

影响 SARS 患者血特异性 IgG 抗体产生的因素

陆海英, 霍娜, 王广发, 李海潮, 聂立功, 阙呈立, 李杰, 李永华, 高晓明, 赵振东, 庄辉, 徐小元

陆海英, 霍娜, 徐小元, 北京大学第一医院感染疾病科 北京市 100034
王广发, 李海潮, 聂立功, 阙呈立, 北京大学第一医院呼吸科 北京市 100034
李杰, 李永华, 高晓明, 赵振东, 庄辉, 北京大学医学部 北京市 100083
国家自然科学基金资助项目, No. 30340030
项目负责人: 徐小元, 100034, 北京市西城区西什库大街 8 号, 北京大学第一医院感染疾病科. yangpin@public3.bta.net.cn
电话: 010-66515315
收稿日期: 2003-09-06 接受日期: 2003-10-07

Influence of factors on production of IgG antibody in SARS patients

Hai-Ying Lu, Na Huo, Guang-Fa Wang, Hai-Chao Li, Li-Gong Nie, Cheng-Li Que, Jie Li, Yong-Hua Li, Xiao-Ming Gao, Zhen-Dong Zhao, Hui Zhuang, Xiao-Yuan Xu

Hai-Ying Lu, Na Huo, Xiao-Yuan Xu, Department of Infectious Disease, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China
Guang-Fa Wang, Hai-Chao Li, Li-Gong Nie, Cheng-Li Que, Department of Respiratory Disease, Peking University First Hospital, Beijing 100034, China
Jie Li, Yong-Hua Li, Xiao-Ming Gao, Zhen-Dong Zhao, Hui Zhuang, Peking University Science Health Centre, Beijing 100083, China
Supported by the National Natural Science Foundation of China, No. 30340030
Correspondence to: Xiao-Yuan Xu, Department of Infectious Disease, Peking University First Hospital, 8 Xishiku Road, Beijing 100034, China. yangpin@public3.bta.net.cn
Received: 2003-09-06 Accepted: 2003-10-07

Abstract

AIM: To study the affecting factors on the production of antibodies in SARS patients.

METHODS: In a total of 104 clinically diagnosed SARS patients, the relations among IgG antibody titer, patients age, duration and the dosage of corticosteroids therapy were investigated.

RESULTS: Eighty-three (79.8%) patients were positive for SARS-Cov antibody. The range of time for the occurrence of the antibody was 8 to 32 days; the percentage for the occurrence of the antibody in the periods of 0-7, 8-14, 22-28, 29-35, 36-42, 43-56 and 57-63 d were 0, 50% (21/42, 63.6%) 42/62, 73.3% (44/60), 88.1% (37/42), 81% (17/21), 92.6% (25/27) and 50% (2/4) respectively. The titer of antibody also increased from 0.14 ± 0.05 in 0-7 d to 0.69 ± 0.10 (43-56 d) and started to reduce after 8 wk. The positive percentage and titers of antibody grew when the dosage of corticosteroids was added. The positive percentage of antibody in severe patients and mild patients were 95.7% (22/23) and 75.3% (61/81) respectively, and the titers of antibody in the severe patients were higher than that of the mild patients ($P > 0.05$) and the same change was also found between 19-14 age group and 46-52 age group.

CONCLUSION: 79.8% of SARS patients are positive for SARS-Cov antibody. The positive percentage and the titer

of antibody grow gradually while the duration prolongs, but declines after 8 wk. It is positively related to the clinical condition, but not affected by the dosage of corticosteroids and the age of the patient.

Lu HY, Huo N, Wang GF, Li HC, Nie LG, Que CL, Li J, Li YH, Gao XM, Zhao ZD, Zhuang H, Xu XY. Influence of factors on production of IgG antibody in SARS patients. *Shijie Huaren Xiaohua Zazhi* 2004;12(3):723-725

摘要

目的: 了解影响 SARS-Cov IgG 抗体产生的因素。

方法: 对临床诊断为 SARS 的 104 例患者的 269 份血清进行 SARS-Cov IgG 抗体的动态检测, 分析病程、病情、年龄及激素治疗与抗体产生的关系。

结果: 104 例 SARS 患者血清 SARS-Cov IgG 抗体总阳性率为 79.8% (83/104), 抗体最早出现时间在病日 8 d, 最晚 32 d 呈阳性反应。病程 0-7 d, 8-14 d, 22-28 d, 29-35 d, 36-42 d, 43-56 d 和 57-63 d 抗体的阳转率分别为 0 (0/7)、50% (21/42)、63.6% (42/62)、73.3% (44/60)、88.1% (37/42)、81% (17/21)、92.6% (25/27) 和 50% (2/4); 抗体的滴度从 0-7 d 的 0.14 ± 0.05 上升至 43-56 d 的 0.69 ± 0.10 ($P < 0.05$), 但 8 wk 后抗体滴度开始下降。重度 SARS 患者抗体总阳性例数比为 95.7% (22/23); 普通患者为 75.3% (61/81), $P > 0.05$, 其抗体阳转时间稍早于普通组 (分别为 19.1 ± 6.8 d 和 22.0 ± 8.4 d, $P = 0.886$), 滴度也稍高于普通组 (分别为 0.63 ± 0.28 和 0.50 ± 0.25 , $P = 0.276$)。抗体阳性患者平均年龄与阴性患者的相近 (分别为 31.4 ± 8.3 岁和 32.2 ± 9.5 岁), 在 19-35 岁和 46-53 岁年龄段的 SARS 患者在病程的 3 wk 和 4 wk 时抗体的滴度相近。大剂量糖皮质激素治疗组患者血清抗体阳性率及滴度高于小剂量组 ($P < 0.05$)。

结论: SARS 患者血清 SARS-Cov IgG 抗体总阳性率为 79.8%; 抗体阳性率及滴度随病程的延长而逐渐升高, 但 8 wk 后呈下降趋势; 血清 SARS-Cov IgG 抗体的产生可能不受年龄的影响, 而与病情的轻重有关, 大剂量激素治疗组患者的抗体滴度仍维持较高水平。

陆海英, 霍娜, 王广发, 李海潮, 聂立功, 阙呈立, 李杰, 李永华, 高晓明, 赵振东, 庄辉, 徐小元. 影响 SARS 患者血特异性 IgG 抗体产生的因素. 世界华人消化杂志 2004;12(3):723-725

<http://www.wjgnet.com/1009-3079/12/723.asp>

0 引言

SARS 是一种急性呼吸道传染病, 病原体为一种新型的冠状病毒^[1-7], 临床以急性呼吸功能障碍为主要表

现,病情进展迅速,有一定的死亡率.发病机制目前未十分明确,机体感染SARS病毒后产生SARS-Cov抗体的时间及其对SARS临床诊断的作用还不很清楚,为此我们对临床诊断为SARS的104例患者血浆进行了SARS-Cov特异性IgG抗体的动态检测,以了解抗体产生的规律及其临床意义.

1 材料和方法

1.1 材料 2003-04/06 我院收治SARS患者104例,诊断符合中国疾病预防控制中心2003-04-18公布的诊断标准.年龄12-53(31.5 ± 9.7岁),男38例,女66例.按《北京市非典型肺炎病例的临床诊断标准(试行)》普通患者81例(77.9%),重度患者23例(22.1%),两组年龄分别为12-53(31.8 ± 9.1岁)和24-49(34.7 ± 8.9岁)($P > 0.05$);普通组男31例(38.3%),女50例(61.7%);重度组男9例(39.1%),女14例(60.8%),死亡1例为男性45岁;两组患者在性别上无显著性差异($P = 0.952$),女性高于男性与本病房收治的是以女性为主体的医护人员(65例)有关.使用甲泼尼龙:普通组每日1.5-6 mg/kg,重型组每日10-15 mg/kg,激素最大剂量冲击治疗3 d后减半量,然后每隔3-4 d按现剂量的1/4逐渐减量.200名无SARS接触史的健康志愿者为阴性对照组,年龄为17-56(36.7 ± 7.8岁).

1.2 方法 患者入院后次日取血检测SARS-Cov IgG抗体滴度,以后每5-7 d复查一次抗体,每例患者检测抗体2-5次,共269人份血浆样本.200名无SARS接触史的健康志愿者的血清标本作为阴性对照.抗体检测试剂盒由北京华达公司提供.人肝素化血浆中SARS病毒抗体ELISA法检测在生物安全柜内进行.检测原理是包被在微孔板上的纯化SARS病毒全病毒裂解液抗原和血浆中SARS病毒抗体结合,然后加入辣根过氧化物酶标记的抗人IgG工作液,通过四甲基联苯胺显色来测定SARS冠状病毒抗体.每次实验设空白对照和阳性对照各一孔,阴性对照二孔.空白孔不加液体,阴阳性对照直接取50 μL加入反应孔内,其余检测孔先加入样品稀释液100 μL,再加入样品10 μL,混匀后37 °C温育30 min.用洗板液清洗板孔,重复5次,拍干.除空白孔外每孔加入酶标工作液100 μL,37 °C反应20 min.洗板后加入底物A, B液各50 μL,37 °C避光温育10 min.显色完毕后,每孔加入终止液50 μL终止反应,以空白孔调零,置酶标仪450 nm波长下测A值. A值大于或等于0.18为阳性.

统计学方法 应用SPSS10.0软件进行多组和两组间的秩和检验及 χ^2 检验.

2 结果

2.1 抗体检测结果 无SARS接触史的健康志愿者200名的血浆抗SARS病毒抗体(IgG)检测结果均为阴性.104例临床诊断为SARS患者中SARS-Cov IgG抗体呈阳性反应

83例(79.8%),男、女分别为28例(33.7%)和55例(66.3%);抗体阴性21例中男占8例(38.1%),女13例(61.9%),两组在性别和年龄上无显著的统计学差异($P = 0.465$).抗体阳性患者年龄为12-53(31.4 ± 8.3岁);阴性患者为19-50(32.2 ± 9.5岁)(表1).

表1 SARS患者年龄与抗体滴度的关系(mean±SD, A)

年龄(岁)	n	重度	2 wk	3 wk	4 wk
19-35	24	8 (33.3%)	0.33 ± 0.29	0.66 ± 0.30	0.74 ± 0.31
36-45	8	2 (25.0%)	0.30 ± 0.16	0.42 ± 0.24	0.46 ± 0.22
46-52	7	3 (42.8%)	0.55 ± 0.31	0.59 ± 0.30	0.71 ± 0.32

在83例抗体阳性的患者中,SARS-Cov IgG抗体呈阳性的时间为发病日后8-32(20.0 ± 7.7 d),血浆抗体总阳性率和滴度均随病程的延长而逐渐升高($P < 0.05$,表2),但8 wk后抗体滴度呈下降趋势.

表2 SARS患者SARS-Cov IgG抗体阳性率与病程的关系

分组	病程(d)	n	阳性	阳性率	A均值
1	0-7	7	0	0.0%	0.14 ± 0.05
2	8-14	42	21	50.0%	0.33 ± 0.32
3	15-21	66	42 ^a	63.6%	0.36 ± 0.33 ^d
4	22-28	60	44 ^b	73.3%	0.48 ± 0.38 ^{cd}
5	29-35	42	37 ^a	88.1%	0.64 ± 0.34 ^b
6	36-42	21	17	81.0%	0.65 ± 0.42 ^b
7	43-56	27	25	92.6%	0.69 ± 0.10 ^b
8	57-63	4	2	50.0%	0.50 ± 0.01

^a $P < 0.05$, ^b $P < 0.01$ vs 2组; ^c $P < 0.05$, ^d $P < 0.01$ vs 5, 6, 7组.

2.2 抗体与病情的关系 重度SARS患者23例,抗体阳性为22例(95.7%);普通患者81例,抗体阳性为61例(75.3%), $P > 0.05$.重度患者出现抗体阳转时间(19.1 ± 6.8 d)稍早于普通组(22.0 ± 8.4 d, $P = 0.886$),抗体阳转时的滴度(0.63 ± 0.28)也稍高于普通组(0.50 ± 0.25, $P = 0.276$).重度患者病程2、3及4 wk血浆抗体滴度均稍高于普通组,但差异无显著性($P > 0.05$,表3).

表3 SARS患者血清抗体滴度与病情及病程的关系(mean±SD, A)

分组	n	病程 2 wk	病程 3 wk	病程 4 wk
普通组	24	0.33 ± 0.21	0.55 ± 0.29	0.69 ± 0.29
重度组	15	0.41 ± 0.30	0.74 ± 0.39	0.75 ± 0.29

2.3 抗体与甲泼尼龙治疗的关系 42例使用甲泼尼龙治疗的SARS患者中,大剂量组患者血浆抗体阳性例数大于小剂量组,抗体滴度在病程的3和4 wk的情况也类似($P < 0.05$,具体数值见表4).

表 4 SARS 患者血清抗体与甲泼尼龙治疗的关系

分组	激素量 mg/d	n	病程 2 wk		病程 3 wk		病程 4 wk	
			抗体阳性	抗体 A 值	抗体阳性	抗体 A 值	抗体阳性	抗体 A 值
1	80	6	3 (50.0%)	0.37 ± 0.24	3 (50.0%)	0.35 ± 0.20	3 (50.0%)	0.40 ± 0.21 ^{ad}
2	160-							
	320	16	7 (43.6%)	0.25 ± 0.21	11 (68.8%)	0.35 ± 0.23	12 (75.0%)	0.51 ± 0.21 ^b
3	400-							
	500	15	12 (80.0%)	0.36 ± 0.24	14 (93.3%)	0.50 ± 0.19	15 (100%)	0.61 ± 0.25 ^{ab}
4	800	5	4 (80.0%)	0.33 ± 0.24	5 (100%)	0.58 ± 0.20	5 (100%)	0.86 ± 0.19

^aP < 0.05 vs 2 组; ^bP < 0.01 vs 4 组; ^dP < 0.01 vs 3, 4 组

3 讨论

目前 SARS 病毒的检测可采用 PCR 法直接检测病毒 RNA, 或 IFA 和 ELISA 法检测患者血中抗 SARS 病毒 Ig 抗体. PCR 法有好的特异性, 但血清中抗体阳性率仅有 10%, 血浆为 20%, 因此阴性结果不能排除 SARS 病毒的感染, 而且可因样品的污染出现假阳性结果. IFA (荧光免疫法) 可用于 SARS 病例血清中的 IgM 和 IgG 抗体的测定, 需要借助于荧光免疫显微镜进行测定. ELISA (酶联免疫黏附分析) 用于 SARS 病例的血清中的 Ig 抗体的测定, 简便快速, 目前国内已有商品试剂盒投入使用. 中科院^[8]用 ELISA 对 64 例 SARS 患者血样进行了 IgM 和 IgG 抗体的检测, 结果发现临床确诊的 SARS 患者发病后 0-7 d、8-10 d、11-14 d 和大于或等于 15 d 血清 IgG 抗体的阳性率分别为 10%、42%、90% 和 94%, 总阳性率为 70.3%; IgM 抗体的总阳性率为 51.6%, 而且各病程 IgM 抗体阳性率均比 IgG 抗体阳性率低. IgM 抗体阳性率低可能与方法学还不够完善等因素有关. 我们对 104 例 SARS 患者的临床资料与 SARS 患者 SARS-Cov 特异 IgG 抗体的情况进行了分析. 200 名无 SARS 接触史的健康志愿者血清 IgG 抗体均阴性, 表明本实验采用的检测试剂具有很好的特异性.

临床诊断 SARS 发病后 0-7 d、8-14 d、22-28 d、29-35 d、36-42 d、43-56 d 及 57-63 d 抗体的阳转率分别为 0、50%(21/42)、63.6%(42/62)、73.3%(44/60)、88.1%(37/42)、81%(17/21)、92.6%(25/27) 和 50%(2/4); 抗体的滴度从 0-7 d 的 0.14 ± 0.05 上升至 43-56 d 的 0.69 ± 0.10, 表明 SARS-Cov IgG 抗体阳转率和滴度与病程成正相关, 但 56 d 后抗体阳性率和滴度呈下降趋势. SARS-Cov IgG 抗体阳性的最早时间为发病后的 8 d, 早于 WHO 所公布的时间 (IFA 方法需发病后 10 d, ELISA 方法需 21 d), 但比中科院报告的抗体阳性率要低, 血清抗体出现阳转的时间要晚, 平均 20.0 ± 7.7 d, 有 1 例患者在 32 d 时才转呈阳性反应. 提示病程早期抗体阴性患者不能完全排除 SARS 的诊断, 对病程已满 5 wk 抗体阴性者, 如果没有明确的接触史, 则 SARS 可能性不很大, 此外还要考虑试剂盒的敏感性问题, 总之要结合临床及流行病学资料综合分析才能获得较确切的诊断, 有条件做 RT-PCR 检测 SARS-Cov RNA 更有助于 SARS 的诊断.

重度组 SARS 患者中抗体总阳性例数比 (95.7%) 高于

普通患者 (75.3%), 抗体阳转时间早于普通组, 抗体阳转时的滴度均值也稍高于普通组. 以上结果提示 SARS-Cov IgG 抗体与病情有一定的关系. 抗体阳性患者平均年龄与阴性患者的相近, 由此推测年龄对抗体的产生影响不大. 本资料所显示的抗体阳性率要低于中科院报告的抗体阳性率, 这是否与我们所观察的 SARS 患者使用糖皮质激素治疗有关? 因为激素除了有非特异的抗炎作用外, 对机体的免疫功能也有一定的抑制作用. 但我们发现大剂量激素组患者抗体的阳性例数比和滴度均大于小剂量激素组患者, 可能的原因有: (1) 激素对抗体的产生影响不大; (2) 重度患者病毒载量高, 抗体基线水平高, 虽然大剂量激素治疗可能一定程度上影响了抗体的产生, 但抗体的总体水平还是高于普通患者.

致谢: 北京大学第一医院非典医疗队全体工作人员在工作中给予的合作. 北京大学第一医院图书馆苗鸿才等老师所提供的有关 SARS 文献和资料. 张庆林、丁洁院长, 赵明辉教授及谢因、王平处长对该研究的支持和指导.

4 参考文献

- Nie QH, Luo XD, Zhang JJ, Su Q. Current status of severe acute respiratory syndrome in China. *World J Gastroenterol* 2003;9:1635-1645
- Zhang JZ. Severe acute respiratory of syndrome and its lesions in digestive system. *World J Gastroenterol* 2003;9:1135-1136
- Nie QH, Luo XD, Hui WL. Advances in clinical diagnosis and treatment of severe acute respiratory syndrome. *World J Gastroenterol* 2003;9:1139-1143
- 聂青和, 罗新栋, 惠武利. 一种新型传染病: 严重急性呼吸综合征. *世界华人消化杂志* 2003;11:881-887
- Peiris JS, Lai ST, Poon LL, Guan Y, Yam LY, Lim W, Nicholls J, Yee WK, Yan WW, Cheung MT, Cheng VC, Chan KH, Tsang DN, Yung RW, Ng TK, Yuen KY. SARS study group. Coronavirus as a possible cause of severe acute respiratory syndrome. *Lancet* 2003;361:1319-1325
- Ksiazek TG, Erdman D, Goldsmith CS, Zaki SR, Peret T, Emery S, Tong S, Urbani C, Comer JA, Lim W, Rollin PE, Dowell SF, Ling AE, Humphrey CD, Shieh WJ, Guarnier J, Paddock CD, Rota P, Fields B, DeRisi J, Yang JY, Cox N, Hughes JM, LeDuc JW, Bellini WJ, Anderson LJ. SARS working group. A novel coronavirus associated with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003;348:1953-1966
- Drosten C, Gunther S, Preiser W, van der Werf S, Brodt HR, Becker S, Rabenau H, Panning M, Kolesnikova L, Fouchier RA, Berger A, Burguiere AM, Cinatl J, Eickmann M, Escrich N, Grywna K, Kramme S, Manuguerra JC, Muller S, Rickerts V, Sturmer M, Vieth S, Klenk HD, Osterhaus AD, Schmitz H, Doerr HW. Identification of a novel coronavirus in patients with severe acute respiratory syndrome. *N Engl J Med* 2003; 348:1967-1976
- 正确使用非典型肺炎 ELISA 检测试剂盒 <http://www.cashq.ac.cn/html/Dir/2003/04/26/1473.htm>