

· 临床论著 ·

基于PI的二线抗逆转录病毒治疗对HIV/AIDS患者异常免疫活化的影响

李彦媚 张雯 黄英秀 田云飞 苏文晶 郝禹 韩宁 杨涤 宋川 肖江 赵红心

【摘要】 目的 观察以非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTI)为基础的一线高效抗逆转录病毒治疗(HAART)失败的HIV/AIDS患者更换为以蛋白酶抑制剂(PI)为基础的二线HAART后对体内免疫活化的影响。**方法** 收集以NNRTI为基础的一线HAART失败后的患者共30例,更换为以PI为基础的二线HAART方案,对患者进行0、12、24、36和48周的队列随访研究。检测患者血浆病毒载量和外周血CD4⁺T细胞计数,评价抗病毒治疗效果;进一步检测外周血CD8⁺T淋巴细胞免疫活化指标CD38、人类白细胞抗原DR(HLA-DR)的动态变化,评价以PI为基础的二线HAART方案对异常免疫活化的影响。**结果** 患者接受以PI为基础的二线HAART后,血浆病毒复制得到有效抑制,CD4⁺T细胞计数增加;入组HIV/AIDS患者基线CD38⁺CD8⁺T细胞百分比高于正常,经过二线HAART后恢复正常;HLA-DR⁺CD8⁺T细胞百分比基线水平高于正常对照,治疗48周后无显著下降。**结论** 以PI为基础的二线HAART方案具有强大的免疫重建功能,能够有效地抑制病毒复制,恢复CD4⁺T细胞计数水平,并可在一定程度上降低体内免疫活化水平,延缓疾病进展。

【关键词】 蛋白酶抑制剂; 获得性免疫缺陷综合征; 免疫活化

Effects of PI-based second-line antiretroviral therapy on abnormal immune activation in patients with HIV/AIDS LI Yan-mei, ZHANG Wen, HUANG Ying-xiu, TIAN Yun-fei, SU Wen-jing, HAO Yu, HAN Ning, YANG Di, SONG Chuan, XIAO Jiang, ZHAO Hong-xin. Beijing Ditan Hospital, Peking University Teaching Hospital, Beijing 100015, China

Corresponding author: ZHAO Hong-xin, Email: 13911022130@163.com

【Abstract】 Objective To investigate the effect of PI-based second-line highly active anti-retroviral therapy (HAART) on immune activation in HIV/AIDS patients with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTI)-based first-line HAART failure. **Methods** Total of 30 individuals with NNRTI-based first-line HAART treatment failure were enrolled in the study, the regimen was replaced by protease inhibitor (PI)-based second-line HAART. Patients were followed up at 0, 12, 24, 36 and 48 weeks for a longitudinal study. The plasma HIV viral load and CD4⁺T-cell counts in peripheral blood were analyzed, respectively, and the effect of anti-retroviral therapy was determined. The immune activation markers CD38, human leukocyte antigen DR (HLA-DR) on CD8⁺T lymphocyte of peripheral blood were furtherly tested dynamically, to evaluate the effect of PI-based second line HAART regimen on abnormal immune activation. **Results** The PI-based second-line HAART reduced the HIV replication and increased CD4⁺T-cell counts effectively. Patients with HIV/AIDS had a higher percentage of CD38⁺CD8⁺T-cell than normal control at baseline and recovered after the second-line HAART of 48 weeks. The percentage of HLA-DR⁺CD8⁺T-cell in HIV/AIDS patients was higher than that in healthy controls at baseline, however, there was no significant reduction after the therapy of 48

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2013.02.025

基金项目: 北京市朝阳区艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病综合防治示范区建设研究(No. 2012ZX10004-904); 二线抗病毒药物对艾滋病治疗失败患者单核细胞的影响(No. 2009-3153); 北京市卫生系统高层次卫生技术人才培养

作者单位: 100015 北京, 北京大学北京地坛医院教学医院(李彦媚、黄英秀、苏文晶、赵红心); 首都医科大学附属北京地坛医院(张雯、田云飞、郝禹、韩宁、杨涤、宋川、肖江)

通讯作者: 赵红心, Email: 13911022130@163.com

weeks. **Conclusions** PI-based second-line HAART regimen had powerful immune reconstitution function on suppression of virus replication, recover of CD4⁺ T-cell counts and reduction of the immune activation level at a certain extent. Furthermore, the therapy attenuated the progression of disease.

【Key words】 Protease inhibitor; Acquired immune deficiency syndrome; Immune activation

慢性免疫活化是HIV感染的特征,可引起CD4⁺ T细胞的丢失并进展至AIDS和死亡^[1]。高效抗逆转录病毒治疗 (highly active anti-Retroviral therapy, HAART) 的应用大大降低了AIDS患者的发病率和病死率,但是并不能完全恢复患者的免疫功能,目前HIV感染最大的临床挑战不是减少机会性感染的发生,而是早期检测和处理非感染性并发症^[2]。HAART可有效抑制外周血中HIV复制,但大多数非AIDS相关疾病与持续的免疫活化及低水平的全身炎症状态有关^[3]。在HIV感染治疗过程中,持续的免疫活化是HIV感染过程中加速免疫老化的主要原因^[4]。HIV感染中,推荐检测CD8⁺ T细胞上CD38的表达^[5]。CD38可作为独立于CD4⁺ T细胞和病毒载量评价HIV感染疾病进展的指标^[6]。HLA-DR也是CD8⁺ T细胞上的一种活化指标,HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞表达的增加也可作为HIV感染进展的指标^[7]。我国对免疫重建的研究多针对基于以非核苷类逆转录酶抑制剂 (non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NNRTI) 为基础的一线HAART后的患者,一线HAART可抑制免疫活化^[8],初始抗病毒治疗发生病毒学失败后,患者免疫系统可重新异常活化^[9]。治疗失败后更换为以蛋白酶抑制剂 (protease inhibitor, PI) 为主的二线HAART方案,此时是否可重新抑制体内免疫活化需进一步研究。因此,本研究通过监测外周血CD38⁺CD8⁺ T细胞和HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞的动态变化,观察以NNRTI为基础的一线HAART失败后,更换为以PI为基础的二线HAART对HIV/AIDS患者体内免疫活化的影响,报道如下。

资料与方法

一、研究对象

收集2009至2013年于首都医科大学附属北京地坛医院接受一线HAART失败的30例患者,更换为以PI为基础的二线HAART方案。所有患者均签署知情同意,并经本院伦理委员会批准和监督。入组患者中,男性28例、女性2例,年龄为24~51 (35 ± 7) 岁;患者更换治疗方案基线时的病毒载量为3.01~5.33 (4.03 ± 0.59) log₁₀拷贝/ml, CD4⁺ T细胞计数为88~529个/μl。患者接受一线HAART时间是6~

67 (29 ± 16) 个月;其中26例患者为性传播,3例为输血传播和1例为静脉吸毒传播;30例患者在治疗失败时使用两种核苷类逆转录酶抑制剂 (nucleoside reverse transcriptase inhibitors, NRTI) 和一种NNRTI,其中18例患者使用齐多夫定 (zidovudine, AZT) + 拉米夫定 (lamivudine, 3TC) + 奈韦拉平 (nevirapine, NVP) 方案,6例患者使用司他夫定 (stavudine, D4T) + 3TC + NVP方案,3例患者使用D4T + 3TC + 依非韦仑 (efavirenz, EFV) 方案,2例患者使用AZT + 3TC + EFV方案,1例患者使用替诺福韦酯 (tenofovir, TDF) + 3TC + EFV方案。治疗失败后均更换为TDF + 3TC + 克立芝 (lopinavir/ritonavir, LPV/r)。另外,纳入30例健康志愿者作为对照。

二、方法

1. 标本采集:在更换治疗方案之前采集一线HAART失败患者10 ml血液并以乙二胺四乙酸 (ethylene diamine tetraacetic acid, EDTA) 抗凝,以后每3个月抽取一次;其中6 ml全血分离血浆,用于病毒载量检测,4 ml全血用于CD4⁺ T细胞计数和CD8⁺ T细胞上CD38和HLA-DR的表面染色。

2. 病毒载量检测:用核酸扩增荧光定量聚合酶链反应 (PCR) 法定量检测血浆中HIV RNA病毒载量 (Roche公司HIV定量检测试剂盒)。

3. CD4⁺ T细胞计数检测:利用绝对计数管 (Trucount, 美国BD公司) 及美国FACS Calibur流式细胞仪检测,并用MultiSET软件分析。

4. CD38⁺CD8⁺ T细胞和HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞百分比检测:利用CD8、CD38和HLA-DR特异性单克隆抗体对CD8⁺ T细胞进行表面染色,并利用美国FACS Calibur流式细胞仪上机检测。

三、统计学处理

所有数据均使用SPSS 16.0软件处理分析。数据采用 $\bar{x} \pm s$ 表示。计量资料采用独立样本 t 检验。以 $P < 0.05$ 为差异具有统计学意义。

结 果

一、二线HAART方案对CD4⁺ T细胞的影响
经过48周的HAART后,接受二线HAART患者

的CD4⁺ T细胞呈增加趋势。CD4⁺ T细胞计数由基线244个/μl上升至48周时的375个/μl [(244±27) 个/μl vs (375±42) 个/μl; $t=2.70$, $P=0.01$], 结果如图1所示。

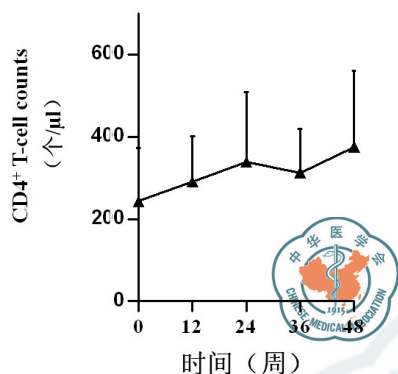


图1 抗病毒治疗方案对CD4⁺ T细胞的影响

二、二线HAART方案对血浆病毒载量的影响

二线HAART方案在12周时全部下降至检测下限, 病毒复制得到有效抑制。如图2所示。

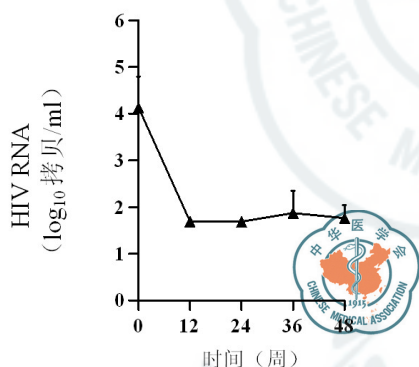
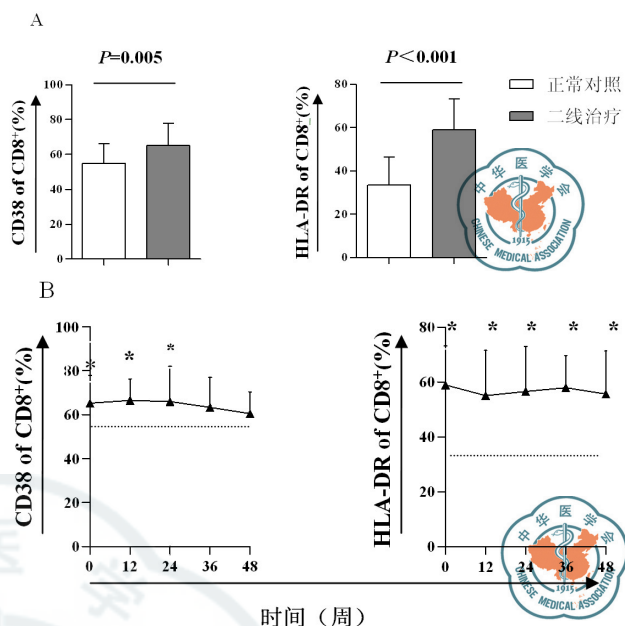


图2 抗病毒治疗方案对病毒载量的影响

三、对CD8⁺ T细胞异常免疫活化的影响

CD38、HLA-DR的表达可代表体内T细胞免疫活化水平, 反应体内的免疫活化状态。在二线HAART的基线水平CD38 [(65.22 ± 3.49) % vs (54.91 ± 1.51) %; $t=2.90$, $P=0.005$]、HLA-DR [(58.90 ± 3.96) % vs (33.43 ± 1.72) %; $t=6.31$, $P<0.001$]的表达水平(图3A)均高于正常值, 反应体内处于免疫活化状态; 经过二线HAART 48周后表达CD38的CD8⁺ T细胞百分比(图3B)恢复正常[(60.46±2.82) % vs (54.91±1.51) %; $t=1.58$, $P=0.12$]; 二线HAART 48周后表达HLA-DR的CD8⁺ T细胞百分比仍高于正常值[(55.65±4.52) % vs (33.43±1.72) %; $t=5.23$, $P<0.001$](图3B)。



注: A: 正常对照和二线HAART基线表达CD38、HLA-DR的CD8⁺ T细胞百分比; B: 二线HAART后CD38、HLA-DR的CD8⁺ T细胞百分比

图3 抗病毒治疗对CD38、HLA-DR的影响

讨 论

已有研究证实, 利托那韦增强的PI方案以CD4⁺ T细胞的长期恢复为特点, 即使在HIV感染的晚期阶段也可获得强大的免疫重建^[10]。尽管免疫重建长期以来主要通过检测CD4⁺ T细胞计数来评价, 但是此种评价方法可能并不能完全反映免疫功能^[11]。HIV感染所导致的免疫受损, 引起活化增加, 即使在病毒载量低于检测下限的患者中, 免疫活化和慢性炎症仍是艾滋病的主要组成部分^[12]。淋巴细胞活化主要反映在CD38和HLA-DR表达水平的变化上^[13], 如CD8⁺ T细胞上的CD38和HLA-DR^[14]。增加的CD38⁺CD8⁺ T细胞表达不仅可预测AIDS进展, 还可独立于CD4⁺ T细胞和病毒载量提供额外的预测指标, 提示额外的因素可能包含于HIV感染的发病机制中^[15]。HIV感染急性期, CD4⁺和CD8⁺ T细胞的活化水平可以影响病毒水平, CD8⁺ T细胞表达的活化标记CD38可预测CD4⁺ T细胞的丢失^[16]。通过抗病毒治疗降低病毒血症可减少免疫活化和炎症, 而通过抗炎药降低T细胞活化也可减少病毒血症^[17]。因此, 检测这些免疫活化指标有助于评价HIV/AIDS患者体内的免疫状况。

目前研究认为, HIV感染者未治疗时, 无论其处于哪种临床阶段, CD38⁺CD8⁺ T细胞和HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞均高表达^[8]。初始抗病毒治疗发生病毒学失败后, 病毒载量反弹, 免疫系统重新活化, 并表现

为CD38⁺CD8⁺ T细胞和HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞百分比的升高^[9]。患者经一线抗病毒治疗失败后,以PI为基础的二线HAART患者基线CD38⁺CD8⁺ T细胞和HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞百分比均高于正常水平,差异具有统计学意义,反映体内处于异常免疫活化状态。有研究发现,经过以NNRTI为基础的一线HAART后,CD38⁺CD8⁺ T细胞亚群百分比在治疗18个月后恢复,HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞亚群百分比在患者接受治疗24个月后显著下降,但仍高于正常水平^[8]。而当初始治疗方案为以PI为基础的HAART方案时,CD38⁺CD8⁺ T细胞亚群百分比在患者接受治疗12个月后显著降低^[18],HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞亚群百分比在治疗24个月后显著降低^[8]。本研究发现,一线治疗失败后更换为以PI为基础的二线抗病毒治疗后,患者的CD4⁺ T细胞逐渐恢复正常水平,病毒复制得到有效抑制,患者对抗病毒治疗发生有效应答,重新发生免疫功能重建。CD38⁺CD8⁺ T细胞亚群百分比复常,以PI为基础的二线HAART方案能够显著降低CD8⁺ T细胞上的活化水平。然而,HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞在患者治疗48周后仍高于正常,且每个随访点与基线相比差异无统计学意义。这与初始HAART后可引起HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞亚群下降不同。由于一线抗病毒治疗失败后,部分患者对TDF和3TC等核苷(酸)类药物已发生耐药^[19],以PI为基础的二线治疗方案中的有效药物减少,可能对体内免疫活化的抑制减弱,使HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞亚群百分比持续高于正常。在含有PI的HAART方案治疗后,还易引起高甘油三酯血症并进一步诱发心血管疾病^[20]。一些非AIDS相关疾病包括心血管、肾脏、肝脏疾病及恶性肿瘤与免疫活化相关^[21]。以PI为基础的二线HAART后引起的心血管疾病可能与升高的HLA-DR⁺CD8⁺ T细胞百分比有关。

本研究的不足之处为入组样本量较少,仅检测了外周血中免疫活化指标,缺乏淋巴组织中病毒载量抑制后对CD8⁺ T细胞的影响。另外,本研究是在以NNRTI为基础的一线HAART失败后进行的以PI为基础的二线HAART方案对患者体内异常免疫活化的影响,需进一步研究初始治疗方案即为含PI的二线治疗方案对免疫活化的影响。

以PI为基础的HAART方案具有强大的免疫重建功能,使一线抗病毒治疗失败患者免疫功能重建并有效降低了CD38⁺CD8⁺ T细胞亚群百分比,使体内免疫活化水平在一定程度上降低,延缓疾病进展,但是一线治疗失败后更换为以PI为基础的

HAART方案并未完全恢复体内免疫活化,疾病仍可继续进展,抗病毒治疗可能再次面临失败。因此,临床中仍需重视一线抗病毒治疗,保证一线治疗的成功率,加强服药依从性教育。

参 考 文 献

- 1 Douek D. HIV disease progression: immune activation, microbes, and a leaky gut. *Top HIV Med*,2007,15(4):114-117.
- 2 Serrano-Villar S, Gutierrez C, Vallejo A, et al. The CD4/CD8 ratio in HIV-infected subjects is independently associated with T-cell activation despite long-term viral suppression. *J Infect*,2013,66(1):57-66.
- 3 Hunt PW. Th17, gut, and HIV: therapeutic implications. *Curr Opin HIV AIDS*,2010,5(2):189-193.
- 4 Le Saux S, Weyand CM, Goronzy JJ. Mechanisms of immunosenescence: lessons from models of accelerated immune aging. *Ann N Y Acad Sci*,2012,1247:69-82.
- 5 Chomont N, El-Far M, Ancuta P, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med*,2009,15(8):893-900.
- 6 Karlsson AC, Younger SR, Martin JN, et al. Immunologic and virologic evolution during periods of intermittent and persistent low-level viremia. *AIDS*,2004,18(7):981-989.
- 7 Romeiro JR, Pinto JA, Silva ML, et al. Further Evidence that the expression of CD38 and HLA-DR⁺ in CD8⁺ lymphocytes does not correlate to disease progression in HIV-1 vertically infected children. *J Int Assoc Physicians AIDS Care*,2012,11(3):164-168.
- 8 Zhang JC, Zhang HJ, Li Y, et al. Changes in levels of T cell subpopulations to monitor the response to antiretroviral therapy among HIV-1-infected patients during two years of HIV-1 replication suppression. *Scand J Infect Dis*,2013,45(5):368-377.
- 9 Resino S, Bellon JM, Gurbindo MD, et al. CD38 expression in CD8⁺ T cells predicts virological failure in HIV type 1-infected children receiving antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*,2004,38(3):412-417.
- 10 Mocroft A, Phillips AN, Ledergerber B, et al. Estimated average annual rate of change of CD4 (+) T-cell counts in patients on combination antiretroviral therapy. *Antivir Ther*,2010,15(4):563-570.
- 11 Robbins GK, Spritzler JG, Chan ES, et al. Incomplete reconstitution of T cell subsets on combination antiretroviral therapy in the AIDS Clinical Trials Group protocol 384. *Clin Infect Dis*,2009,48(3):350-361.
- 12 De Wit S, Delforge M, Necsoi CV, et al. Downregulation of CD38 activation markers by atorvastatin in HIV patients with undetectable viral load. *AIDS*,2011,25(10):1332-1333.
- 13 Hunt PW, Brenchley J, Sinclair E, et al. Relationship between T cell activation and CD4⁺ T cell count in HIV-seropositive individuals

- with undetectable plasma HIV RNA levels in the absence of therapy. *J Infect Dis*, 2008, 197(1):126-133.
- 14 Biancotto A, Iglehart SJ, Vanpouille C, et al. HIV-1 induced activation of CD4⁺ T cells creates new targets for HIV-1 infection in human lymphoid tissue ex vivo. *Blood*, 2008, 111(2):699-704.
- 15 Mocroft A, Boffill M, Lipman M, et al. CD8⁺, CD38⁺ lymphocyte percent: a useful immunological marker for monitoring HIV-1-infected patients. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 1997, 14(2):158-162.
- 16 Giorgi JV, Liu Z, Hultin LE, et al. Elevated levels of CD38⁺ CD8⁺ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4⁺ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 1993, 6(8):904-912.
- 17 Rizzardì GP, Harari A, Capiluppi B, et al. Treatment of primary HIV-1 infection with cyclosporin A coupled with highly active antiretroviral therapy. *J Clin Invest*, 2002, 109(5):681-688.
- 18 Marchetti G, Merlini E, Sinigaglia E, et al. Immune reconstitution in HIV+ subjects on lopinavir/ritonavir-based HAART according to the severity of pre-therapy CD4⁺. *Curr HIV Res*, 2012, 10(7):597-605.
- 19 李彦媚, 赵红心, 周海卫, 等. AIDS患者一线抗逆转录病毒治疗失败后的基因型耐药分析. 中华实验和临床感染病杂志:电子版, 2013, 7(1):68-72.
- 20 Chang SY, Ko WS, Kao JT, et al. Association of single-nucleotide polymorphism 3 and c.553G>T of APOA5 with hypertriglyceridemia after treatment with highly active antiretroviral therapy containing protease inhibitors in hiv-infected individuals in Taiwan. *Clin Infect Dis*, 2009, 48(6):832-835.
- 21 Piconi S, Trabattini D, Gori A, et al. Immune activation, apoptosis, and Treg activity are associated with persistently reduced CD4⁺ T-cell counts during antiretroviral therapy. *AIDS*, 2010, 24(13):1991-2000.
- (收稿日期: 2012-12-27)
(本文编辑: 孙荣华)

李彦媚, 张雯, 黄英秀, 等. 基于PI的二线抗逆转录病毒治疗对HIV/AIDS患者异常免疫活化的影响[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2013, 7(2): 277-281.

中华医学会