

DOI: 10.3969/j.issn.1671-9638.2017.09.012

· 论 著 ·

RANTES、MCP-1 和 SDF-1 β 在正常人体和 AIDS 患者体内含量的对比研究

邝建玉, 瞿志军, 赵蔚, 庄桂龙, 詹雨林

(深圳市龙岗中心医院, 广东 深圳 538117)

[摘要] **目的** 探讨血清趋化因子(RANTES)、单核细胞趋化蛋白 1(MCP-1)、基质细胞衍生因子-1 β (SDF-1 β) 在获得性免疫缺陷综合征(AIDS)和正常人体内的差异。**方法** 选择 2010 年 1 月—2015 年 1 月某院收集的 38 例 AIDS 患者作为 AIDS 组, 38 例健康者作为健康组, 检测两组血清 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平, 并根据病毒载量进行亚组分析。**结果** AIDS 组患者血清中 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平分别为(1 392.55 \pm 227.69)、(450.91 \pm 103.04)、(104.82 \pm 22.52)pg/mL, 均高于健康组[分别为(120.58 \pm 55.87)、(74.25 \pm 33.62)、(39.04 \pm 11.43)pg/mL], 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。HIV 病毒载量 $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ 、 $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$ 的 AIDS 患者血清中 RANTES 水平分别为(1 470.34 \pm 155.01)、(1 408.29 \pm 181.54)pg/mL, 均高于 $\text{Log}(\text{VL}) < 4$ 组患者[(1 183.12 \pm 174.54)pg/mL]; HIV 病毒载量 $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ 的 AIDS 患者血清中 MCP-1、SDF-1 β 水平分别为(537.93 \pm 89.32)、(149.31 \pm 18.05)pg/mL, 高于 $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$ 组[分别为(410.26 \pm 80.57)、(81.53 \pm 20.31)pg/mL]和 $\text{Log}(\text{VL}) < 4$ 组患者[分别为(381.71 \pm 77.26)、(72.90 \pm 21.62)pg/mL], 差异均有统计学意义(均 $P < 0.05$)。**结论** AIDS 患者血清 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平显著升高, 且与病毒载量水平有一定的关系。

[关键词] 获得性免疫缺陷综合征; 人类免疫缺陷病毒; 血清趋化因子; 单核细胞趋化蛋白 1; 基质细胞衍生因子-1 β

[中图分类号] R512.91 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9638(2017)09-0841-04

RANTES, MCP-1, and SDF-1 β levels in healthy people and AIDS patients: a comparative analysis

KUANG Jian-yu, QU Zhi-jun, ZHAO Wei, ZHUANG Gui-long, ZHAN Yu-lin (Longgang Central Hospital of Shenzhen, Shenzhen 538117, China)

[Abstract] **Objective** To evaluate the differences of serum RANTES(regulated on activation, normal T cell expressed and secreted), MCP-1(monocyte chemoattractant protein), and SDF-1 β (stromal cell-derived factor-1 β) in patients with acquired immunodeficiency syndrome(AIDS) and healthy people. **Methods** 38 AIDS patients who were admitted to a hospital between January 2010 and January 2015 were as AIDS groups, 38 healthy persons were as a healthy group, serum levels of RANTES, MCP-1, and SDF-1 β in two groups were detected, and the subgroup analysis was carried out according to the viral load. **Results** Serum levels of RANTES, MCP-1, and SDF-1 β in AIDS group were (1 392.55 \pm 227.69)pg/mL, (450.91 \pm 103.04)pg/mL, and (104.82 \pm 22.52)pg/mL respectively, all were significantly higher than those in healthy group [(120.58 \pm 55.87)pg/mL, [74.25 \pm 33.62]pg/mL, and [39.04 \pm 11.43]pg/mL respectively) (all $P < 0.05$). Among AIDS patients with HIV viral load $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ and $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$, serum RANTES were (1 470.34 \pm 155.01)pg/mL and (1 408.29 \pm 181.54)pg/mL respectively, which were both significantly higher than patients with HIV viral load $\text{Log}(\text{VL}) < 4$ [(1 183.12 \pm 174.54)pg/mL]; serum MCP-1 and SDF-1 β levels in AIDS patients with HIV viral load $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ were (537.93 \pm 89.32) and (149.31 \pm 18.05)pg/mL respectively, which were significantly higher than patients with HIV viral load $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$

[收稿日期] 2016-11-25

[作者简介] 邝建玉(1983-), 女(汉族), 湖南省郴州市人, 主治医师, 主要从事病毒性肝炎研究。

[通信作者] 邝建玉 E-mail: kuangjianyu66@sina.com

5([410.26 ± 80.57] pg/mL, [81.53 ± 20.31] pg/mL respectively) and HIV viral load Log(VL) < 4([381.71 ± 77.26] pg/mL, [72.90 ± 21.62] pg/mL respectively), differences were both statistically significant (both $P < 0.05$). **Conclusion** Serum levels of RANTES, MCP-1, and SDF-1 β are significantly increased in AIDS patients, which are related to the level of viral load.

[Key words] acquired immunodeficiency syndrome; human immunodeficiency virus; RANTES; MCP-1; SDF-1 β
[Chin J Infect Control, 2017, 16(9): 841 - 844]

获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)是临床上较常见的性传播疾病。近年来,不洁性生活、多个性伴侣、同性恋等高危因素均促进了 AIDS 的发生发展。研究^[1-2]表明,我国现阶段每年 AIDS 死亡人数可达 15 万人,且近三年具有上升趋势。CD4 + T 淋巴细胞免疫功能的抑制及衰竭,是导致全身继发性多器官功能损伤和感染性疾病的中心环节,进而导致 AIDS 患者机体抵抗力下降。除免疫系统的破坏之外,th1/th2 淋巴细胞、趋化因子以及炎症因子等均参与到 AIDS 的发生发展过程中,特别是相关趋化因子可以通过反馈性辅助拮抗人类免疫缺陷病毒(HIV)保护性受体,促进 HIV 与 CD4 + T 淋巴细胞膜表面 gp120 蛋白的结合,进而促进 HIV 的感染和致病过程^[3-4]。T 淋巴细胞激活因子(regulated on activation normal T cell expressed and secreted, RANTES)、单核细胞趋化蛋白 1(monocyte chemoattractant protein-1, MCP-1)以及基质细胞衍生因子-1 β (stromal cell-derived factor-1 β , SDF-1 β)具有通过招募炎症因子,诱导 HIV 病毒颗粒入侵等作用^[5-6],本次研究初步探讨 RANTES、MCP-1 和 SDF-1 β 在 AIDS 患者体内的异常表达,并分析其与不同 HIV 载量的关系,为进一步揭示 AIDS 的发病机制提供参考。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选择 2010 年 1 月—2015 年 1 月本院收集的 38 例 AIDS 患者作为 AIDS 组,另选 38 例健康者作为健康组。AIDS 组 38 例患者,男性 25 例,女性 13 例,年龄 18~53 岁,平均年龄(33.3 ± 9.7)岁,病毒载量情况 Log(VL) < 4 的患者 12 例,4 ≤ Log(VL) < 5 的患者 18 例,Log(VL) ≥ 5 的患者 8 例。传播途径:性传播 16 例,血液传播 22 例。健康组 38 例患者,男性 22 例,女性 16 例,年龄 18~57 岁,平均年龄(35.1 ± 10.0)岁。两组患者的年龄、性别比较,差异无统计学意义(均 $P >$

0.05)。所有 AIDS 患者的诊断及分期均符合世界卫生组织(WHO)的诊断及分期标准^[7],处于 AIDS 期;健康者来源于本院体检结果为健康的自愿者;排除合并其他类型病毒感染的患者、合并免疫功能低下的患者。

1.2 仪器与试剂 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 抗体购自罗氏检测公司, KIT 逆转录试剂盒购自南京凯基生物公司, RT-PCR 荧光定量 PCR 试剂盒购自南京碧云天生物公司, HIV-RNA 引物由上海精密生物技术有限公司设计, TEGON 酶标仪购自中科院研究所, ABI7500 PCR 仪器购自美国 applies biology 公司。

1.3 HIV-RNA 病毒定量检测 采集患者静脉血 2 mL,按照 10 000 r/min 离心分离血清,每 1 mL 的 TRIZOL 试剂裂解的样品中加入 0.2 mL 的氯仿,加 2 mL 氯仿,剧烈摇动 30 s,室温 3 min,12 000 r/min,4℃ 离心 15 min 获得 RNA。加等体积异丙醇, -20℃, 30 min,弃上清,加 75% 乙醇 1 mL 振荡,20 μ L DEPC 水,室温放置 5 min 使其完全溶解。加入逆转录酶 5 μ L,室温下放置 20 min 后置入 37℃ 水浴锅中孵育 30 min,在底物中加入上游引物 0.5 μ L,下游引物 0.5 μ L,RT-PCR 反应混合液 5 μ L, dNTP 稀释至 20 μ L,反应条件:95℃ 3 min、95℃ 15 s、90℃ 5 s,共 40 个循环,产物扩增长度为 134 bp。

1.4 酶联免疫吸附法(ELISA)检测方法 采用低温高速离心机进行离心,1 000 r/min(离心半径为 15 cm),获得血清后抽取 50 μ L 样品加入 96 孔板内,采用去离子水作为阴性对照,采用磷酸盐缓冲液作为阳性对照,平衡摇晃 20 s 混匀,室温下孵育 2 h。采用 TBSP 缓冲液清洗 3 次,每次 5 min,加入 100 μ L 底物,平衡摇晃 30~45 s,25℃ 室温下孵育 40 min,加入 250 μ L 终止物,直到 96 孔板中每孔的颜色变黄,最后以空白对照为基准,采用分光光度计进行读数。

1.5 统计学方法 应用 SPSS 13.0 统计软件分析处理数据,计量资料采用均数和标准差($\bar{x} \pm s$)表示,

两组间比较采用 *t* 检验, 三组间比较采用单因素方差分析, 组间两两比较采用 LSD-*t* 检验, $P \leq 0.05$ 表示差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 AIDS 组和健康组患者 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平比较 AIDS 组患者血清中 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平均高于健康组, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 1。

2.2 不同 HIV-RNA 病毒载量 AIDS 组患者 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平比较 HIV 病毒载量 $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ 、 $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$ 的 AIDS 患者血清中 RANTES 水平均高于 $\text{Log}(\text{VL}) < 4$; HIV 病

毒载量 $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ 的 AIDS 患者血清中 MCP-1、SDF-1 β 水平均高于 $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$ 、 $\text{Log}(\text{VL}) < 4$ 组患者, 差异均具有统计学意义(均 $P < 0.05$)。见表 2。

表 1 AIDS 组和健康组患者血清中的 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Table 1 Comparison of serum levels of RANTES, MCP-1, and SDF-1 β in AIDS group and healthy group ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	RANTES	MCP-1	SDF-1 β
AIDS 组	38	1 392.55 \pm 227.69	450.91 \pm 103.04	104.82 \pm 22.52
健康组	38	120.58 \pm 55.87	74.25 \pm 33.62	39.04 \pm 11.43
<i>t</i>		32.851	22.338	9.045
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

表 2 不同 HIV-RNA 病毒载量 AIDS 患者血清中的 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 水平比较($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

Table 2 Comparison of serum levels of RANTES, MCP-1, and SDF-1 β in AIDS patients with different HIV-RNA viral load ($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	RANTES	MCP-1	SDF-1 β
$\text{Log}(\text{VL}) < 4$	12	1 183.12 \pm 174.54	381.71 \pm 77.26	72.90 \pm 21.62
$4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$	18	1 470.34 \pm 155.01*#	537.93 \pm 89.32*#	149.31 \pm 18.05*#
$\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$	8	1 408.29 \pm 181.54#	410.26 \pm 80.57	81.53 \pm 20.31
<i>F</i>		14.098	17.332	21.649
<i>P</i>		<0.001	<0.001	<0.001

* : 与 $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$ 组比较, $P < 0.05$; # : 与 $\text{Log}(\text{VL}) < 4$ 组比较, $P < 0.05$

3 讨论

AIDS 作为获得性免疫缺陷性疾病, 主要发病人群为 18~25 岁性生活较活跃的青年, AIDS 的发病率可达 0.06% 以上。临床上 AIDS 可表现为神经系统、皮肤黏膜、消化系统以及呼吸系统等多个系统的损伤和侵犯, 重症患者可因为合并肺孢子菌病、卡波济肉瘤、淋巴瘤等而死亡, 病死率较高^[8]。趋化因子对于 HIV 靶向消耗 CD4 + T 淋巴细胞的过程具有促进作用, 并可以通过提呈 CCR4、CLCR4 等趋化因子结合受体的表达, 进而促进 HIV 病毒衣壳内 RNA 基因组与宿主基因组的整合, 导致病毒扩散和病毒载量的扩增^[9-10]。有研究通过靶向抑制相关趋化因子受体后, 发现 HIV 病毒活性、病毒扩张速度均明显下降, HIV 病毒的扩增活性或者增殖速度均变缓, 提示趋化因子或相关家族成员受体可能在促进 AIDS 的发病过程中具有一定的作用^[11-12]。

RANTES 是由巨噬细胞分泌的长链糖蛋白, 具

有 3 个重复结构的末端羧基结合区域, 其可以激活巨噬细胞、单核细胞或粒细胞, 加剧局部免疫损伤, 促进 AIDS 皮肤黏膜的损害; MCP-1 是含有半胱氨酸-氨基酸-半胱氨酸重复排列的趋化性细胞因子, 促进嗜酸性粒细胞和嗜碱性粒细胞的趋化和激活, 增强 HIV 对于 CD4 + T 靶细胞杀伤作用, 进一步降低机体的免疫力, 促进 AIDS 患者感染性疾病的发生; SDF-1 β 由单核细胞以及巨噬细胞分泌, 近年来发现其参与到恶性肿瘤间质细胞黏附性改变等过程^[13], SDF-1 β 可以增强抗原细胞免疫的抗原提呈作用, 但在 AIDS 中的研究不足。本研究的创新性在于探讨了不同病毒载量中相关趋化因子的表达差异。

本组 AIDS 组患者血清中 RANTES、MCP-1 均高于正常对照组, 其中 RANTES 可达 (1 392.55 \pm 227.69) pg/mL, 上升幅度较明显, 而 MCP-1 也可达 (450.91 \pm 103.04) pg/mL, RANTES 的上调可以刺激 CXCR4 或 CXCR5 受体的高表达, 增加 CD4 + T 淋巴细胞的耗竭和损伤, 促进 AIDS 患者病情的

进展,同时上升的 RANTES 可以通过细胞介导的细胞毒性作用增加 th1/th2 平衡紊乱的发生,导致患者机体免疫抑制。相关^[14-15]学者回顾性分析 47 例 AIDS 患者外周血中的 MCP-1 发现,MCP-1 在发生明显皮肤黏膜损伤的患者中可上升 3~4 倍,且患者的病情越重,血清中的 RANTES 表达越高,与本研究的结论一致。SDF-1 β 的上升幅度不及 RANTES、MCP-1,仅为(104.82 \pm 22.52) pg/mL,较李强等^[15]报道的 150 pg/mL 有一定的差距,考虑可能与本次研究中纳入的 AIDS 病例多数为皮肤黏膜损伤的患者,病情相对较轻,合并肺孢子菌病、卡波济肉瘤等的病例较少。对于不同病毒载量的趋化因子进行研究,发现病毒载量为 $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ 、 $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$ 的 AIDS 患者 RANTES 表达浓度较高,较 $\text{Log}(\text{VL}) < 4$ 均有上升,提示随着 AIDS 患者病毒载量的增加,血清中 RANTES 表达呈现出一定的相关关系;但随着 $\text{Log}(\text{VL})$ 的上升,趋化因子 MCP-1、SDF-1 β 的表达并未进一步上调, $\text{Log}(\text{VL}) \geq 5$ 的 AIDS 患者血清相关因子较 $4 \leq \text{Log}(\text{VL}) < 5$ 组患者下降,考虑 AIDS 患者体内的免疫抑制作用可以通过抑制巨噬细胞、单核细胞、嗜酸性粒细胞等的激活,进而减少相关细胞分泌 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 等因子,导致 RANTES 并未随着病毒载量的上升而上升。

综上所述,RANTES、MCP-1、SDF-1 β 等趋化因子在 AIDS 患者外周血清中异常高表达,其可能参与到 HIV 病毒对 CD4 + T 淋巴细胞的损伤过程中,同时病毒载量在一定范围的上升可以促进 RANTES、MCP-1、SDF-1 β 的上调,但二者的平行关系并不明显。后续研究可以增加对趋化因子信号机制的研究,进而为 AIDS 的临床治疗提供更实际的指导。

[参 考 文 献]

[1] 方晓君,朱建琼,陈柏芬,等. 东莞市 2009—2014 年 15~24 岁 HIV/AIDS 病人的流行病学特征[J]. 中国艾滋病性病,2016,22(2):84-85,88.

[2] 刘岩岩,蔡标,李璐,等. 人类免疫缺陷病毒感染辅助受体 CCR5 与 CXCR4 研究进展[J]. 中华医院感染学杂志,2016,26(4):955-957.

[3] 张茹慧,游晶,杨微波,等. HIV/AIDS 合并 HBV/HCV 感染病毒载量水平及与 T 淋巴细胞相关性的探讨[J]. 重庆医学,2016,45(7):912-914.

[4] 师金川,喻剑华,时代强,等. HAART 对 HIV/AIDS 病人 Th17 细胞相关因子水平的影响及其临床意义[J]. 中国艾滋病性病,2015,21(8):673-675.

[5] 朱长斌,蒋子恺,程枫,等. 趋化因子受体 CCR5 的研究进展[J]. 上海交通大学学报(医学版),2012,32(6):809-814.

[6] 刘莉,李士林,张仁芳,等. 类 1 型 - 趋化因子配体 3 和趋化因子配体 4 基因与艾滋病患者抗病毒治疗后免疫重建的相关性[J]. 中华传染病杂志,2015,33(2):83-86.

[7] 胡芳琴,吴勇,张展,等. 不同 CD4 + 基线值艾滋病患者高效逆转录病毒治疗后免疫重建效果观察[J]. 中华医院感染学杂志,2015,25(24):5521-5523.

[8] Nguyen TP, Shukla S, Asaad R, et al. Responsiveness to IL-7 but not to IFN- α is diminished in CD4 + T cells from treated HIV infected patients who experience poor CD4 + T-cell recovery[J]. AIDS, 2016, 30(13): 2033-2042.

[9] Brey FL, Seybold U, Kollan C, et al. Accelerated CD4 + cell count decline in untreated HIV-1 patients points toward increasing virulence over the course of the epidemic[J]. AIDS, 2016, 30(12): 1995-1997.

[10] Ueda N, Zhang R, Tatsumi M, et al. BCR-ABL-specific CD4 + T-helper cells promote the priming of antigen-specific cytotoxic T cells via dendritic cells[J]. Cell Mol Immunol, 2016, 28(6): 134-136.

[11] Li Y, Ling W, Xu H, et al. The activation and dynamics of cytokine expression by CD4 + T cells and AIDS progression in HIV-1-infected Chinese individuals[J]. Microb Pathog, 2012, 53(5-6): 189-197.

[12] 李玉枝,唐漾波. 抗原非特异性免疫治疗 HIV/AIDS 疾病的研究进展[J]. 广东医学,2015,36(18):2924-2928.

[13] Bretscher PA. On the mechanism determining the TH1/TH2 phenotype of an immune response, and its pertinence to strategies for the prevention, and treatment of certain infectious diseases[J]. Scand J Immunol, 2014, 79(6): 361-376.

[14] Rubbo PA, Tuaille E, Bolloré K, et al. The potential impact of CD4 + T cell activation and enhanced Th1/Th2 cytokine ratio on HIV-1 secretion in the lungs of individuals with advanced AIDS and active pulmonary infection[J]. Clin Immunol, 2011, 139(2): 142-154.

[15] 李强,李杰,桑锋,等. HIV 感染者和 AIDS 患者外周血 T 淋巴细胞活化亚群与病毒载量的相关性[J]. 中国全科医学,2016,19(8):869-872.

(本文编辑:孟秀娟、左双燕)