·临床研究·

HIV感染患者CXCR5、HCY、RANTES的表达及相关性分析

陈秀芬　潘崇南　金辉

[摘要]　**目的**　分析趋化因子CXCR受体5(CXCR5)、同型半胱氨酸(HCY)、调节活化正常T细胞表达与分泌的趋化因子(RANTES)在人类免疫缺陷病毒(HIV)感染患者中的表达及相关性。**方法**　选取HIV感染患者73名为HIV感染组,同期选取70名体检者为对照组。检测两组CXCR5、HCY、RANTES表达,分析CXCR5、HCY、RANTES在HIV感染中相关性。**结果**　HIV感染组患者血清CXCR5水平低于对照组,血清HCY、RANTES表达高于对照组,差异具有统计学意义(t分别=27.88、-26.48、-66.23,P均<0.05)。TNM分期、分化程度、淋巴结转移、CXCR5、HCY、RANTES为HIV感染发生的影响因素(OR分别=5.07、4.38、5.04、4.88、4.34、5.01,P均<0.05)。CXCR5与HCY、RANTES呈负相关(r分别=-0.10、-0.87,P均<0.05),HCY与RANTES呈正相关(r=0.33,P<0.05)。**结论**　CXCR5、HCY、RANTES水平表达与HIV感染存在密切关系,且存在一定相关性。CXCR5、HCY、RANTES水平变化可作为疾病预判及发展的生物检测指标。

[关键词]　趋化因子CXCR受体5;　同型半胱氨酸;　调节活化正常T细胞表达与分泌的趋化因子;　人类免疫缺陷病毒感染;　相关性

Expression and correlation analysis of CXCR5, HCY and RANTES in HIV infected patients CHEN Xiufen, PAN Chongnan, JIN Hui. Department of Infection, The First Hospital of Taizhou, Taizhou 318020, China.

[Abstract]　**Objective**　To explore the expression and correlation of the chemokine CXCR receptor 5 (CXCR5), homocysteine (HCY), and regulation upon activation normal T-cell expressed and secreted (RANTES) in patients with human immunodeficiency virus (HIV) infection. **Methods**　Seventy-three HIV infected patients were selected as the HIV infected group, and 70 healthy people who received examination were selected as the control group during the same period. The expressions of CXCR5, HCY and RANTES were detected in the two groups to analyze the correlation among CXCR5, HCY and RANTES in HIV infection. **Results**　The serum CXCR5 level in the HIV infected group was lower than the control group, while the serum HCY and RANTES expressions were higher than the control group (t=27.88, -26.48, -66.23, P<0.05). TNM stage, degree of differentiation, lymph node metastasis, CXCR5, HCY, and RANTES were the affecting factors of the occurrence of HIV infection (OR=5.07, 4.38, 5.04, 4.88, 4.34, 5.01, P<0.05). CXCR5 was negatively correlated with HCY and RANTES (r=-0.10, -0.87, P<0.05), and HCY was positively correlated with RANTES (r=0.33, P<0.05). **Conclusion**　The expression of CXCR5, HCY and RANTES were correlated with the HIV infection. It suggests that the level changes of CXCR5, HCY and RANTES can be used as biological detection indicators for disease prediction and development.

[Key words]　chemokine CXCR receptor 5;　homocysteine;　regulation upon activation normal T-cell expressed and secreted;　human immunodeficiency virus infection;　relevance

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)是引发艾滋病(acquired immuno deficiency syndrome, AIDS)的主要原因[1,2]。临床资料显示,当HIV病毒侵入机体后,对机体免疫系统发起

DOI:10.13558/j.cnki.issn1672-3686.2022.004.013
基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(2020KY1044)
作者单位:318020　浙江台州,台州市第一人民医院感染科(陈秀芬、潘崇南),消化内科(金辉)

攻击，造成人体细胞免疫、体液免疫受损，从而导致机体免疫能力下降，继而引发一系列的免疫缺陷疾病，严重者甚至发展为机体全身衰竭而亡，严重威胁人类健康及生活质量[3,4]。寻求有效、准确的AIDS生物检测标志物对改善死亡率和机会性感染疾病发病率具有重要意义[5]。随研究深入发现，多种免疫细胞及其释放的细胞因子与HIV/AIDS的发病机制存有一定关联，在抗HIV病毒免疫应答过程中均有参与，有望成为抗HIV病毒的新的辅助途径[6,7]。本次研究通过观察HIV感染者趋化因子CXCR受体5（CXCR5）、同型半胱氨酸（homocysteine，HCY）、调节活化正常T细胞表达与分泌的趋化因子（regulation upon activation normal T-cell expressed and secreted，RANTES）水平变化，了解HIV感染情况，并分析上述指标与HIV感染的相关性。

1 资料与方法

1.1 一般资料 选取2018年10月至2020年10月期间在台州市第一人民医院就诊的HIV感染患者73例为HIV感染组，其中男性44例、女性29例；年龄19～65岁，平均年龄（42.00±19.55）岁，感染时间3~7年，平均感染时间（5.00±1.70）年；根据HIV感染分类系统及ADIS诊断标准将HIV感染组分为无症状者32例，有症状者41例。同期选取70名体检者为对照组，其中男性40例、女性30例；年龄20～65岁，平均年龄（42.50±19.12）岁。两组患者基线资料比较，差异均无统计学意义（P均>0.05）。

1.2 纳排标准 纳入标准为：①符合《中国艾滋病诊疗指南（2018年版）》中HIV感染相关诊断标准[8]；②免疫印迹法确认HIV-1型抗体阳性；③体检者近1年内未服用降脂药物，身体健康无任何疾病；④近1个月内无尿道感染症状或未被诊断为梅毒、淋病、尿道感染；⑤无免疫系统疾病史；⑥自愿参与本次研究，签署知情同意书。本次研究经本院医学伦理委员会批准。排除标准为：①存在心肺等严重器质性疾病；②合并结核感染、乙型肝炎、丙型肝炎等病毒感染及其他感染性疾病；③合并糖尿病、高血压等内分泌疾病、免疫性疾病；④合并造血系统原发性疾病。

1.3 方法 清晨采集所有研究对象空腹静脉血6 ml，置于EDTA抗凝管中以3 000 r/min离心处理20 min，静置分离血清、血浆，于-70 ℃环境下保存待检。用含1%牛血清蛋白的聚丁二酸丁二醇酯溶液将血清样本按照1∶500稀释，在96孔板中加入100 μl/孔，覆盖洁净粘条，4 ℃孵育过夜。去除孔内抗体，以洗涤缓冲液重复洗涤3次，加入200 μl 1%BAS的PBS溶液封闭反应2 h，再次洗涤后拍干备用。将96孔板中多余板条移除，在第一列中加入100 μl制备好的标准品，剩余的孔板中加入100 μl样品，覆盖洁净粘条，常温下孵育2 h。洗板3次，以干净纸巾拍打以除去多余冲洗缓冲剂，每孔内加入CXCR5、HCY、RANTES二抗，覆盖粘条，常温下孵育2 h。冲洗反应板，加入100 μl底物溶液，粘条覆盖，常温孵育40 min，加入50 μl显色液/孔，孵育45 min，加入50 μl终止液。于酶标检测仪450 nm处读取吸光度值，以$2^{-\Delta\Delta ct}$计算CXCR5、HCY、RANTES浓度。

1.4 统计学方法 采用SPSS 22.0统计软件对数据进行分析处理。计量资料采用均数±标准差（$\bar{x}\pm s$）描述，两组间比较采用独立样本t检验，多组间比较采用单因素方差分析，两两比较采用LSD-t检验，相关性采用*Pearson*相关性分析，影响因素分析采用*logistic*回归分析。设P<0.05为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 两组血清CXCR5、HCY、RANTES表达见表1

表1 两组血清CXCR5、HCY、RANTES表达

组别	CXCR5/μg	HCY/μmol/L	RANTES/pg/ml
HIV感染组	2.77 ± 0.81*	10.10 ± 0.44*	476.35 ± 34.52*
对照组	7.96 ± 1.34	6.97 ± 0.89	163.94 ± 20.37

注：*：与对照组比较，P<0.05。

由表1可见，HIV感染组患者血清CXCR5水平低于对照组，血清HCY、RANTES表达高于对照组，差异均有统计学意义（t分别=27.88、-26.48、-66.23，P均<0.05）。

2.2 HIV感染发生影响因素的多元*logistic*回归分析 将HIV感染发生作为因变量，将临床特征及CXCR5、HCY、RANTES作为自变量，纳入二分类多因素*logistic*回归模型分析，结果见表2。

表2 HIV感染发生影响因素的多元*logistic*回归分析

变量	β	SE	Wald χ^2	P	OR	95% CI
TNM分期	-2.68	0.65	17.30	<0.05	0.07	0.02~0.24
分化程度	1.17	0.42	7.78	<0.05	3.21	1.41~7.30
淋巴结转移	-1.06	0.40	7.19	<0.05	0.35	0.16~0.75
CXCR5	-1.97	0.37	28.13	<0.05	0.14	0.07~0.29
HCY	0.20	0.08	6.80	<0.05	1.22	1.05~1.41
RANTES	0.02	0.00	29.40	<0.05	1.02	1.01~1.03

由表2可见，TNM分期、分化程度、淋巴结转移、CXCR5、HCY、RANTES均为HIV感染发生的影响因素。

2.3　HIV感染组中CXCR5、HCY、RANTES的相关性分析　CXCR5与HCY、RANTES呈负相关（r分别=−0.10、−0.87，P均<0.05），HCY与RANTES呈正相关（r=0.33，P<0.05）。

3　讨论

临床资料证实，HIV病毒感染后，淋巴细胞数量减少、细胞功能受损，机体免疫功能紊乱，继而引发机体免疫功能缺陷及异常免疫激活[9]。研究指出，抗反转录病毒治疗作为目前AIDS治疗的有效手段，通过抑制病毒复制，增加CD^{4+}T淋巴细胞术量，降低感染发生率，可有效预防及降低疾病发生率[10]。另有研究证实，HIV抗病毒治疗虽可恢复部分机体免疫能力，但其恢复速度极慢。故对分子标志物与HIV感染相关性进行研究具有重要意义[11]。

CXCR5在淋巴等组织中表达丰富，是重要的B淋巴细胞组织因子[12]。有研究指出，CXCR5在糖尿病、系统性红斑狼疮等患者外周血中存在异常高表达，并在部分自身免疫性疾病中可作为疾病发展阶段的指征[13,14]。CXCR5 CD^{8+}淋巴细胞频率、功能与HIV感染进展存在紧密关联[15]。赵爽等[16]研究指出，不同血液CD^{4+}T淋巴细胞计数患者CXCR5水平与健康人相比存在差异性，但治疗后CXCR5水平均出现不同水平上升，证实CXCR5总量较健康人群增高，与前期研究结果相符。本次研究结果显示，HIV感染患者CXCR5水平相比健康者降低，且随疾病分期的升高而降低。同时CXCR5是HIV感染发生的影响因素，由此认定，CXCR5可影响、促进HIV感染病情进展。提示CXCRE5水平变化可对病情程度变化作出准确反映，有望成为HIV感染新的检测生物标志物。

HCY本身不参与蛋白制合成，在体内以氧化形式与蛋白质结合。随临床深入研究发现，HCY是导致心脑血管疾病发病的独立危险因素[17]。抗HIV感染治疗在延长患者生存期同时会引发系列并发症，其中以心血管疾病最为严重。而HIV本身就为心血管疾病的独立危险因素[18]。故在HIV感染患者治疗过程中，筛查、预防心血管疾病具有重要意义[19,20]。本次研究结果显示HCY异常高表达于HIV感染患者血清内，且是HIV感染发生的影响因素，与Guarale[21]等研究结果相符。提示HIV本身对HCY代谢过程产生一定影响，可通过检测HCY水平变化相应调整治疗方案，对心血管病预防具有重要意义。

RANTES作为趋化因子家族成员，是CXCR5天然配体[22]。RANTES具有多种不同生物学功能，在对多种细胞产生趋化作用同时强烈激活淋巴细胞，参与炎症反应发生，调节细胞生长分化及HIV感染[23]。邝建玉等[24]研究指出，RANTES在HIV感染易感性和AIDS病程中的作用为非特异性的，受体、同类配体、病毒本身变异等多种因素影响。本次研究结果显示，血清RANTES水平的升高与HIV感染的发展存在一定关联，提示其可能成为新的抗HIV治疗靶点。且本次研究发现CXCR5与HCY、RANTES呈负相关，HCY与RANTES呈正相关。因此测定CXCR5、HCY、RANTES表达对诊断HIV感染疾病的发展情况具有重要意义。

综上所述，CXCR5、HCY、RANTES水平表达与HIV感染存在密切联系，且存在一定相关性。CXCR5、HCY、RANTES水平变化可作为疾病预判及发展的生物检测指标，为抗HIV治疗的疗效评估，HIV感染的免疫治疗提供新的方向。

参考文献

1　金新莉，陈明军，晓晖，等.郑州地区无偿献血人群HIV感染及人口特征分析[J].实验与检验医学，2021，39（1）：236−238.

2　李怡，张潇文，李丽，等.昆明市HIV感染者未接受抗病毒治疗原因及对策分析[J].中国热带医学，2021，21（2）：143−147.

3　Elliott T, Sanders EJ, Doherty M, et al. Challenges of HIV diagnosis and management in the context of pre-exposure prophylaxis (PrEP), post-exposure prophylaxis (PEP), test and start and acute HIV infection: A scoping review[J].J Int AIDS Soc, 2019, 22(12): e25419.

4　梁俊.南平市无偿献血人群HIV感染情况分析[J].福建医药杂志，2021，43（1）：132−133，146.

5　崔展宇，宋兵，王冶，等.HIV感染者/AIDS患者歧视知觉及相关影响因素研究[J].中国性科学，2021，30（1）：155−160.

6　曹阳，周明浩，翟祥军.我国HIV感染者合并感染HBV现况[J].中华流行病学杂志，2021，42（2）：327−334.

7　林静，张晨，董宇杰，等.HIV感染/AIDS患者感染性浅表淋巴结病的临床病理特征分析[J].中国防痨杂志，2021，43（3）：268−273.

8　中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组，中国疾病预防控制中心.中国艾滋病诊疗指南（2018版）[S].新发

传染病电子杂志,2019,4(2):65-84.

9 Hsue PY, Waters DD. HIV infection and coronary heart disease: Mechanisms and managemen[J]. Nat Rev Cardiol, 2019, 16(12): 745-759.

10 Gopalakrishnan V, Bose E, Nair U, et al. Pre-HAART CD^{4+} T-lymphocytes as biomarkers of post-HAART immune recovery in HIV-infected children with or without TB co-infection[J]. BMC Infect Dis, 2020, 20(1): 756.

11 Castilla J. Profilaxis antirretroviral preexposición de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) [Pre-exposure antiretroviral prophylaxis for human immunodeficiency virus (HIV) infection][J]. Semergen, 2020, 46(3): 151-152.

12 周泽麟,李巧云,李雅,等.趋化因子CXCL13及其受体CXCR5在1型糖尿病DPNP中的作用机制[J].新医学,2021,52(2):102-108.

13 杨丽红.趋化因子CXCL13及其受体CXCR5在疾病中的研究进展[J].国际生物制品学杂志,2019,42(6):299-303.

14 王子璋,徐荣,孙海凤,等.CXCR5/CXCL13及ERK1在甲状腺乳头状癌中的表达及意义[J].现代肿瘤医学,2018,26(13):2011-2015.

15 邢倩,曲世平,金海燕,等.SLE患者外周血中CD4+ CXCR5+ T细胞表达ICOS和PD1的相关性研究[J].现代免疫学,2016,36(3):219-223.

16 赵爽,许文,陈威巍,等.CXCR5+CD8+T细胞在HIV感染中的免疫特征及其与疾病进展关系的研究[J].传染病信息,2018,31(2):149-153,167.

17 Li H, Lu HM, Tang W, et al. Targeting methionine cycle as a potential therapeutic strategy for immune disorders [J]. Expert Opinion on Therapeutic Targets, 2017, 21(9): 861-877.

18 张颖,张春丽,李璐,等.血管性痴呆患者血清MMP-9,NLRP3,Hcy水平变化及其与认知、神经功能、预后的关系[J].卒中与神经疾病,2021,28(1):67-72.

19 李海莉,孔衍琳,张帅,等.HIV感染者HAART中LEP、HCY的变化及临床意义[J].广西师范大学学报(自然科学版),2015,33(3):138-143.

20 So-Armah K, Benjamin LA, Bloomfield GS, et al. HIV and cardiovascular disease[J]. Lancet HIV, 2020, 7(4): e279-e293.

21 Guarale IG, Ventura P, Garlassi E, et al. HV perhomoeysteinaemia in HIV-infected patients: determinants of variability and correlations with predictors of cardiovascular disease[J]. HIV Med, 2009, 10(1): 28-34.

22 邵雷,陈雄,黄耿,等.尿RANTES与LN活动性、肾组织RANTES mRNA和NF?kB p65 mRNA表达的相关性[J].热带医学杂志,2017,17(3):343-347,415.

23 Krupek T, Bruna Juliana Wanczinski Ferrari, Maria Angélica Raffaini Cóvas Pereira da Silva, et al. Effervescent glutamine rormulation improves the beneficial effects of antiretroviral therapies on immune function in HIV/AIDS carrier patients[J]. J Med Food, 2020, 23(5): 485-490.

24 邝建玉,瞿志军,赵蔚,等.RANTES、MCP-1和SDF-1β在正常人体和AIDS患者体内含量的对比研究[J].中国感染控制杂志,2017,16(9):841-844.

(收稿日期 2021-11-15)

(本文编辑 葛芳君)