

安徽省安庆地区卡波肉瘤相关疱疹病毒感染的危险因素分析

段 强¹, 张 莹², 曾宪聪², 汪小五², 吴 悦², 杜爱能², 刘璐璐², 陈 振², 刘淑均³, 李 进⁴, 王林定²

摘要 目的 探讨安徽省安庆地区卡波肉瘤相关疱疹病毒(KSHV)在普通人群中的感染情况,并初步分析KSHV感染的危险因素。方法 选择KSHV ORF65、ORF73和K8.1编码的病毒蛋白为抗原,采用酶联免疫法对1 006份普通健康人群血清进行KSHV抗体检测。结果 在检测的1 006份血样中,KSHV抗体的总阳性率为5.3%,其中男性为5.6%,女性为5.5%。KSHV感染率与梅毒感染有显著相关性,但是其与年龄、性别、血型及乙肝五项间无明显相关性。结论 中国安徽安庆地区的普通健康人群KSHV的感染率较低,其中KSHV的感染率与性病梅毒感染具有显著相关性。

关键词 卡波肉瘤相关疱疹病毒;血清阳性率;危险因素

中图分类号 R 373.4

文献标志码 A **文章编号** 1000-1492(2014)01-0044-04

卡波肉瘤相关疱疹病毒(Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus, KSHV)又称人类疱疹病毒8型(HHV-8),最早是Iscovich et al^[1-2]用代表性差异分析法在艾滋病患者并发的卡波肉瘤(Kaposi's sarcoma, KS)组织中发现。此后国际上对KSHV展开了大量的研究,多数研究^[3-4]表明KSHV是威胁人类生命的几种疾病(包括KS在内)的主要病原体因子,证明了其传播模式可能随病毒流行地或散发地的不同而变化。目前,我国的KSHV研究刚刚起步,流行病学的研究数据较少,有关KSHV传播途径、好发人群和与其他疾病共感染机制研究尚未见报道。现有研究^[5]显示新疆地区典型KS的发病率较高,而其他地区和民族的KS病例则比较罕见。该研究集中对安徽南部安庆地区普通人群进行了KSHV感

染的血清学调查,以期进一步了解KSHV在中国汉族正常人群中的流行与分布情况。

1 材料与方法

1.1 研究对象 收集2012年7月~12月安徽省安庆市各医院健康人群1 006份血清样品。调查人群年龄3~93(46.0±8.2)岁。KS患者血清和KS阴性血清由安徽医科大学微生物学教研室保存。样品于-80℃冰箱保存。

1.2 主要试剂 KSHV ORF65基因编码的衣壳重组蛋白、K8.1基因编码的裂解期糖蛋白、ORF73基因编码的潜伏期相关核抗原LANA为安徽医科大学微生物学教研室制备;碱性磷酸酶(AP)标记山羊抗人IgG抗体、辣根过氧化物酶标记(HRP)标记山羊抗人IgG抗体购自北京中杉金桥生物技术有限公司;山羊血清购自武汉博士德生物工程有限公司;对磷酸硝基苯酚(p-NPP)购自武汉凌飞科技公司;其他药品试剂均为国产分析纯。

1.3 方法

1.3.1 酶联免疫血清学分析法(ELISA法)检测KSHV血清 采用ELISA法检测KSHV裂解期蛋白ORF65、潜伏期蛋白LANA和K8.1的蛋白的抗体,抗原附加6×His标签在原核细胞中重组表达纯化并应用于ELISA法检测,具体操作如下:纯化的重组蛋白ORF65、ORF73和K8.1分别以0.05 mol/L的碳酸盐缓冲液(pH 9.6)稀释到1 ng/μl,包被到96孔ELISA微孔反应板中,每孔50 μl,酶标板4℃包被过夜。次日用PBS-T(0.05% Tween-20,下同)洗板5次后,每孔加入250 μl含5%脱脂奶粉、1%山羊血清的PBST溶液,37℃封闭1 h, PBS-T洗板5次后,每孔加入50 μl以封闭液稀释的待检测血清样品以及阳性对照与阴性对照血清,血清按1:100比例稀释,37℃孵育1 h, PBS-T洗板5次后,每孔按1:2 000加入二抗AP标记的羊抗人IgG 50 μl,37℃孵育1 h,洗板甩干后,每孔加入50 μl 1 mg/ml显色液p-NPP,37℃显色30 min后加入50 μl 3 mol/L NaOH终止显色,405 nm处检测吸光度(OD)值。对照和检测样品设3次重复。初次筛选的阳性样本按上述方法分别进行重复鉴定。

2013-08-13 接收

基金项目:国家自然科学基金(编号:81271837);安徽省教育厅自然科学基金(编号:KJ2012A161);安徽医科大学博士科研经费资助项目(编号:XJ200914)

作者单位:¹安庆市第一人民医院输血科,安庆 246003

²安徽医科大学微生物学教研室,合肥 230032

³安徽医科大学第一附属医院输血科,合肥 230022

⁴合肥市蜀山区疾病预防控制中心检验科,合肥 230039

作者简介:段 强,男,主管检验师;

王林定,男,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: wanglinding@ahmu.edu.cn

1.3.2 结果判定 以阴性对照样品 OD 值平均值加上 5 倍标准差(standard deviation, STD) 作为 Cut-Off 值。待测样品 OD 值高于 Cut-Off 值则判定为阳性。3 次检测中任意一个相应抗体阳性则判定为 KSHV 血清阳性^[6]。

1.4 统计学处理 采用 SPSS 16.0 软件进行处理,对 KSHV 抗体存在的不同独立的危险因素进行了单因素和多因素 Logistic 回归分析,以优势比表示各因素与 KSHV 血清阳性率之间的相关性(95% CI),其中 OR 值越大感染 KSHV 的危险性越大。

2 结果

2.1 安庆地区普通人群 KSHV 血清阳性率 安庆地区普通人群 KSHV 感染的总血清阳性率为 5.3%。

2.2 检验结果的单变量分析 女性中 KSHV 抗体阳性者有 21 例(5.5%),男性 KSHV 抗体阳性 28 例(5.6%);男性 KSHV 阳性率略高于女性,差异无统计学意义($P = 0.626$)。对不同年龄段 KSHV 感染情况的分析表明,在该地区 KSHV 血清阳性率与年龄增长无相关性。A、B、AB、O 4 种血型中 KSHV 的血清阳性率为 6.61%、3.47%、0 和 4.64%,4 种血型均与 KSHV 感染无明显相关性。另外 8 例梅毒患者中 KSHV 阳性 2 例,阳性率为 25%,且梅毒的感染与 KSHV 的感染间差异有显著性($P = 0.030$, 95% CI: 1.193 ~ 30.747)。乙肝五项中各项阳性率与 KSHV 感染也无明显相关性。

2.3 检验结果的多变量分析 进一步将性别、年龄、血型、梅毒感染和乙肝五项作为多个变量与 KSHV 感染率作多因素分析,发现结果与单变量分析结果相似,即 KSHV 的感染与性别、年龄、血型及乙肝五项间无明显相关性,但是与梅毒感染间具有显著相关性($P = 0.023$, 95% CI: 1.323 ~ 43.783),其 OR 值为 5.066,表明梅毒患者感染 KSHV 的概率是健康人群的 5.066 倍,见表 2。

3 讨论

KSHV 是一种新型疱疹病毒,归属于 γ 疱疹病毒亚科,为双链 DNA 病毒。KSHV 编码的 ORF65 蛋白是病毒衣壳蛋白,在 KSHV 6 种衣壳蛋白中与其它疱疹病毒同源性最低,基于 ORF65 的 ELISA 方法具有良好的特异性和灵敏度^[7]。病毒基因 ORF73 的产物潜伏期相关核抗原(latency-associated nuclear antigen, LANA) 是病毒潜伏周期中表达的主要蛋白,

表 1 安徽安庆地区普通人群 KSHV 感染的 Logistic 回归分析(单因素)

项目	KSHV 阳性例数 [n(%)]	P 值	OR 值	95% CI
性别				
女	21 (5.50)	-	1.000	-
男	28 (5.60)	0.626	1.156	0.646 ~ 2.06
年龄(岁)				
0 ~ 10	1 (11.10)	-	1.000	-
11 ~ 20	1 (3.85)	0.439	0.320	0.018 ~ 5.723
21 ~ 30	2 (3.03)	0.279	0.250	0.020 ~ 3.078
31 ~ 40	4 (4.65)	0.424	0.390	0.039 ~ 3.925
41 ~ 50	9 (5.06)	0.504	0.476	0.054 ~ 4.190
51 ~ 60	11 (6.63)	0.609	0.568	0.065 ~ 4.957
61 ~ 70	12 (6.70)	0.671	0.627	0.073 ~ 5.401
71 ~ 80	6 (4.67)	0.331	0.325	0.034 ~ 3.126
> 80	3 (8.11)	0.775	0.706	0.065 ~ 7.708
血型				
A	26 (6.61)	-	1.000	-
B	10 (4.44)	0.210	0.627	0.302 ~ 1.302
AB	0 (0)	0.997	0.000	0.000
O	18 (4.64)	0.102	0.594	0.318 ~ 1.108
梅毒				
阴性	52 (5.21)	-	1.000	-
阳性	2 (25)	0.030	6.058	1.193 ~ 30.747
乙肝“两对半”				
HBsAg	4 (7.02)	0.971	0.978	0.296 ~ 3.236
HBsAb	6 (5.50)	0.946	1.030	0.430 ~ 2.467
HBeAg	0 (0)	0.999	0.000	0.000
HBeAb	4 (7.02)	0.571	1.357	0.472 ~ 3.899
HBcAb	5 (6.68)	0.988	1.008	0.354 ~ 2.872

表 2 KSHV 感染的 Logistic 回归分析(多因素)

项目	B	Wald	P 值	OR 值 (95% CI)
性别	0.095	0.096	0.757	0.882 (0.604 ~ 1.999)
年龄	0.035	0.176	0.674	0.960 (0.879 ~ 1.221)
血型	0.203	2.910	0.088	1.225 (0.970 ~ 1.546)
血型				
B	-0.537	1.935	0.164	0.274 ~ 1.246
AB	-0.090	0	0.997	0.000
O	-0.557	2.712	0.1	0.295 ~ 1.112
梅毒	2.029	5.167	0.023	5.066 (1.323 ~ 43.783)
HBsAg	-0.090	0.008	0.927	0.966 (0.136 ~ 6.614)
HBsAb	-0.080	0.030	0.863	1.119 (0.373 ~ 2.285)
HBeAg	-18.561	0.000	0.999	-
HBeAb	1.932	1.323	0.250	0.169 (0.256 ~ 185.992)
HBcAb	-1.649	1.021	0.312	0.138 (0.024 ~ 0.778)

血型设计哑变量,设 A = 1; B = 2; AB = 3; O = 4; A 为参照

用以检测血清中针对潜伏期病毒的抗体^[8]。同时裂解期糖蛋白 K8.1 相比于潜伏期蛋白 LANA-1 具有更高的敏感性和更好的特异性^[9]。目前对于 KSHV 抗体阳性的检测尚无绝对的检测标准,本研究中分别用到了 KSHV 的 3 个抗原分别检测 KSHV 抗体阳性的情况,判定标准为任一抗体阳性即为

KSHV 抗体阳性,通过与任 2 个抗体阳性为 KSHV 抗体阳性的判定方法进行比较,发现两种结果对于影响 KSHV 抗体阳性的风险因子鉴定具有较高的一致性。由于 KSHV 感染人体后可能因潜伏或复制等生活周期的影响从而导致体内相应抗体水平出现差异,为更准确反映 KSHV 抗体阳性率,选择以单抗体阳性作为判定标准,同时这种判定标准也兼顾了流行病学的相关分析^[10]。

有研究^[2]表明,在很多地区的普通人群里面,KSHV 并没有普遍流行,普通人群 KSHV 感染的抗体阳性检出率存在极大的地域性差异,在北美和欧洲北部(KS 低发区)血清中 HHV-8 的检出率为 0~5%,在南部 Mediterranean 地区可高达 30%,而在热带非洲(KS 严重)甚至超过 50%。普通人群 KSHV 感染的抗体阳性检出率存在极大的地域性差异,这些差异因种族、民族的不同而不同。在中国,KS 的发生具有鲜明的地方民族特点,主要发生于新疆的维吾尔族和哈萨克族^[11]。

本研究显示 KSHV 在安徽安庆地区普通人群感染的抗体阳性率为 5.3%,表明 KSHV 在中国中部地区正常人群中有一定的分布。本研究调查安徽安庆地区血清 KSHV 抗体阳性率,结果显示 KSHV 的感染率与性别、年龄、血型和乙肝五项无显著相关性,提示它们均不是影响 KSHV 感染率的因素。在对于梅毒感染因素分析上发现,梅毒感染与 KSHV 抗体阳性率之间具有显著相关性,提示 KSHV 与梅毒可能具有类似的传播途径。而已有研究^[6,12-14]显示 KSHV 的感染和年龄、性别以及乙肝的感染具有明显的相关性。本研究可能由于血清样本较少,不排除样本量会在一定程度上影响统计学分析的准确性。因此本课题组将在已有的研究基础上扩大样本量并且对性病患者进行针对性研究,使本研究能够为进一步深入广泛地开展在中国不同地域、高危人群中 KSHV 的流行病学调查研究奠定基础。

参考文献

[1] Iscovich J, Boffetta P, Franceschi S, et al. Classic kaposi sarcoma: epidemiology and risk factors [J]. *Cancer*, 2000, 88(3): 500-17.

- [2] Dourmishev L A, Dourmishev A L, Palmeri D, et al. Molecular genetics of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (human herpesvirus 8): epidemiology and pathogenesis [J]. *Microbiol Mol Biol Rev*, 2003, 67(2): 175-212.
- [3] Baillargeon J, Deng J H, Hettler E, et al. Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus (KSHV) infection among blood donors from Texas [J]. *Ann Epidemiol*, 2001, 11(7): 512-8.
- [4] Baillargeon J, Leach C T, Deng J H, et al. High prevalence of human herpesvirus 8 (HHV-8) infection in South Texas children [J]. *J Med Virol*, 2002, 67(4): 524-8.
- [5] Dilnur P, Katano H, Wang Z H, et al. Classic type of Kaposi's sarcoma and human herpesvirus 8 infection in Xinjiang, China [J]. *Pathol Int*, 2001, 51(11): 845-52.
- [6] Fu B, Yang R, Xia F, et al. Gender differences in Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection in a population with schistosomiasis in rural China [J]. *Jpn J Infect Dis*, 2012, 65(4): 350-3.
- [7] Fu B, Li B, Wang L. Immunogenicity analysis of prokaryotic expression products of Kaposi's sarcoma associated herpesvirus orf65 [J]. *Virol Sin*, 2008, 23(3): 196-202.
- [8] Ouyang X X, Fu B S, Li B L, et al. Establishment of an ELISA to detect Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus using recombinant ORF73 [J]. *Virol Sin*, 2010, 25(3): 168-76.
- [9] Fu Bi, Li B, Ouyang X, et al. Expression of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus ORF8.1 and its preliminary diagnostic application [J]. *Virol Sin*, 2009, 24(3): 202-8.
- [10] Fu B, Sun F, Li B, et al. Seroprevalence of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus and risk factors in Xinjiang, China [J]. *J Med Virol*, 2009, 81(8): 1422-31.
- [11] Wang G Q, Xu H, Wang Y K, et al. Higher prevalence of human herpesvirus 8 DNA sequence and specific IgG antibodies in patients with pemphigus in China [J]. *J Am Acad Dermatol*, 2005, 52(3): 460-7.
- [12] Wang H, Liu J, Dilimulati, et al. Seroprevalence and risk factors of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection among the general Uyghur population from south and north region of Xinjiang, China [J]. *Virol J*, 2011, 8: 539.
- [13] Wakeham K, Webb E L, Sebina I, et al. Risk factors for seropositivity to Kaposi's sarcoma associated herpesvirus (KSHV) among children in Uganda [J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2013, 63(2): 228-33.
- [14] Xie Y, Ruan B, Chen Y, et al. Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus infection in Chinese patients with chronic hepatitis B [J]. *J Med Virol*, 2011, 83(5): 879-83.

合肥地区唐氏综合征筛查中位数方程的研究

许晓红¹, 刘 辉¹, 黄大雁¹, 李子贤¹, 邓松华²

摘要 目的 以数据分析软件拟合合肥地区孕中期母血清标志物中位数方程,并评价新方程的效果。方法 取合肥地区 33 638 例孕妇的产前筛查数据,以 SPSS 17.0 拟合新中位数方程,比较新中位数与 2T-Risk 软件内嵌中位数,计算风险结果,比较筛查效率。结果 新中位数方程与内嵌中位数有差异,更换中位数后,筛查效率提高。结论 用数据分析软件拟合本实验室中位数方程可以提高筛查效率,此中位数方程对合肥地区产前筛查有指导意义。

关键词 产前筛查; 甲胎蛋白; 游离 β -人绒毛膜促性腺激素; 中位数

中图分类号 R 714.55

文献标志码 A 文章编号 1000-1492(2014)01-0047-04

唐氏综合征又称 21 三体综合征或先天愚型,是

一种常见的染色体病,活婴中发生率约 1/600 ~ 1/800。由于是染色体疾病,因此目前尚无有效的治疗手段。唐氏综合征可以导致患儿智力低下,生活不能自理,并可能导致多发畸形,给家庭和社会带来极大负担。母血清中甲胎蛋白(α fetoprotein, AFP)和人绒毛膜促性腺激素(human chorionic gonadotropin, HCG)浓度是唐氏综合征筛查的指标之一^[1],结合孕周、体重、年龄等基本信息,由风险分析软件计算唐氏综合征风险,而筛查实验室检测结果的实际上中位数可能与风险分析软件的内置中位数有差异,该研究对 33 638 例筛查资料进行回顾性分析,采用数据分析软件 SPSS 17.0 统计中位数方程,建立合肥地区唐氏综合征筛查的中位数方程。

1 材料与方法

1.1 临床资料 自 2009 年 1 月 ~ 2012 年 6 月采集我院所有孕中期母血清标本,共 34 913 例,孕周 15 ~ 20⁺⁶周(孕龄 105 ~ 146 d),均为知情同意并接受产前筛查的单活胎妊娠,除去糖尿病、吸烟、双胎与出生结局异常者,对所有妊娠结局随访,其中 3% 失访,最终纳入统计共 33 638 例。

2013-10-12 接收

基金项目:安徽省教育厅自然科学重点科研项目(编号:KJ2010A177);合肥市科技局科研项目(编号:201231);合肥市医学重点学科建设计划资助

作者单位:¹安徽省妇幼保健院检验科,合肥 230001

²安徽医科大学病理生理学教研室,合肥 230032

作者简介:许晓红,女,主任检验师;

邓松华,男,教授,硕士生导师,责任作者,E-mail: desoh@126.com

Seroprevalence and risk factor of Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus in Anqing, Anhui province

Duan Qiang¹, Zhang Ying², Zeng Xiancong², et al

(¹Dept of Blood Transfusion, The First People's Hospital of Anqing City, Anqing 246003;

²Dept of Microbiology, Anhui Medical University, Hefei 230032)

Abstract Objective To obtain KSHV seroprevalence in the general population in Anqing, Anhui province.

Methods In this study, antibodies to one latent protein of KSHV (ORF73) and two KSHV lytic proteins (ORF65 and ORF-K8.1) were tested by ELISA. **Results** Of the 1 006 subjects, the seroprevalence of KSHV in the general population was 5.3%, and similar in male and female subjects (5.6% vs 5.5%). Statistical analysis showed that seroprevalence of KSHV had a significant association with Syphilis, but it had no differences in the age, sex, blood type and hepatitis B antigen. **Conclusion** These results indicate that the seroprevalence of KSHV is low in the south of Anhui Province. The seroprevalence of KSHV has a significant difference between Syphilis.

Key words Kaposi's sarcoma-associated herpesvirus; seroprevalence; risk factor