

# HIV感染者/AIDS患者泌尿生殖道组织

## HIV-1总DNA的检测及意义研究

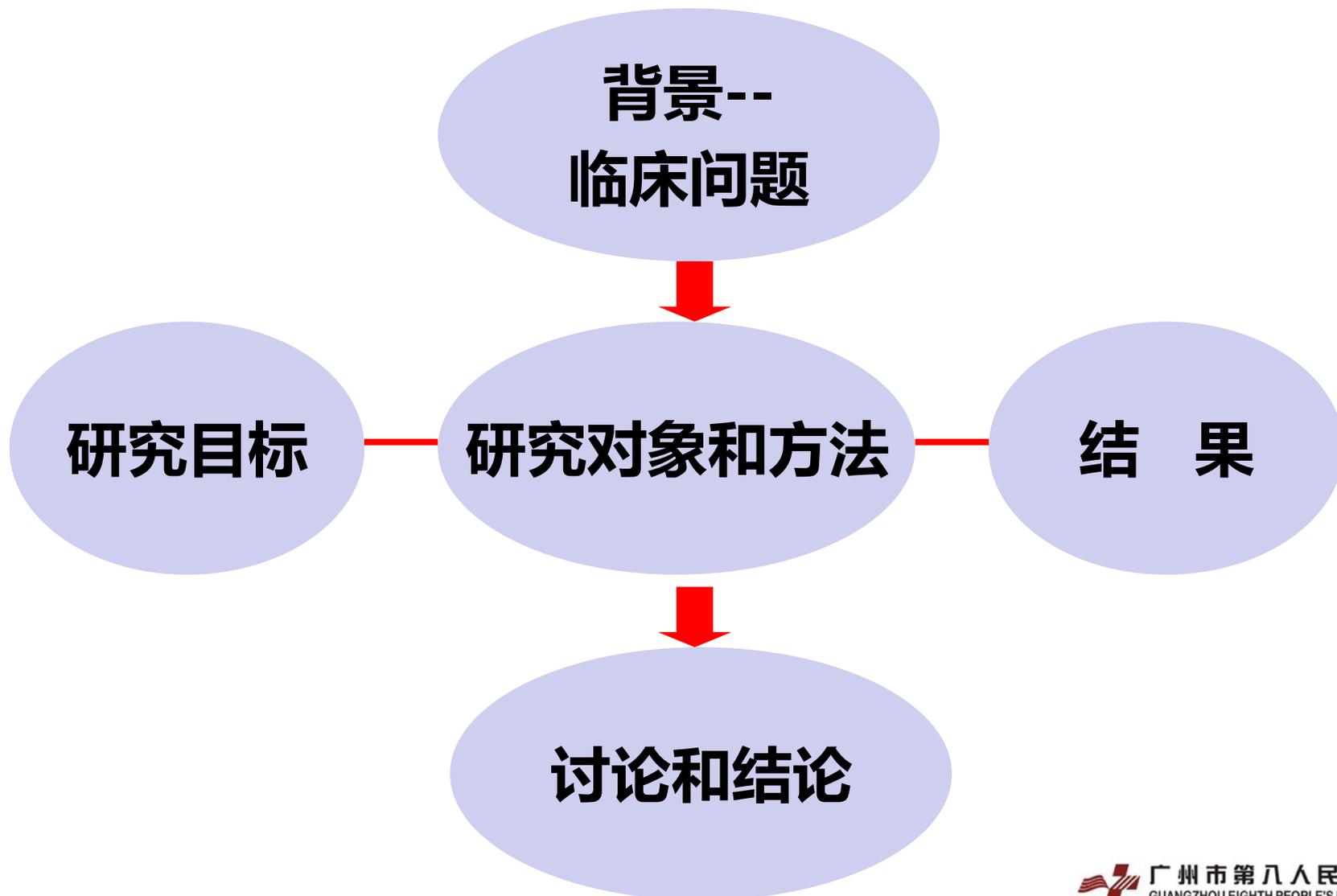


广州市第八人民医院

朱郁荣，范立新，何耀祖，周雄才，李成松，李宝金，李锋，杨柳平，李凌华

2019.10.15 杭州. 全国艾滋病大会

# 主要内容

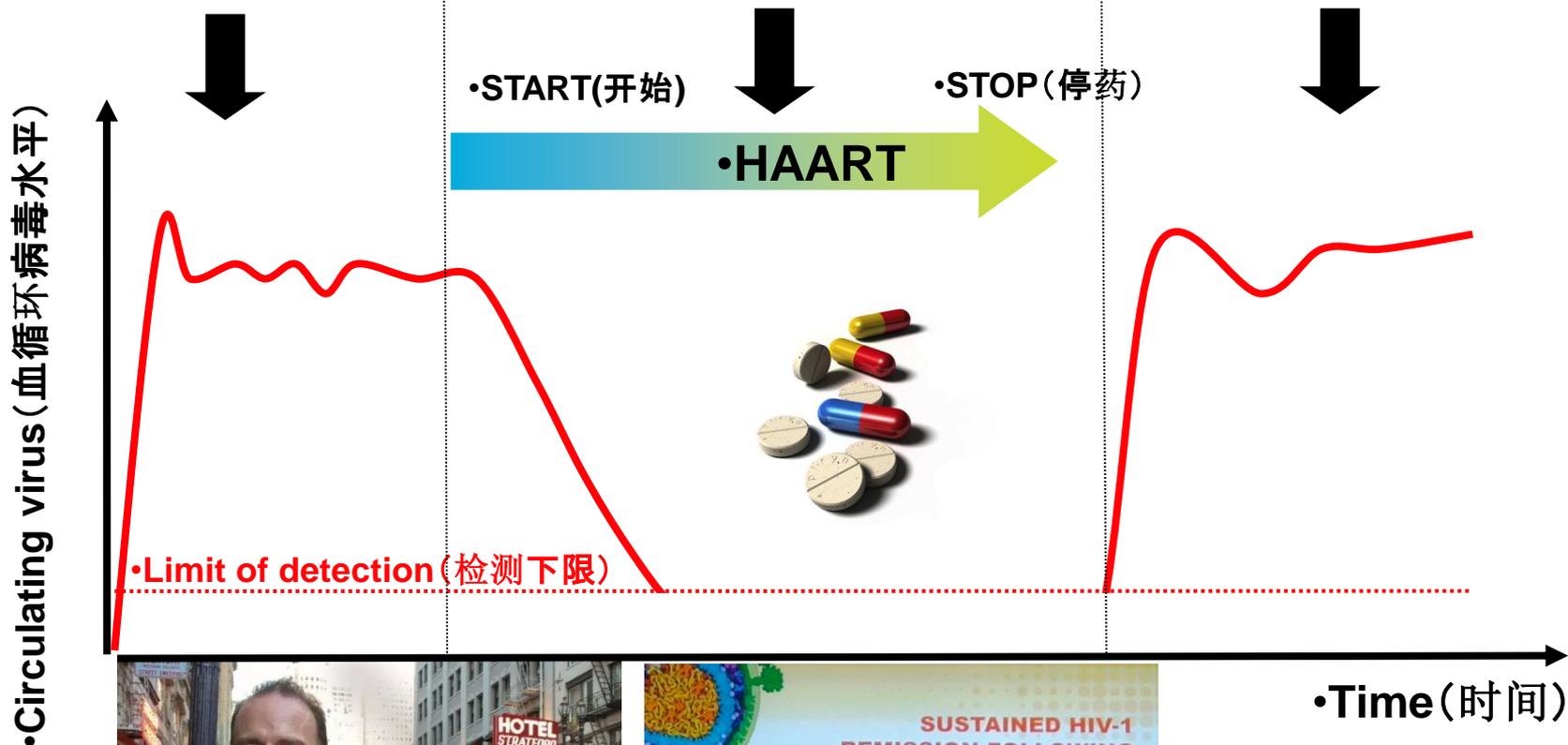


# 清除HIV是抗病毒治疗的终点，但目前达不到

• HIV感染的特征：血液中循环的病毒含量高

• 抗反转录病毒药物能抑制HIV至检测不到水平

• 但治疗终止后会出现病毒反弹



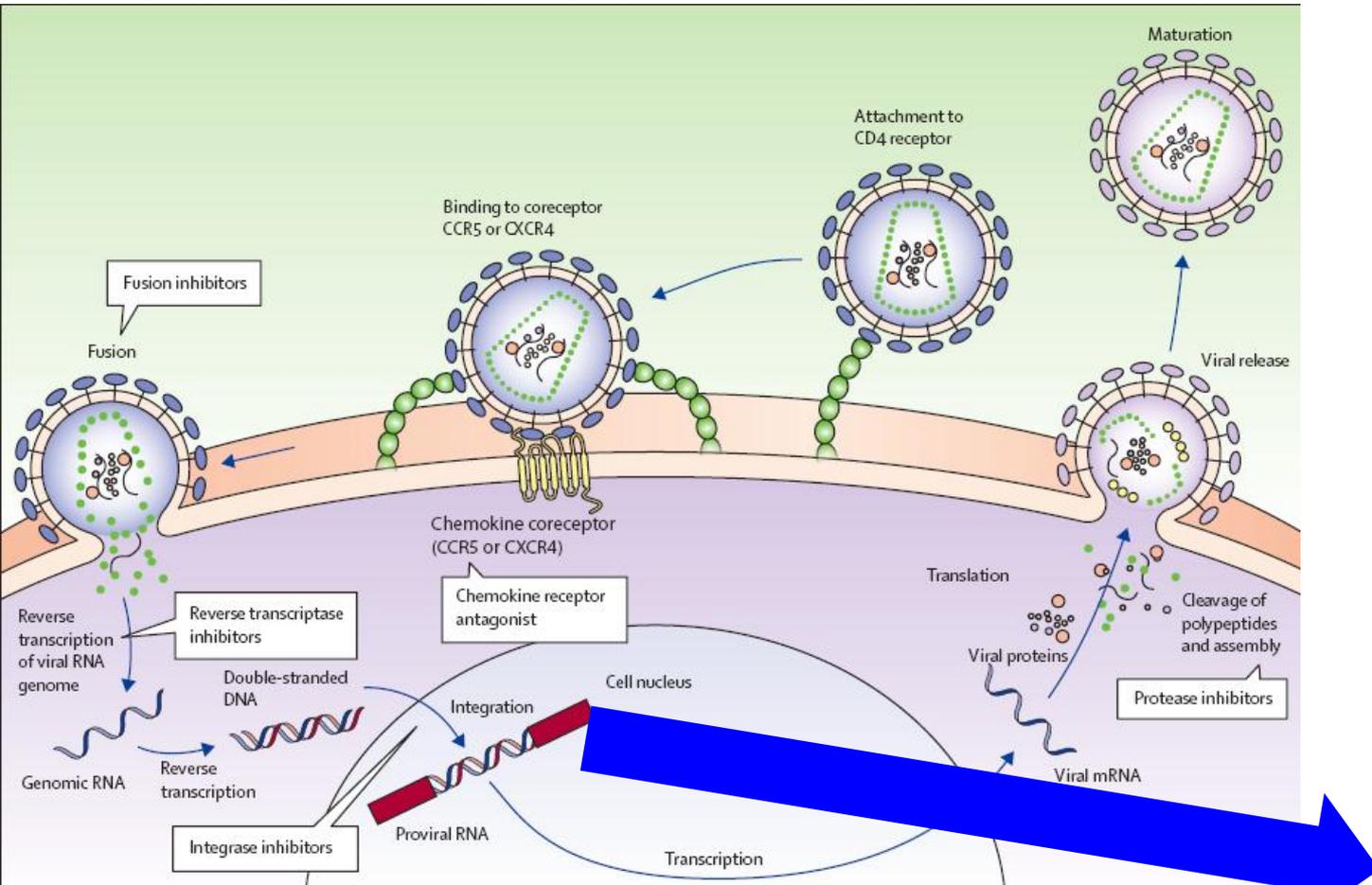
柏林病人



伦敦病人

广州市第八人民医院  
GUANGZHOU EIGHTH PEOPLE'S HOSPITAL

# 潜伏存在的病毒储存库是难以根治HIV的主要原因



病毒储存库

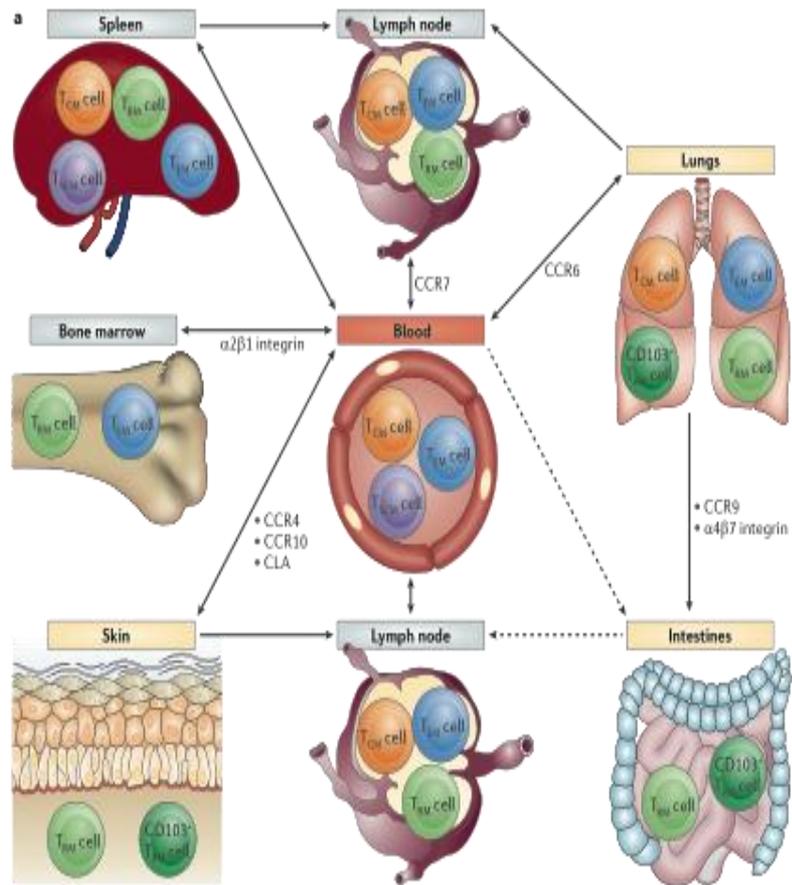
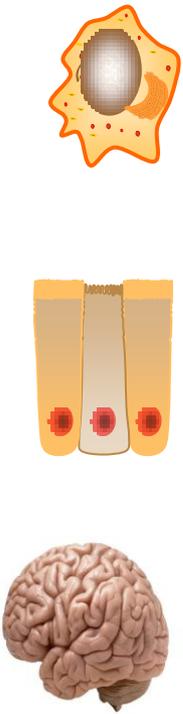
HIV病毒基因组整合到宿主细胞基因组



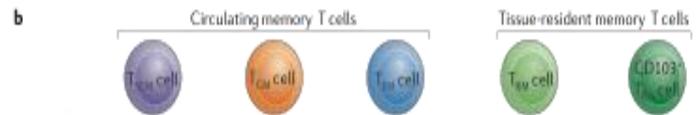
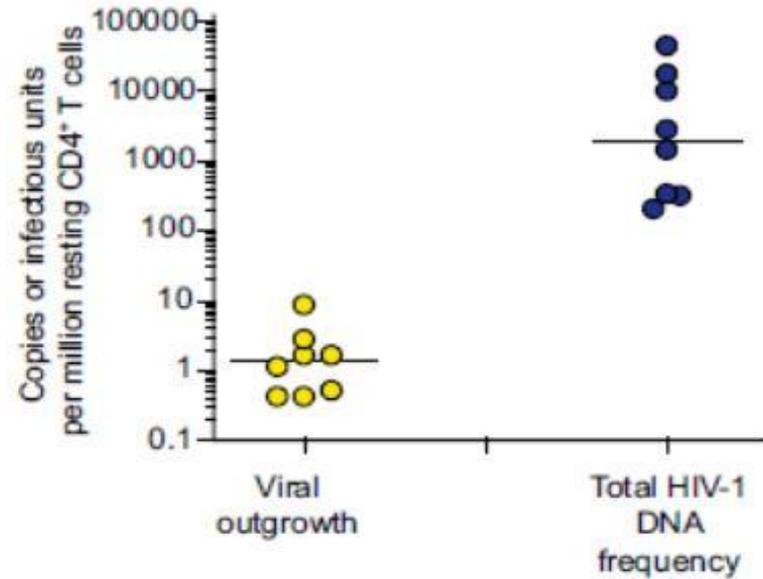
•Hogg et al. 2013;  
•Siliciano JD, et al. Nature Medicine, 2003.

# HIV病毒储存库遍及全身

•病毒储存库包括所有HIV感染静止细胞：T细胞、巨噬细胞和组织腔隙：消化道相关淋巴组织（GALT）和大脑等，量虽少但持续感染，且遍及全身，难以定位。



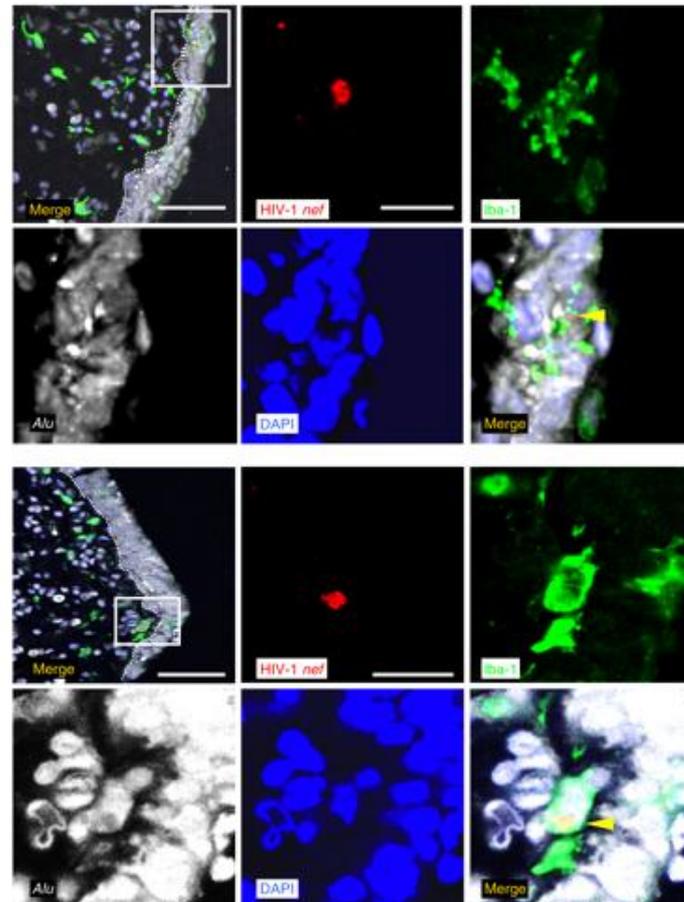
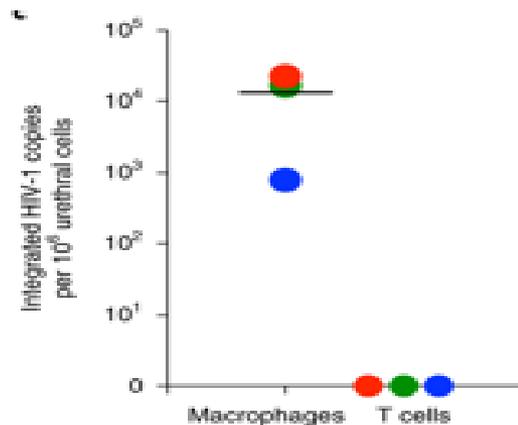
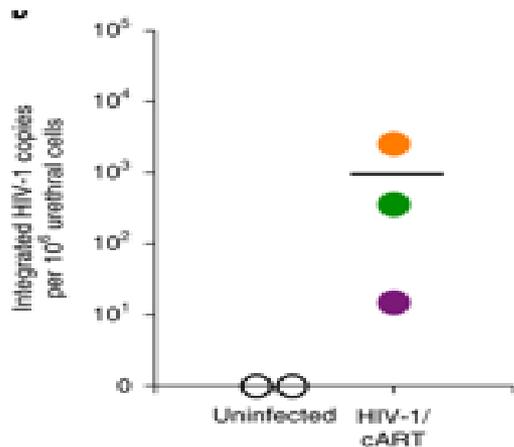
HIV储存库可能是原来预料的60倍，清除HIV大约需要>73.4年



•Hogg et al. 2013;  
•Siliciano JD, et al. Nature Medicine, 2003.

# 男性泌尿生殖道组织—病毒储藏库？

有研究证实，即使经过ART成功抑制了血浆HIV RNA，尿道巨噬细胞仍包含整合的HIV DNA，HIV RNA和蛋白等。



•Ganor Y,et al. Nat Microbiol. 2019.

# 临床问题→研究目标

- 有关男性泌尿生殖道组织作为HIV储存库的研究，目前国内罕见报道。



- 研究目标：

- 探讨泌尿生殖道组织作为HIV感染者/AIDS患者HIV储存库的可能；
- 为育龄男性健康生育，进一步探索AIDS功能性治愈策略提供理论基础。

# 研究对象和方法

- 研究对象：20例已经接受HAART至少6个月，因各种原因行包皮切除术或泌尿道/生殖道腔镜手术的男性HIV感染者/AIDS患者
  - ✓ 确证HIV-1感染。
  - ✓ 排除标准：合并严重机会性感染、疱疹病毒感染、巨细胞病毒感染、软下疳、梅毒、淋病、恶性肿瘤、乙型肝炎、丙型肝炎、严重基础疾病、泌尿系结核、泌尿系急性感染及其他不宜手术的禁忌症。
  - ✓ 接受抗病毒治疗方案：TDF/AZT+3TC+EFV或NVP或LPV/r。

## □ 研究方法：

- 1.检测外周血HIV-1 RNA病毒载量：COBASTM全自动病毒载量分析系统和试剂
- 2.检测外周血T淋巴细胞亚群：美国BD公司流式细胞仪和试剂
- 3.检测外周血单个核细胞（PBMC）和组织HIV-1 Total DNA：海力特公司试剂

# 结 果 ( 1 )

编号	年龄	治疗前CD4+ 细胞	Th/Ts	治疗后 CD4细胞	Th/Ts	治疗时 间 (月)	PBMC HIV-1 DNA (cps/10 <sup>6</sup> cells)	标本来源	HIV DNA cps/10 <sup>6</sup> cells
1	46	356	1.04	622	1.03	12	1.02E+03	附睾	1.84E+01
2	30	235	0.38	456	0.56	18	9.47E+02	前列腺	4.11E+03
3	64	228	0.29	356	0.48	12	5.84E+02	尿道粘膜	2.53E+03
4	34	265	0.37	386	0.37	6	1.06E+02	包皮内板粘膜	6.83E+00
5	62	300	0.48	329	0.54	19	3.25E+03	包皮内板粘膜	8.04E+03
6	60	248	0.32	484	0.56	8	3.70E+03	输精管粘膜	7.69E+02
7	28	345	0.47	456	0.58	9	2.89E+03	包皮	2.46E+03
8	30	25	0.09	110	0.18	7	3.81E+03	包皮	2.58E+02
9	53	172	0.22	328	0.41	12	4.68E+02	尿道粘膜	2.62E+02
10	68	380	0.46	689	0.63	14	4.45E+02	前列腺组织	1.60E+02
11	46	248	0.35	593	0.62	15	7.87E+02	前列腺组织	1.82E+02
12	50	217	0.23	318	0.34	8	4.45E+02	尿道粘膜	1.35E+02
13	44	112	0.17	349	0.29	10	1.10E+03	包皮内板粘膜	3.30E+02
14	66	365	0.38	458	0.47	12	8.59E+01	前列腺	2.20E+02
15	37	113	0.13	342	0.23	13	8.93E+04	包皮	1.87E+03
16	60	36	0.06	389	0.34	14	3.25E+03	包皮	3.30E+02
17	18	380	0.3	631	0.46	36	1.36E+02	包皮	3.21E+05
18	29	139	0.19	348	0.43	12	2.89E+03	包皮	2.66E+03
19	51	345	1.29	556	1.83	11	1.05E+03	尿道粘膜	4.90E+03
20	39	40	0.12	146	0.58	34	1.10E+03	包皮	1.69E+03

# 结 果 ( 2 )

## □ 一般资料

- ✓ 年龄18~68岁，平均 $45.8 \pm 14.7$ 岁。接受HAART 6-36个月，外周血HIV-1 RNA均低于检测下限20拷贝/ml。
- ✓ 基线外周血CD4<sup>+</sup>细胞计数25~380cells/ $\mu$ l，平均 $227.5 \pm 118.6$  cells/ $\mu$ l，检测时CD4<sup>+</sup>细胞计数（110~689）cells/ $\mu$ l，平均 $417.3 \pm 151.3$  cells/ $\mu$ l，较基线上升（ $t = -9.27$ ， $P < 0.001$ ）。
- ✓ 基线CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值0.06~1.29，平均 $0.37 \pm 0.30$ ；检测时CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值0.18~1.83，平均 $0.55 \pm 0.35$ ，较基线上升（ $t = 5.89$ ， $P < 0.001$ ）。

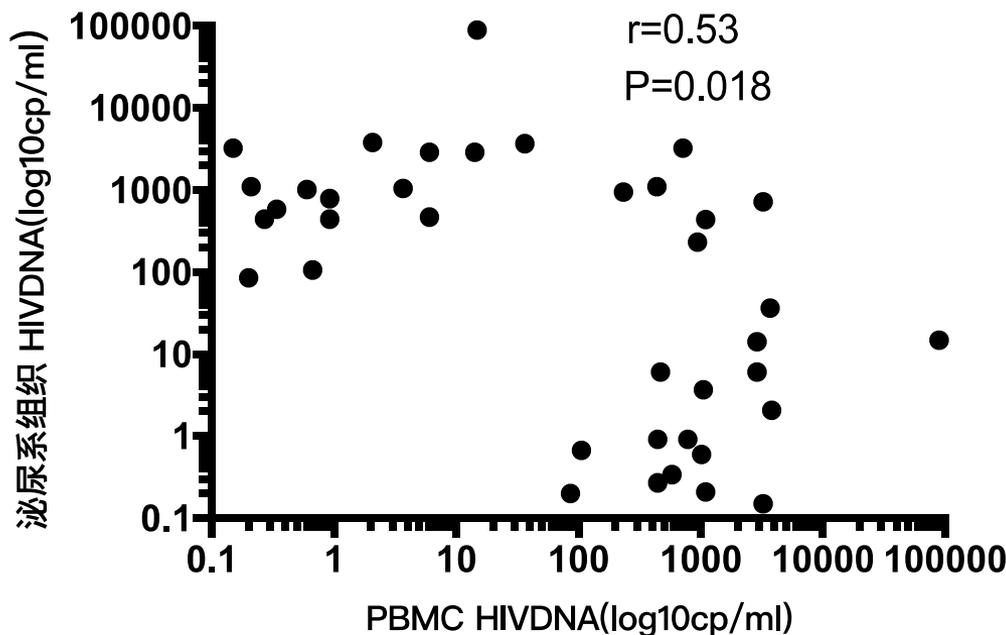
# 结 果 ( 3 )

## □ PBMC和泌尿生殖道组织HIV-1 Total DNA检测结果

- ✓ PBMC中均能检测到HIV-1总DNA，其载量85.9~89300 copies/10<sup>6</sup>cells，中位数为1034.12 copies/10<sup>6</sup>cells
- ✓ 17例（85%）采集生殖道组织，3例（5%）采集泌尿道组织（尿道粘膜）
  - 均能检测到HIV-1总DNA，其载量为6.83~321000 copies/10<sup>6</sup>cells，中位数为550 copies/10<sup>6</sup>cells。
  - 其中低于100 copies/10<sup>6</sup>cells者2例（10%），100~1000 copies/10<sup>6</sup>cells 6例（30%），其余12例（60%）均大于1000 copies/10<sup>6</sup>cells。

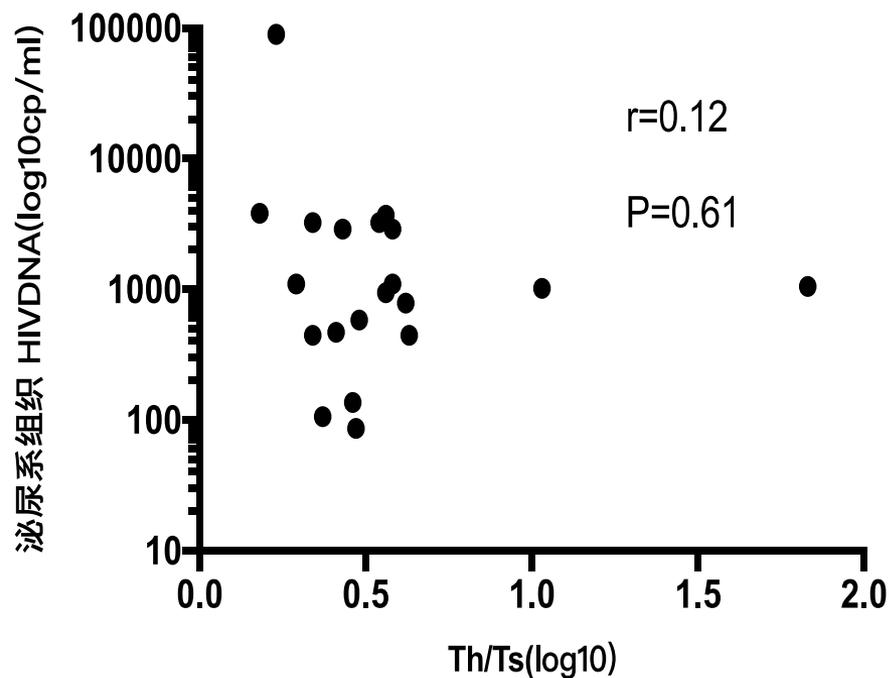
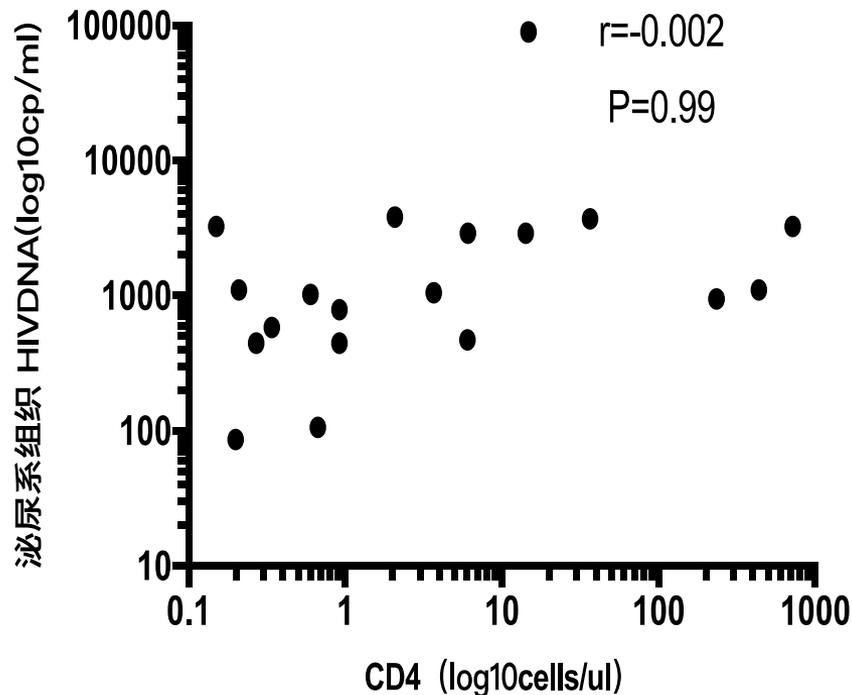
# 结 果 ( 4 )

- 20例患者PBMC和泌尿生殖道组织HIV-1总DNA载量无明显差异 (  $t=1.36$  ,  $P=0.20$  )
- 泌尿生殖道组织HIV-1总DNA与PBMC HIV-1总DNA、CD4+细胞计数、CD4+/CD8+比值的相关性分析
- ✓ 泌尿生殖道组织和PBMC的HIV-1总DNA正相关 (  $r=0.53$  ,  $P=0.018$  )



# 结果(5)

✓泌尿生殖道组织HIV-1总DNA载量与CD4<sup>+</sup>计数变化值无明显相关性 ( $r=-0.002$ ,  $P=0.99$ ), 与CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值的变化值也无明显相关性 ( $r=0.12$ ,  $P=0.61$ )。



# 讨 论 ( 1 )

- HAART疗效常规指标：外周血HIV-1 RNA病毒载量、CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞计数和CD4<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup>比值。
- HIV-1病毒储存库通过多种机制持续存在，包括残留病毒复制、静息与活化的CD4<sup>+</sup>T淋巴细胞相互感染、抗病毒药物无法到达病毒储存库潜伏场所等<sup>[11-13]</sup>。
- 成功的HAART仍然无法清除泌尿生殖道组织的HIV-1，提示泌尿生殖道组织可能是HIV-1的病毒储存库之一。

Avettand-Fènoël V, et al. Clinical Microbiology Reviews, 2016.

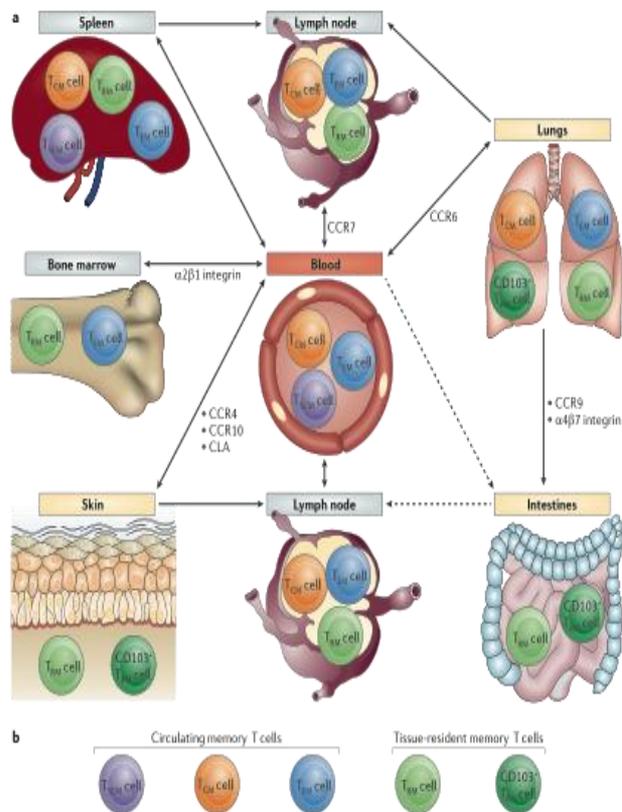
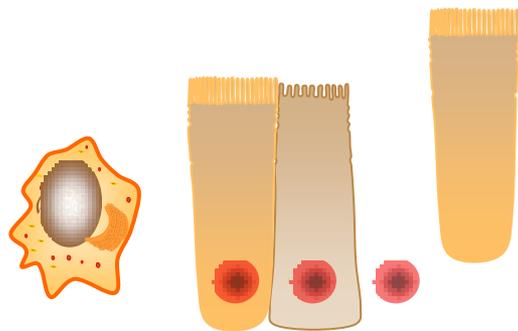
Agosto L M, et al. Virology, 2011.

Fletcher C V, et al. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014.

# 讨论 (2)

□ 泌尿生殖道组织内的HIV-1 DNA能否被有效激活和复制，目前并不清楚。

□ 需要注意U=U的解释



□ HIV-1 Total DNA作为HIV-1病毒储存库的基本标志物，也可能成为监测HAART治疗效果的一个指标。

Hogg et al. 2013

# 总 结

- 泌尿生殖道组织可能是HIV-1的病毒储存库之一。
- 深入研究泌尿生殖道的HIV-1病毒储存库，为进一步探究AIDS功能性治愈策略提供理论基础。



# 致谢

广州市第八人民医院感染病中心  
广州市第八人民医院外科  
广州市第八人民医院传染病研究所



朱郁荣



何耀祖



范立新



李宝金



杨柳平



李锋