

论著·临床研究 doi:10.3969/j.issn.1671-8348.2014.22.008

益艾康胶囊对无症状期 HIV 感染者 T 淋巴细胞亚群的影响*

刘萍萍¹,李倩如^{1△},轩小燕¹,董子明²,王哲³,杜英¹(郑州大学基础医学院:1.微生物学与免疫学教研室;2.病理生理学教研室,郑州 450001;
3.河南省疾病预防控制中心性病艾滋病研究所,郑州 450016)

摘要:目的 探讨益艾康胶囊对无症状期 HIV 感染者淋巴细胞亚群的影响。方法 采用流式细胞术对益艾康胶囊干预组和对照组患者进行外周静脉血 T 淋巴细胞计数,并检测各 T 淋巴细胞亚群百分率。结果 益艾康胶囊干预组患者静脉血 CD4⁺、CD4⁺CD45RA⁺、CD4⁺CD45RO⁺、CD4⁺CD28⁺、CD4⁺CD95⁺ T 细胞比例均显著高于对照组($P < 0.05$);而 CD8⁺、CD8⁺CD38⁺ T 细胞比例显著低于对照组($P < 0.05$)。结论 益艾康胶囊能有效减缓无症状期 HIV 感染者 CD4⁺ T 淋巴细胞亚群的减少。

关键词: HIV; 益艾康胶囊; T 淋巴细胞亚群

中图分类号: R392

文献标识码: A

文章编号: 1671-8348(2014)22-2853-02

The effect of Yiaikang capsules on T lymphocyte subsets of asymptomatic HIV infected patients*

Liu Pingping¹, Li Qianru^{1△}, Xuan Xiaoyan¹, Dong Ziming², Wang Zhe³, Du Ying¹

(1. Department of Immunology and Microbiology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 2. Department of Physiopathology, Basic Medical College, Zhengzhou University, Zhengzhou 450001, China; 3. Institute of STD and AIDS, Henan Center for Disease Control and Prevention, Zhengzhou 450016, China)

Abstract: Objective To explore the effect of Yiaikang capsule on T lymphocyte subsets of asymptomatic HIV infected patients, and look for sensitive indicator which can reflect the therapeutic effect of HIV drug. **Methods** Peripheral venous blood samples were collected from Yiaikang capsule treated and untreated asymptomatic HIV infected patients. Flow cytometry was used to detect T lymphocyte count and the T lymphocyte subsets percentage in the venous blood. **Results** The percentages of CD4⁺, CD4⁺CD45RA⁺, CD4⁺CD45RO⁺, CD4⁺CD28⁺, and CD4⁺CD95⁺ T cells in Yiaikang treatment group were significantly higher than that of control group ($P < 0.05$), while the percentages of CD8⁺, CD8⁺CD38⁺ T cells were significantly lower than that of control group ($P < 0.05$). **Conclusion** Yiaikang capsule can effectively slow the decrease of CD4⁺ T lymphocyte subgroup in asymptomatic HIV infected patients and promote the activation of CD4⁺ T lymphocytes.

Key words: HIV; Yiaikang capsule; T lymphocyte subsets

获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)即艾滋病是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)引起的免疫缺陷型疾病,导致 CD4⁺ T 细胞数量进行性减少,机体免疫功能缺失,最终引起机体各种机会性感染和肿瘤以致死亡。机体感染 HIV 后发展为 AIDS 的过程可大致分为 3 个阶段:急性感染期、无症状期、AIDS 期。目前,对 AIDS 的预防尚缺乏有效的特异性疫苗,世界普遍公认的有效治疗手段是高效抗逆转录病毒疗法(highly active antiretroviral therapy, HAART),但对无症状 HIV 感染者,因尚未达到 HAART 疗法应用标准,现无合适药物可用。若任病情逐渐进展,不利于疾病的早期控制。基于此种原因,充分发挥中医药的优势,对无症状 HIV 感染者进行中医药早期干预治疗,以延缓感染者发病进程,提高感染者生存质量,具有重大现实意义。益艾康胶囊由人参、黄芪等多种中药组成,具有健脾补胃,益气养血、化痰解毒之功效,能增加机体免疫功能。故本研究通过检测 HIV 早期无症状感染者经益艾康胶囊干预治疗后 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞亚群的表达,探讨益艾康药物对 T 细胞亚群功能的影响,试图寻找能准确、敏感反映病情进展和药物疗效的指标。

1 资料与方法

1.1 一般资料 60 例无症状 HIV 感染者(HIV 抗体阳性、并经确认试验证实,CD4⁺ T 细胞介于 200~500 个/ μ L 之间,仅表现为淋巴结肿大,未出现机会感染和肿瘤),其中,男 34 例,女 26 例,年龄 35~45 岁,均系河南确山县及尉氏县经有偿献血感染者。将上述 60 例感染者随机分为两组:益艾康干预组 30 例,接受益艾康胶囊干预治疗 6 个月;对照组 30 例,未接受任何抗病毒治疗。益艾康胶囊主要药物组成:人参、黄芪、炒白术、茯苓、当归、川芎、白芍、黄芩等。由河南省中医药研究院研制,规格:0.5 g/粒,60 粒/瓶,每次 3.0 g,每日 3 次。

1.2 主要试剂和仪器 10 mL 乙二胺四乙酸(EDTA)抗凝负压真空采血管、免洗溶血剂、CD4/CD8/CD3 三色单抗标记试剂盒, FITC-CD4、FITC-CD8、PE-CD45RA、PE-CD45RO、PE-CD95、PE-CD28 和 PE-CD38 单抗及同型对照抗体、流式细胞仪 FASCAN,均为 Becton Dickinson 公司产品。

1.3 标本采集 用 10 mL EDTA 抗凝真空负压采血管采集受试者静脉血 5 mL,4℃ 冷藏保存运输。

1.4 细胞绝对值计数 将 20 μ L CD4/CD8/CD3 三色单抗加入绝对计数管中,加入 50 μ L 抗凝全血,室温避光 15 min,加入

免洗溶血素 450 μL 室温避光 15 min, 流式细胞仪检测, FACS-MULTISET 软件自动分析, 得到 CD4^+ 、 CD8^+ 、 CD3^+ 淋巴细胞绝对值、百分比及 $\text{CD4}/\text{CD8}$ 比值。

1.5 淋巴细胞亚群检测 取 5 mL 抗凝静脉血加入红细胞裂解液 2 mL, 振荡混匀后继续孵育 15 min, 1 500 r/min 离心 5 min 收集细胞, 用 PBS 溶液洗 2 次, 去上清液, 再重悬于 PBS 溶液中, 取 100 μL 细胞悬液, 加入相应的荧光标记抗体各 5 μL , 室温避光孵育 30 min, 离心后弃上清液, 每管加 0.5 mL PBS 液, 上流式细胞仪检测, 每管收集 5 000 个细胞进行分析。

1.6 统计学处理 采用 SPSS10.0 进行统计学处理, 采用 t 检验, 以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

2 结果

2.1 益艾康胶囊治疗前、后病毒载量变化情况 益艾康干预组干预后感染者病毒载量与药物干预前相比有所下降 ($P < 0.05$), 见表 1。

2.2 益艾康胶囊干预对外周血 CD4^+ T 淋巴细胞亚群的影响 益艾康干预前, 干预组和对照组 CD4 计数经 t 检验, 差异无统计学意义 ($P > 0.05$); 干预 6 个月后干预组 CD4 计数与对照

组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 2。无症状 HIV 感染者接受益艾康胶囊干预后外周血 CD4^+ CD45RA^+ 、 CD4^+ CD45RO^+ 、 CD4^+ CD28^+ 、 CD4^+ CD95^+ 细胞比例显著高于对照组, 差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 见表 3。

表 1 益艾康胶囊干预前、后两组患者病毒载量比较 ($\bar{x} \pm s$)

组别	病毒载量 (\log_{10} copy/mL)	
	干预前	干预后
干预组	4.55 \pm 1.25	3.47 \pm 0.79*
对照组	4.37 \pm 0.87	4.78 \pm 1.14

*: $P < 0.05$, 与干预组干预前比较。

表 2 两组患者干预前、后 CD4 计数比较 ($\bar{x} \pm s$, 个/ μL)

时间	干预组	对照组
干预前	437.64 \pm 64.12	431.25 \pm 65.67
干预后	546.23 \pm 87.65*	406.48 \pm 75.81

*: $P < 0.05$, 与对照组干预后比较。

表 3 两组患者外周血 CD4^+ T 淋巴细胞亚群比例比较 [$(\bar{x} \pm s)$, %]

组别	CD4^+	CD4^+ CD45RA^+	CD4^+ CD45RO^+	CD4^+ CD28^+	CD4^+ CD95^+
干预组	25.81 \pm 3.21*	9.21 \pm 1.24*	12.69 \pm 2.53*	12.05 \pm 2.67*	17.41 \pm 3.08*
对照组	13.43 \pm 1.85	4.17 \pm 0.87	9.80 \pm 2.14	9.04 \pm 1.78	8.56 \pm 1.74

*: $P < 0.05$, 与对照组比较。

2.3 益艾康胶囊干预对外周血 CD8^+ T 淋巴细胞亚群的影响 益艾康胶囊干预组 CD8^+ 、 CD8^+ CD38^+ T 细胞比例显著低于对照组 ($P < 0.05$); 而两组 CD8^+ CD95^+ T 细胞比例比较差异无统计学意义 ($P > 0.05$), 见表 4。

表 4 两组患者外周血 CD8^+ T 淋巴细胞亚群比例比较 [$(\bar{x} \pm s)$, %]

组别	CD8^+	CD8^+ CD38^+	CD8^+ CD95^+
干预组	50.90 \pm 5.67*	40.52 \pm 4.23*	41.18 \pm 4.17
对照组	64.48 \pm 5.81	57.15 \pm 4.79	42.50 \pm 3.84

*: $P < 0.05$, 与对照组比较。

3 讨论

AIDS 是由 HIV 感染引起的以细胞免疫缺陷为主的继发性免疫缺陷病。HIV 感染属慢发病毒感染, 一般有较长潜伏期。但是, 一旦发病, 疾病往往呈进行性加重。目前, HAART 疗法主要是针对 AIDS 期患者, 而 HIV 感染后的无症状期持续时间长, 感染者数量最多。根据中医学“未病先防、既病防变”的学术思想, 可把无症状期作为中医药治疗 AIDS 的切入点, 对感染者进行免疫学和病毒学指标的监控, 有利于及时了解病情并采取相应的治疗方案, 控制疾病进展^[1-2]。近年来, 国内外对于中医药治疗艾滋病进行了多方面探索, 中医药在改善临床症状、减轻病痛、延缓病情进展、维护免疫功能的稳定、减轻西医联合抗病毒治疗药物的毒副作用等方面展现出较大的优势^[3], 但其机制多不明了。

外周血 CD4 细胞的绝对值对于 HIV 感染状况、临床分期、预测机会性感染的可能性和治疗效果的评价具有极其重要的作用^[4]。本研究结果显示, 经过益艾康胶囊干预 6 个月后, 患者 CD4^+ T 淋巴细胞绝对值上升, 与干预前相比, 差异有统

计学意义 ($P < 0.05$), 并且与对照组相比 CD4^+ T 的百分率显著提高, 提示 HIV 感染无症状期服用益艾康胶囊可以明显稳定或减缓 CD4^+ T 淋巴细胞的下降幅度, 促进免疫功能重建, 同时通过抑制病毒复制或其他作用途径, 降低或稳定病毒载量。

外周循环 CD4^+ T 细胞主要有两类: 幼稚细胞 (CD45RA^+ T) 和记忆细胞 (CD45RO^+ T), HIV 感染后, 无论是未经抗原刺激的幼稚细胞, 还是接触过抗原刺激的记忆细胞都不断减少^[5]。本研究结果显示, 益艾康胶囊干预后, CD45RA^+ T 细胞和 CD45RO^+ T 百分比与对照组相比均显著升高 ($P < 0.05$)。同时观察到 CD4^+ CD28^+ T 和 CD4^+ CD95^+ T 的比例均较对照组升高 ($P < 0.05$)。CD28 和 CD95 分别是 T 细胞表面的共刺激分子和细胞凋亡分子, 与 CD25 分子一样, 能在一定程度上反映 CD4^+ T 细胞的活化、凋亡及其功能状态^[6-7], 说明活化 T 细胞下降幅度减缓, 提示益艾康胶囊干预能提高 CD4^+ T 细胞的输出和促进其活化, 有助于恢复 HIV 感染者的免疫功能, 有利于免疫重建。

CD8^+ T 淋巴细胞是特异性细胞免疫的效应细胞, 能通过特异性识别病毒感染的靶细胞, 并对其产生杀伤作用, 是机体内直接杀伤 HIV 病毒的主要免疫细胞^[8]。 CD8^+ CD38^+ T 细胞是一群激活的亚群, 在 HIV 感染时能发生扩增, 是评价 HIV 感染者免疫激活的又一指标^[9], 本研究显示益艾康干预 6 个月后, CD8^+ T 细胞百分比减少的同时, CD8^+ CD38^+ T 细胞百分比也下降, 与对照组比较差异有统计学意义 ($P < 0.05$), 提示通过益艾康胶囊干预可以使 HIV 感染者异常的免疫激活得到抑制。

参考文献:

[1] 彭勃, 李华伟. 中医药治疗获得性免疫(下转第 2858 页)

抗原基因,用于预测血小板输注时不同民族间同种免疫发生的可能性,为寻找更快捷、更合适的血小板输注提供实验室依据,避免了血小板输注无效的情况发生,提高了血小板输注疗效。为广西地区建立各民族血小板基因库积累资料等各方面均具有重要的临床意义。

总之,广西地区壮族、瑶族、苗族、侗族和汉族健康人群中 HPA-1~17bw 系统基因多态性存在差异。因此,了解各民族的 HPA 类型,建立对应的血小板基因库,对减少广西地区少数民族患者输血后紫癜、血小板输注无效等有很大助益,具有积极的临床意义。

参考文献:

- [1] 薛敏,刘衍春,魏鹏.中国南京地区汉族人群血小板 HPA-1-18 遗传多态性研究[J].中国实验血液学杂志,2012,20(5):200-204.
- [2] Tan JY,Lian LH,Nadarajan VS. Genetic polymorphisms of human platelet antigens-1 to -6, and -15 in the Malaysian population[J]. Blood Transfus, 2012, 10(3): 368-376.
- [3] Arinsburg SA,Shaz BH,Westhoff C,et al. Determination of human platelet antigen typing by molecular methods: importance in diagnosis and early treatment of neonatal alloimmune thrombocytopenia[J]. Am J Hematol, 2012, 87(5):525-528.
- [4] Aster RH. Blood platelet kinetics and platelet transfusion[J]. Clin Invest, 2013, 123(11):4564-4565.
- [5] Nakastoev IM,Grachev AE,Gemdzhian EG,et al. Clinical efficiency of transfusion of pathogen-inactivated platelet concentrates[J]. Ter Arkh, 2013, 85(8):77-80.
- [6] Xu X,Liu Y,Ying Y,et al. Human platelet antigen allele frequencies and new mutations on platelet glycoprotein genes in the Chinese Han population[J]. Transfus Med,

2011,21(5):330-337.

- [7] Shehata N,Denomme GA,Hannach B,et al. Mass-scale high throughput multiplex polymerase chain reaction for human platelet antigen single-nucleotide polymorphisms screening of apheresis platelet donors[J]. Transfusion, 2011,51(9):2028-2033.
- [8] 周豪杰,杨承东,聂庸梅.广州汉族配偶人类血小板抗原基因分型的调查[J].热带医学杂志,2012,12(6):587-588.
- [9] 广西壮族自治区统计局.广西 2010 年第六次全国人口普查主要数据公报[N].广西日报,2011-07-01.
- [10] 周燕.血小板输注无效及其预防和治疗[J].重庆医学,2010,39(10):1298-1300.
- [11] 夏文杰,叶欣,付涌水,等.血小板特异性糖蛋白抗体和 HLA 抗体在特发性血小板减少性紫癜的表达[J].中国实验血液学杂志,2009,17(4):1032-1035.
- [12] Matsushashi M,Tsuno NH,Sone S,et al. The role of alloantibodies against human platelet antigen-15 in multiply platelet transfused patients[J]. Transfusion, 2014, 54(4): 1093-1099.
- [13] 毛伟,王芳,王跃华,等.重庆汉族人群 HPA1-7、15 多态性分布[J].重庆医学,2009,38(12):1422-1424,1426.
- [14] 孙瑜,李国良,肖莉,等.南昌地区机采血小板捐献人群中人类血小板抗原基因多态性初步分析[J].中国输血杂志,2008,21(9):700-703.
- [15] 张冬霞.吉林地区汉族人群血小板抗原系统基因分型研究[J].中国输血杂志,2011,24(10):869-870.
- [16] 邓燕玲,覃小梅,黄军垣.人血小板抗原基因多态性在广西壮族、瑶族、苗族、侗族及仫佬族老年人中的表达差异[J].中国老年学杂志,2012,32(6):2499-2501.

(收稿日期:2014-01-11 修回日期:2014-04-02)

(上接第 2854 页)

- 缺陷综合征的思路和切入点[J].中医杂志,2006,47(6):412-414.
- [2] 郭会军,王丹妮,刘学伟.中医药治疗艾滋病应重视对无症状 HIV 感染期的早期干预[J].上海中医药杂志,2006,40(7):17-18.
 - [3] 李勇,王阶,林洪生,等.中医“治未病”思想在艾滋病早期免疫重建中的作用[J].辽宁中医杂志,2010,37(11):2117-2119.
 - [4] Phillips AN,Lundgren JD. The CD4 lymphocyte count and risk of clinical progression[J]. Current Opinion in HIV & AIDS, 2006, 1(1):43-49.
 - [5] Srinivasula S,Lempicki RA,Adelsberger JW,et al. Differential effects of HIV viral load and CD4 counts on proliferation of naive and memory CD4 and CD8 T lymphocytes[J]. Blood, 2011, 118:262-270.

- [6] Choi BS,Park YK,Lee JS,et al. The CD28/HLA-DR expressions on CD4⁺ T but not CD8⁺ T cells are significant predictors for progression to AIDS[J]. Clin Exp Immunol, 2002, 127(1):137-144.
- [7] Krueger A,Fas SC,Baumann S,et al. The role of CD95 in the regulation of peripheral T-cell apoptosis[J]. Immunol Rev, 2003, 193:58-69.
- [8] McDermott AB,Koup RA. CD8⁺ T cells in preventing HIV infection and disease[J]. AIDS, 2012, 26(10):1281-1292.
- [9] Glencross DK,Janossy G,Coetzee IM,et al. CD8/CD38 activation yields important clinical information of effective antiretroviral therapy findings from the first year of the CIPRA-SA cohort[J]. Cytometry, 2008, 74(1):131-140.

(收稿日期:2014-02-09 修回日期:2014-03-20)