

中研 2 号治疗 HIV/AIDS 的临床和实验研究 *

关崇芬¹ 王 健¹ 徐淑玲¹ 于智敏¹ 张永祥¹ 李国勤² 温瑞兴¹ 黄卫平¹

李 平¹ 李玉梅¹ 孙 刚¹ 吕维柏¹ 张 可³ 徐莲芝³ 卢耀增⁴ 吴小闲⁴

摘要 目的:观察中研 2 号对 HIV/AIDS 患者和猴艾滋病病毒 SIV_{mac251} 感染猴的疗效,评价该方抗艾滋病病毒和对机体的保护作用。方法:根据统一的诊断标准,对确诊的 HIV/AIDS 患者给予中研 2 号治疗,疗程为 3 个月,从免疫功能、病毒载量和临床症状体征等方面进行疗效判定;采用猴艾滋病模型,以病毒分离、酶联免疫法及流式细胞仪检测 SIV 水平、CD₄⁺、CD₈⁺ 细胞及新喋呤水平,并进行病理学检查。结果:中研 2 号对治疗 HIV/AIDS 患者临床有效率为 45%~55%;对猴艾滋病模型不仅能降低感染猴病毒血症及 SIV p27 抗原水平,同时能持续提高 CD₄⁺ 细胞数量,降低血清新喋呤含量,与叠氮胸苷阳性药对照结果近似,与生理盐水比较,差异有显著性。病理检查显示中研 2 号能激活并促进淋巴结中心细胞的增殖。结论:中研 2 号具有一定的临床效果,可抑制感染猴血浆病毒血症及保护机体免疫功能。

关键词 中研 2 号 益气养阴 HIV/AIDS 猴艾滋病病毒模型 CD₄⁺ 细胞 新喋呤

Clinical and Experimental Study on Treatment of HIV/AIDS Patients by Zhongyan No.2 GUAN Chong-fen, WANG Jian, XU Shu-ling, et al *Institute of Basic Theory, China Academy of TCM, Beijing (100700)*

Objective: To investigate the therapeutic effect of Zhongyan No.2 (ZY-2) in treating HIV/AIDS patients and SIV_{mac251} infection in macaques, and to evaluate its effects in antagonizing HIV and protecting organism.

Methods: Forty-four patients with HIV/AIDS from China and Tanzania, whose diagnosis conformed with the same standard were observed clinically for 3 months. The therapeutic effect was evaluated in terms of immune function, viral load, and clinical symptoms and signs. Using SIV_{mac251} monkey model to detect the plasma SIV p27 level by viral isolation and ELISA; to determine the T-lymphocytes subsets CD₄⁺ and CD₈⁺ by flow cytometry, and the level of neopterin was measured by ELISA. The pathological examination was conducted also.

Results: ZY-2 showed a clinical effective rate of 45%~55% in treating HIV/AIDS, it could not only lower the viremia in infected monkey, and plasma SIV p27 antigen level, but also increase the CD₄⁺ count continuously and lower the serum content of neopterin to the level approaching those in the positive control group treated with AZT and showed significant difference as compared with those in the negative control group. Pathological examination showed that ZY-2 could activate and promote the cell proliferation in central region of lymphnodes.

Conclusion: ZY-2 has clinical effect in inhibiting the viremia in infected monkey and enhancing the immunity of HIV/AIDS patients.

Key words Zhongyan No. 2, supplementing Qi and nourishing Yin, HIV/AIDS, simian immunodeficiency virus, CD₄⁺ cell, neopterin

1998 年 10 月—1999 年 5 月,我们在坦桑尼亚首都莫希比利医疗中心艾滋病专科门诊(下简称坦国)对 HIV/AIDS 29 例患者及 2001 年 9 月—2002 年 3 月对中国北京佑安医院(下简称中国)HIV/AIDS 15 例患

者用中研 2 号进行临床观察,并对猴艾滋病模型进行了实验研究,现报告如下。

临 床 研 究

1 病例选择 主要根据病史、临床症状和体征检查及实验室检查进行诊断。所有患者均经酶联免疫法(ELISA)和蛋白印迹法(Western Blot)确诊的 HIV 抗体阳性,按美国疾病控制中心(CDC)的诊断和分期标准进行入选病例。

2 一般资料 坦国患者 29 例中,男 9 例,女 20

* 国家科委“九五”攻关项目(No. 96-906-08-05)及科技部社会公益专项基金(No. 111)资助

1. 中国中医研究院基础理论研究所(北京 100700) 2. 中国中医研究院广安门医院 3. 北京佑安医院 4. 中国医学科学院实验动物研究所

例,年龄 24~53 岁,平均 36 岁;病程 <0.5 年者 16 例, <2 年者 10 例, >2 年者 3 例(最长者 6 年);已婚 24 例,未婚 5 例。按 CDC 分类:无症状携带(asymptomatic carrier, AC)期为 14 例, AIDS 相关复合症(related complex, ARC)期为 12 例, AIDS 期为 3 例;均为异性性接触传染;临床表现:消瘦 4 例,乏力 9 例,发热 6 例,咳嗽 2 例,腹泻 3 例,皮疹 3 例,关节痛 4 例,头痛 4 例,月经不调 1 例。中国患者 15 例中,男 7 例,女 8 例,年龄 22~56 岁,平均 38 岁;已婚 13 例,未婚 2 例;病程(确诊 HIV 阳性时间):0.5~1 年 8 例, 1~3 年 7 例,可能感染时间 4~8 年;按 CDC 分类:AC 期为 5 例, ARC 期为 6 例, AIDS 期为 4 例;均为 1993~1995 年有偿献血传播;临床表现:低热 10 例,咳嗽 7 例,纳呆 9 例,腹泻 8 例,乏力 9 例,盗汗 7 例,消瘦 7 例。

3 治疗方法 中研 2 号方剂组成:黄芪、人参、当归、枸杞子、甘草等,制成冲剂,每袋含生药 19g,中国中医研究院西苑医院制剂室提供;每次 1 袋,每天 3 次,疗程为 3 个月。治疗期间,未用其他抗病毒药和免疫功能增强剂。

4 观察指标与方法 临床观察:坦国为门诊患者,中国为住院患者,均由从事艾滋病临床医生负责发药和进行病历记录,观察治疗前后病毒载量(采用 RT-PCR 法),免疫功能指标(主要是 CD_4^+ 细胞绝对值(44 例均测),部分患者做了新喋呤(坦国患者做了 16 例,中国患者未做)或 CD_{45RA}^+ 细胞(中国患者做了 15 例,坦国患者未做)^[1])及临床症状体征的变化情况。在治疗前及治疗后第 1、2、3 个月末分别观察乏力、低热、消瘦、咳嗽、疼痛、口腔糜烂、纳呆、腹泻、脱发、痒疹、肌肤甲错等临床症状体征(共 11 项),采用等级积分的方法表示,重度记 3 分,中度记 2 分,轻度记 1 分,正常为 0。

5 结果

5.1 疗效判定标准 从病毒学、免疫学和临床症状体征 3 个方面进行综合评定。显效:病毒载量降至 50 拷贝/ml 以下, CD_4^+ 细胞数上升 >50%(或上升 >500 个/mm³),症状、体征积分值下降 ≥70%。有效:病毒载量降低 1~2 个数量级拷贝/ml, CD_4^+ 细胞数上升 >30% 或 <50%, 症状、体征积分值下降 ≥30% 或 <70%。无效:病毒载量、 CD_4^+ 细胞数均无明显变化, 症状、体征积分值下降 <30%。

5.2 疗效 坦国 29 例患者中,显效 5 例,有效 11 例,无效 13 例,总有效率为 55.17%。中国 15 例患者中,显效 1 例,有效 6 例,无效 8 例,总有效率为 46.66%。

5.3 病毒载量测定结果 在 31 例中(坦国 16

例、中国 15 例曾作病毒载量测定)坦国患者病毒载量 2 例下降 >0.5log,且均达到测不出的水平(如病例 571 号:4.47/1.69,为 >0.5log;病例 576 号:2.78/1.69,为 >0.5log),无变化者 5 例,上升者 9 例。中国 3 例病毒载量下降,其中 2 例下降 >0.5log(如冯某,治疗前 2.45log,治疗后 0,为 >0.5log;周某 5.57/4.86,为 >0.5log),1 例病毒载量为 0.42log(如刘某 4.37/3.95,为 0.42log),无变化者 4 例,上升者 8 例。

5.4 免疫功能测定结果 CD_4^+ :中国 15 例患者中, CD_4^+ 升高幅度平均 >50 个/mm³ 3 例,维持稳定 4 例,下降 8 例; CD_{45RA}^+ :中国 15 例患者中,升高 1 例,维持稳定 6 例,下降 8 例。坦国 29 例中, CD_4^+ 升高 8 例,下降 13 例,无变化 8 例。 CD_{45RA}^+ 坦国未测。

5.5 新喋呤测定结果 坦国 16 例患者中,下降 4 例,上升 11 例,无变化 1 例。中国患者未测。

5.6 临床方面

5.6.1 体重变化 坦国 29 例中,体重增加 >2kg 者 4 例,下降 >2kg 者 6 例,增减未超过 >2kg 者 19 例;中国 15 例中,体重增加 >2kg 者 5 例,下降 >2kg 者 2 例,增减未超过 >2kg 者 8 例。

5.6.2 临床症状和体征 坦国 15 例有症状的患者中,症状改善(治疗后/治疗前例数)分别为:消瘦 4/4,乏力 7/9,发热 4/6,咳嗽 1/2,腹泻 2/3,皮疹 2/3,关节痛 1/4,头痛 2/4;中国 15 例中,低热 7/10,咳嗽 5/7,纳呆 7/9,腹泻 6/8,乏力 9/9,盗汗 6/7,消瘦 4/7。

6 不良反应 所有病例均未发现不良反应。

实验研究

1 材料

1.1 动物 恒河猴,雄性,体重 5~7kg,11 只,购自中国医学科学院昆明动物所。经血清学检查证实无猴免疫缺陷病毒(SIV)、猴逆转录 D 型病毒(SRV)、猴 T 淋巴细胞 I 型病毒(STLV-I)感染。

1.2 病毒及模型建立 毒株 SIVmac251 由中国医学科学院实验动物研究所提供。Ketamine 常规麻醉动物,以每猴 3MID/ml(100%最小感染剂量)经静脉注射感染动物^[2]。

1.3 分组与给药 共分 3 组,中研 2 号组(4 只),药物组方同前,用前以蒸馏水溶解,浓度为 1.032g/ml(生药),从感染当日起每日插胃管灌服 1 次,每次 10ml。叠氮胸苷(AZT,每粒 100mg)为阳性对照药组(4 只),AZT 用前溶于生理盐水 10ml 中,每日灌服 1 次。生理盐水为阴性对照组(3 只),给药方法同上。连续给药 8 周,每周停药 1 次,8 周后继续观

察 4 周。

2 方法

2.1 病毒分离 人 T 淋巴细胞系 CEMX 174 生长于 RPMI 1640 培养液中。感染猴定期采血,肝素抗凝,1500r/min 离心 10min,取血浆 200 μ l,50 倍系列稀释,各相当于血浆 SIVmac251 滴度为 5、25、125、625、3125 和 15625TCID₅₀/ml,加入 24 孔培养板,每孔加 RBMI 1640 培养液至 1ml,再加入 2 $\times$ 10⁵ 细胞/ml CEMX 174 细胞悬液 0.5ml,在 37℃,5% CO₂ 条件下培养 4 周,定期观察细胞病变(CPE)^[3]。

2.2 血浆 SIV p27 抗原水平测定 采用 ELISA 法,SIV p27 抗原 ELISA 检测试剂盒(试剂盒为 Cellular Products Inc 美国),操作按产品说明书所示。

2.3 猴外周血 CD₄⁺ 细胞计数 按流式细胞仪法^[4],流式细胞仪为 FACS 420 型(Becton-Dickinson 产品),一抗为鼠抗人 CD₄⁺ 单抗,二抗羊抗鼠 IgG-FITC(邦定公司产品)。分离猴的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC),间接法标记后,经 2% 多聚甲醛 4℃ 固定过夜,次日上机检测。

2.4 血清新喋呤水平测定 采用 ELISA 法,按 ELItest 新喋呤试剂盒(Diagnoslica GMBH,德国产)说明书操作^[5]。

2.5 病理检查 麻醉处死动物,取出脏器,固定于 10% 福尔马林中,进行切片,HE 染色,镜检。

3 结果

3.1 各组动物不同时间血浆病毒滴度比较 见图 1。中研 2 号组在给药 4 周时滴度下降,12 周时病毒滴度与 AZT 组结果近似,阴性对照组病毒滴度一直处在较高水平。

3.2 SIV p27 抗原检测结果 中研 2 号组感染后 4 周时(48.10pg/ml)血浆 SIV p27 抗原水平比 2 周

时明显降低(122.28pg/ml),与 AZT 组相近(2 周时为 90.45pg/ml,4 周时为 63.93pg/ml),而阴性对照组变化不明显(2 周时为 101.06pg/ml,4 周时为 95.76pg/ml)。

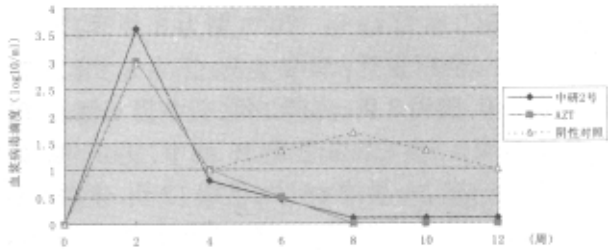


图 1 中研 2 号对不同时间血浆病毒滴度的影响

3.3 3 组动物感染不同时期 CD₄⁺ 细胞数量的比较 见表 1。感染前各组动物之间 CD₄⁺ 细胞百分率差异无显著性,给药 4 周时,中研 2 号组开始回升,8 周时接近感染前水平;AZT 组和阴性对照组变化缓慢,因各组动物数少,经统计学处理,差异均无显著性。

3.4 3 组动物感染后不同时间 SIVmac 的抗体反应结果 中研 2 号组在感染 4 周时出现抗体(1:10),12 周时抗体滴度升高(1:2560);AZT 组在感染 4 周时出现抗体(1:10),12 周时抗体滴度升高(1:1280);阴性对照组在感染 8 周时出现抗体(1:12),12 周时抗体滴度升高(1:640)结果提示中研 2 号组比阴性对照组抗体出现早,且滴度高。

3.5 3 组动物感染前后血清新喋呤水平的变化 见表 2。血清新喋呤水平感染后第 2 周各组动物均有明显升高,感染 4 周时中研 2 号组和 AZT 组有较大幅度下降($P<0.01$),且持续到实验结束,阴性对照组水平持续偏高。

3.6 病理学检查 结果表明中研 2 号组淋巴结中细胞呈现不同程度的激活状态,而 AZT 组及阴性对照组的淋巴细胞呈现耗竭现象(图略)。

表 1 3 组动物感染前后不同时期 CD₄⁺ 测定结果比较 (% $\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	感染前	感染后			
			2 周	4 周	8 周	12 周
中研 2 号	4	31.80 $\pm$ 5.44	18.30 $\pm$ 0	27.40 $\pm$ 0	30.08 $\pm$ 1.30	28.10 $\pm$ 2.95
AZT	4	29.00 $\pm$ 5.30	15.30 $\pm$ 2.05	19.95 $\pm$ 0	19.50 $\pm$ 6.76	23.55 $\pm$ 6.15
阴性对照	3	29.80 $\pm$ 3.46	18.67 $\pm$ 4.38	19.20 $\pm$ 7.43	20.80 $\pm$ 6.07	20.65 $\pm$ 4.95

表 2 3 组动物感染前后不同时间血清新喋呤水平比较 (nmol/L $\bar{x} \pm s$)

组别	动物数	感染前	感染后			
			2 周	4 周	8 周	12 周
中研 2 号	4	7.05 $\pm$ 3.10	31.3 $\pm$ 5.0	11.1 $\pm$ 1.7*	11.7 $\pm$ 0.8*	12.3 $\pm$ 5.1*
AZT	4	7.15 $\pm$ 2.15	30.0 $\pm$ 7.9	11.6 $\pm$ 3.4*	11.3 $\pm$ 6.0*	11.3 $\pm$ 4.6*
阴性对照	3	6.95 $\pm$ 1.10	38.0 $\pm$ 8.4	20.2 $\pm$ 12.3	27.3 $\pm$ 5.4	41.0 $\pm$ 7.0

注:与本组感染后 2 周比较,* $P<0.01$

讨 论

中研 2 号方是从 1992 年起在坦桑尼亚观察治疗 HIV/AIDS 患者的中药复方,功能为补中益气、养血滋阴。方中黄芪、人参为君,大补肺脾之气,与当归、枸杞子相配,补气养血益阴。现代药理实验证实黄芪、当归、甘草等药中的某些成分具有抑制艾滋病病毒或(和)提高机体免疫功能的作用。过去曾观察过 126 例患者,取得了 47% 的临床有效率,但未做病毒载量检测。这次除免疫等指标外,加做了治疗前后的病毒载量。两国患者总有效率分别为 55.17% 和 46.66%,说明了该药的总体效果在 45%~55% 之间,在患者种族间未见明显的差异。

从理论上讲,病毒、免疫功能和临床症状三者之间存在相关性,病毒的复制和细胞免疫功能应呈相关关系,即病毒载量下降往往伴以 CD_4^+ 细胞数的增加,机会性感染减少,病情趋于稳定或好转。但从临床观察中发现,这种相关性并非是普遍存在。由于病毒和免疫的不一致性,免疫和临床的不一致性,使得疗效评价呈复杂性和多样性。我们本着从客观指标的角度出发,以病毒载量和免疫功能为主,临床为辅的综合评价体系来进行评价比较符合实际情况。

本临床研究对黑人和黄种人均进行了观察,从患者的症状来看,黑种人有较多的皮疹,这可能与非洲气候炎热,卫生条件差,易于感染皮肤病有关。其他如乏力、腹泻、发热等症状以及在治疗上对药物的有效性方

面,从人种上看没有明显的差异。

从实验研究结果看,3 组猴均于感染后 2~4 周出现病毒血症,表明各组感染成功。从血浆病毒血症观察,中研 2 号组病毒血症水平下降, SIV p27 抗原水平降低,结果与 AZT 组近似,阴性对照组有持续性病毒血症。中研 2 号组在感染后 4 周 CD_4^+ 开始回升, 8 周接近感染前水平, AZT 组和阴性对照组恢复缓慢。感染 4 周时,中研 2 号组血清新喋呤水平下降,与阴性对照组有明显差异,与 AZT 组比较差异无显著性。提示中研 2 号具有一定的抑制病毒感染和保护机体免疫细胞作用。

(致谢 坦桑尼亚莫希比利医疗中心对本组临床工作的支持)

参 考 文 献

- 1 王 健,于智敏,李国勤,等.中研 2 号治疗艾滋病病毒感染及艾滋病患者 29 例临床观察.中医杂志 2001 ;4(7):418—420.
- 2 Esparza J, Wsmanor S, Horzinek MC. Animal models in AIDS. Elsevier, Amsterdam 1990:21—22.
- 3 涂新明.艾滋病检测方法的探讨.中国实验动物学报 1994 ;2(1):38—42.
- 4 关崇芬.中研 1 号治疗猴艾滋病模型的实验研究.中国中医药信息杂志 1995 ;2(5):42—44.
- 5 张永祥,温瑞兴,关崇芬.中研 2 号对猴感染 SIVmac251 血清新喋呤水平的影响.中国中医基础医学杂志 2001 ;7(10):26—28.

(收稿 2003-03-25 修回 2003-04-28)

新癍片临床应用研讨会征文通知

新癍片在临床上已应用多年,并取得了较好的疗效,为了系统总结该药的临床应用经验,进一步推广该药的应用,厦门中药厂有限公司与中国中西医结合杂志社决定联合举办“新癍片临床应用学术研讨会”征文。现将征文事宜通知如下:

- 1 征文内容 应用新癍片的临床经验总结及机理研究。
- 2 征文要求 4 000 字左右全文及 800 字摘要各 1 份,抄清或打印,姓名、单位及地址、邮政编码请务必写清楚,并请自留底稿。
- 3 征文截止日期 2003 年 12 月 31 日(以邮戳为准),征文请寄:北京西苑操场 1 号,中国中西医结合杂志社收,邮编 100091,请在信封左下角注明“新癍片征文”字样。

所有来稿均由中国中西医结合杂志社组织有关专家进行评审,入选论文编成论文集,且邀请作者参加“新癍片临床应用学术研讨会”,并对全部论文进行优秀论文评选,获奖者除参加大会交流外,还将被授予优秀论文证书,参会者将由中国中西医结合学会授予继续教育学分。会议时间、地点另行通知。

万方数据

2003 年全国中药研究学术讨论会征文通知

中国中西医结合学会中药专业委员会原定于 2003 年 8 月在江西省南昌市召开《全国中药研究学术讨论会暨第四届中药专业委员会成立大会》,现决定推迟至 2003 年第四季度召开。继续向全国征集有关学术论文。

- 1 征文内容 有关中药临床研究、中药药理研究、中药毒理研究、中药化学研究、中药制剂研究、中药炮制研究、中药鉴定、中药资源研究、中药本草文献研究以及中药新药开发研究等方面的学术论文。
- 2 征文要求 (1)全文 4 000 字以内,摘要 800 字以内各一份,并写明作者姓名、工作单位、单位地址、邮政编码。
- 3 征文截止日期 2003 年 8 月 30 日。征文送交地点:北京市东直门内北新仓 18 号,中国中医研究院中药研究所蔡仲德、吴 杰。邮编:100700。联系电话:84015175 或 64014411 转 2843。电子邮件:czd@vip.sina.com。会议的具体时间、地点另行通知。