

有效抑制 HIV 复制下 AIDS 患者 CD4 + T 淋巴细胞的动态变化[△]

邱志峰, 李太生[#], 阮桂仁, 韩 扬, 谢 静, 左玲燕, 李雁凌, 王爱霞

(中国医学科学院 中国协和医科大学 北京协和医院感染内科, 北京 100730)

摘要:目的 研究强效抗逆转录病毒治疗 (HAART) 持续有效抑制 HIV 复制下 AIDS 患者的 T 淋巴细胞免疫动态变化。方法 45 例 AIDS 患者予以 2 年以上 HAART 治疗, 在治疗前 (D0), 治疗第 3、6、12、18 和 24 个月 (M3、M6、M12、M18 和 M24) 时用 bDNA 病毒定量检测仪检测血浆病毒载量, 流式细胞仪检测外周血 T 淋巴细胞亚群, 分析 CD4 +、CD8 + T 淋巴细胞及其相关亚群的动态变化。结果 45 例患者中有 24 例 (53.3%) 在治疗 6 个月后血浆病毒载量持续低于 500 copies/ml, 按 M24 时 (与 D0 相比) CD4 + T 淋巴细胞计数的增量分为 A 组 (<100/mm³)、B 组 (100 ~ 200/mm³) 和 C 组 (>200/mm³)。与 D0 时相比, 所有患者 M3、M6、M12、M18 和 M24 时的 CD4 + T 淋巴细胞计数、CD4 + 纯真细胞计数和 CD4 + CD28 + 亚群的比例均有不同程度升高, CD8 + CD38 + 激活亚群的比例则下降。3 组相比, C 组变化最显著, 其 D0 时血浆病毒载量最高而 CD4 + T 淋巴细胞计数最低, 经过 24 个月治疗后, 不仅 CD4 + T 淋巴细胞数量增加最明显, CD4 + 纯真细胞数量和 CD4 + CD28 + 功能亚群比例的增加也明显高于 A 组和 B 组 ($P < 0.05$)。结论 HAART 能有效地重建 AIDS 患者的 T 淋巴细胞免疫。CD4 + CD28 + 和 Naive CD4 + 亚群的不同动态变化可能对 CD4 + T 淋巴细胞数量和功能上的恢复有重要作用。

关键词: 人类免疫缺陷病毒; 艾滋病; 强效抗逆转录病毒治疗; 病毒载量; T 淋巴细胞亚群; 流式细胞仪

中图分类号: R512.91 文献标识码: A 文章编号: 1000-503X(2006)03-0386-05

Dynamics of T Lymphocyte Subsets in HAART Treated AIDS Patients with Successful Suppression of HIV Replication and Different CD4 + T Cell Restoration[△]

QIU Zhi-feng, LI Tai-sheng[#], RUAN Gui-ren, HAN Yang, XIE Jing,
ZUO Ling-yan, LI Yan-ling, WANG Ai-xia

(Department of Infectious Diseases, PUMC Hospital, CAMS and PUMC, Beijing 100730, China)

ABSTRACT : Objective To study the dynamic changes of T lymphocyte subsets of AIDS patients during more than 24 months of highly active antiretrovirus therapy (HAART) with successful suppression of HIV replication and different CD4 + T cell restoration. **Methods** Totally 45 AIDS patients who had received HAART for more than 24 months were included. During HAART (including D0, M3, M6, M12, M18, and M24), the number of plasma HIV-1 RNA was measured quantitatively using the bDNA assay, and T lymphocyte subsets including CD3 + CD4 + cells, CD3 + CD8 + cells, naive CD4 + cells (CD4 + CD45RA + CD62L +), CD4 + CD28 + cells, and CD8 + CD38 + cells were detected with flow cytometer. **Results** Among 45 patients, 24 patients (53.3%) whose plasma viral load decreased to less than 500 copies/ml at M6 and maintained to M24 were classified into three groups according to the CD4 + T cell count increments on M24 (com-

△ 基金项目: 国家“十五”科技攻关计划项目 (2004BA719A10)、卫生部部属医疗机构临床重点学科 Supported by National Key Technologies R&D Program for the 10th Five-year Plan (2004BA719A10) and Critical Clinical Project of Ministry of Health; # Corresponding author Tel : 010-65295086, Fax : 010-65295046, E-mail : Litsh@263.net

pared with D0): group A ($<100/\text{mm}^3$), group B ($100\sim200/\text{mm}^3$), and group C ($>200/\text{mm}^3$). After the initiation of HAART, T lymphocyte response, including CD4 + T cell counts, naive CD4 + cell counts, percentages of CD4 + CD28 + cells in these patients were improved gradually, while CD8 + CD38 + percentage decreased. The improvement of T lymphocyte response in group C was most remarkable even with highest plasma viral load and lowest CD4 T cell count on D0. Compared with group A and B, group C had significantly better improvement not only in the quantities of CD4 + T cell, but also in the CD28 + expression and naive CD4 + T cell populations. **Conclusions** T lymphocyte response of AIDS patients can be effectively reconstituted by HAART. Different dynamics of CD4 + CD28 + and naive CD4 + populations may considerably contribute to the quantity and cellular function restoration of CD4 + T lymphocyte.

Key words: HIV; AIDS; highly active antiretrovirus therapy; plasma viral load; T lymphocyte subsets; flow cytometer

Acta Acad Med Sin, 2006 28(3) 386-390

强效抗逆转录病毒治疗 (highly active antiretrovirus therapy, HAART) 能有效抑制 HIV 复制, 重建机体免疫系统, 降低 HIV 感染的发病率和死亡率^[1]。HAART 实践已经证实, 决定免疫重建的根本因素是有效抑制病毒复制, 但也有报道认为, 约 5% ~ 15% 的患者即使在血浆病毒载量被持续有效抑制的情况下, CD4 + T 淋巴细胞数量也没有明显增加, 原因尚不明确^[2,3]。我国 HAART 临床实践目前处于起步阶段, 尚无上述现象的相关报道。因此, 对这方面的研究不仅有助于了解 HAART 治疗后的免疫重建, 对临床治疗和疗效评价也有重要的指导意义。本研究对 45 例在我院规律性随访的 AIDS 患者进行了 2 年以上 HAART 治疗, 选择其中血浆病毒载量被有效抑制至少 18 个月的患者, 观察了其 CD4 +、CD8 + T 淋巴细胞, 以及 CD4 + CD28 + 功能细胞亚群、CD4 + 纯真细胞亚群 (CD4 + CD45RA + CD62L +) 和 CD8 + CD38 + 激活细胞亚群的动态变化情况, 初步探讨了免疫重建不同的可能机制。

对象和方法

对象 45 例未经抗逆转录病毒治疗的 AIDS 患者, 结合临床具体情况, 采用国际通用的 HAART 组合用药方案, 即一种核苷类抑制剂 + 两种核苷类抑制剂或一种蛋白酶抑制剂 + 两种核苷类抑制剂治疗 24 个月以上。

方法 在治疗前 (D0), 治疗第 3、6、12、18 和 24 个月 (M3、M6、M12、M18 和 M24) 时分别检测患者血浆病毒载量和外周血中 CD4 +、CD8 + T 细胞亚群, CD4 + CD28 + 功能细胞亚群、CD4 + 纯真细胞亚群 (CD4 + CD45RA + CD62L +)、CD8 + CD38 + 激活亚群。细胞亚群检测所用单克隆抗体组合为:

FITC-IgG1/PE-IgG1/PEcy5-IgG1 (同型对照), FITC-CD4/PE-CD8/PEcy5-CD3, FITC-CD28/PEcy5-CD4, FITC-CD62L/PE-CD45RA/PEcy5-CD4, PE-CD38/PEcy5-CD8 (均购自法国 Immunotech 公司), 采用美国 Beckman-Coulter EPICS XL 流式细胞仪检测, 方法详见文献 [4]。血浆病毒载量的检测使用德国 Bayer 公司的 QuantiplexTM bDNA System 340 病毒定量仪和配套试剂 (检测下限为 50 copies/ml), 严格按仪器使用手册和试剂盒的操作步骤进行检测。

统计学处理 采用 SPSS 10.0 统计软件, 以 Levene's Test for Equality of Variances 分和 *t*-test for Equality of Means 分析不同组间差异是否具有显著性, $P < 0.05$ 表示差异有显著性。

结 果

HAART 治疗前 AIDS 患者的基本情况 45 例 AIDS 患者在 HAART 治疗的 24 个月中, 有 24 例 (53.3%) 血浆病毒载量在 M6 ~ M24 持续低于 500 copies/ml。将这 24 例患者按 M24 时 (与 D0 相比) CD4 + T 淋巴细胞计数的增加程度分为 A 组 ($<100/\text{mm}^3$, $n=5$)、B 组 ($100\sim200/\text{mm}^3$, $n=8$) 和 C 组 ($>200/\text{mm}^3$, $n=11$), 其平均年龄分别为 (35.4 ± 8.6)、(37.9 ± 7.0) 和 (33.2 ± 3.3) 岁, 男女性别比分别为 1/4、5/3 和 5/6, 3 组间差异无显著性 ($P > 0.05$)。治疗前 A、B、C 3 组的血浆病毒载量均值分别为 4.0、4.7 和 5.2 log copies/ml, 其中 A 组与 C 组相比差异有显著性 ($P < 0.05$)。

HAART 治疗过程中 AIDS 患者 T 淋巴细胞亚群的动态变化 D0 时, A 组的 CD4 + T 淋巴细胞和 CD4 + 纯真细胞计数分别为 (176 ± 122) 和 (43 ± 39)/ mm^3 , 显著高于 B 组的 (74 ± 75) 和 ($8 \pm$

12) /mm³ (*P* < 0.05) 及 C 组的 (69 ± 60) 和 (7 ± 7) /mm³ (*P* < 0.05) ; A、B、C 3 组的 CD4 + T 淋巴细胞功能亚群 (CD4 + CD28 +) 的比例分别为 (78.0 ± 11.0) %、 (61.2 ± 25.8) %、 (57.3 ± 21.1) % , 其中 A 组与 C 组相比差异有显著性 (*P* < 0.05) 。与 D0 时相比, M3、M6、M12、M18 时各组的 CD4 + T 淋巴细胞计数、CD4 + 纯真细胞计数和 CD4 + CD28 + 功能性亚群的比例均有不同程度升高。

M24 时, A、B、C 3 组的 CD4 + T 淋巴细胞计数分别增加到 (230 ± 129)、 (228 ± 72) 和 (444 ± 136) /mm³ , 其中 A 组和 B 组明显低于 C 组 (*P* < 0.05) ; CD4 + 纯真细胞计数分别增加到 (83 ± 64)、 (52 ± 33) 和 (135 ± 117) /mm³ , 其中 B 组显著低于 C 组 (*P* < 0.05) ; CD4 + CD28 + 功能亚群比例分别升至 (89.0 ± 8.3) %、 (81.7 ± 11.6) % 和 (83.6 ± 10.7) % , 3 组间差异无显著性 (*P* > 0.05) (表 1) 。

表 1 HAART 治疗 24 个月中 T 淋巴细胞亚群的动态变化

Table 1 Dynamics of T lymphocyte subsets during 24 months HAART therapy ($\bar{x} \pm s$)					
T	Lymphocyte subsets	Group A (<i>n</i> = 5)	Group B (<i>n</i> = 8)	Group C (<i>n</i> = 11)	All subjects (<i>n</i> = 24)
D0	CD4 (/mm ³)	176 ± 122 ^{##}	74 ± 75	69 ± 60	93 ± 88
	CD8 (/mm ³)	935 ± 450	708 ± 566	908 ± 1 417	847 ± 1 008
	Naive CD4 (/mm ³)	43 ± 39 ^{##}	8 ± 12	7 ± 7	15 ± 23
	CD4CD28 (%)	78.0 ± 11.0 [*]	61.2 ± 25.8	57.3 ± 21.1	62.9 ± 22.0
M3	CD4 (/mm ³)	253 ± 145	119 ± 96	197 ± 94	183 ± 114
	CD8 (/mm ³)	964 ± 360	671 ± 377	1 188 ± 756	969 ± 607
	Naive CD4 (/mm ³)	78 ± 77	24 ± 48	29 ± 28	39 ± 51
	CD4CD28 (%)	79.0 ± 13.1	86.0 ± 10.9	79.4 ± 20.7	81.3 ± 16.4
M6	CD4 (/mm ³)	253 ± 114 [#]	123 ± 72 [*]	253 ± 82	209 ± 103
	CD8 (/mm ³)	930 ± 404	750 ± 404	1 221 ± 771	1 003 ± 619
	Naive CD4 (/mm ³)	84 ± 75 ^{* #}	21 ± 37	40 ± 28	43 ± 48
	CD4CD28 (%)	75.8 ± 35.4	83.0 ± 9.7	77.3 ± 19.7	78.9 ± 20.6
M12	CD4 (/mm ³)	247 ± 164	161 ± 85 [*]	358 ± 150	268 ± 157
	CD8 (/mm ³)	697 ± 408	830 ± 407	1 540 ± 1 900	1 127 ± 1 341
	Naive CD4 (/mm ³)	81 ± 65 [#]	29 ± 35	94 ± 73	70 ± 66
	CD4CD28 (%)	85.9 ± 5.8	82.9 ± 9.2	78.9 ± 17.7	81.7 ± 13.3
M18	CD4 (/mm ³)	290 ± 175	215 ± 114 [*]	425 ± 192	327 ± 186
	CD8 (/mm ³)	855 ± 404	877 ± 392	1 346 ± 1 450	1 088 ± 1 024
	Naive CD4 (/mm ³)	107 ± 86 [#]	49 ± 49	89 ± 66	79 ± 66
	CD4CD28 (%)	86.6 ± 9.9	82.3 ± 9.8	81.4 ± 13.8	82.8 ± 11.6
M24	CD4 (/mm ³)	230 ± 129 [*]	228 ± 72 [*]	444 ± 136	327 ± 157
	CD8 (/mm ³)	571 ± 145	931 ± 396	1 448 ± 1 895	1 093 ± 1 319
	Naive CD4 (/mm ³)	83 ± 64	52 ± 33 [*]	135 ± 117	96 ± 92
	CD4CD28 (%)	89.0 ± 8.3	81.7 ± 11.6	83.6 ± 10.7	84.1 ± 10.5

D0 means the time before HAART , M3 , M6 , M12 , M18 , and M24 are 3 , 6 , 12 , 18 , and 24 months after HAART initiation , respectively
P < 0.05 compared with Group B ; * *P* < 0.05 compared with Group C

HAART 过程中 CD8 + CD38 + 激活亚群的动态变化 D0 时, 各组的 CD8 + CD38 + 激活亚群的比例分别为 (73.2 ± 21.2) %、 (78.6 ± 14.2) % 和 (79.1 ± 14.3) % , 差异无显著性 (*P* > 0.05) 。HAART 治疗后, CD8 + CD38 + 激活亚群的比例逐渐减少, 至 M24 时, 分别为 (55.3 ± 18.8) %、 (50.4 ± 23.3) % 和 (54.0 ± 14.3) % , 各组间差异无显著性 (*P* > 0.05) (图 1) 。

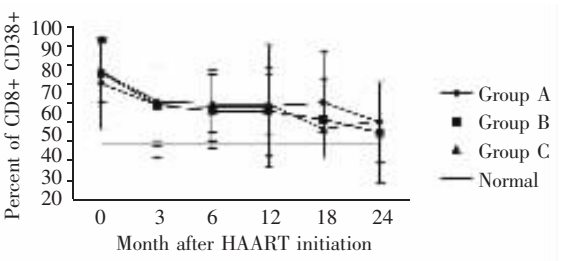


图 1 HAART 治疗中 CD8 + CD38 + 激活亚群的动态变化
Fig 1 Dynamics of CD8 + CD38 + subsets during HAART

讨 论

1995 年 HAART 疗法的出现和 1997 年 HAART 免疫重建理论的建立,对 HIV 感染发病机理的认识和疗效提高均产生了积极和深远的影响。目前国际上对 HAART 治疗方面的研究主要包括病毒学和免疫学两方面,在免疫学方面的报道中,治疗时间一般低于 24 个月,且多数仅研究 CD4 +、CD8 + T 淋巴细胞的变化^[5 6]。本研究在患者持续 24 个月的 HAART 治疗中观察了 CD4 +、CD8 + T 淋巴细胞的变化,同时为了更详细地了解 T 细胞免疫变化,还分析了 CD4 + CD28 + 功能细胞亚群、CD4 + 纯真细胞亚群和 CD8 + CD38 + 激活亚群,以探讨免疫重建不同的可能因素。

初步结果显示,24 例 AIDS 患者在有效抑制 HIV 复制的同时,T 细胞免疫在数量和功能方面均有不同程度的改善。与 D0 时相比,3 组患者治疗 24 个月时 CD4 + T 淋巴细胞计数从 $(93 \pm 88) / \text{mm}^3$ 增加到 $(327 \pm 157) / \text{mm}^3$,CD4 + 纯真细胞计数从 $(15 \pm 23) / \text{mm}^3$ 增加到 $(96 \pm 92) / \text{mm}^3$,CD4 + CD28 + 功能亚群的比例从 $(62.9 \pm 22.0)\%$ 增加到 $(84.1 \pm 10.5)\%$,而 CD8 + CD38 + 激活亚群比例降低,说明本研究中使用的 HAART 治疗方案对患者免疫的重建确实有效。但 CD8 + CD38 + 激活亚群比例仍高于 44.9% 的正常值^[4],与国外研究的结果一致,可能与目前的 HAART 治疗无法彻底清除患者体内 HIV 有关^[7]。

本研究中,虽然 HAART 治疗引起患者 T 淋巴细胞免疫重建的总体趋势相同,但不同组患者免疫恢复的情况却各不相同,T 淋巴细胞亚群的动态变化也有各自的特点。HAART 治疗前,B 组和 C 组 CD4 + T 淋巴细胞计数均显著低于 A 组,血浆病毒载量也高于 A 组。经过 24 个月治疗后,与 A 组相比,B、C 组不仅 CD4 + T 淋巴细胞数量明显增加,而且 CD4 + CD28 + 功能亚群的比例也明显增加,尤其是 C 组,其 CD4 + CD28 + 功能亚群比例也增加了 26.3%,CD4 + 纯真细胞数量比 D0 时则显著增加了 $128 / \text{mm}^3$ 。由于治疗前 3 组间年龄无显著差异,而且 3 组病例入选的基本条件是 HAART 治疗 6 个月后血浆病毒载量均持续低于 500 copies/ml,所以可以排除年龄和 HAART 治疗后 HIV 复制水平差异对免疫重建速率的影响,这与多数国外相关报道的研究设计不同^[2 3 5 6]。而对

比治疗前后的资料可以看出,通过 HAART 治疗,C 组的病毒载量变化最大,A 组最小,也就是说,病毒对机体免疫的破坏性压力解除程度的差异可能影响免疫重建速率,造成 A、B、C 3 组中 CD4 + T 淋巴细胞数量恢复的不同;同时,由于 CD4 + 纯真细胞数量的增长是公认的 HAART 治疗后真正意义上的免疫重建,CD28 分子的表达是 CD4 + T 细胞发挥正常免疫应答的必要条件,所以 C 组的 CD4 + 纯真细胞数量和 CD4 + CD28 + 亚群比例的显著升高对 CD4 + T 细胞数量和功能的恢复均有重要贡献。与 C 组相比,B 组虽然在 D0 时 CD4 + T 淋巴细胞数量上基本相同,但上述各项指标在 HAART 治疗的各个时期均有不同程度的差异,这些差异均有可能是导致其 CD4 + T 淋巴细胞数量恢复不如 C 组的原因。此外,HAART 治疗前后,3 组间 CD8 + CD38 + 激活亚群的动态变化无显著差别,提示激活亚群与 CD4 + T 细胞的变化速率可能无明显关系。由于本研究的目的是初步探索免疫重建不同的可能因素,而且研究病例数相对较少,因此,尚待进一步探讨和证实。

综上所述,HAART 可有效地恢复 T 细胞免疫的数量和功能,CD4 + T 淋巴细胞数量恢复不同的患者 T 细胞免疫的动态变化也不相同,其对免疫重建的影响有待进一步研究和证实。

参 考 文 献

- 1 Autran B, Carcelain G, Li TS, *et al.* Positive effects of combined antiretroviral therapy on CD4 + T cell homeostasis and function in advanced HIV disease. *Science*, 1997, 277(5322): 112-116.
- 2 Florence E, Lundgren J, Dreezen C, *et al.* Factors associated with a reduced CD4 lymphocyte count response to HAART despite full viral suppression in the Euro SIDA study. *HIV Medicine*, 2003, 4(3) 255-262.
- 3 Pakker NG, Kroon ED, Roos MT, *et al.* Immune restoration does not invariably occur following long-term HIV-1 suppression during antiretroviral therapy. *INCAS Study Group. AIDS*, 1999, 13(2) 203-212.
- 4 邱志峰,李太生,王爱霞,等. 健康人 T 淋巴细胞亚群的测定及其临床意义. *中国临床实验室*, 2002, 1(3) 26-28.
- 5 Grabar S, Le Moing V, Goujard C, *et al.* Response to highly active antiretroviral therapy at 6 months and long-term disease progression in HIV-1 infection. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2005, 39(3) 284-292.
- 6 Teixeira L, Valdez H, McCune JM, *et al.* Poor CD4 T cell res-

- toration after suppression of HIV-1 replication may reflect lower thymic function. *AIDS* ,2001 ,15(14) :1749-1756.
- 7 Benito JM , Lopez M , Lozano S , *et al.* Differential upregulation of CD38 on different T-Cell subsets may influence the ability to reconstitute CD4 + T cells under successful highly active antiretroviral therapy. *J Acquir Immune Defic Syndr* ,2005 ,38(4) : 373-381.
- (2006-05-29 收稿)

勘 误

《中国医学科学院学报》2006 年第 28 卷第 2 期第 115 页第 13 行作者英文单位的科室误写为：“ Department of Evidence Based Medicine and Colony Genetics ”，现更正为：“ Department of Evidence Based Medicine and Population Genetics ”，并向作者及广大读者致歉。

中国医学科学院学报编辑部