

益气健脾方对HIV病毒储存库的影响

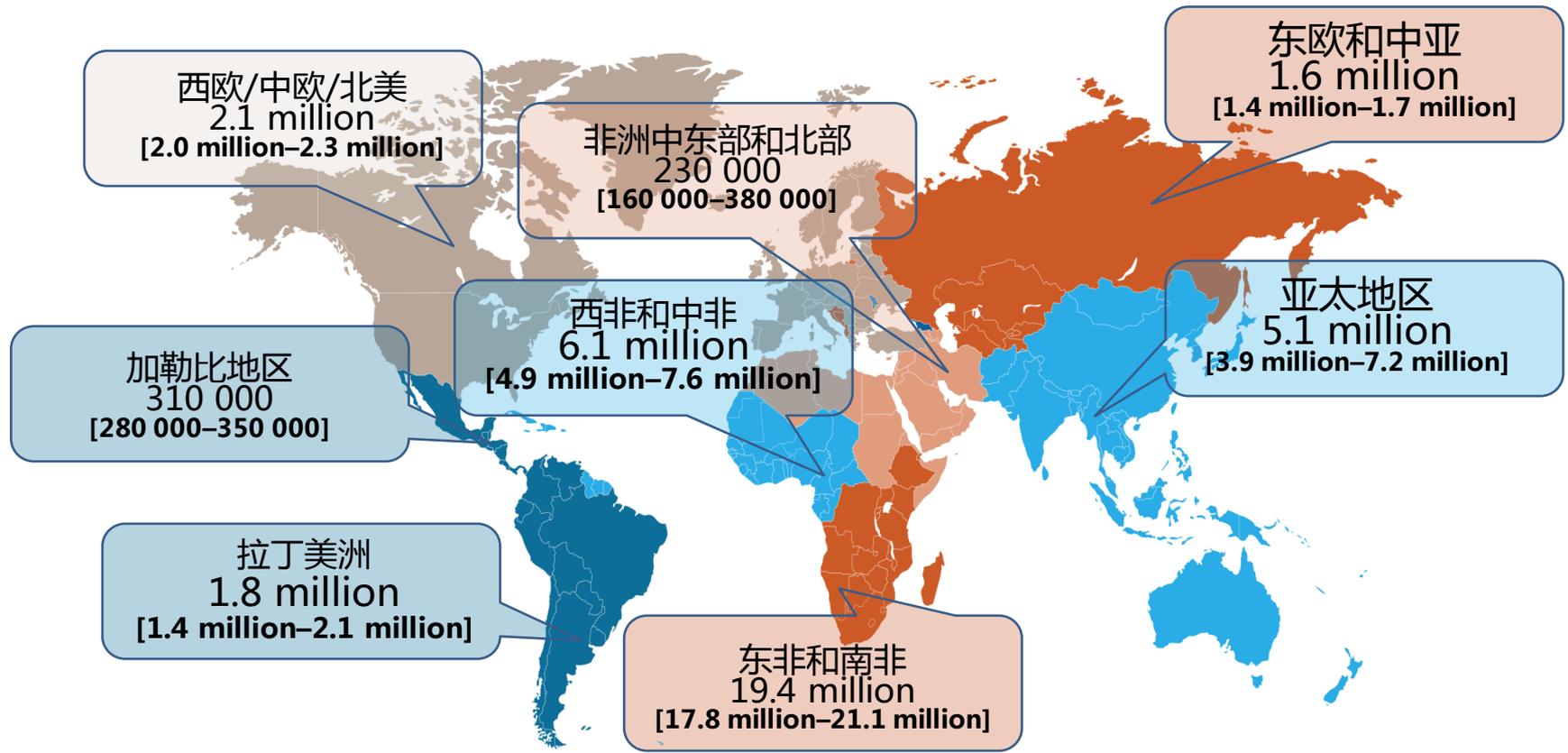
李伟华

首都医科大学附属北京佑安医院

2019-10-17 杭州



艾滋病流行至今, 7700万感染者, 3500万死于艾滋病相关疾病, 目前存活约3690万人 [31.1 million–43.9 million] (2017)



联合国艾滋病规划署, <http://www.unaids.org/>, 2017



全球存活HIV/AIDS患者 75% 集中在 15个国家, 中国是其中之一, 并列第7位。



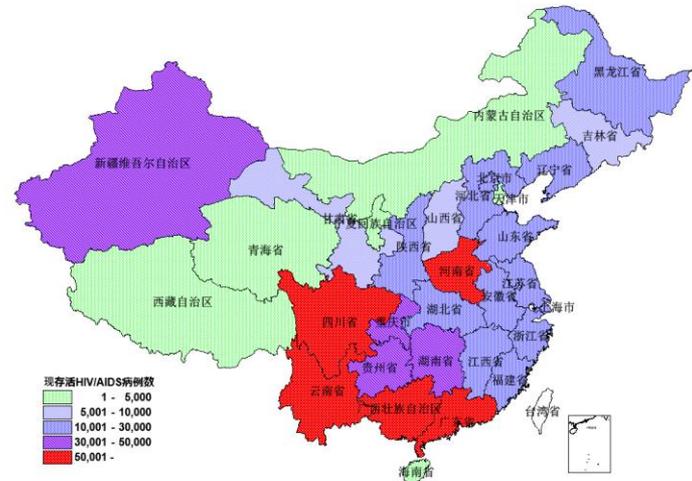
我国艾滋病流行情况

- 截止2018年底全国报告存活HIV/AIDS **861042**例。
- 截止2018年现存活HIV/AIDS数达10000例以上的**22**个省份

报告全人群HIV感染率地区分布



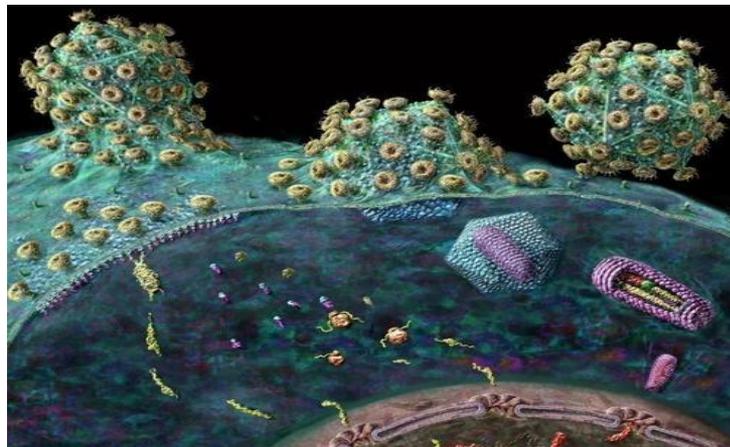
报告存活HIV感染人数地区分布



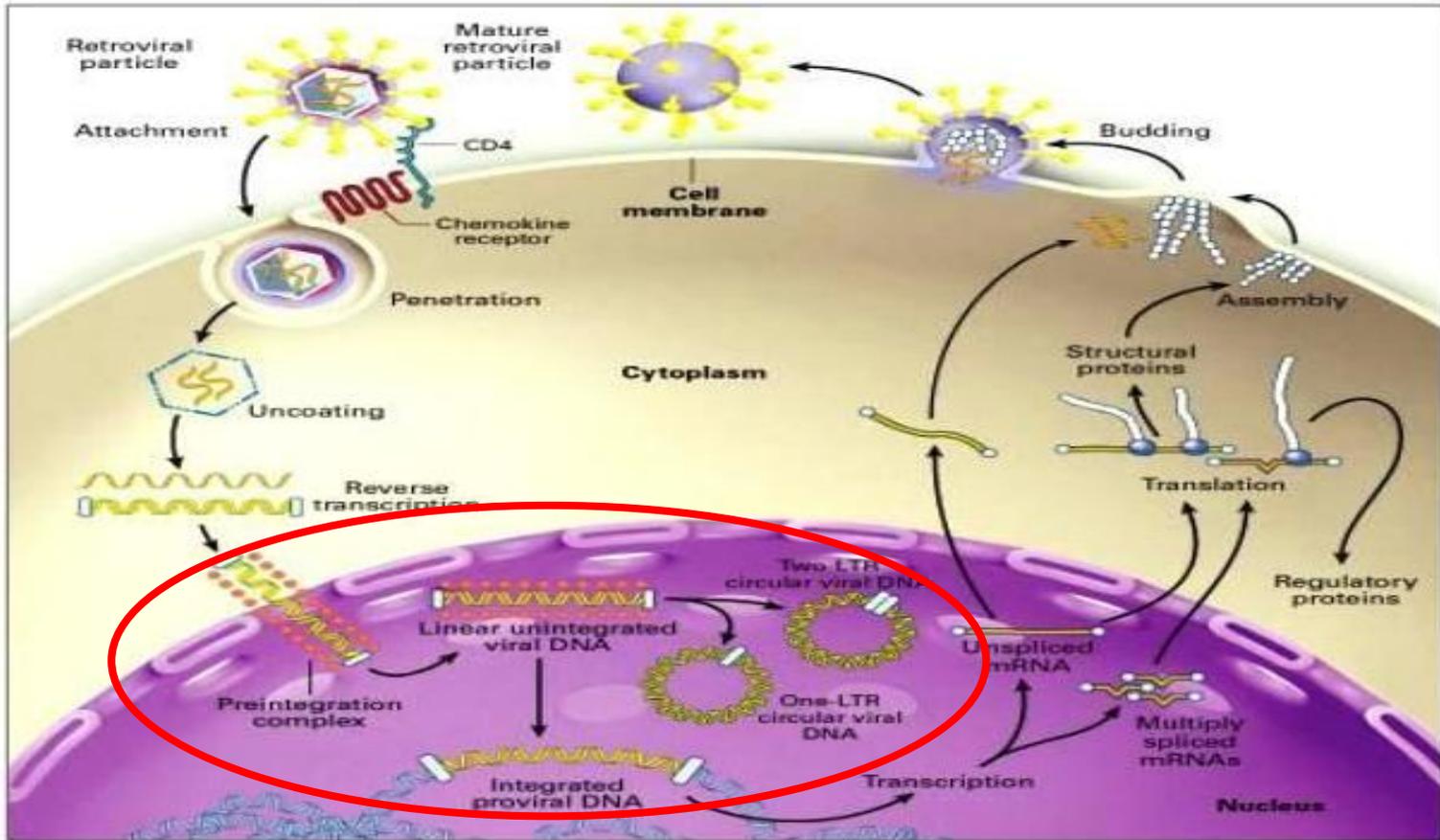


HIV病毒储存库是目前治疗艾滋病面临的关键问题

艾滋病仍不能治愈，原因是HIV DNA整合在静止期的CD4细胞、巨噬细胞、中枢神经系统内形成潜伏HIV病毒储藏库。HAART完全清除HIV，一旦停药，病毒即可反弹。因此，如何清除潜伏HIV病毒是当前治疗艾滋病的关键问题。



HIV病毒储存库的形成与存在方式



总HIV DNA



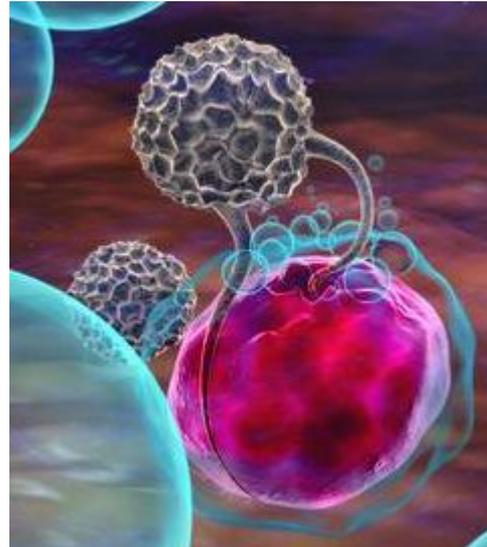
清除HIV病毒储存库的方法

1. HAART治疗

2. 激活潜伏 HIV 病毒并杀死 “Shock and Kill” 疗法。

(block and lock)

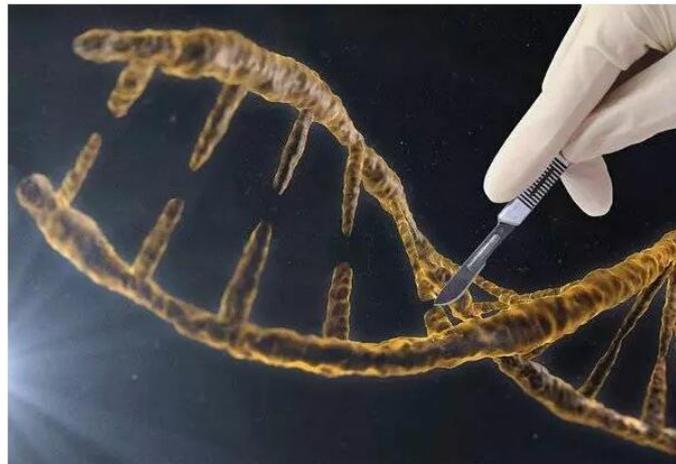
3.使用广谱中和抗体、免疫毒素或其他免疫疗法杀灭潜伏感染细胞。





清除潜伏HIV病毒储存库方法

4. 编辑基因诱导目标细胞产生HIV抗性。使用锌指核酸酶进行基因编辑去除 CCR5 基因，不表达CCR5 的 CD4+ T 细胞增生后重新注入同一患者，可减少 HIV DNA。
5. CCR5 基因缺陷造血干细胞骨髓移植。





HIV病毒储存库“激活剂”

①**组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂**:如丁酸钠、丙戊酸等，它们后能诱导静息CD4+ T细胞内病毒的表达，减少体内HIV感染的静息T细胞内潜伏病毒的数量；

②**溴蛋白(BRD)抑制剂**:可增强T细胞的复制和上调T细胞激活的基因，并且通过上调染色质的修饰基因及赖氨酸脱甲基酶来诱导HIV转录；

③**PKC/NF- κ B通路调节剂**:通过激活PKC、MAPKs和NF- κ B信号通路激活HIV潜伏病毒，同时下调细胞表面HIV-1的共受体CD4和CXCR4的表达；

④**DNA甲基化转移酶抑制剂**:可增进DNA甲基化进而增强HIV转录，与其他种类潜伏激活剂联用对病毒潜伏激活具有协同增效作用；

以上激活剂目前都处在试验阶段，还未真正应用至临床。



中医药对HIV病毒储存库的作用

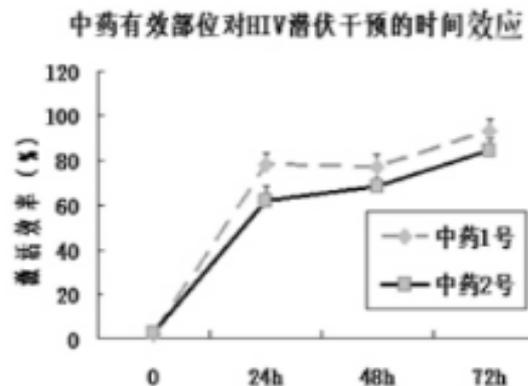
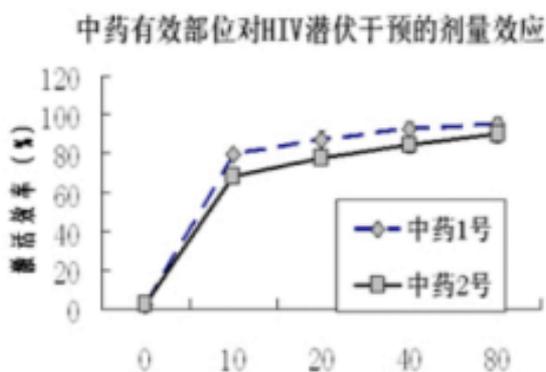
一些天然药物对HIV潜伏感染有激活作用，北京工业大学研究发现芫花、山乌柏、泽漆和射干60%或100%醇提物对J-Lat 11.1细胞（HIV潜伏感染细胞模型）具有明显的再激活作用。



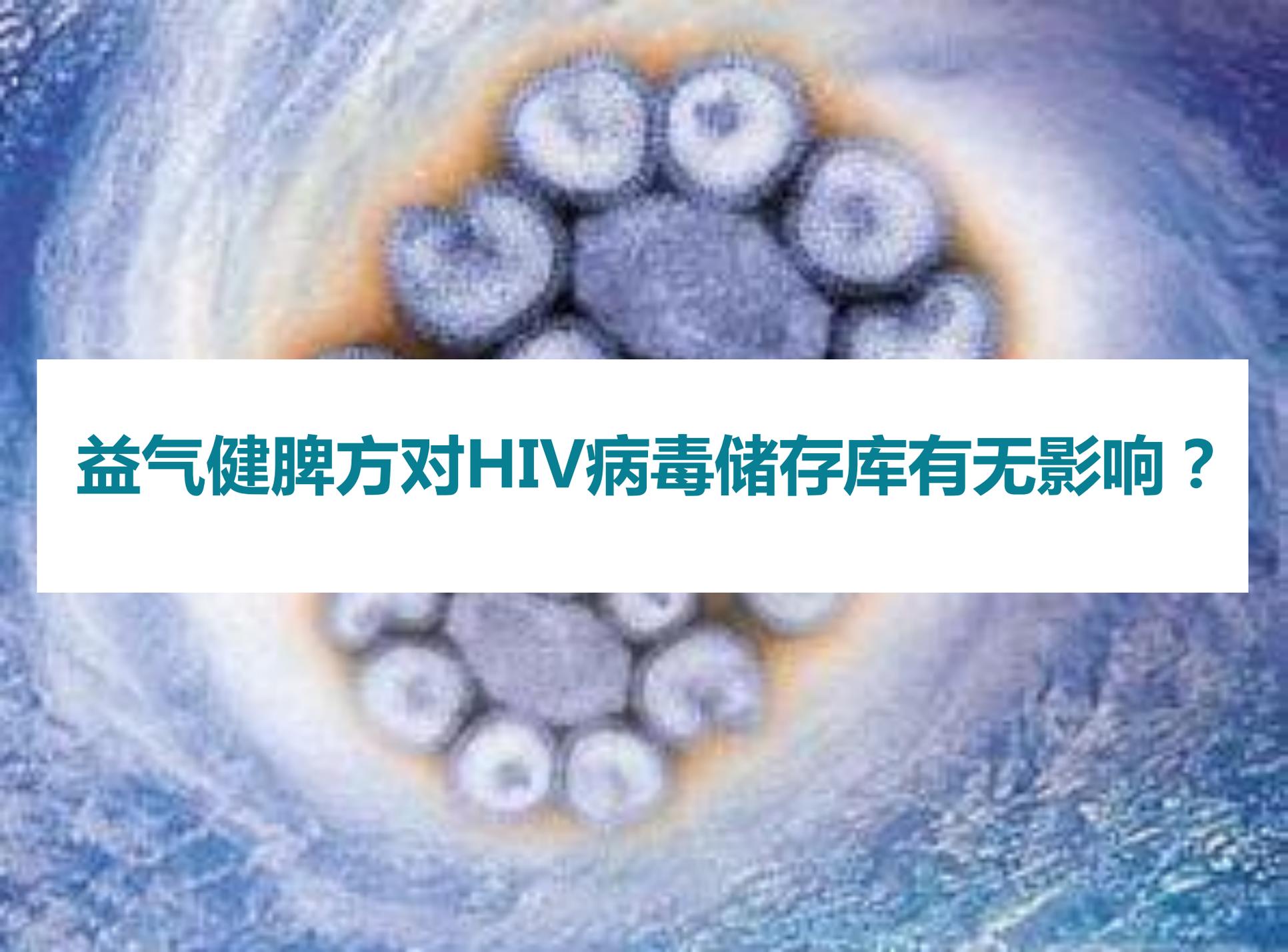


中医药对HIV病毒储存库的作用

- 我院与复旦大学生命科学院共同研究发现白术在体外可以激活潜伏HIV病毒。



- 我们前期在研究益气健脾方对HIV特异性T细胞免疫功能的实验中发现益气健脾方联合HAART治疗可以激活CD4+T细胞，并随治疗时间的延长而增加。

A microscopic image showing several HIV virus particles. The particles are roughly spherical with a distinct outer envelope and a darker, textured core. They are clustered together in the center of the frame. The background is a light blue, grainy texture.

益气健脾方对HIV病毒储存库有无影响？



益气健脾方药主要成分



益气健脾方临床应用10余年，有很好的临床疗效。主要组成：**黄芪、女贞子、白术、山药、茯苓、党参、银花**、等，方中黄芪甘温，补脾肺之气，女贞子滋补肾阴，共为君药；党参、白术、山药健脾益气为臣药，茯苓甘淡渗湿健脾，加入陈皮芳香健脾，使甘温缓补更兼理气健脾之功，是为佐药。每日一剂。



2005年

200余人
开放性
Cohort

ClinResearch 临床研究数据管理系统

当前试验: 中医药治疗艾滋病 张瑞云 (数据录入员) 退出

业务导航: 1 选择试验 >> 2 选择受试者 >> 3 查看CRF结构 >> 4 编辑/审核数据 >> 6 查看/导出数据

受试者清单

序号	受试者ID	姓名缩写	登记时间	状态	所属研究中心	操作
1	BI-YA-381	MZMI	2014/6/25 9:16:35	录入中	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
2	BI-YA-401	CJJI	2016/3/17 18:17:38	录入中	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
3	BI-YA-80	SUPI	2011/11/16 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
4	BI-HH-001	JSJU	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
5	BI-HH-002	HMTA	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
6	BI-HH-003	CGXI	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
7	BI-HH-004	SAYU	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
8	BI-HH-005	NOXA	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
9	BI-HH-006	RSNV	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
10	BI-HH-007	GXQI	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
11	BI-HH-008	ZLFU	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入
12	BI-HH-009	WY7A	2011/11/29 0:00:00	未录入	[0258]首都医科大学附属北京佑安医院	录入

2016/5/8 22:23



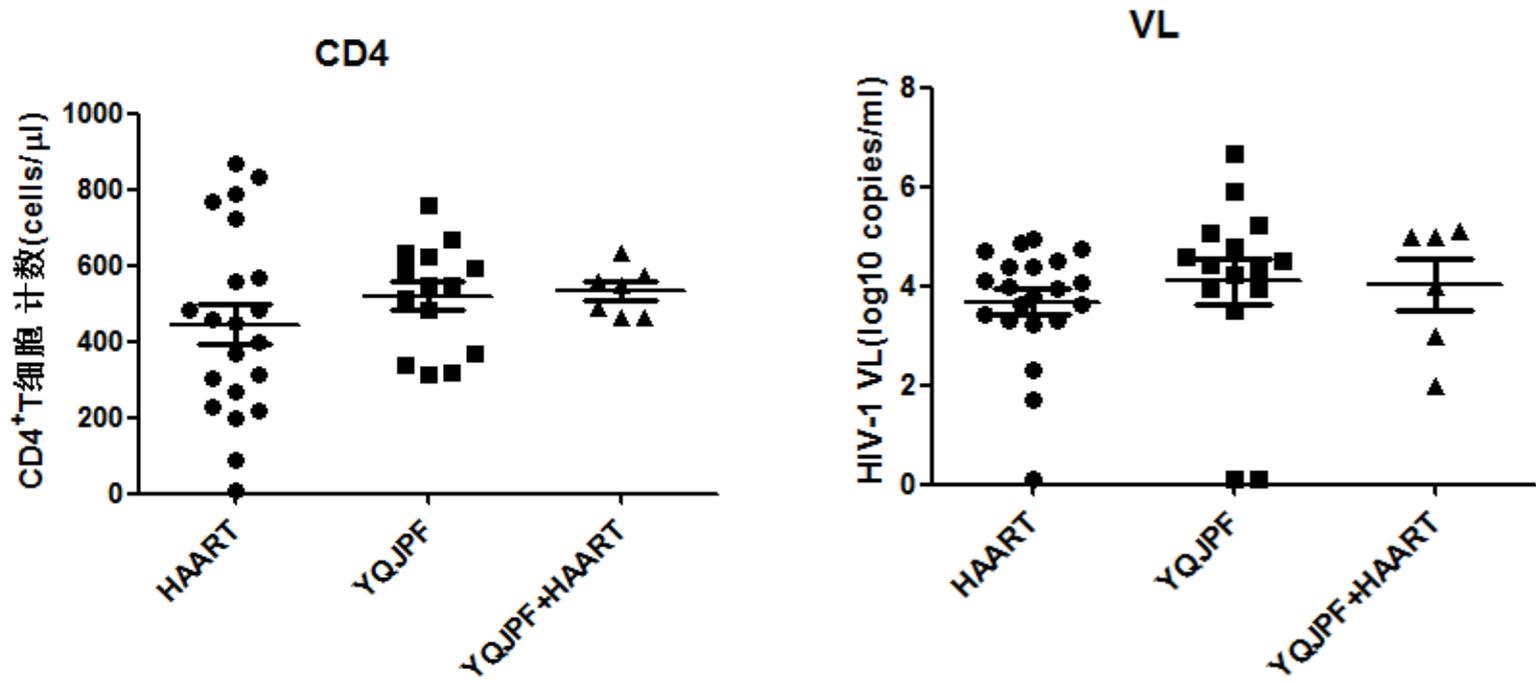
研究对象

1. 益气健脾方药单独治疗HIV/AIDS感染者14例，男性,平均年龄29.57岁(21~39岁)。
2. HAART单独治疗21例，男19例,女2例,平均年龄32.95岁(25~46岁)。
3. 益气健脾方药+ HAART治疗HIV感染者7例，男性,平均年龄31.23岁(28~46岁)。

2010年-2015年



三组患者基线（治疗前）CD4和病毒载量比较





HIV病毒储存库（总HIV DNA）检测

表 1 实时荧光定量 PCR 引物和探针序列

名称	序列	位置	产物
HIV-U1	5'-CCY ggg AgC TCT CTg gCT-3'	nt482~nt499	
HIV-R1	5'-CTg Agg gAT CTC TAg TTA CC-3'	nt581~nt602	121bp
Probe-HIV	5'-FAM-CACTCAAaggCAAGCTTTATTgAgg C-3'-TAMRA	nt526~nt550	
CD3-U1	ATA TgT gAT ATg CCA TgA ggA	nt1095~nt1116	
CD3-R1	gCA ggC ACC CAT ACT ATA CTg	nt1021~nt1042	127bp
Probe-CD3	5'-CY5-CTggCACCATgAAAATAATCTCTC-3'-BHQ3	nt1068~nt1093	

注: Y=C/T, 人 CD3 参考基因 NC_000011.10, HIV 参考基因为 HXB2-LAI-III-BRU. B (K03455)

灵敏度可达4个拷贝/反应管，特异性100%

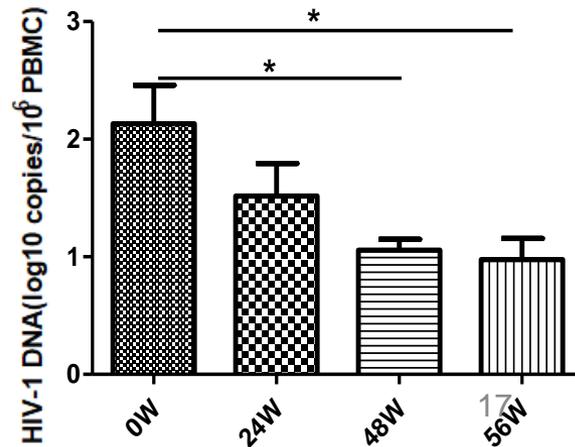
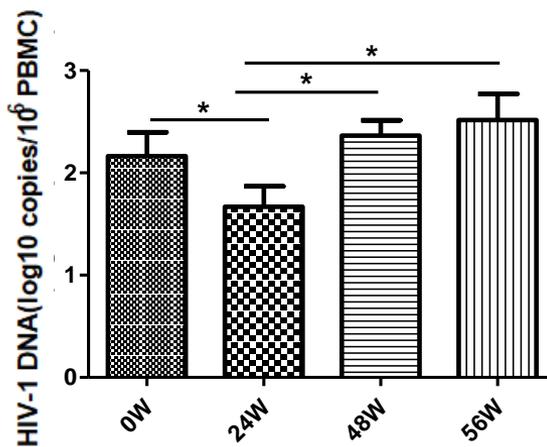
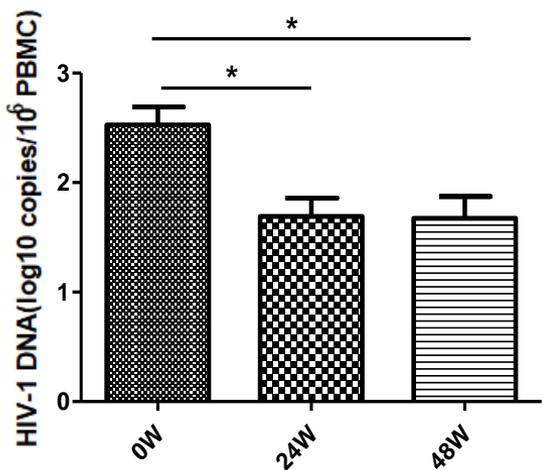
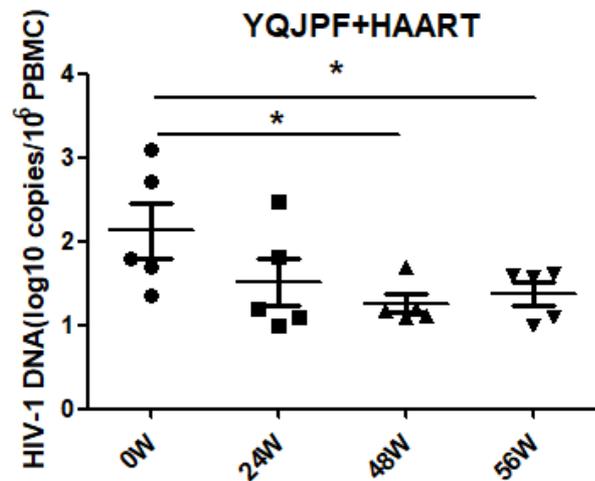
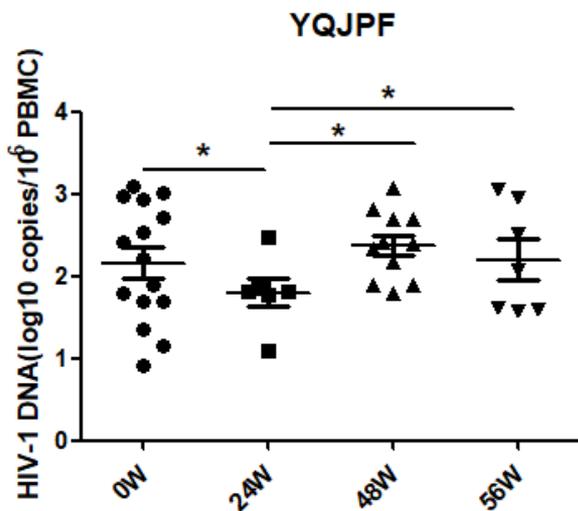
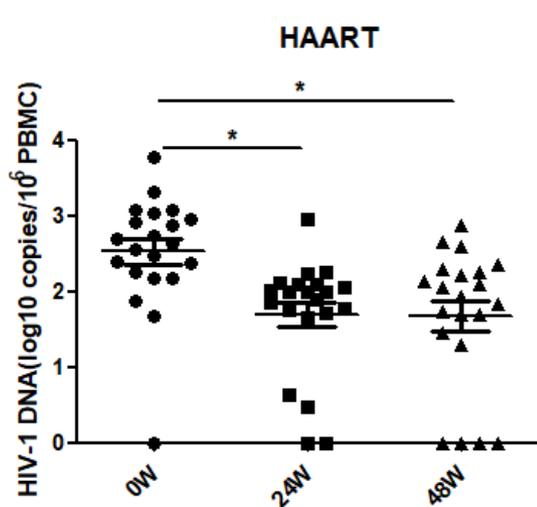
每10⁶个CD4+ T 细胞仅有1 ~ 10 个感染HIV

1. 刘志英, 袁霖, 张欣, 陆小凡, 刘 锋, 计云霞, 夏炜, 粟斌, 吴昊, 张彤. 总HIV DNA定量检测技术的建立. 中国艾滋病性病. 2019, 25(3), 222-227.

2. Véronique Avettand-Fènoël, a, b Laurent Hocqueloux, et al. Total HIV-1 DNA, a Marker of Viral Reservoir Dynamics with Clinical Implications. Clinical Microbiology Reviews. 2016, 29(4): 859-880.

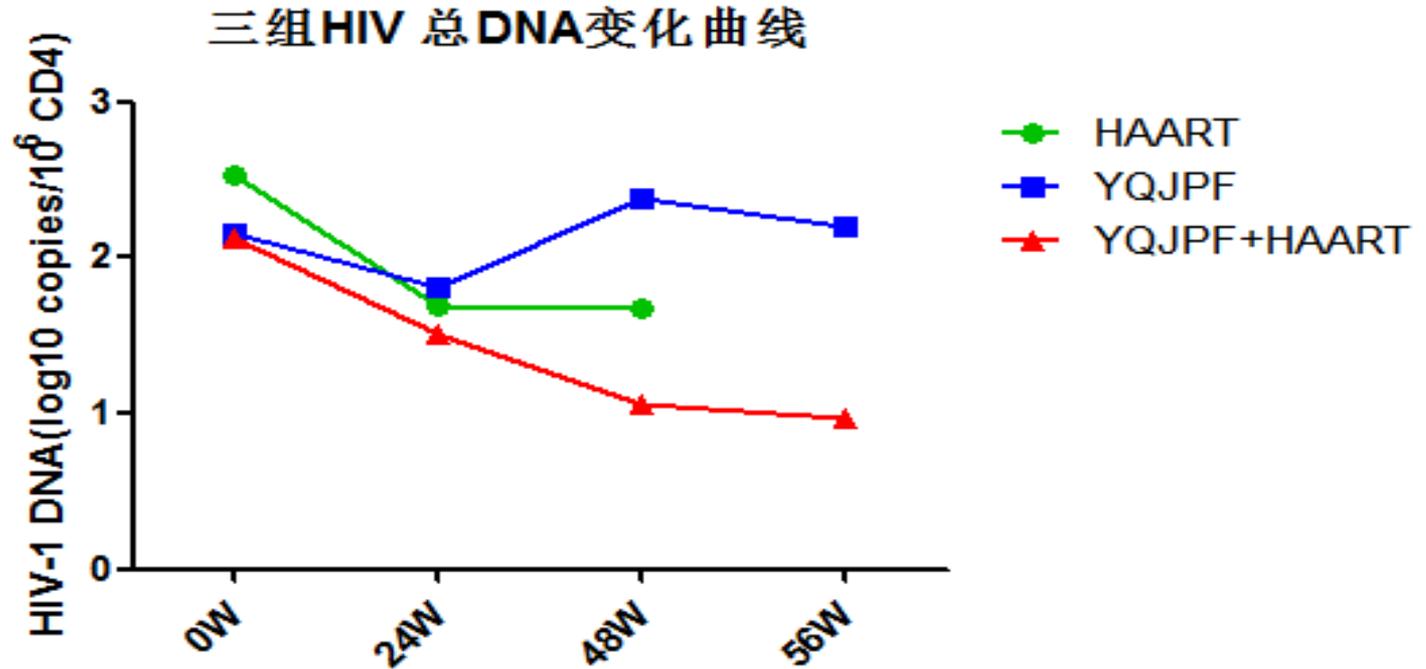


HIV病毒储存库（总HIV DNA）检测结果



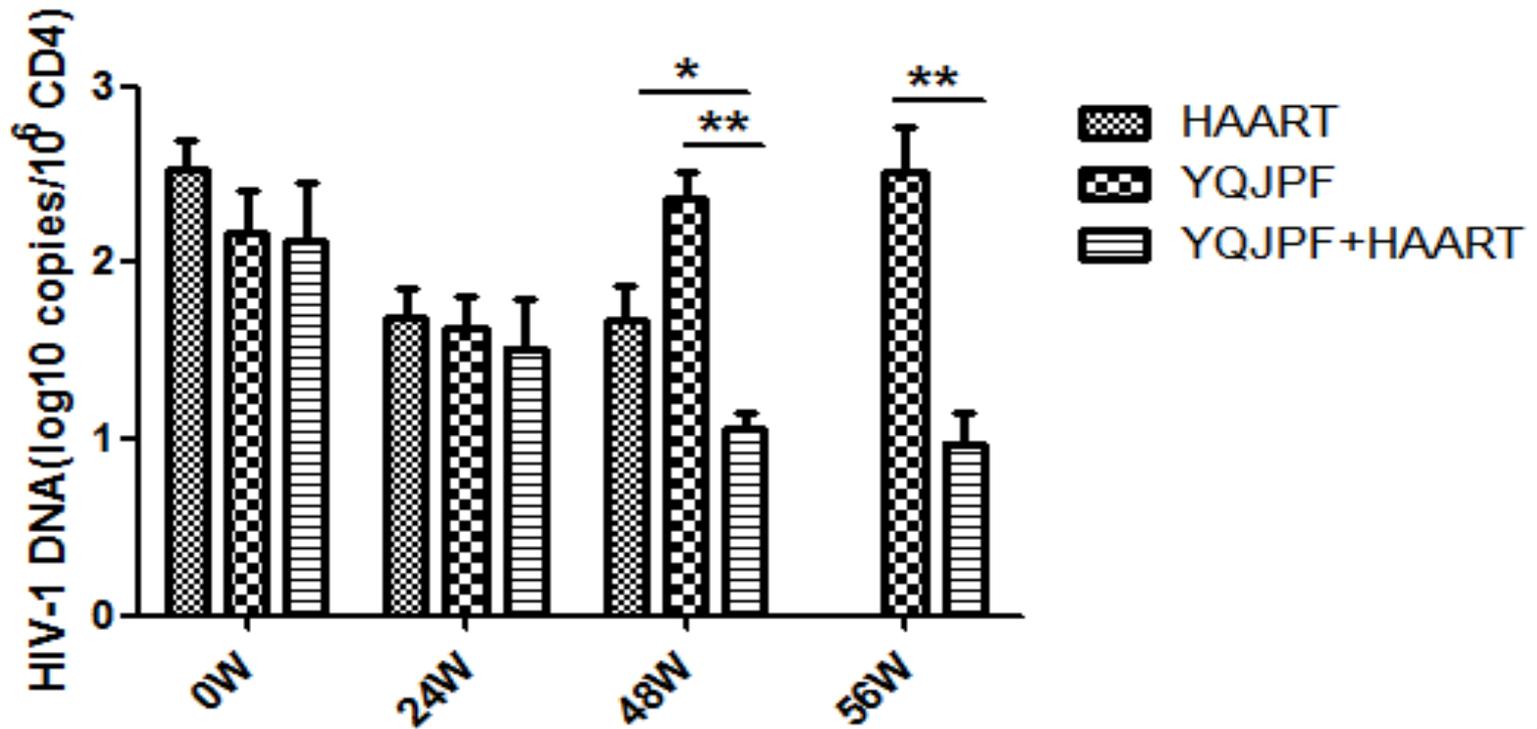


三组间各时间点总HIV DNA动态变化





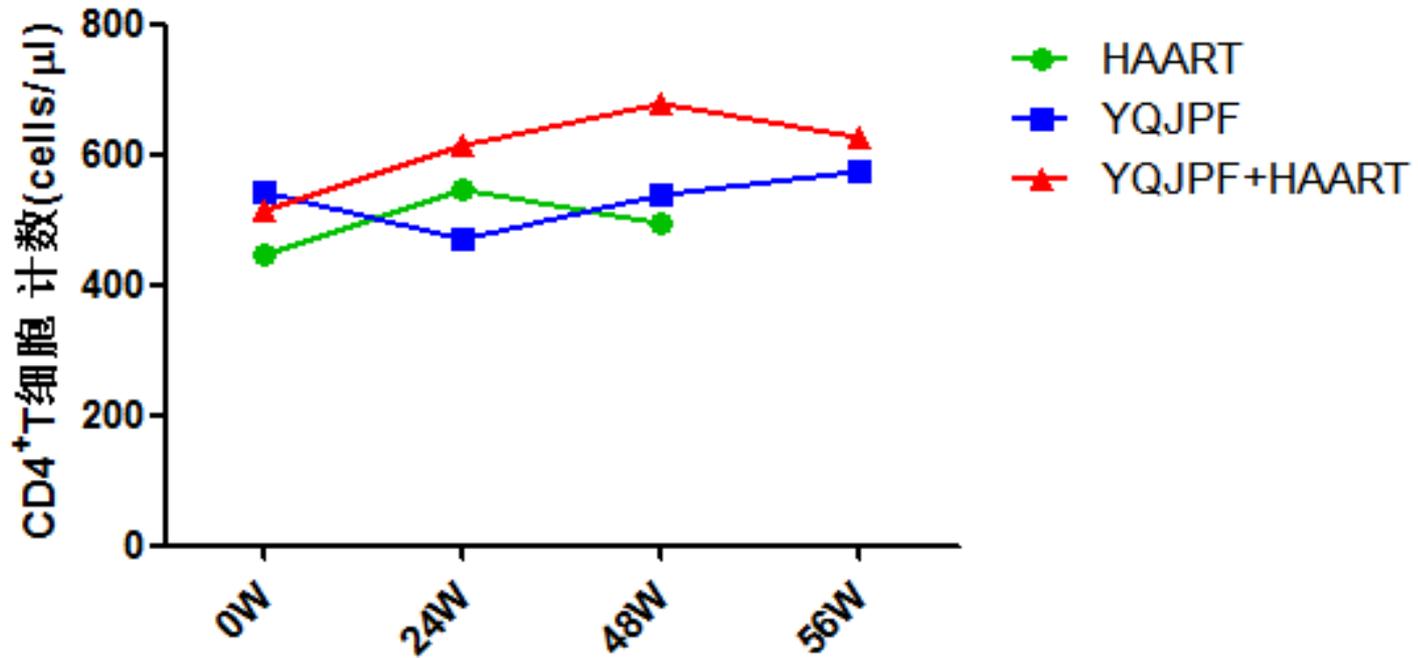
各时间点三组间HIV总DNA比较



*P<0,05; **P<0.01



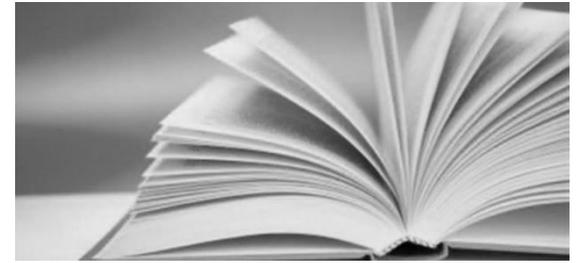
3组患者治疗前、后CD4动态变化





结 论

Paper Summary



1 HAART可以显著降低HIV DNA的含量，但到一定水平后无法完全清除。

2 益气健脾方可以降低HIV DNA含量。

3 HAART联合益气健脾方治疗可以有助于降低HIV DNA。

Thank You !

