文就目前研究较多但结论尚未统一的 KIR3DS1 基因对 HIV 感染疾病进程的影响进行研究, 同时综合部分环境因素的探讨, 以便为科学合理治疗干预 HIV 感染者和 AIDS 患者提供可靠依据。

1 对象和方法

1.1 对象

在江苏省疾病预防控制中心确认的 HIV 感染者及 AIDS 患者中, 选择自愿检测者共 86 例, 在知情同意的基础上, 进行个案调查, 并由江苏省疾病预防控制中心工作人员采集研究对象静脉全血 5~6 ml, 分离血浆及血细胞保存于 -80℃ 待用。

1.2 方法

1.2.1 问卷调查

采用国家统一的问卷进行调查, 内容包括人口学基本信息、临床表现、高危行为、是否接受抗病毒治疗等。在调查对象知情同意的基础上, 由调查对象自己填写调查表。文盲或年幼患者由调查员询问其父母代为填写。

1.2.2 序列特异引物 PCR 法检测 KIR 基因

取保存于 -80℃ 的血细胞 200 μ l, 使用德国 QIAGEN 公司的 QIAamp DNA Blood Mini Kit, 提取全基因组 DNA。

采用聚合酶链反应-限制性片段长度多态性方法(PCR-RFLP) 检测 KIR3DS1 基因。引物序列参阅文献^[8], 由上海生物工程公司合成(表 1); Premix Ex Taq DNA 聚合酶、buffer、dNTP mixture 的混合物, (大连 TaKaRa 公司)。在提取模板及 PCR 反应过程中设置阳性和阴性对照(阳性对照为本课题组已测序确认阳性的标本, 阴性对照为空白对照)。用框架基因 2DL4 特异性引物为内对照^[8]。

反应体系为: Premix Ex Taq 12.5 μ l, H₂O 8.5 μ l, 20 μ mol/L KIR3DS1 上、下游引物各 0.5 μ l, 2 μ mol/L KIR2DL4 上、下游引物各 0.5 μ l, 模板 2 μ l。PCR 扩增条件: 98℃ 2 min; 98℃ 10 s, 65℃ 20 s, 72℃ 60 s, 35 个循环; 72℃ 3 min。PCR 产物经 2% 琼脂糖凝胶电泳分析。

1.3 统计学方法

用 SPSS13.0 软件进行统计分析。KIR 基因出现频率通过直接计数测得, 单因素分析比较采用 χ^2 检验或 Fisher 精确概率检验, Log-rank 生存分析; 多因素分析采用 Cox 回归模型。

表 1 KIR3DS1 基因 PCR-SSP 引物序列

Table 1 PCR-SSP primers of KIR3DS1

基因	引物序列(5'→3')	扩增片段长度(bp)
KIR3DS1	CAGCGCTGTGGTGCCTCGC CTGTGACCATGATCACCAT	249
内参	GTATCGCCAGACCTGCATGCTG GCAGGCAGTGGGACCTTAGACA	1 082

2 结果

2.1 研究对象一般特征

86 例中, 男 62 例(72.1%), 女 24 例(27.9%)。年龄为 17~75(42.3 \pm 11.3) 岁。观察时间平均为 5.7 年, 最短 47 个月, 其中 61 例(70.9%) 最终转化为 AIDS。对不同特征人群 AIDS 转化率进行比较, 结果详见表 2。

表 2 AIDS 转化的单因素分析

Table 2 Univariate analysis of disease progression

人口学特征	人数	转化为 AIDS		χ^2 值	P 值
		人数	百分比(%)		
性别					
男	62	42	67.7	0.428	0.219
女	24	19	79.2		
文化程度					
小学及以下	19	16	84.2	2.301	0.535
初中	43	29	67.4		
高中或中专	13	9	69.2		
大专及以上	11	7	63.6		
婚姻情况					
未婚	30	23	76.7	0.851	0.654
已婚有配偶	42	28	66.7		
离异或丧偶	14	10	71.4		
感染途径					
性传播	48	33	68.8	1.113	0.816
血液传播	11	8	72.7		
注射毒品	19	13	68.4		
其他及不详	8	7	87.5		
感染时年龄(岁)					
~19	4	2	50.0	4.868	0.280
20~29	23	16	69.6		
30~39	28	17	60.7		
40~49	20	17	85.0		
50~	11	9	81.8		
性病史					
无	46	31	67.4	0.979	0.656
有	6	4	66.7		
不详	34	26	76.5		
接受抗病毒治疗					
否	63	54	85.7	24.970	< 0.001
是	23	7	30.4		

2.2 KIR3DS1 基因与 HIV 疾病进展

2.2.1 KIR3DS1 基因的生存分析

以首次筛查时间结合首次随访资料推断病例感染 HIV 时间。以病例感染 HIV 时间为起始事件, 转化成 AIDS 为终点事件, 进行生存分析。携带 KIR3DS1 基因者与未携带者相比, AIDS 转化率低, 平

均转化时间较长, 但差异无统计学意义(表 3, 图 1)。

2.2.2 多因素 Cox 回归分析

以病例感染 HIV 时间为起始事件, 转成 AIDS 为终点事件, Cox 生存分析法分析 KIR3DS1 基因、性别、婚姻状况、是否参与抗病毒治疗、有无性病史、HIV 感染途径及感染时年龄等相关因素对 HIV 感

表 3 KIR3DS1 基因与 HIV 进展的关联研究

Table 3 Analysis on the association between KIR3DS1 and HIV progression

携带 KIR3DS1 基因型	病例		转化为 AIDS			Log-rank 检验	
	n	%	n	%	平均转化时间(月)	χ^2 值	P 值
是	22	25.6	14	63.6	54.5 ± 9.0	0.432	0.511
否	64	74.4	47	73.4	46.3 ± 4.7		

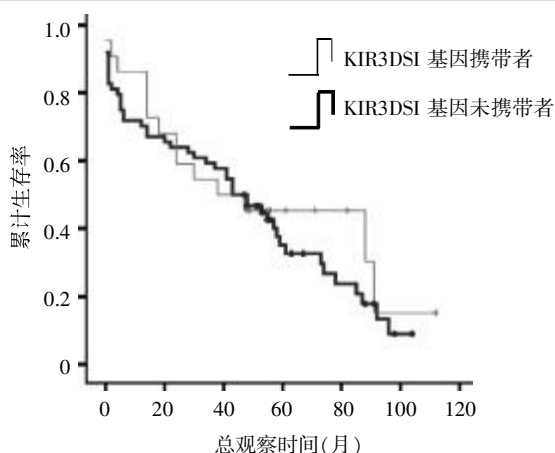


图 1 HIV 感染进展为 AIDS 的生存曲线

Figure 1 Kaplan-Meier survival curves of the AIDS progression

染后进展的作用, 同时使用进入法及后退法, 纳入标准与剔除标准分别为 $\alpha=0.10$ 和 $\alpha=0.15$ 。进入法分析结果详见表 4。后退法分析发现, 仅抗病毒治疗一个因素进入方程, 风险比(RR)值为 0.217(95%CI = 0.098~0.480)。两种方法结果均显示, 抗病毒治疗是 HIV 进展为 AIDS 的保护性因素。

3 讨论

在 HIV 感染和病程中固有免疫系统可能占有非常重要的地位^[7], 而 NK 在固有免疫系统中起到重要免疫调节作用, 其变化和 HIV 疾病的进展密切相关^[8]。KIR 是 NK 表面的重要受体, 可能通过转导抑制/活化信号调节 NK 介导的抗感染免疫。

表 4 HIV 感染进展到 AIDS 的进入法 Cox 回归分析

Table 4 Cox regression analysis on the risk factors of the AIDS progression

变量	β	S.E	χ^2	P	RR	95%CI
KIR3DS1 基因	-0.465	0.321	2.097	0.078	0.551	0.335~1.179
感染年龄	0.145	0.148	0.966	0.326	1.156	0.866~1.545
性别						
女					1.000	
男	-0.280	0.310	0.815	0.367	0.756	0.412~1.387
婚姻状况						
未婚					1.000	
已婚有配偶	-0.545	0.315	3.003	0.083	0.580	0.313~1.074
离异或丧偶	-0.246	0.425	0.335	0.563	0.782	0.340~1.799
性病史						
无					1.000	
有	0.206	0.573	0.129	0.719	1.229	0.399~3.782
不详	-0.063	0.321	0.039	0.844	0.939	0.501~1.760
感染途径						
性传播					1.000	
血液传播	0.158	0.418	0.143	0.705	1.172	0.516~2.659
共用针具吸毒	0.581	0.373	2.426	0.119	1.788	0.861~3.714
其他及不详	0.215	0.488	0.195	0.659	1.240	0.477~3.227
治疗与否	-1.549	0.440	12.396	< 0.001	0.217	0.098~0.480

Tomescu 等^[9]在对美国人的研究中发现 HIV 暴露未感染者的 KIR3DS1 纯合子基因频率增加。Barbour 等^[10]对高加索人的研究发现 KIR3DS1 与 HIV 感染早期高水平的 CD4⁺T 细胞数量相关,对病毒载量则无影响,可能影响疾病进程。Pelak 等^[11]在欧洲人群中发现 KIR3DS1 基因与高 NK 数量有关,并能抑制 HIV-1 的复制。因此,KIR3DS1 基因可能影响 HIV 易感性和 HIV 感染后疾病进程。

本文综合分析了 KIR3DS1 和部分环境因素对于 HIV 进展的作用。Cox 逐步回归分析显示,将是否参与抗病毒治疗、有无性病史、HIV 感染途径及感染时年龄等环境危险因素以及 KIR3DS1 基因纳入研究后,仅抗病毒治疗与感染 HIV 后疾病进展的关联有意义,KIR3DS1 基因与感染 HIV 后疾病进展的关联无显著性。分析原因,可能是 KIR 基因具有种族差异性;其次,KIR 基因常与 HLA 基因相互作用,而本次研究缺乏对 HLA 基因的研究和探讨;研究样本量较少,不足以发现关联性的存在。

本研究在国内首次运用生存分析方法分析携带 KIR3DS1 基因的 HIV 感染者疾病进展情况。但本次研究样本量较少,相关临床资料尚待进一步完善,如 CD4⁺T 细胞及其他淋巴细胞计数等。经过进一步深入的大样本病例对照和前瞻性队列研究,KIR3DS1 基因与感染 HIV 后疾病进展的关系可以得到进一步呈现。分析中国 HIV 感染者特有的 KIR 分子作用的机制,有利于进一步寻找增强宿主抗病毒免疫反应的方法,为中国艾滋病的防治提供有效的依据。

[参考文献]

- [1] Jaffar S, Grant AD, Whitworth J, et al. The natural history of HIV-1 and HIV-2 infections in adults in Africa: a literature review[J]. Bull WHO, 2004, 82(8): 5711
- [2] 张福杰, 豆智慧, 于 兰, 等. 中国既往不安全有偿供血感染 HIV 者自然史双向性队列研究[J]. 中华流行病学杂志, 2008, 29(1): 9-12
- [3] Pantaleo G, Fauci AS. Immunopathogenesis of HIV infection[J]. Ann Rev Microbiol, 1996, 50: 825-854
- [4] Kaur G, Mehra N. Genetic determinants of HIV-1 infection and progression to AIDS: susceptibility to HIV infection[J]. Tissue Antigens, 2009, 73: 289-301
- [5] Moreua L, Moretta A. Killer immunoglobulin-like receptor[J]. Curr Opin Immunol, 2004, 16(5): 626-633
- [6] Naumova E, Mihaylova A, Ivanova M, et al. Impact of KIR/HLA ligand combinations on immune responses in malignant melanoma [J]. Cancer Immunol Immunother, 2007, 56(1): 95-100
- [7] Farag SS, Caligiuri MA. Human natural killer cell development and biology [J]. Blood Rev, 2006, 20(3): 123-137
- [8] 张 磊, Hsu KC, Liu XR, 等. 人类 KIR 基因 PCR-SSP 分型及家系研究 [J]. 上海免疫学杂志, 2003, 23(2): 99-103
- [7] Levy JA. The importance of the innate immune system in controlling HIV infection and disease [J]. Trends Immunol, 2001, 22(6): 312-316
- [8] 姜拥军, 尚 红, 张子宁, 等. 中国 HIV/AIDS 患者 NK 细胞及 NKT 细胞变化的检测 [J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2005, 25(1): 51-55
- [9] Tomescu C, Abdulhaqq S, Montaner LJ. Evidence for the innate immune response as a correlate of protection in human immunodeficiency virus (HIV)-1 highly exposed seronegative subjects (HESN) [J]. Clin Exp Immunol, 2011, 164(2): 158-169
- [10] Barbour JD, Sriram U, Caillier SJ, et al. Synergy or independence? Deciphering the interaction of HLA class I and NK cell KIR alleles in early HIV-1 disease progression [J]. PLoS Pathog, 2007, 3(4): e43
- [11] Pelak K, Need AC, Fellay J, et al. Copy number variation of KIR genes influences HIV-1 control [J]. PLoS Biol, 2011, 9(11): e1001208

[收稿日期] 2012-05-13