

· 论 著 ·

## HIV/AIDS 患者外周血 EBV- DNA 检测结果分析

吴驰<sup>1</sup>, 赖文杰, 陈建波, 刘厚明, 肖颜玉, 叶飞娣, 单万水

**摘要:**目的 了解深圳地区人免疫缺陷病毒(HIV)阳性患者和艾滋病(AIDS)患者外周血中 EB 病毒 DNA 的检出情况。方法 收集 257 例 HIV/AIDS 患者外周血标本,采用实时荧光定量 PCR 技术检测 EB 病毒 DNA 水平。比较不同年龄、性别、门诊及住院 HIV/AIDS 患者的 EBV- DNA 阳性率并进行统计学分析。结果 HIV/AIDS 患者 EBV- DNA 总检出率为 32.30%(83/257),住院 AIDS 患者检出率为 43.96%(40/91)明显高于门诊 HIV/AIDS 患者检出率(25.90% 43/166)。结论 HIV/AIDS 患者外周血中 EBV- DNA 检出率较高,EBV- DNA 阳性检出率随着 HIV/AIDS 患者病情的加重而增加。

**关键词:** HIV/AIDS; EB 病毒; 荧光定量 PCR; 外周血

中图分类号: R512.91 文献标识码: A 文章编号: 1009-9727(2012)5-609-03

Results of detection of Epstein-Barr virus DNA in peripheral blood of HIV/AIDS patients. WU Chi, LAI Wen-jie, CHEN Jian-bo et al. (Department of Clinical Laboratory, Shenzhen Municipal Third People's Hospital, Shenzhen 518020, Guangdong, P. R. China)

**Abstract:** Objective To investigate the incidence of Epstein-Barr virus in HIV/AIDS patients from Shenzhen region. Methods The peripheral blood samples of 257 HIV/AIDS cases in Shenzhen Municipal Third People's Hospital from October 2010 to April 2011 were collected and the level of peripheral blood EBV DNA was determined by using fluorescent quantitative PCR, and the infection rate of EBV in HIV-infected patients was analyzed. Results A total of 83 patients (32.30%) carried Epstein-Barr virus. The detection rate of Epstein-Barr virus in AIDS inpatients was 43.96%, significantly higher than the outpatients (25.90%). Conclusion The infection rate of Epstein-Barr virus in peripheral blood of HIV/AIDS cases is high and the positive rate of Epstein-Barr virus infection is getting higher alongside with the increase of severity of the disease.

**Key words:** HIV/AIDS; Epstein-Barr virus(EBV); Fluorescent quantitative PCR(FQ-PCR); Peripheral blood;

EB 病毒属于疱疹病毒科  $\gamma$  疱疹病毒亚科,其感染所致疾病非常广泛,几乎涉及全身各个器官系统,感染方式和临床表现也相当多样复杂。目前,人们对 EB 病毒在传染性单核细胞增多症、伯基特淋巴瘤、鼻咽癌等疾病的致病作用有较详尽的研究,但 EB 病毒作为 HIV/AIDS 重要的机会性病原体之一,其相关方面的国内外报道却较少。现对深圳市第三人民医院 257 例 HIV/AIDS 患者外周血进行 EBV- DNA 水平检测和初步的统计分析,结果报告如下。

## 1 材料与方法

**1.1 标本采集** 收集 2010 年 10 月~2011 年 4 月在深圳市第三人民医院市级艾滋专科门诊就诊及住院治疗的 257 例 HIV/AIDS 患者血样并记录其一般临床资料。人免疫缺陷病毒(HIV)阳性患者和艾滋病(AIDS)患者诊断标准参照中华医学会组织编写的于 2005 年 1 月执行的《艾滋病诊疗指南》。所有病例均已深圳市疾病预防控制中心蛋白印迹试验(Western Blot, WB)确诊。

**1.2 检测方法** 抽取患者外周血 2ml,加入 EDTA

抗凝管密封送检,采用进口淋巴细胞分离液分离外周血单个核细胞(PBMCs),使用中山大学达安基因股份有限公司生产的 EB 病毒核酸扩增(PCR)荧光定量检测试剂盒,严格按说明书进行核酸提取和基因扩增操作。使用 ABI 7500 荧光定量 PCR 仪检测所提取基因组中的 EBV- DNA 的含量。结果判定:荧光扩增曲线呈 S 型且扩增拷贝数大于  $1.00E+3$ ,判定为 EBV- DNA 阳性,其余均判定为阴性,记录数据。

**1.3 统计学处理** 使用 SPSS11.0 统计软件及 EXCEL 进行统计分析,计数资料的比较采用卡方检验,检验水准  $\alpha=0.05$ ,以  $P<0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

**2.1 各年龄段 HIV/AIDS 患者 EBV- DNA 检出情况** 257 例 HIV/AIDS 患者年龄最小 1 岁,最大 77 岁,平均年龄 36.54 岁,HIV/AIDS 患者主要集中在 20 岁到 50 岁之间,占总人数的 88.33%(227/257)。患者外周血标本中检出 EBV- DNA 阳性 83 例,总检出率为 32.30%(83/257),各年龄段 HIV/AIDS 患者人数和外周血中检出 EBV- DNA 阳性例数的分布详见图 1。由

作者单位:深圳市第三人民医院检验科,深圳 518020

作者简介:吴驰(1979~),汉族,女,检验主管技师,主要从事传染性疾病病原生物学检测与研究

图可见，各年龄段 HIV/AIDS 患者外周血中检出 EBV- DNA 阳性率大部分介于 20%~40% ,与 32.30% 的总检出率相比变化不大。

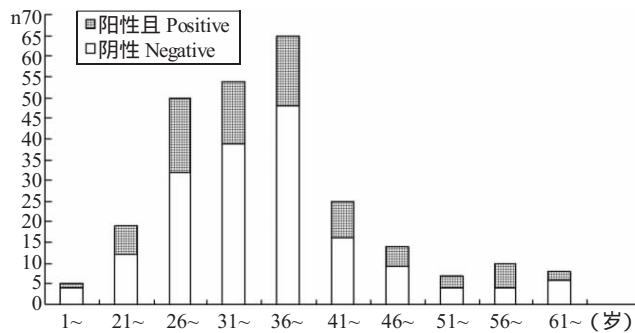


图 1 各年龄段 HIV/AIDS 患者人数及 EBV- DNA 阳性例数分布  
Fig 1 No.of HIV/AIDS cases and No. positive for EBV DNA in different age groups

\* 注：从左至右各年龄段 HIV/AIDS 患者人数分别是：5 ,19 ,50 ,54 ,65 ,25 ,14 ,7 ,10 ,18 ;从左至右各年龄段外周血中检出 EBV- DNA 阳性例数分别是：1 ,7 ,18 ,15 ,17 ,9 ,5 ,3 ,6 ,2 ;从左至右各年龄段阳性检出率分别是：20.0% ,36.8% ,36.0% ,27.8% ,26.2% ,36. 0% ,35.7% ,42.9% ,60.0% ,25.0%。

Note: from left to thte right show the No of HIV./AIDS cases in all age groups: 5 ,19 ,50 ,54 ,65 ,25 ,14 ,7 ,10 ,18 ;From left to the right show the No.of cases positive for EBV- DNA: 1 ,7 ,18 ,15 ,17 ,9 ,5 ,3 ,6 ,2 ;From left to right show the positive rates of detection were 20.0% ,36.8% ,36.0% ,27.8% ,26.2% ,36. 0% ,35.7% ,42.9% ,60.0% ,25.0%。

2.2 男性与女性 HIV/AIDS 患者 EBV- DNA 检出情况 257 例 HIV/AIDS 患者中 ,男性 187 例 ,女性 70 例。187 例男性患者外周血中检出 EBV- DNA 阳性 64 例，阳性率为 34.22% ;70 例女性患者外周血检出 EBV- DNA 阳性 19 例 ,阳性率为 27.14%。经统计学分析，男性 HIV/AIDS 患者和女性 HIV/AIDS 患者 EBV- DNA 的外周血阳性检出率差异无统计学意义 ( $\chi^2=1.1682$  , $P>0.05$ ) ,见表 1。

表 1 HIV/AIDS 男、女性患者 EBV- DNA 检出率的比较  
Table 1 comparison of EBV- DNA detection rates in maleand female HIV/AIDS cases

性别 Sex	EBV DNA 结果		合计	阳性率(%)
	阳性(例)	阴性(例)		
	No.positive	No.negative		Total Positive rate(%)
男性 Male HIV/AIDS	64	123	187	34.22
女性 Female HIV/AIDS	19	51	70	24.17
合计 Total	83	174	257	32.30

2.3 门诊与住院 HIV/AIDS 患者 EBV- DNA 检出情况 166 例门诊 HIV/AIDS 患者中外周血中检出 EBV- DNA 阳性 43 例，阳性率为 25.90% ,91 例住院 AIDS 患者外周血中检出 EBV- DNA 阳性 40 例，阳性率为 43.96%。经统计学分析 ,住院 AIDS 患者EBV- DNA 的外周血阳性检出率明显高于门诊 HIV/AIDS 患者

( $\chi^2=8.7605$  , $P<0.005$ ) ,见表 2。

表 2 HIV/AIDS 门诊、住院患者合并感染 EB 病毒的阳性率分析  
Table 2 Positive rates of HIV/AIDS inpatients and outpatients comlicated with EB

类别 Type	EBV DNA 结果		合计	阳性率(%)
	阳性(例)	阴性(例)		
	No.positive	No.negative		Total Positive rate(%)
门诊 HIV/AIDS(Outpatient)	43	123	166	25.90
住院 HIV/AIDS(Inpatient)	40	51	91	43.96
合计 Total	83	174	257	32.30

3 讨论

人类免疫缺陷病毒 (HIV) 感染者因 HIV 侵犯 CD4 T 细胞、CD4 单核细胞和 B 淋巴细胞导致免疫功能缺损 ,在长期免疫缺陷状态下 ,机体免疫系统的监控功能下降 ,容易导致病毒感染和肿瘤发生<sup>[1]</sup>。因此 ,世界卫生组织(WHO)将卡波济肉瘤、侵入性宫颈癌、非何杰金淋巴瘤作为艾滋病病程分期和定义为 HIV/AIDS 病人的重要依据。EB 病毒在普通人群中具有高感染率 ,是非何杰金淋巴瘤的病原体<sup>[2]</sup> ,也是鼻咽癌和霍奇金淋巴瘤的主要病原体 ,后两者亦常见于长期严重免疫缺陷者。在免疫功能正常的个体 ,由于 EBV 特异性细胞免疫功能的免疫监视作用 ,EBV 并不会大量复制导致疾病。但在 HIV/AIDS 患者中 ,由于细胞免疫功能受损后 ,EBV 复制可加速<sup>[3]</sup>。

目前来说 ,高效抗逆转录病毒治疗(HAART)是预防 HIV 感染者机会性感染的最好的策略<sup>[4]</sup>。应用 HAART 后 ,HIV 感染者的 EBV 相关的恶性肿瘤发生率明显降低 ,口腔毛状白斑病的发病也有所减少。长期的 HAART 导致 HIV 和疱疹病毒特异性 CD4+T 淋巴细胞增殖能力增强 ,使得 HIV 感染者机体抗病毒免疫反应普遍提高。但据荷兰学者 Stevens 博士等人报道 ,HAART 不会降低 HIV 感染者体内的 EBV 水平<sup>[2]</sup>。本研究对 257 例 HIV/AIDS 患者外周血 EBV 的检测中 ,EB 阳性 83 例 ,复合感染率为 32.30% ,这充分说明 HIV/AIDS 人群中混合感染 EBV 的患者具有相当的比例。从不同年龄段 HIV/AIDS 患者混合感染 EBV 情况来看 ,EBV 阳性的 HIV/AIDS 患者年龄主要集中在 20 岁 ~50 岁之间。

本研究中门诊 HIV/AIDS 患者属 AIDS 早期 ,HIV 复制尚处较低水平 ,住院患者则处于 HIV/AIDS 中后期 ,多并发其他严重感染或机体功能损害。门诊患者合并感染 EB 病毒的阳性率为 25.90% ,住院患者阳性率为 43.96% ,住院艾滋病患者合并感染 EB 病毒的阳性率明显高于门诊 HIV/AIDS 患者 ,差异有统计学意义 ,表明随 HIV/AIDS 病情加重 ,HIV/AIDS 患者体内

EBV 活动性加强,感染程度加重,而 EBV 感染会导致几乎涉及全身各个器官系统的疾病,这反过来又会进一步恶化病情,对艾滋病病程的发展起到推波助澜的作用,进入恶性循环。因此在对重症艾滋病患者的治疗中,需要非常重视 EBV 感染的相关治疗。

艾滋病病例及 HIV 感染者近年来上升较快,无论艾滋病病例还是 HIV 感染者都是以男性为主,尤其是 HIV 感染者中,十年累计数量男性是女性的 4 倍之多,据孙希凤、陈永锋等人的研究结果显示,男性是艾滋病感染的重点人群<sup>[5]</sup>,从本研究中收集的 257 例 HIV/AIDS 患者资料来看,男性也占主要比例(男 187 例,女 70 例)。在 EB 病毒感染情况的相关报道中,普通人群男性感染率高于女性<sup>[6]</sup>。本研究中 187 例男性患者 EB 病毒阳性率为 34.22%,70 例女性患者 EB 病毒阳性率为 27.14%,男性患者高于女性患者,但不同性别艾滋病患者间 EBV 检出率差异无统计学意义( $\chi^2=1.1682$   $P>0.05$ ),尚不能认为男性艾滋病患者 EBV 检出率高于女性艾滋病患者。可能是不同性别艾滋病患者间 EBV 感染率本身并无多大差异,或者在扩大样本统计量之后能得出更为精确的有差异的统计学数据,这有待进一步研究。

EBV 感染所致疾病非常广泛,几乎涉及全身各个器官系统,其感染方式为细胞溶解性感染和潜伏性感染,在临床可表现为急性或慢性感染。据研究表明,EB 病毒与先天性和获得性免疫缺陷患者的 B 细胞淋巴瘤、艾滋病患者的中枢神经系统淋巴瘤以及接受同种异体移植者的鼻咽部 T 细胞瘤相关。HIV 与 EBV 均会侵袭淋巴细胞,有临床数据表明艾滋病患者对 EBV 的易感性大大增加,其感染率远高于普通人群。大多数 HIV 感染的成年人存在 EB 病毒潜伏感染,由于 HIV 感染者的免疫功能缺陷使得 EBV 再活化频繁,可以导致一些特征性的机会性感染和恶性肿瘤。给 HIV 感染者的生存期的延长和生存质量带来了严重威胁,同时也给 HIV 感染的治疗增加了复杂性。国外对于 HIV 感染者 EBV 再活化以及 EBV 相关性疾病和 HAART 对 EBV 再活化的影响研究较多,而国内由于 HIV 相关的研究起步较晚,所以这方面的相关研究也很少。国外的研究发现 HIV-1 感染者比 HIV-1 未感染的健康志愿者血中可检测的 EBV DNA 明显增多<sup>[7]</sup>,这与本研究的结果一致。

全球 90%以上的人受过 EB 病毒的感染<sup>[8]</sup>。而本研究结果显示 HIV/AIDS 患者外周血 EBV 检出率仅

为 32.30%,分析原因,因前者 EBV 感染率分析采用 ELISA 法检测 EBV 衣壳抗原 IgM 和或 IgG 两种抗体,EBV IgM 抗体升高提示近期感染或病毒持续活动状态,EBV IgG 可终身存在,轻度升高表示既往感染,如异常高滴度则提示慢性活动性 EBV 感染。本研究采用实时荧光定量 PCR 技术定量检测外周血白细胞 EBV-DNA 载量,灵敏度更高,且不需扩增后处理,具有快速、准确、不易被污染的特点,真正实现了实时定量,更能体现艾滋病患者体内 EBV 现症感染状况,可为临床明确诊断、合理治疗提供更有价值的依据,同时也为研究外周血 EBV-DNA 水平与 HIV 的关系提供了更可信的手段。

#### 参考文献:

- [1] Yao EG. AIDS-associated tumors [J]. J Leukemia Lymphoma, 2004,13(4): 241-243. (In Chinese)  
(姚儿固. 艾滋病相关性肿瘤 [J]. 白血淋巴瘤杂志, 2004,13(4): 241-243).
- [2] Stevens SJ, Blank BS, Smits PH, et al. High Epstein-Barr virus (EBV) DNA loads in HIV-infected patients: correlation with antiretroviral therapy and quantitative EBV Serology [J]. AIDS, 2002,16(7): 993-1001.
- [3] Legoff J, Amiel C, Calissonni O, et al. Early impairment of CD8+ T cells immune response against Epstein-Barr virus (EBV) antigens associated with high level of circulating mononuclear EBV DNA load in HIV infection [J]. J Clin Immunol, 2004,24(2): 125-134.
- [4] Berenguer J, Laguna F, Lopez-Aldeguer J, et al. Prevention of opportunistic infections in adult and adolescent patients with HIV infection, GESID A/National AIDS Plan guidelines, 2004 [correction] [J]. Enferm Infecc Microbiol Clin, 2004,22(3): 160-176.
- [5] Sun XF, Chen YF, Chen WJ, et al. Analysis of characteristics of 2959 AIDS cases and HIV positives [J]. Jiongnan J Dermat STD, 2008,15(5): 302-304. (In Chinese)  
(孙希凤, 陈永锋, 陈文静, 等. 2959 例艾滋病病人及 HIV 感染者特征分析及探讨 [J]. 岭南皮肤性病杂志, 2008,15(5): 302-304.)
- [6] Yi SH, Su YY, Zhang GL. Analysis of detection of EB virus infection and the diseases associated with EB virus infection [J]. Chin J Quarantine Insp, 2009,19(1): 26-27. (In Chinese)  
(易世红, 苏盈盈, 张国梁. EB 病毒检测及 EB 病毒感染相关疾病的分析 [J]. 中国卫生检验杂志, 2009,19(1): 26-27.)
- [7] Amiel C, Legoff J, Lescure FX, et al. Epstein-Barr virus load in whole blood correlates with HIV surrogate markers and lymphoma in a French national cross-sectional study [J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2009 Apr 1,50(4): 427-429.
- [8] Cohen JL. Epstein-Barr Virus infection [J]. N Engl J Med, 2000,343(7): 481-492.

收稿日期: 2011-12-08 编辑: 崔宜庆