

艾可清胶囊对 HIV 感染者 T 淋巴细胞亚群的影响

董永新¹ 符林春¹ 陈谐捷² 谭行华² 岑玉文² 刘启材² 何浩岚² 胡英杰¹

(1 广州中医药大学热带医学研究所, 广州市东风东路 627 号广州市第八人民医院, 510060; 2 广州市第八人民医院感染科)

摘要 目的:评价艾可清胶囊对 HIV 感染者 T 淋巴细胞亚群的影响。方法:采用描述性研究,纳入 2004 年 1 月-2009 年 5 月期间在广州市第八人民医院感染科就诊的 HIV 感染者,给予艾可清胶囊治疗,在治疗前(M0)、治疗后第 6(M6)、12(M12)、18(M18)、24 个月(M24)分别进行 T 淋巴细胞亚群检测,统计方法采用配对样本 t 检验和可重复测量资料的单因素方差分析。结果:共有 40 例患者纳入研究,分别以 M6、M12、M18、M24 为终点时点进行分析,结果显示:以 M6 为终点时点时,CD3 较 M0 显著升高($P < 0.01$),CD4、CD8 升高,CD4/CD8 下降,但变化均无统计学意义($P > 0.05$)。可重复测量的单因素方差分析显示 CD3、CD4、CD8 在以 M12、M18、M24 为结局的各时点之间变化无统计学意义($P > 0.05$);CD4/CD8 在 M12 为终点的各时点之间变化显著($P < 0.01$),经多重分析显示,M12 时点较 M0 显著下降($P < 0.01$),而在以 M18、M24 为结局的各时点之间变化无统计学意义($P > 0.05$)。结论:经 24 个月的远期疗效观察,艾可清胶囊可使无症状期 HIV 感染者 CD3 水平在治疗 6 个月后明显升高并保持良好稳定,使 CD4 和 CD8 水平持续稳定。艾可清胶囊延缓 HIV 感染者进入发病期的疗效肯定。

关键词 HIV 感染者/中医药疗法;艾可清胶囊;T 淋巴细胞亚群

Effects of Aikeqing Capsule on T Lymphocyte Subsets in HIV Infectors

Dong Yongxin¹, Fu Linchun¹, Chen Xiejie²

(1. Tropical Medicine Institute, Guangzhou University of TCM, Post code: 510060; 2. Infectious Disease Department, Guangzhou 8th People's Hospital)

Abstract Objective:To evaluate effects of Aikeqing Capsule on T Lymphocyte Subsets in HIV Infectors. **Methods:**HIV Infectors included between Jan of 2008 and Jul of 2009 received Aikeqing Capsule and have T lymphocyte subsets detected at Month0, 1, 6, 12, 18, 24. Paired-Samples T test and one-way ANOVA were used in statistical analysis. **Results:** Comparing M6 with M0, CD3 increased significantly ($P < 0.01$), while other changes were not significant; CD4 and CD8 increased, CD4/CD8 decreased ($P > 0.05$). Decreases of CD3, CD4, CD8 between baseline and M12, M18, M24 were not different statistically ($P > 0.05$). Changes of CD4/CD8 was significant only when using M12 as endpoint ($P < 0.01$). **Conclusion:** Aikeqing Capsule can significantly increase CD3 levels in asymptomatic HIV-infectors after 3-month treatment, and stabilize CD3, CD4, CD8 levels. So Aikeqing Capsule has a definite slowing down effect for progression the infection.

Key Words HIV Infectors/ Chinese medical therapy; Aikeqing Capsule; T lymphocyte subsets

艾滋病,全称获得性免疫缺陷综合征(Acquired Immune Deficiency Syndrome, AIDS),是由人类免疫缺陷病毒(Human Immunodeficiency Virus, HIV)引起的以全身免疫机能缺陷为特征的疾病,具有可传染、病死率高的特点,处理失当,将会影响到整个社会的和谐发展。高效联合抗反转录病毒疗法(HAART)是目前治疗艾滋病的主要方法,有研究^[1-2]认为尽早对感染 HIV 的患者进行 HAART 治疗可以更好的延长患者的生存时间。目前我国 HAART 疗法在临床上仅用于发病期患者,针对无症状期患者的治疗是目前临床和科研的瓶颈。本研究拟对艾可清胶囊对无症状期 HIV 感染者 T 淋巴细胞亚群影响进行分析。

1 资料与方法

基金项目:国家“十一五”科技重大专项抗 HIV 中药复方优化及中动物模型研究(2008ZX1005-005);广东省中医药治疗艾滋病试点项目

- 1.1 研究设计 描述性病例观察研究。
- 1.2 研究环境 地点为广州市第八人民医院艾滋病专科门诊部,时间为 2004 年 7 月-2009 年 4 月。
- 1.3 研究对象
 - 1.3.1 纳入标准 需同时满足以下条件:1)符合无症状期 HIV 感染者诊断标准。2)年龄 18~65 岁。3)尚未接受 HAART 治疗。4)入组前 3 个月内未接受中药治疗。5)签署知情同意书。
 - 1.3.2 排除标准 满足以下任一条件即排除:1)伴严重心、肝、肾功能障碍及其他重要器官障碍者。2)伴严重神经或精神疾病者。3)伴活动性机会性感染者。4)妊娠或哺乳期妇女。
 - 1.3.3 剔除标准 1)入选后发现不符合诊断标准者。2)入选后未使用研究用药物者。3)入选后无任何实验数据者。
 - 1.3.4 脱落标准及处理 1)因不良事件或异常的实

实验室检测值无法继续研究。2) 受试者自愿退出。3) 服用其他药物影响本研究检测指标者。4) 研究过程中进入发病期, 须用 HAART 治疗。5) 研究过程中怀孕。

实验过程中发生以上情况时, 研究者即终止受试者继续参加研究, 并对终止理由、日期及退出研究前末次实验室检测结果进行记录。本研究被当地伦理委员会批准。

1.4 指标检测方法

1.4.1 主要试剂和仪器 三色标记单抗: CD4/CD8/CD3 TruCount, 克隆号为 SK3、SK1、SK7, 分别与 FITC、PE、PerCP 荧光素结合; 含 beads 的 TruCount 管; CaliBRITE beads; 10X FACS 溶血素(均为美国 BD 公司产品); FACS Calibur 流式细胞仪(BD 公司)。

1.4.2 标本处理 抽取患者空腹外周血 2mL, 用肝素钠抗凝管保存, 6h 内分析。向 TruCount 管分别加入 20 μ L 的抗体和 50 μ L 的抗凝全血, 振荡混匀 3s, 避光放置 15min, 加 1X 浓度的溶血素 450 μ L, 振荡混匀后避光放置 15min; 上机分析。

1.4.3 数据获取与分析 使用 CaliBRITE 标准微球、FACSCOMP 软件调节 FACS Calibur 流式细胞仪 PMT 电压、荧光补偿、灵敏度, 应用 MultiSet 分析软件(BD 公司提供)对处理好的标本进行 CD4/CD8/CD3 绝对值计数检测并计算 CD4/CD8。

1.5 诊断标准

1.5.1 西医诊断标准 参照 1993 年美国疾病控制中心发布的 AIDS 诊断标准^[3]。

1.5.2 中医诊断标准 参照 2004 年《11 省中医药临床治疗艾滋病技术方案(试行)》中 AIDS 无症状期的相关诊断标准^[4]。

1.6 干预措施

1.6.1 治疗措施 所有患者接受口服艾可清胶囊治疗。该药由广州中医药大学热带医学研究所组方, 珠江医院中药制剂科生产包装。主要成分为淫羊藿、虎杖、黄芪、甘草、骨碎补、紫草、莪术等, 每 1g 胶囊内容物含虎杖苷、甘草酸、淫羊藿苷分别为 10mg、4mg、3mg。药品规格: 120 粒/瓶。

1.6.2 用法用量 每次 3 粒, 每日 3 次, 饭后半小时服用。

1.7 随访 在纳入研究时(M0)采集患者一般资料, 在 M0 和治疗后 6(M6)、12(M12)、18(M18)、24(M24)个月采集患者 T 淋巴细胞亚群指标资料。

1.8 统计学方法 统计描述时对定量资料采用 $\bar{x} \pm s$ 表示, 定性资料采用频数和比率表示。统计分析时 M0 和 M6 的比较用两个独立样本的配对 t 检验, 其余各个

时点的比较采用可重复测量的单因素方差分析: 球形检验 $P > 0.05$ 时选用 Sphericity Assumed 检验结果, $P < 0.05$ 时选用 Greenhouse - Geisser 检验结果; 若该指标差别有统计学意义, 则进入多重比较, 若无统计学意义, 则终止分析。所有分析以 $P < 0.05$ 为差别有统计学意义的标准。统计软件使用 SPSS 13.0。

2 结果

共 40 例患者纳入研究, 男 16 人, 女 24 人, 男女比例为 0.667:1。年龄最小 23 岁, 最大 52 岁, 平均年龄 35.78 ± 1.54 。性接触感染 33 例, 占 82.5%; 血液途径感染 4 例, 占 10.0%; 吸毒 3 例, 占 7.5%; 中学文化 20 例, 占 50.0%; 大专 10 例, 占 25.0%; 本科 6 例, 占 15.0%; 小学 4 例, 占 10.0%。

2.1 在 M6、M12、M18、M24 时点完成相应治疗疗程病例数分别为 38、30、16、11, 截止 M24 时点有 29 人未纳入分析, 包括疗程未足 24 月 22 人和脱落 7 人。女性、已婚、性接触感染和中学教育程度在不同人口社会学特征中占主要地位。

2.2 以 M6 时点为结局时, 经配对 t 检验分析显示: 与 M0 相比, CD3 水平显著升高 ($P = 0.005$, CI95%: -331.712, -61.805); CD4 和 CD8 水平升高, CD4/CD8 水平下降, 但差异均无统计学意义(见表 1)。

2.3 以 M12 时点为结局时, 经可重复测量的单因素方差分析显示: CD3 和 CD8 水平上升, CD4 水平下降, 但各时点间差异并无统计学意义; CD4/CD8 在各时点之间变化有统计学意义 ($P = 0.009$, $F = 5.068$), 经多重分析显示, M12 时点较 M0 时点下降有统计学意义 ($P = 0.012$, CI95%: 0.020, 0.148), 其余时点变化无统计学意义(见表 2、表 3)。

2.4 以 M18、M24 时点为结局时, 经可重复测量的单因素方差分析显示各指标变化复杂, 整体趋势不尽相同, 但各指标在各时点的变化并无统计学意义(见表 4、表 5)。

3 讨论

目前, 针对艾滋病发病期患者的抗病毒治疗已经积累了比较丰富的经验, 疗效确切, 但无症状期 HIV 感染阶段的治疗仍是目前治疗的盲点。中医在“治未病”思想指导下, 可充分利用中医药较高的安全性和可控性, 长期使用毒副反应低, 有协同作用及多靶点、多层次调节等优势, 积极开展对无症状期患者早期干预, 以达到延缓发病乃至不发病的最终目的^[5]。

艾可清胶囊是在长期、大量的实验研究及临床观察的基础上依据中医理论组方配制而成的具有补益气血、滋肾养肝、活血解毒功效的中成药复方制剂, 其主

表1 以 M6 为终点时点时 T 淋巴细胞亚群水平变化配对 t 检验 ($\bar{x} \pm s, n = 38$)

变量	M3 (cells/ul)	M6 (cells/ul)	P 值	95% 置信区间	
				最低值	最高值
CD3	1334.82 ± 496.05	1531.57 ± 458.78	0.005	-331.71	-61.80
CD4	333.97 ± 109.64	354.38 ± 123.55	0.320	-61.82	21.01
CD8	957.63 ± 440.19	1054.22 ± 344.78	0.082	-206.13	12.95
CD4/CD8	0.40 ± 0.18	0.36 ± 0.16	0.086	-0.01	0.08

表2 以 M12 为终点时点时 T 淋巴细胞亚群水平变化可重复测量资料单因素分析 ($\bar{x} \pm s, n = 30$)

指标	M0 (cells/ul)	M6 (cells/ul)	M12 (cells/ul)	F 值	P 值
CD3	1384.67 ± 529.35	1572.67 ± 459.73	1493.83 ± 506.59	2.352	0.104
CD4	343.63 ± 114.20	370.14 ± 120.56	326.43 ± 108.75	1.993	0.145
CD8	967.73 ± 441.54	1063.37 ± 332.15	1045.13 ± 370.75	1.154	0.322
CD4/CD8	0.41 ± 0.20	0.37 ± 0.15	0.32 ± 0.11	5.068	0.009**

注:以 M12 为终点时点时,CD4/CD8 在各时点相比较,** $P < 0.01$ 。

表3 以 M12 为终点时点时 CD4/CD8 变化多重比较结果 ($n = 30$)

时点 1	时点 2	均数差值(1-2)	标准误	P 值	95% 置信区间	
					最低值	最高值
M0	M6	0.042	0.025	0.103	-0.009	0.092
	M12	0.084	0.031	0.012*	0.020	0.148
M6	M12	0.042	0.022	0.066	-0.003	0.087

注:CD4/CD8 经多重分析,M12 与 M0 比较,* $P < 0.05$ 。

表4 以 M18 为终点时点时 T 淋巴细胞亚群水平变化可重复测量资料单因素分析 ($\bar{x} \pm s, n = 16$)

指标	M0 (cells/ul)	M6 (cells/ul)	M12 (cells/ul)	M18	F 值	P 值
CD3	1375.38 ± 647.22	1675.19 ± 520.96	1494.94 ± 567.68	1503.31 ± 515.41	1.252	0.302
CD4	350.94 ± 143.71	401.06 ± 131.78	317.69 ± 112.76	311.44 ± 113.96	2.252	0.095
CD8	949.31 ± 532.10	1074.56 ± 369.06	1009.06 ± 389.44	1082.88 ± 467.24	0.535	0.661
CD4/CD8	0.44 ± 0.22	0.40 ± 0.15	0.32 ± 0.06	0.34 ± 0.19	2.497	0.072

表5 以 M24 为终点时点时 T 淋巴细胞亚群水平变化可重复测量资料单因素分析 ($\bar{x} \pm s, n = 11$)

指标	M0 (cells/ul)	M6 (cells/ul)	M12 (cells/ul)	M18 (cells/ul)	M24 (cells/ul)	F 值	P 值
CD3	1628.80 ± 699.83	1813.80 ± 582.59	1686.10 ± 609.33	1471.00 ± 540.94	1536.00 ± 572.77	0.849	0.503
CD4	399.50 ± 156.02	437.50 ± 152.96	339.10 ± 120.44	318.30 ± 124.86	326.70 ± 86.67	2.256	0.082
CD8	1142.80 ± 585.82	1156.90 ± 429.31	1149.70 ± 406.04	1041.70 ± 461.89	1136.10 ± 332.38	0.192	0.941
CD4/CD8	0.42 ± 0.22	0.41 ± 0.18	0.30 ± 0.05	0.38 ± 0.23	0.27 ± 0.04	2.521	0.058

要成分为淫羊藿、虎杖、黄芪、甘草等。本课题组既往的研究^[6-8]显示艾可清胶囊有提高 HIV/AIDS 患者免疫功能的作用,与 HAART 药物联用时有增效减毒的作用,且对肝脏肾脏无明显毒副作用,是一种较为安全的中成药复方制剂。本研究显示与既往研究相似的结果。艾可清胶囊在体内的作用机制尚未明确,但可能在以下 3 个方面:1)抑制 T 淋巴细胞的异常活化。岑玉文等^[9]对经由艾可清胶囊治疗后患者 T 淋巴细胞活化方面的作用进行研究,基于不同患者对药物应答反应的不同,其体内 CD28 变化呈现不一样的特点,CD28 在有效组下降,在无效组上升,CD28 的下降可能显示患者体内 T 细胞活化水平的下降,认为 CD28

下降可能是机体产生免疫学和病毒学有效的条件。2)促进 CD4 细胞的免疫功能恢复。CD4 是 HIV 攻击的主要靶细胞,HIV 包膜蛋白 gp120 与 CD4 分子之间发生高亲和性结合,不仅能定向感染细胞,引起 CD4 细胞在数量上的减少,而且也可破坏细胞的正常功能。导致 CD4 细胞在数量和功能上出现质和量的缺损,最终造成宿主免疫功能的全面障碍乃至丧失。经艾可清胶囊治疗后部分患者亦有短时间内因 CD4 下降至 200 而进入发病期的患者,但无一例患者出现美国 CDC1993 年修订的 HIV 感染分类及 AIDS 诊断标准中临床 B 型或临床 C 型症状及疾病,可推测患者 CD4 细胞虽然在数量上有所减少,但功能相对完整。3)可能

与进一步活化 CD8 细胞介导的非细胞毒性抗病毒反应有关。CD8 细胞是溶细胞性 T 细胞(CTL)所主要表达的一类分子,其主要功能是溶解靶细胞,在保护性免疫中发挥重要作用。其抗病毒的效应主要包括两个方面的机制:细胞毒性作用和非细胞毒性。前者是 CTL 在特异性识别了 MHC-I 类分子呈递的病毒抗原肽后,通过释放细胞浆颗粒或表达 Fas 蛋白配体杀伤靶细胞的;后者与释放可溶性抗病毒因子有关,这些因子包括细胞因子、趋化因子和 CD8 细胞抗病毒因子(CD8 T-cell anti-viral factor, or CAF)^[10]。有研究发现,感染 HIV 后长期不进展者其较强的 CD8 细胞非细胞毒性的病毒抑制作用(CD8 cell non-cytotoxic antiviral response, CNAR)有关,不同 HIV 感染者的 CNAR 活性相差较大,与其临床状态直接相关^[11-13], CNAR 效应强但 CD4 细胞计数低的 HIV 感染者,与 CNAR 效应弱而 CD4 细胞计数高的 HIV 感染者相比,前者保持相对健康状态的时间长于后者^[14-15]。基于中医药作用的多靶点、多效性特点,在活化 CD8 细胞的非细胞毒性方面的作用不容忽视,但有待进一步研究证实。

经 24 个月长期疗效观察,艾可清胶囊可使无症状期 HIV 感染者 CD3 水平在治疗 6 个月后明显升高并保持良好稳定,使 CD4 和 CD8 水平持续稳定,CD4/CD8 虽然在治疗 12 个月后有显著下降,但长期疗效良好。综上所述,艾可清胶囊在延缓 HIV 感染者进入发病期方面作用确切,但由于中医药的特殊性与复杂性,其作用的机制并不明确,有待在细胞因子、T 细胞亚群数量及功能活化等微观机制方面做进一步研究。

参考文献

- [1] Kitahata MM, Gange SJ, Abraham AG, et al. Effect of early versus deferred antiretroviral therapy for HIV on survival. *N Engl J Med*, 2009, 360(18):1815-26.
- [2] Kilsztajn S, Lopes ES, do Carmo MS, et al. Improvement in survival a-

mong symptomatic AIDS patients by exposure category in Sao Paulo. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2007, 45(3):342-7.

- [3] Centers for Disease Control. 1993 revised classification system For HIV infection and expanded Surveillance case definition for AIDS among adolescents and adults[M]. *MMW R Recomm Rep*, 1992. Dec 18, 41(RR-17):1-19.
- [4] 国家中医药管理局. 中医药治疗艾滋病临床技术方案(试行)[M]. 北京:人民卫生出版社, 2004. 20-27.
- [5] 魏鹏, 罗士德. 对中药治疗艾滋病疗效评价体系的几点看法. *河南中医学报*, 2007, 22(129):1-2.
- [6] 马伯艳, 符林春, 陈诺捷, 等. 艾可清胶囊治疗获得性免疫缺陷综合征疗效分析. *中医杂志*, 2007, 48(12):1092-1094.
- [7] 张苗苗, 符林春, 蔡卫平, 等. 艾可清胶囊对 HIV 感染者的疗效观察. *中华中医药学刊*, 2008, 26(10):2233-2236.
- [8] 马伯艳, 符林春, 蔡卫平, 等. 艾可清胶囊对高效抗病毒逆转录疗法的增效减毒作用. *中国实验方剂学杂志*, 2007, 13(8):60-63.
- [9] 岑玉文, 符林春. HIV/AIDS 患者中医证型、证型演变及其于 T 淋巴细胞活化关系的研究. 广州:广州中医药大学, 2008.
- [10] Yang OO, Kalams SA, Trocha A, et al. Suppression of human immunodeficiency virus type 1 replication by CD8 cells: evidence for HLA class I-restricted triggering of cytolytic and noncytolytic mechanisms. *J Virol*, 1997, 71(4):3120-3128.
- [11] Mackewicz CE, Ortega HW, Levy JA. CD8 cell anti-HIV activity correlates with the clinical state of the infected individual. *J Clin Invest*, 1991, 87:1462.
- [12] Barker E, Mackewicz CE, Levy JA. Effects of TH1 and TH2 cytokines on CD8+ cell response against human immunodeficiency virus: implications for long-term survival. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1995, 92:11135.
- [13] 袁霖, 马丽英, 徐维四, 等. 急性感染实验测定 CD8+ 细胞非细胞毒性的 HIV 抑制作用. *中国艾滋病性病*, 2008, 14(2):105-107.
- [14] Gomez AM, Smail FM, Rosenthal KL. Inhibition of HIV replication by CD8+ T cells correlates with CD4 counts and clinical stage of disease. *Clin Exp Immunol*, 1994, 97:68-75.
- [15] Levy JA, Mackewicz CE, Barker E. Controlling HIV pathogenesis: the role of noncytotoxic anti-HIV activity of CD8+ cells. *Immunol Today*, 1996, 17:217-224.

(2009-12-16 收稿) ⊙

(上接第 17 页)

中驱寒, 辅助脾阳, 干姜并能和胃止呕; 党参能甘温入脾, 补中益气, 培补后天之本, 气旺则阳气回复; 白术可燥湿健脾, 健运中焦; 肉桂以补肾助阳; 柿蒂颗粒冲入以降逆下气; 炙甘草能补脾益气, 调和诸药。用药上, 药少力专; 服药方法上, 采用少量频服, 避免加重胃肠道负担。本治法可祛脾胃中焦之寒, 阳气复, 中气得补, 健运有权, 中焦虚寒之证自除。现代研究还发现附子理中丸能健脾、温阳, 可抑制胃肠平滑肌痉挛性收缩, 其中附子的“温阳”作用还与提高机体免疫功能有关^[4]。总之, 附子理中丸治疗化疗后迟发性恶心呕吐, 取得了良好的效果, 与西药昂丹司琼口服对比, 具

有疗效确切, 治疗费用低廉, 副反应少等优点, 值得临床推广。

参考文献

- [1] 王梅子, 许建衡. 化疗止吐药物的研究进展. *汕头大学医学院学报*, 2008, 21(2):123-124.
- [2] Dranitsaris G, Leung P, Ciotti R, et al. A multinational study to measure the value that patients with Cancer place on improved emesis control following cisplatin chemotherapy. *Pharmacoeconomics*, 2001, 19(9):955-967.
- [3] 邹晓瑜. 吴茱萸汤加味防治顺铂化疗所致迟发性呕吐的临床观察. *陕西中医药大学学报*, 2009, 33(6):806-807.
- [4] 邓立春. 附子理中丸防治含伊力替康方案化疗相关性腹泻 30 例. *陕西中医*, 2009, 30(9):1153-1154.

(2010-10-19 收稿) ⊙