

β₂-微球蛋白作为 HIV 感染者疾病进展及疗效评估的新指标

张 臣¹, 李 静², 姚文海², 高 维³, 曲青蓉³, 薛秀雷³, 严雪娇³, 卢慧霞¹, 吴国球^{1*}

(¹东南大学附属中大医院检验科, 江苏 南京 210009; ²新疆维吾尔自治区传染病医院检验科, 新疆 乌鲁木齐 830013; ³东南大学医学院, 江苏 南京 210009)

[摘要] 目的: 评价 β₂-微球蛋白(B2M)作为预测人类免疫缺陷病毒(HIV)感染者病情进展及抗逆转录病毒治疗(HAART)效果评估标志物的价值。方法: 3 145 例标本分为 4 组, 分别按试剂盒操作说明检测 CD4⁺、CD8⁺细胞数、HIV 病毒载量及 B2M 水平。结果: 初次诊断 HIV 感染未接受 HAART 治疗组(I 组)与接受规则 HAART 治疗无症状组(II 组)B2M 水平差异不显著($P > 0.05$); 与对照组及接受不规则 HAART 治疗组(III 组)比较, 差异显著($P < 0.001$)。3 组间 CD4⁺、CD8⁺计数、CD4⁺/CD8⁺比值、病毒载量差异显著($P < 0.001$); B2M 水平与 CD4⁺、CD8⁺计数、CD4⁺/CD8⁺比值呈负相关, 与病毒载量呈正相关。结论: B2M 是一个良好的预测 HIV 感染者病情进展及抗逆转录病毒治疗监测的标志物。

[关键词] HIV; β-2 微球蛋白; 抗逆转录病毒治疗; 免疫标志物

[中图分类号] R512.91

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-4368(2014)10-1371-03

doi: 10.7655/NYDXBNS20141019

获得性免疫缺陷综合征(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency viral, HIV)感染所引起的一种严重的传染性疾病, 是 HIV 感染的终末阶段。通常经输血、母-婴、非法静脉吸毒、性接触等途径感染^[1-5]。近年来, 由于高活性抗逆转录病毒治疗(highly active antiretroviral therapy, HAART)的应用, 使 HIV 感染率及 AIDS 患者的病死率显著降低。β-2 微球蛋白(beta-2 microglobulin, B2M)是一种存在于有核细胞膜上的低分子量(11 000)蛋白质, 它由肾小球分泌, 可被肾小管细胞吸收和分解。当肾小管功能异常时, 血清及尿中 B2M 水平升高, 因此是诊断肾小管损伤及重吸收功能的良好指标。近年研究显示, 在 HIV 感染者血清中 B2M 水平随着 HIV 感染的进展而增加, 且在 AIDS 综合征患者高水平表达; 因而 B2M 有可能成为预测 HIV 进程及评估抗病毒治疗效果的一个生物标志物^[6]。

1 对象和方法

1.1 对象

3 145 例血清/全血标本来自新疆维吾尔自治

区传染病医院 2012 年 1~12 月门诊、关爱中心及住院患者, 其中, 非 HIV 感染患者 147 例(对照组), HIV 感染患者 2 998 例[初次诊断 HIV 感染未接受 HAART 治疗者 110 例(I 组), 接受规则 HAART 治疗无症状者 819 例(II 组), 接受不规则 HAART 治疗有症状者 1 069 例(III 组)]。HAART 药物治疗采用中国政府统一提供的一线口服药物[2 种核苷类逆转录酶抑制剂: 齐多夫定(AZT)+ 双脱氧肌苷(DDI)或司坦夫定(D4T)+ 拉米夫定(3TC)和 1 种非核苷类逆转录酶抑制剂: 奈韦拉平(NVP) 或依伐夫定(EFV)]。

1.2 方法

B2M 水平用免疫比浊法测定, 检测试剂盒购自北京利德曼生化股份有限公司; CD4⁺/CD8⁺计数采用流式细胞术测定, 试剂盒购自深圳凯杰生物技术有限公司; HIV 病毒载量用 NASBA-PCR 方法测定, 试剂盒购自深圳凯杰生物技术有限公司。所有操作均严格按照试剂盒说明及仪器标准操作规程进行。

1.3 统计学方法

采用 SPSS17.0 统计软件, 组间比较采用方差分析, 以 SNK 法进行两两比较, 相关性分析采用 Pearson 相关分析法进行。P ≤ 0.05 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 一般资料

2 998 例 HIV 感染者中, 年龄 1 d~83 岁, 平均

[基金项目] 国家自然科学基金(81271636; 30970809); 江苏省自然科学基金(BK2009274); 江苏省医学科技专项(BL2012063)

*通信作者(Corresponding author), E-mail: nationball@163.com

38.3 岁;男 1 898 例(63.3%),女 1 100 例(36.7%);维吾尔族 2 114 例(70.5%),汉族 771 例(25.7%),哈萨克族 63 例(2.1%),回族 36 例(1.2%),蒙古族 15 例(0.5%)。

2.2 B2M 蛋白水平

初次诊断 HIV 感染未接受 HAART 治疗组 (I 组)与接受规则 HAART 治疗无症状组 (II 组)B2M 水平差异不显著 ($P > 0.05$);与对照组及接受不规则 HAART 治疗组(III 组)比较,差异有统计学意义($P < 0.001$,表 1)。

2.3 CD4⁺、CD8⁺计数和 CD4⁺/CD8⁺比值

I 组、II 组、III 组的 CD4⁺、CD8⁺计数和 CD4⁺/CD8⁺比值分别为: I 组(331.00±184.07)个/μl、(1 024.00 ± 520.21)个/μl、0.32 ± 0.16; II 组(321.00 ± 178.67)个/μl、(758.10 ± 428.40)个/μl、0.42 ± 0.22; III 组

(259.00 ± 209.00)个/μl、(771.3 ± 435.70)个/μl、0.34 ± 0.15;3 组与对照组比较或 3 组之间比较,差异均有统计学意义($P < 0.001$,表 1)。

2.4 HIV 病毒 RNA

I 组、II 组、III 组的 HIV 载量分别为:(9.16 ± 4.03)×10⁵、(5.23 ± 0.14)×10⁵、(1.86 ± 0.37)×10⁷ 拷贝数/ml,3 组之间比较,差异有统计学意义 ($P < 0.001$,表 1)。

2.5 相关性分析

B2M 与 CD4⁺、CD8⁺、CD4⁺/CD8⁺、HIV RNA 相关性分析如表 2,结果显示,B2M 与 CD4⁺、CD8⁺及 CD4⁺/CD8⁺呈明显负相关,相关系数 (r) 分别为-0.452 ($P < 0.01$)、-0.151 ($P < 0.05$)及 -0.276 ($P < 0.05$);B2M 与 HIV RNA 呈正相关 ($r = 0.582$, $P < 0.001$)。

表 1 各组相关指标检测数据

Table 1 Testing data of related indicators in each group

组别	例数	B2M(mg/L)	CD4 ⁺ (个/μl)	CD8 ⁺ (个/μl)	CD4 ⁺ /CD8 ⁺	HIV 载量(拷贝数/ml)
对照组	147	1.76 ± 0.67	1 158.50 ± 121.75	901.20 ± 65.42	1.29 ± 0.12	0
I 组	110	2.20 ± 1.31*	331.00 ± 184.07*	1 024.00 ± 520.21*	0.32 ± 0.16*	(9.16 ± 4.03)×10 ⁵ *
II 组	819	2.23 ± 1.15	321.00 ± 178.67**	758.10 ± 428.40**	0.42 ± 0.22**	(5.23 ± 0.14)×10 ⁵ **
III 组	1 069	3.65 ± 2.21*#Δ	259.00 ± 209.00*#Δ	771.3 ± 435.70*#Δ	0.34 ± 0.15*#Δ	(1.86 ± 0.37)×10 ⁷ *#Δ

与对照组比较,* $P < 0.001$;与 I 组比较,# $P < 0.001$;与 II 组比较,Δ $P < 0.001$ 。

3 讨论

大量临床和实验研究表明,HIV 的感染是诱发 AIDS 免疫系统损害的主要原因^[7]。HIV 感染者如不接受抗逆转录病毒治疗,90%的患者在感染 10~15 年后发展为 AIDS,接受抗逆转录病毒治疗的 AIDS 患者平均生存期>5 年,未经抗逆转录病毒治疗者,可在 1~2 年内死亡,这些个体大部分死于获得性感染或者免疫系统缺陷引起的恶性肿瘤^[8]。

许多标志物已经用于预测研究 HIV 感染个体疾病的进展,如 CD4、CD8 计数、病毒载量等,在预测 HIV 感染个体的病理进程、AIDS 诊断、治疗效果评估等方面发挥了重要作用^[9]。然而,这些标志物的检测存在操作复杂、耗时、所需试剂及仪器昂贵等不足,在经济欠发达地区,尤其是边远地区,缺乏通用性及可操作性,因此需要有一个相对操作简单、通用、经济的标志物作做补充。近年研究发现,当细胞大量坏死破碎后,血清 B2M 水平可显著升高,如急性白血病等恶性肿瘤;而 B2M 作为一个免疫学分子标志物用于预测 HIV 感染患者的进展近年受到强烈关注。

B2M 是一个存在于血浆中的人白细胞抗原 I 类分子的小分子亚基,通常由激活的淋巴细胞合成、分泌,参与识别细胞外来抗原^[6];研究显示,有核细胞膜的翻转是血液微球蛋白的主要来源;在 HIV 感染者中,淋巴细胞的破坏及增殖紊乱是导致微球蛋白增高的主要原因^[6]。本研究发现,初次诊断 HIV 感染未接受 HAART 治疗组(I 组)B2M 水平比对照组升高($P < 0.001$);而虽然经 HAART 治疗,但服药不规律,并有症状出现的患者 B2M 水平显著增加(3.65 ± 2.21)mg/L,与 HIV 初诊组比较差异显著($P < 0.001$);接受规则 HAART 治疗无症状患者 B2M 水平虽然比非 HIV 感染者高,但已降至初诊者水平。这些结果显示,B2M 水平与 HIV 感染、疾病的进展及 HAART 疗效密切相关。

CD4⁺、CD8⁺细胞计数及 CD4⁺/CD8⁺比值在 AIDS 的诊断和疾病控制的监测中发挥了重要作用,从表 1 数据观察显示,CD4⁺、CD8⁺细胞数及 CD4⁺/CD8⁺比值随着病情的进展而下降;进行规范 HAART 治疗后,细胞数及 CD4⁺/CD8⁺比值上升,II 组与 I 组及 III 组比较,差异显著($P < 0.001$);同时,HIV 感染初诊组(I 组)CD8⁺细胞水平比控制组高($P < 0.001$),具体

原因有待进一步研究,可能与 HIV 主要感染并破坏 CD4⁺细胞,使 CD8⁺细胞代偿性增殖有关^[10]。然而,也有研究显示,HAART 治疗的目标是降低病毒载量并使 CD4⁺计数上升,但从 HAART 治疗的二期临床试验获得的数据表明,患者的 CD4⁺计数增加不能使 AIDS 患者健康状况有所改善,它并不是一个完全与 AIDS 死亡相关的标志物,可能与 CD4⁺细胞的增加使 HIV 载量升高有关^[11]。

HIV 的复制和病毒载量的增加是引起 HIV 感染者病情进展并引起死亡的主要原因之一,本研究结果显示,接受不规则 HAART 治疗有症状组(Ⅲ组)的病毒载量显著高于 HIV 感染初诊者(Ⅰ组)($P < 0.001$),而接受规范的 HAART 治疗,病毒载量可明显降低($P < 0.001$),表明规范的抗逆转录病毒治疗对控制 HIV 感染者病毒载量及病情进展具有重要意义。

相关性分析显示,β2M 与 CD4⁺、CD8⁺计数及 CD4⁺/CD8⁺比值之间呈负相关,与病毒 RNA 呈正相关,并且有统计学意义(表 2);这表明当 β2M 降低时,CD4⁺、CD8⁺计数及 CD4⁺/CD8⁺比值增加;β2M 升高时,病毒载量也随之上升,两者与 HIV 感染与病情进展一致。

综上所述,HIV 的感染使 CD4⁺ T 淋巴细胞减少,机体的细胞免疫降低;同时,非特异性免疫的激活和细胞的破坏增加,导致血清 β2M 水平增加,可能是与 AIDS 进展有关的两种机制^[12]。血清中 β2M 表达稳定并且标本可保存较长的时间,易于检测;同时,具有成本低廉,操作简便等优点,是一个良好的评估 HIV 感染者病情进展及 HAART 疗效的标志物,作为 CD4⁺、CD8⁺计数和病毒 RNA 检测的补充,尤其适用于基层、边远地区。

[参考文献]

[1] Zhang Y, Lu L, Ba L, et al. Dominance of HIV-1 subtype CRF01_AE in sexually acquired cases leads to a new epidemic in Yunnan province of China[J]. PLoS Med, 2006, 3(11):e443

[2] Zhang L, Chen Z, Cao Y, et al. Molecular characterization of human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus in paid blood donors and injection drug users in

China[J]. J Virol, 2004, 78(24):13591-13599

[3] Zhuang K, Gui X, Su B, et al. High prevalence of HIV infection among women and their children in Henan province, China[J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2003, 33(5):649-650

[4] Su B, Liu L, Wang F, et al. HIV-1 subtype B' dictates the AIDS epidemic among paid blood donors in the Henan and Hubei provinces of China [J]. AIDS, 2003, 17(17): 2515-2520

[5] Zhao R, Gao H, Shi X, et al. Sexually transmitted disease/HIV and heterosexual risk among miners in townships of Yunnan province, China[J]. AIDS Patient Care STDS, 2005, 19(12):848-852

[6] Phillips AN, Sabin CA, Elford J, et al. Serum beta 2 microglobulin at HIV-1 seroconversion as a predictor of severe immunodeficiency during 10 year of followup[J]. J Acq Imm Def Synd Hum Retro, 1996, 13(3):262-266

[7] Pascale JM, Isaacs MD, Contreras P, et al. Immunological markers of disease progression in patients infected with the human immunodeficiency virus[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1997, 4(4):474-477

[8] Buchbinder SP, Katz MH, Hessol NA, O et al. Long-term HIV-1 without immunologic progression [J]. AIDS, 1994, 8(8):1123-1128

[9] Fahey JL, Aziz N, Nishania P. Cytokines, Plasma immune activation markers and clinically relevant surrogate markers in human immunodeficiency virus infection[J]. Clin Diagn Lab Immunol, 1998, 5(5):597-603

[10] Rodriguez B, Sethi AK, Cheruvu UK, et al. Predictive value of plasma HIV RNA level on rate of CD4 T-cell decline in untreated HIV infection[J]. JAMA, 2006, 296(12):1498-1506

[11] Choi S, Lagakos SW, Schooley RT, et al. CD4⁺ Lymphocytes are an incomplete surrogate marker for clinical progression in persons with asymptomatic HIV infection taking zidovudine [J]. Ann Intern Med, 1993, 118(9):674-680

[12] Wanchu A, Arora S, Bhatnagar A, et al. Decline in beta-2 microglobulin levels after antitubercular therapy in tubercular patients with HIV infection[J]. Indian J Chest Dis Allied Sci, 2001, 43(4):211-215

[收稿日期] 2014-02-27