

## 江苏省部分地区 HIV 阳性男男性行为者抗病毒治疗耐药发生及其影响因素队列研究

杨蒙蒙<sup>1</sup>, 叶 鲁<sup>1</sup>, 嵇冬静<sup>2</sup>, 徐 青<sup>2</sup>, 杨传坤<sup>2</sup>, 闫红静<sup>3</sup>, 李建军<sup>3</sup>, 丁 萍<sup>3</sup>, 傅更锋<sup>3</sup>, 还锡萍<sup>3</sup>, 羊海涛<sup>1,4\*</sup>

(<sup>1</sup>南京医科大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 江苏 南京 211166; <sup>2</sup>东南大学公共卫生学院流行病与卫生统计学系, 江苏 南京 210009; <sup>3</sup>江苏省疾病预防控制中心, 江苏 南京 210009; <sup>4</sup>江苏省血吸虫病防治研究所, 江苏 无锡 214064)

**[摘要]** 目的:探讨江苏省部分地区 HIV 阳性的男男性行为者(men who have sex with men, MSM)抗病毒治疗耐药发生情况及其影响因素。方法:采用前瞻性动态队列研究,纳入符合标准的治疗者随访观察,计算基因型耐药发病密度,用 COX 回归模型探讨发生耐药的影响因素。结果:本研究共纳入符合标准的 MSM 407 例,总观察人时为 845.77 人年,随访期间共有 23 例发生基因型耐药,发病密度为 2.72/100 人年。多因素 COX 回归分析显示治疗前 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数 $\leq 200$  个/ $\mu\text{L}$ 、治疗起始用药方案是发生基因型耐药的危险因素。结论:江苏省参加抗病毒治疗的 MSM 耐药率处在较低水平,建议对该人群实行早治疗策略,治疗起始方案推荐优先选用含依非韦伦(EFV)的方案。

**[关键词]** HIV; MSM; 抗病毒治疗; 耐药; 队列研究

**[中图分类号]** R512.91

**[文献标志码]** A

**[文章编号]** 1007-4368(2016)05-636-05

**doi:** 10.7655/NYDXBNS20160527

## Incidence and correlates of HIV-1 drug resistance among men who have sex with men on highly active antiretroviral therapy: a prospective cohort study in Jiangsu Province, China

Yang Mengmeng<sup>1</sup>, Ye Lu<sup>1</sup>, Ji Dongjing<sup>2</sup>, Xu Qing<sup>2</sup>, Yang Chuankun<sup>2</sup>, Yan Hongjing<sup>3</sup>, Li Jianjun<sup>3</sup>, Ding Ping<sup>3</sup>, Fu Gengfeng<sup>3</sup>, Huan Xiping<sup>3</sup>, Yang Haitao<sup>1,4\*</sup>

(<sup>1</sup>Department of Epidemiology and Health Statistics, School of Public Health, NJMU, Nanjing 211166; <sup>2</sup>Department of Epidemiology and Health Statistics, College of Public Health, Southeast University, Nanjing 210009; <sup>3</sup>Center for Disease Control and Prevention in Jiangsu Province, Nanjing 210009; <sup>4</sup>Jiangsu Province Institute of Parasitic Diseases, Wuxi 214064, China)

**[Abstract]** **Objective:** To investigate the incidence and correlates of HIV-1 drug resistance among men who have sex with men (MSM) on highly active antiretroviral therapy (HAART). **Methods:** We conducted a prospective cohort study in Jiangsu province to estimate the incidence of HIV-1 drug resistance (HDR). Cox regression model was used to investigate the correlations of HDR. **Results:** During the follow-up period, 23 MSM acquired drug resistance, and the incidence was 2.72 per 100 person-years. The independent risk factors of HDR were the CD4<sup>+</sup>T cell count (less than 200 copies/ $\mu\text{l}$ ) before ART (HR: 3.210; 95% CI: 1.333~7.733), and the use of nevirapine (NVP) on initial regimen (HR: 2.852; 95% CI: 1.194~6.817). **Conclusion:** The incidence of HDR among MSM on ART was low. Early treatment of MSM infected with HIV-1 was recommended according to our study. It's better to use EFV rather than NVP when initiate ART.

**[Key words]** HIV; MSM; HIV-1 drug resistance; cohort study

[Acta Univ Med Nanjing, 2016, 36(05): 636-640]

**[基金项目]** 江苏省医学重点人才 (RC2011087, RC2011086); 江苏省艾滋病抗病毒治疗病人 HIV-1 病毒耐药性的队列研究 (Y2012069)

\*通信作者 (Corresponding author), E-mail: yht@jiscdc.cn

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV) 疫情在男男性行为人群(men who have sex with men, MSM)中日益严重,高效抗逆转录病毒治疗(highly active antiretroviral therapy, HAART)不仅可以有效抑制感染者体内病毒数量,改善免疫功能<sup>[1]</sup>,延长发病时间<sup>[2]</sup>,还可以有效降低病毒经性行为传播的概率<sup>[3]</sup>。但随着 HAART 的推广, HIV 耐药问题日益显现。本研究拟通过对参加 HAART 的 MSM 进行前瞻性队列研究,探讨耐药发生情况及影响因素,为该人群艾滋病的治疗提供科学依据。

## 1 对象和方法

### 1.1 对象

选取江苏省南京和镇江两市作为研究地区,并按照以下标准筛选研究对象,建立前瞻性动态研究队列。纳入标准:①年龄在 18 周岁及以上;② HIV 感染途径为男-男性接触传播;③ 2011 年 6 月—2013 年 12 月期间开始艾滋病抗病毒治疗;④治疗所在机构为南京市第二医院或镇江市各区县疾病预防控制中心;⑤治疗方案为一线抗病毒药物。排除标准:正式开始艾滋病抗病毒治疗前,预防性地使用过艾滋病抗病毒药物者。

### 1.2 方法

开始艾滋病抗病毒治疗前,采集研究对象血样进行 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数检测。于患者服用艾滋病抗病毒药物半年后进行问卷调查,了解患者基本人口学特征、初始抗病毒治疗用药方案、服药情况等。服用艾滋病抗病毒药物满 1 年后,采集研究对象血液进行 HIV 病毒载量(viral load, VL)检测,并对 VL $\geq$ 1 000 拷贝/ $\mu$ L 的血样进一步进行基因型耐药检测。其后,每年进行 1 次问卷随访及病毒载量检测、基因型耐药检测。若随访期间患者出现结局事件(基因型耐药),则不再对该研究对象继续随访。本研究的观察终止时间为 2014 年 12 月 31 日。

#### 1.2.1 调查内容

抗病毒治疗者的出生日期、婚姻状况、文化程度、职业、每日按时服药情况、平均每周漏服抗病毒药物次数、最近 1 次漏服抗病毒药物时间、漏服药物原因、药物不良反应、机会性感染、吸烟情况以及饮酒情况等。

#### 1.2.2 变量定义

①按时服药:在医生要求服药时间的前后 2 h 内服药;②漏服:当日服药片数“少于”医生要求的服药片数。

### 1.2.3 实验室检测

①CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数检测:抗凝血于 24 h 内,用流式细胞仪(BEC2TON DICKINSON, 美国)及相对应的试剂盒的对 CD4<sup>+</sup>、CD8<sup>+</sup>、CD3<sup>+</sup>T 淋巴细胞进行分类计数;②VL 检测:采用 HIV-Monitor 1.5 Version Commercial kit (Roche 公司, 美国)在 COBAS AMPLICOR 自动载量仪上测定病毒载量;③HIV 基因型耐药检测:采用 QIAamp Viral RNA Mini Kit 试剂盒提取 HIV-1 RNA;采用巢式 PCR 扩增编码 HIV 蛋白酶区和逆转录酶的 pol 区基因片段;使用德国 QIAGEN 公司 QIAquick Gel Kit 对 PCR 产物进行纯化后,在 ABI3730 测序仪上进行核苷酸序列测定,将序列与 Stanford HIV Drug Resistance Database 中的参考株序列进行比较,分析耐药变异位点并判断耐药情况。

### 1.3 统计学方法

采用 EpiData3.1 软件双轨录入后进行逻辑核查。采用 SPSS20.0 软件进行数据统计学分析,用 COX 回归模型探讨影响基因型耐药发生的各种因素,以  $P \leq 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 一般情况

本研究共纳入符合标准的研究对象 407 例,开始抗病毒治疗时最小年龄 18 岁,最大年龄 70 岁,中位年龄 33 岁(四分位间距:26~44 岁);民族以汉族为主(99.3%);婚姻状况为:未婚 47.4%,已婚 38.1%,离异或丧偶 14.5%;文化程度:小学及以下 3.0%,初、高中(中专)43.2%,大专、本科及以上 53.8%;职业:学生 4.2%,农民、离退及待业 17.9%,全职职工 77.9%;治疗机构:定点医院 89.9%,疾控中心 10.1%。

### 2.2 病毒亚型及基因型耐药突变情况

随访期间内,共有 28 例血样 VL $>$ 1 000 拷贝/ $\mu$ L,进一步检测出 23 例发生基因型耐药突变,其中 19 例发生核苷类逆转录酶抑制剂(NRTIs)耐药相关突变并对至少 1 种以上药物高度耐药,23 例发生非核苷类逆转录酶抑制剂(NNRTIs)耐药相关突变并对至少 1 种以上药物高度耐药,无蛋白酶抑制剂(PIs)相关耐药突变产生。耐药位点 184V 和 103N 出现频率最高,分别为 73.9%(17/23),和 43.5%(10/23)。该人群 HIV-1 病毒亚型主要为 CRF01\_AE(17/23),其次为 B 亚型(5/23),仅有 1 例为 CRF07\_BC。研究对象最短随访时间为 0.69 年,最长随访时间为 3.56 年,总观察人时为 845.77 人年,基因型耐药突变发病密度为 2.72/100 人年(表 1)。

表 1 基因型耐药突变情况  
Table 1 HIV-1 drug resistance gene mutation

样本编号	基因型	耐药突变位点及高度耐受药物		
		PIs	NRTIs	NNRTIs
45	CRF01_AE	-	184V   65R  115F(3TC、TDF)	108  181C(NVP)
83	CRF01_AE	-	184V  219E(3TC)	101E  181C  190S(EFV、NVP)
90	CRF01_AE	-	184V (3TC)	103N  181C(EFV、NVP)
101	CRF01_AE	-	184V (3TC)	103N(NVP)
122	B 亚型	-	184V (3TC)	103N  181C(EFV、NVP)
124	B 亚型	-	184V (3TC)	103N(EFV、NVP)
132	CRF01_AE	-	184V   67N  210W  215Y(3TC、AZT、D4T、TDF)	103N(EFV、NVP)
154	CRF01_AE	-	184V    41L   67N  215Y(3TC、AZT、D4T)	101E  190A(EFV、NVP)
159	CRF01_AE	-	184V (3TC)	103N  190A  其他(EFV、NVP)
181	CRF01_AE	-	65R    其他(D4T、TDF)	101E   181C  190S(EFV、NVP)
183	CRF01_AE	-	184   65R   62V(3TC、TDF)	98G  179D  181C(EFV、NVP)
186	CRF07_BC	-	184V    62V(3TC)	101E  190A(EFV、NVP)
191	CRF01_AE	-	184V    215Y   215F(3TC)	179E    190A(NVP)
193	B 亚型	-	184V (3TC)	101E   190A(NVP)
196	CRF01_AE	-	184V   67N  70R  215Y  75M(3TC、AZT、D4T)	103N  181C  190A  其他(EFV、NVP)
210	CRF01_AE	-	-	103N  其他(EFV、NVP)
216	CRF01_AE	-	184V   67N  70R  219E  其他(3TC、AZT、D4T)	103N  190A(EFV、NVP)
235	CRF01_AE	-	-	103N(EFV、NVP)
254	CRF01_AE	-	184V (3TC)	101E   190A(NVP)
262	CRF01_AE	-	184V (3TC)	106A  179D  230L(EFV、NVP)
310	B 亚型	-	-	181C  其他 (NVP)
324	CRF01_AE	-	-	108  181C (NVP)
358	B 亚型	-	184V   65R   其他(3TC、TDF)	100  103N(EFV、NVP)

NRTIS:核苷类反转录酶抑制剂;AZT:齐多夫定;D4T:司他夫定;3TC:拉米夫定;TDF:替诺福韦;NNRTIS:非核苷类反转录酶抑制剂;EFV:依非韦伦;NVP:奈韦拉平。

### 2.3 基因型耐药的影响因素分析

以是否发生基因型耐药作为结局变量,以开始抗病毒治疗时年龄、抗病毒治疗前感染时间、治疗机构、婚姻状况、文化程度、职业、抗病毒治疗前 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数(个/μL)、每天按时服药情况、平均 1 周漏服次数、最近 1 次漏服时间、吸烟、饮酒、初始抗病毒治疗方案中 NRTIS 和 NNRTIS 药物种类等变量作为自变量进行单因素 COX 回归分析,结果显示抗病毒治疗前 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数(HR: 2.450;95%CI:1.060~5.660)、平均 1 周漏服次数(HR:4.111;95%CI:1.221~13.849)、初始抗病毒治疗方案中 NNRTIS 药物种类不同(HR:4.672;95%CI:1.378~15.837)是发生基因型耐药的影响因素(表 2)。

将抗病毒治疗前 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数、平均 1 周漏服次数、初始抗病毒治疗方案中 NNRTIS 药物种类作为自变量进行多因素 COX 回归分析,结果显示:抗病毒治疗前 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞计数≤200 个/μL 者发生基因型耐药的危险度是大于 200 个/μL 者的 3.210 倍(95%CI:1.333~7.733,P=0.009);初始抗病

毒治疗方案中 NNRTIS 为奈韦拉平(NVP)者发生基因型耐药的危险度是依非韦伦(EFV)者的 2.852 倍(95%CI:1.194~6.817,P=0.018)。

### 3 讨论

MSM 是目前 HIV 疫情流行的主要人群,也是艾滋病防治的重点人群<sup>[4]</sup>。江苏省在对该人群进行抗病毒治疗的同时,也定期开展耐药监测。2009 年耐药警戒线调查结果显示江苏省尚未出现 HIV-1 耐药株的传播<sup>[5]</sup>,所以本研究未对感染者治疗前的血样进行耐药检测。本研究基因型耐药的发病密度为 2.72/100 人年,与 2011 年横断面调查结果相比较<sup>[6]</sup>,未发生明显变化。该人群 HIV-1 病毒亚型主要为 CRF01\_AE 型,构成比为 73.9%,明显高于 2011 年 Li 等<sup>[7]</sup>的研究结果,说明 MSM 人群主要是圈内传播。将本队列观察结果与其他研究相比较,江苏省参加抗病毒治疗的 MSM 人群尚未出现新的耐药相关位点突变<sup>[8]</sup>。

CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞是 HIV 作用于人体的主要靶

表 2 一线抗 HIV 病毒治疗的 MSM 发生基因型耐药的单因素分析  
Table 2 Univariable analysis for the risk factors of HIV-1 drug resistance

影响因素	发病数/例数(%)	$\chi^2$ 值	P 值	HR 值(95%CI)
开始抗病毒治疗时年龄(岁)				
<26	6/115(5.2)			
26~<34	4/98(4.1)	0.133	0.715	0.790(0.223 ~ 2.800)
34~<44	9/100(9.0)	1.044	0.307	1.714(0.610 ~ 4.818)
≥44	4/94(4.3)	0.166	0.684	0.769(0.217 ~ 2.727)
治疗前感染时间(月)				
≤12	17/330(5.2)			
12~24	3/41(7.3)	0.036	0.849	1.127(0.329 ~ 3.864)
>24	3/36(8.3)	0.364	0.546	1.460(0.427 ~ 4.991)
治疗机构				
疾控中心	5/41(12.2)			
定点医院	18/366(4.9)	2.600	0.107	0.442(0.164 ~ 1.193)
婚姻状况				
已婚	9/155(5.8)			
未婚	12/193(6.2)	0.110	0.740	1.158(0.488 ~ 2.750)
离异或丧偶	2/59(3.4)	0.549	0.459	0.560(0.121 ~ 2.594)
文化程度				
小学及以下	2/12(16.7)			
初、高中(中专)	12/176(6.8)	1.677	0.197	0.373(0.083 ~ 1.667)
大专、本科及以上	9/219(4.1)	3.303	0.069	0.241(0.052 ~ 1.118)
职业				
全职工作	20/317(6.3)			
学生	0/17(0)	0.001	0.977	0.000(0.000 ~ -)
农民、无业、离退、民工	3/73(4.1)	0.587	0.444	0.622(0.185 ~ 2.095)
抗病毒治疗前 CD4 <sup>+</sup> T 淋巴细胞计数(个/μL)				
>200	9/249(3.6)			
≤200	14/158(8.7)	4.396	0.036	2.450(1.060 ~ 5.660)
每天按时服药				
会	5/91(5.5)			
不会	18/316(5.7)	0.225	0.636	1.273(0.470 ~ 3.448)
平均 1 周漏服次数(次)				
<1	20/392(5.1)			
≥1	3/15(20.0)	5.206	0.023	4.111(1.221 ~ 13.849)
最近一次漏服时间				
1 周前	22/384(5.7)			
1 周内	1/23(4.3)	0.148	0.700	0.675(0.091 ~ 5.007)
吸烟				
不吸烟	15/270(5.6)			
吸,但不是每天都吸	5/57(8.8)	0.317	0.573	0.700(0.203 ~ 2.420)
每天都吸	3/77(3.9)	0.775	0.379	1.576(0.573 ~ 4.338)
饮酒				
从不饮酒	11/206(5.3)			
偶尔饮酒	11/190(5.8)	0.040	0.841	1.089(0.472 ~ 2.513)
经常饮酒	1/11(9.1)	0.236	0.627	1.663(0.214 ~ 12.904)
起始用药方案 NNRTIS 药物种类				
EFV	3/189(1.6)			
NVP	20/218(9.2)	6.127	0.013	4.672(1.378 ~ 15.837)
起始用药方案 NRTIS 药物种类				
包含 TDF	6/138(4.3)			
不包含 TDF	17/269(6.3)	0.013	0.911	0.946(0.369 ~ 2.496)
耐药前是否曾更换治疗方案				
否	19/297(6.4)			
是	4/110(3.6)	1.289	0.256	0.535(0.182 ~ 1.575)

细胞<sup>[9]</sup>,其计数的变化反映机体的免疫损伤程度。世界卫生组织及我国艾滋病抗病毒治疗标准的主要参考指标均为 CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数。随着艾滋病防治工作的推进以及抗病毒治疗标准的不断变化,参加 HIV 抗病毒治疗的人数越来越多,产生耐药病毒株的危险因素也越来越多。本研究发现:开始抗病毒治疗前,CD4<sup>+</sup> T 淋巴细胞计数 $\leq 200$  个/ $\mu\text{L}$ 者在后续的抗病毒治疗过程中发生基因型耐药的危险度是大于 200 个/ $\mu\text{L}$ 者的 3 倍。Fokam 等<sup>[10]</sup>的研究认为对早期 HIV-1 感染者的抗病毒治疗并不会引起耐药的提前发生,结合本次研究结果,建议对 HIV-1 感染者实行早治疗策略,以预防 HIV-1 的传播以及耐药的发生。

本研究还发现,在 MSM 人群中,高效抗逆转录病毒治疗起始用药方案 NNRTIS 为 NVP 者发生基因型耐药的危险度是 EFV 者的 3 倍。目前我国所有的一线治疗方案均包含 3 种抗病毒治疗药物,其中包括 2 种 NRTIs 类药物和一种 NNRTIs 类药物<sup>[11]</sup>,NNRTIS 主要为 NVP 和 EFV。雷存容<sup>[12]</sup>和 Hou<sup>[13]</sup>对不同地区不同人群的研究均显示 NVP 的耐药率明显高于 EFV 的耐药率;Leth 等<sup>[14]</sup>的研究显示使用 NVP 者发生不良反应的危险度高于使用 EFV 者。所以本文建议在患者健康状况允许的情况下,HIV-1 抗病毒治疗起始方案优先选择含 EFV 的治疗方案。孙显光等<sup>[15]</sup>的研究认为服药依从性差是耐药的危险因素,本研究未发现漏服情况与耐药的关系,因此漏服与药物的关系有待进一步研究。

本研究为艾滋病防治策略提供了理论支持<sup>[16]</sup>,鼓励对感染了 HIV-1 的 MSM 进行早期抗病毒治疗,以降低 HIV-1 经性行为途径传播的概率,同时控制耐药的发生,提高感染者生存质量。

#### [参考文献]

- [1] 徐青,叶鲁,羊海涛,等. 江苏两市 MSM 抗病毒治疗效果及其影响因素的研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2014,34(6):834-838
- [2] 叶鲁,徐青,羊海涛,等. 江苏省男男性行为人群人类免疫缺陷病毒感染潜伏期及其影响因素研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2015,35(7):1017-1021
- [3] Cohen MS,Chen YQ,McCauley M,et al. Prevention of

HIV-1 infection with early antiretroviral therapy[J]. *N Engl J Med*,2011,365(6):493-505

- [4] 黄勤,李巧巧,李苑,等. 2010-2013 年中国男男性行为人群艾滋病/梅毒感染情况、性行为特征及艾滋病知识知晓情况的 Meta 分析[J]. 中华流行病学杂志,2015,36(11):1297-1304
- [5] 羊海涛,肖占沛,还锡萍,等. 江苏省 HIV 耐药警戒线的调查[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2012,32(1):1-4
- [6] 肖占沛,郭宏雄,羊海涛,等. 江苏省艾滋病患者 HIV-1 耐药株的流行及影响因素研究[J]. 南京医科大学学报(自然科学版),2012,32(9):1314-1319
- [7] Li Z,Liao LJ,Shao YM,et al. Trends of HIV subtypes and phylogenetic dynamics among young men who have sex with men in China[J]. *Scientific Reports*,2015,18(5):16708
- [8] 杨婧. 我国长期抗病毒治疗失败艾滋病患者基因型耐药和表型耐药研[D]. 沈阳:中国医科大学,2011
- [9] 李莉平,康佳丽,夏薇,等. HIV 致病机制的研究进展[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2007,23(9):886-889
- [10] Fokam J,Takou D,Santoro MM,et al. Population based surveillance of HIV-1 drug resistance in Cameroonian adults initiating antireviral therapy according to the world health organization guidelines[J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*,2015,32(4):329-33
- [11] 中国疾病预防控制中心. 国家免费艾滋病抗病毒药物治疗手册[S]. 2008
- [12] 雷存容. 2008 年-2012 年云南省 HIV 抗病毒治疗成人患者耐药情况及变化趋势分析[D]. 云南:大理学院,2014
- [13] Hou LJ,Wang HW,Duan SP,et al. The prevalence and determinants of drug-resistance-associated mutations in the HIV-1-infected MSM population of Henan province in China[J]. *Arch Virol*,2015,160(8):2051-2061
- [14] Leth F van,Phanuphak P,Ruxrungtham K,et al. Comparison of first-line antiretroviral therapy with regimens including nevirapine,efavirenz,or both drugs,plus stavudine and lamivudine;a randomized open-label trial,the 2NN study[J]. *Lancet*,2004,4(17):1253-1263
- [15] 孙显光,李志坚,卜朴,等. 艾滋病患者服药依从性与耐药基因突变的关系[J]. 广东医学,2013,34(2):231-234
- [16] 羊海涛. 对我国开展艾滋病“全员治疗”的思考[J]. 中华预防医学杂志,2013,47(11):981-983

[收稿日期] 2016-01-13