

HIV/HCV 共感染对 HIV-1 生物学特性影响的研究

潘品良 刘震 张永宏 龙小山 吴昊 蒋岩

【摘要】 目的 研究有偿献血人群 HIV/HCV 共感染对 HIV-1 基因离散率、病毒载量、CD4⁺T 淋巴细胞等生物学特性影响。方法 扩增 HIV-1 *env* 基因 C2~V3 区, Clustal W 和 Phylip 软件计算基因离散率, NASBA 方法检测 HIV-1 病毒载量, 采用 Coulter 公司的 Epics XL 流式细胞计数仪检测 CD4⁺ 细胞数, 用 SPSS 软件 *t* 检验分析 HIV/HCV 共感染对 HIV-1 生物学特性的影响。结果 HCV 共感染与非共感染人群的 HIV-1 平均基因离散率为 7.95%、15.73% ($P < 0.001$), 平均病毒载量为 4.61、4.45 ($P = 0.522$), 平均 CD4⁺T 淋巴细胞数为 308、251 ($P = 0.161$)。结论 该有偿献血人群中 HIV/HCV 共感染对 HIV-1 基因离散率有影响, 而对病毒载量、CD4⁺T 淋巴细胞无影响。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒; 丙型肝炎病毒; 共感染; 生物学特性

Study on the influence of biological characteristics to HIV/HCV co-infection among HIV infected illegal blood donors in China PAN Pin-liang*, LIU Zhen, ZHANG Yong-hong, LONG Xiao-shan, WU Hao, JIANG Yan. *National AIDS Reference Laboratory. National Center for AIDS/STD Prevention and Control, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100050, China
Corresponding author: JIANG Yan, Email: jiangyan03@263.net

【Abstract】 Objective To study the influence of biological characteristics on HCV/HIV co-infection, including HIV-1 sequence distance, HIV-1 viral load and CD4⁺ count. **Methods** HIV-1 sequence distance was calculated by Clustal W and Phylip software while HIV-1 viral load being tested by NASBA and CD4⁺ count was tested using Epics XL of Coulter. Significance was determined by t-test using SPSS 12.0. **Results** The mean HIV-1 genetic distances were 7.95% and 15.73% ($P < 0.001$) between those with HCV co-infection and those without. Their mean HIV-1 viral loads were 4.61 and 4.45 ($P = 0.522$) and their mean CD4⁺T counts were 308 and 251 ($P = 0.161$), respectively. **Conclusion** Data showed that in the study group, the HIV/HCV co-infection had an influence on the HIV sequence distance, but did not have major impact on HIV-1 viral load and their mean CD4⁺T count.

【Key words】 Human immunodeficiency virus; Hepatitis virus C; Co-infection; Biological characteristics

由于 HCV 与 HIV 具有共同的血液、性接触、母婴传播途径, HCV 在 HIV 感染人群中的广泛传播, 并导致严重威胁。世界范围内, 超过 4200 万 HIV/AIDS 感染者中约 23%~75% 为 HIV/HCV 共感染^[1]。随着 HAART 治疗 AIDS, 西方国家由 HCV 导致的晚期肝脏病变已成为 HIV 感染者主要死亡原因, 占 1991-1998 年住院病例 AIDS 死亡的近 50%, 并有上升趋势^[2-4]。因此, HIV/HCV 共感染

目前也成为最受关注的 AIDS 研究领域之一。

我国面临的 HIV/HCV 共感染状况非常严峻, 随着 HIV 抗病毒治疗的开展, 治疗中的共感染问题也日益突出, 而共感染对 HIV-1 基因离散率和病毒载量的影响研究却少见报道。我们通过对非法采血感染 HIV 患者人群的血液标本研究 HIV/HCV 共感染对 HIV-1 基因离散率、HIV-1 病毒载量和 CD4⁺T 淋巴细胞数的影响。

对象与方法

1. 研究对象: 收集佑安医院 2002-2004 年 HIV 感染者 307 例, 均为尚未进行抗病毒治疗的有偿献血感染者, 来自同一地区。男性占 45.2%, 女性占

基金项目: 国家“十五”科技攻关课题基金资助项目 (2001BA705B01)

作者单位: 100050 北京, 中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心参比实验室(潘品良、刘震、龙小山、蒋岩); 佑安医院(张永宏、吴昊)

通讯作者: 蒋岩, Email: jiangyan03@263.net

54.8%；平均年龄39.4岁。307例样本 HCV 抗体阳性占86.0%，阴性占14.0%，对所有样本进行 CD4⁺ T 淋巴细胞数测定，从 307 例样本中按照相当 HCV 的感染比例随机抽取 115 例测得 HIV-1 病毒载量，从 307 例样本中按照相当 HCV 感染比例随机抽取 107 例样本做 DNA 序列分析。

2. 实验方法：

(1)血清学检测：采集的 EDTA 抗凝外周全血样品，分离血浆，HIV 抗体 WB 确认实验。

(2)核酸检测：按照 Qiagen 公司的试剂盒说明书提取 DNA；用 ED5/ED12 外侧和 Env7/Env8 内侧引物采用巢式 PCR 扩增；QIAquick Gel Extraction Kit 纯化扩增产物；用美国 ABI 3100 DNA 序列测定仪进行测序，序列使用 Clustal W 和 Phylip 软件分析。

(3)HIV-1 病毒载量检测：采用 NucliSens HIV-1 QT 试剂盒，样品用量200 μl，按说明书提取核酸，使用 NucliSens Reader 仪器检测。该方法的检测下限为 50 拷贝/ml，检测上限为 3 × 10⁵ 拷贝/ml。

(4)CD4⁺ T 淋巴细胞数检测：采用 Coulter 公司的 Epics XL 流式细胞计数仪。

3. 统计学分析：利用 SPSS 12.0 软件对 HIV-1/HCV 共感染与非共感染人群的生物学特性做 t 检验。

结 果

1. HIV-1/HCV 共感染对 CD4⁺ T 淋巴细胞的影响：对所有 307 份样本的 CD4⁺ T 淋巴细胞进行了测定，其中 HIV-1/HCV 共感染 264 例，HCV 阴性有 43 例，将共感染与非共感染两组样本的 CD4⁺ T 淋巴细胞，用 SPSS 软件 t 检验进行统计分析，结果见表 1。共感染样本的平均 CD4⁺ T 淋巴细胞数 308，非共感染样本的平均 CD4⁺ T 淋巴细胞数为 251，P=0.161，表明两者间的差异无统计学意义。

表1 307 例有偿献血 HIV-1 感染者的 CD4⁺ T 淋巴细胞

HIV-1/HCV	样本份数	CD4 ⁺ T 淋巴细胞数	P 值
共感染	264	308	0.161
非共感染	43	251	

2. HIV-1/HCV 共感染对 HIV-1 病毒载量的影响：用 NucliSens HIV-1 QT 测得 115 份样本的 HIV-1 病毒载量，其中 HIV-1/HCV 共感染 101 例，HCV 阴性有 14 例，将共感染与非共感染两组样本

的 HIV-1 病毒载量转化成对数值 Log₁₀，用 SPSS 软件 t 检验进行统计分析，结果见表 2。

表2 115 例有偿献血 HIV-1 感染者的病毒载量

HIV/HCV	样本份数	HIV-1 平均病毒载量(Log ₁₀)	P 值
共感染	101	4.61	0.522
非共感染	14	4.45	

共感染样本的 HIV-1 平均病毒载量 Log₁₀ 为 4.61，非共感染样本的 HIV-1 平均病毒载量 Log₁₀ 为 4.45，P=0.522，表明两者间的差异无统计学意义。

3. HIV-1 基因序列分析：随机选取 107 份样本经核酸提取、PCR 扩增和序列测定，共得到 107 份样本的 HIV-1 env 基因序列，利用 Clustal W 软件将序列与 HIV-1 不同亚型的共享序列排列比较，Phylip 软件中离散率计算程序 (DNADISTANCE)，Neibor-joining 程序勾画系统树 (图 1)，主要为泰国 B 亚型，符合该地区主要流行的 HIV-1 亚型分布。其中 HIV-1/HCV 共感染 92 例，HCV 阴性有 15 例，将共感染与非共感染的 HIV-1 序列基因离散率进行统计分析，结果见表 3。HCV 共感染样本的 HIV-1 平均基因离散率为 7.95%，非共感染样本的 HIV-1 平均基因离散率为 15.73% (P<0.001)，表明两者间的差异有统计学意义。

表3 107 例有偿献血 HIV-1 感染者的基因离散率

HIV/HCV	样本份数	HIV-1 平均基因离散率(%)	P 值
共感染	92	7.95	<0.001
非共感染	15	15.73	

讨 论

HCV 的传播途径同 HIV，但是 HCV 更容易经血液传播。针对我国有偿献血 HIV 感染者的研究结果，HIV 阳性者中有 86.3% 携带 HCV，证实该有偿献血 HIV 感染者中存在严重的 HCV 合并感染^[5]。刘震等^[6]研究 HCV 共感染对 HIV 检测实验室诊断影响发现，共感染显著提高 HIV-1 强阳性 (ELISA 检测) 的比例，不同 HCV 基因型对检测 HIV-1 的 S/CO 值影响，1b/2a 混合型、1b 型与 S/CO 值的相关性都达到统计学意义，发现共感染者 ELISA 强阳性比例明显高于单纯 HIV-1 感染者，对 HIV-1 的各主要 WB 条带没有影响，但对 WB 中 Gag 区 P55 条带，共感染者出现频率明显高于非共感染者共感染组 P55 条带比例，可能与病毒间免疫和分子水平相互作用有关。

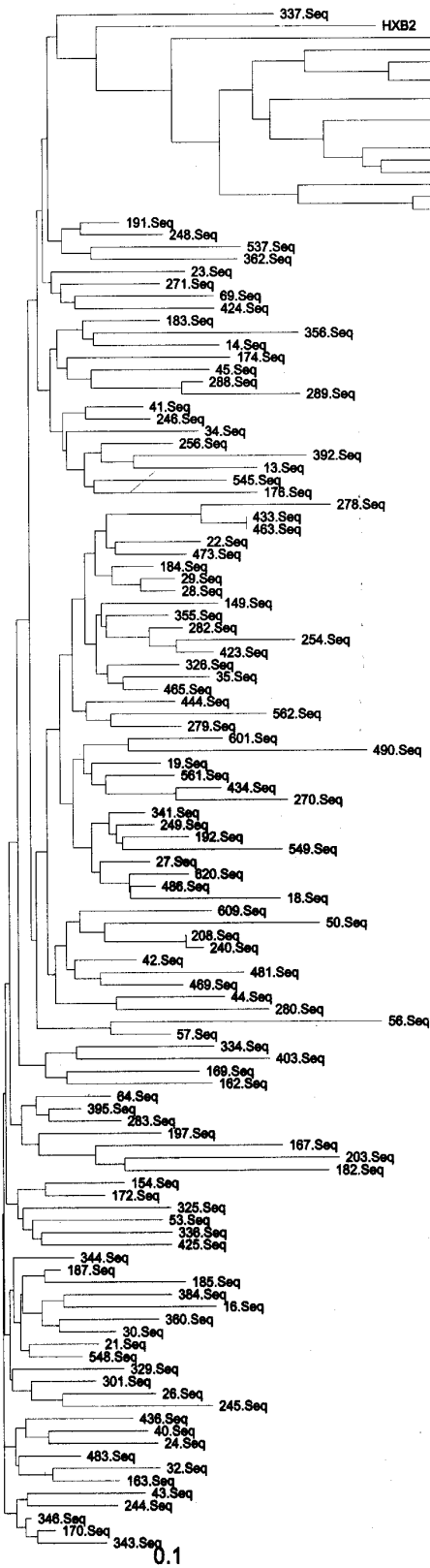


图1 HIV-1 序列系统分析

我们所选病例均为未进行治疗的样本,来自同一个流行区域,有相同的流行病学背景。从研究结果可以看出,虽然 HCV 共感染与非共感染人群中 HIV-1 均为 B', 与阴宁等^[7]的研究结果类似。但是从深入研究中发现,两个人群内的 HIV-1 基因离散率有明显的差距,非 HCV 共感染人群中基因离散率为 7.95%, 而 HCV 共感染人群中基因离散率为 15.73%, 在系统树中 HCV 共感染样品 337、196 和 55 号有明显差异,可能是 HCV 基因与 HIV 基因的分子水平上相互影响的结果。这一发现有值得扩大样本量并从分子角度进一步深入研究的价值。

而这两人群的 HIV-1 病毒载量平均值的差异无统计学意义,但结果基本一致,没有发现和病毒载量的相关性。这两人群的 CD4⁺ T 淋巴细胞平均值和及其在 <100 个/ml、100~200 个/ml、200~400 个/ml 和 >400 个/ml 各组分布比例的差异均无统计学意义,没有发现和 CD4⁺ T 淋巴细胞数的相关性。这两人群对 HIV-1 的病毒载量和 CD4⁺ T 淋巴细胞的差异无统计学意义。

目前一些研究显示^[8-10], 国外更多的研究集中在 HIV-1 对 HCV 的影响,共感染病例中 CD4⁺ < 100/ml 与 CD4⁺ >400/ml 对 HCV 的基因离散率有明显差异。因此,研究 HCV 对 HIV-1 生物学特性影响有利于认识 HIV-1 自然史。

参 考 文 献

- [1] Irena Maier, George YW. Hepatitis C and HIV co-infection: a review. World J Gastroenterol, 2002, 8(4): 577-579.
- [2] Eica I, McGovern B, Dhar R, et al. Increasing mortality due to end-stage liver disease in patients with human immunodeficiency virus infection. Clin Infect Dis, 2001, 32: 492-497.
- [3] Justice AC, Chang CH, Fusco J, et al. Extrapolating long-term HIV/AIDS survival in the post-HAART era [abstract 1158]. Program and abstracts of the 39th Annual International Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. American Society for Microbiology, 1999.
- [4] Brinker MD, Wit FWNM, Dillen PMEW, et al. Hepatitis B and C virus co-infection and the risk for hepatotoxicity of highly active antiretroviral therapy in HIV-1 infection. AIDS, 2000, 14(2): 895-902.
- [5] 刘震,邢文革,张永宏,等. 既往有无偿献血(浆)人群中艾滋病毒与丙型肝炎病毒共感染研究. 中华肝脏病杂志, 2006, 14(6): 464-465.
- [6] 刘震,蒋岩,吴昊,等. 人类免疫缺陷病毒/丙型肝炎病毒共感染

对实验室诊断影响的研究. 中华检验医学杂志, 2005, 28 (7): 691-693.

[7] 阴宁, 梅珊, 李莉, 等. 中国经血传播人群中艾滋病病毒-1 与丙型肝炎病毒亚型分布研究. 中华流行病学杂志, 2003, 24(11): 962-965.

[8] Priscilla S, Carmen de M, Yagnya J, et al. Impact of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) genetic diversity on performance of four commercial viral load assays: LCx HIV RNA quantitative, amplicor HIV-1 monitor v1.5, versant HIV-1 RNA 3.0, and nuclisens HIV-1 QT. J Clin Microbiol, 2005, 43: 3860-3868.

[9] Wang XP, Goodwin L, Kahn P, et al. Influence of increased CD4 cell counts on the genetic variability of hepatitis C virus in patients co-infected with human immunodeficiency virus I. Journal of Biomolecular Techniques, 2006, 17: 228-239.

[10] Jennifer MB, Mark H. Impact of highly active antiretroviral therapy and immunologic status on hepatitis C virus quasispecies diversity in human immunodeficiency virus/hepatitis C virus-coinfected patient. J Virol, 2003, 77(3): 1940-1950.

(收稿日期: 2006-07-07)
(本文编辑: 张林东)

· 疾病控制 ·

代谢当量应用于浙江省居民体力活动评价

张洁 俞敏 陈雅萍 钟节鸣 何青芳 胡如英 龚巍巍

代谢当量(MET)是国际广泛认可的体力活动强度评价方法, WHO 全球体力活动问卷(IPAQ)亦基于 MET 确定体力活动分级标准^[1]。本文采用 MET 评价浙江省居民体力活动现状, 探讨 IPAQ 分级标准在人群中的适用性。

1. 对象与方法: 利用 2002 年浙江省居民营养与健康状况调查数据, 对 1418 户膳食调查家庭中 18 岁以上居民体力活动进行了分析。各种体力活动 MET 值依据《体力活动概要》更新版确定^[2], 按公式: 周体力活动总量 = \sum (某项体力活动 MET 值 × 年该项体力活动总分钟数) / 52, 体力活动分级参照 IPAQ 分级标准(表 1)^[1], 应用 SPSS 13.0 软件进行数据处理与统计分析。

表1 IPAQ 体力活动分级标准

体力活动水平	分级标准
活跃	①周高强度体力活动天数 ≥ 3 d 且周总量 ≥ 1500 MET·min ②周中高强度体力活动天数 ≥ 7 d 且周总量 ≥ 3000 MET·min
充分	①周高强度体力活动天数 ≥ 3 d 且每天时间 ≥ 20 min ②周中等强度体力活动天数 ≥ 5 d 且每天时间 ≥ 30 min ③周中高强度体力活动天数 ≥ 5 d 且周总量 ≥ 600 MET·min
不足	未达到充分或活跃

注: 高强度体力活动: MET > 6.0, 中等强度体力活动: 3.0 ≤ MET ≤ 6.0

2. 结果: 共对 3226 名居民体力活动进行分析, 城市 951 名 (29.48%), 农村 2275 名 (70.52%); 男性 1559 名 (48.33%), 女性 1667 名 (51.67%); 35 岁以下者 936 名 (29.01%), 35~44 岁者 847 名 (26.26%), 45~54 岁者 715 名 (22.16%), 55 岁及以上者 728 名 (22.57%)。周体力活动总量人均 (9251.61 ± 115.24) MET·min, 中高强度体力活动量占 47.85%; 职业劳动是中高强度体力活动最主要来源约占 57.27%, 其次是交通出行与家务劳动分别占 20.47% 和 17.64%, 体育锻炼仅占 4.62%。按 IPAQ 分级标准, 人群体力活动达标率为 81.87%, 其中 27.46% 达到体力活动活跃;

体力活动达标率在城乡、性别间差异有统计学意义 ($P < 0.01$); 城市高于农村, 女性高于男性; 年龄组间无差异 ($P > 0.05$) (表 2)。

表2 3226 名居民不同年龄、性别和地区体力活动分级

分组	体力活动		
	活跃	充分	不足
年龄(岁)			
18~	237(25.54)	518(55.82)	173(18.64)
35~	198(23.60)	490(58.40)	151(18.00)
45~	242(34.18)	357(50.42)	109(15.40)
≥55	198(27.46)	379(52.57)	144(19.97)
性别			
男	406(26.28)	763(49.39)	376(24.34)
女	469(28.41)	981(59.42)	201(12.17)
地区			
城市	281(29.55)	533(56.05)	137(14.41)
农村	605(26.59)	1222(53.71)	448(19.69)

注: 括号外数据为人数, 括号内数据为百分比 (%)

3. 讨论: 研究显示, 人群体力活动总体已呈现低强度主体模式, 而职业劳动、交通出行与家务劳动仍是中高强度体力活动的主要来源, 不同于发达国家以体育锻炼为主的模式。因此, 虽然人群体力活动达标率达 81.87%, 倡导全民健身仍是非常必要的, 因为单纯体力劳动只是一种不规则的体力消耗, 仅对机体局部产生影响, 而体育锻炼能使身体得到全面均衡协调运动, 对改善机体系统功能、预防疾病有更积极的意义; 基于体育锻炼与健康关系制定的 IPAQ 分级标准也应根据人群体力活动特点作适当调整, 以真实反映不同等级与健康结局间的关系。

参 考 文 献

[1] Department of Chronic Diseases and Health Promotion. Global Activity Questionnaire. WHO, 2001.

[2] Ainsworth BE, Haskell WL, Leon AS, et al. Compendium of physical activities: classification of energy costs of human physical activities. Med Sci Sports Exerc, 1993, 25(1): 71-80.

(收稿日期: 2006-11-22)
(本文编辑: 尹廉)