

[51] Int. Cl.



[12] 发明专利申请公布说明书

[21] 申请号 200810144404.2

A61K 36/258 (2006.01)

A61P 31/18 (2006.01)

A61K 125/00 (2006.01)

[43] 公开日 2009 年 10 月 28 日

[11] 公开号 CN 101564408A

[22] 申请日 2008.7.29

[21] 申请号 200810144404.2

[30] 优先权

[32] 2008.4.23 [33] KR [31] 10-2008-0037555

[71] 申请人 (株)韩国人参公社

地址 韩国大田市

共同申请人 蔚山大学校产学协力团

[72] 发明人 赵泳杰 郑有善

[74] 专利代理机构 北京润平知识产权代理有限公司

代理人 周建秋 王凤桐

权利要求书 2 页 说明书 24 页 附图 30 页

[54] 发明名称

含有高丽人参的用于使 HIV - 1 具有 5' LTR/ gag 基因缺陷的药物组合物

[57] 摘要

本发明涉及以高丽人参作为有效成分的用于使 HIV - 1 具有 5' LTR 和/或 gag 基因缺陷的药物组合物。本发明的药物组合物通过对 HIV 感染个体进行给药,可以诱导 HIV - 1 中的 5' LTR 和/或 gag 基因的缺陷。因此,本发明可以用于 AIDS 的预防以及治疗。

表2、18个LTS以及28个非KRG给予患者的5'LTR/gag基因的大规模缺陷的特征

患者 编号	采样时间	PCR ^a 引 起的毒数	在被杀 ^b 中 的 PCR 反 应的次数	相对于 HIV-1 中的 NL4.3 的开始部分	5'LTR 内的 被杀大小 (bp)	gag 基因内 的被杀大小 (bp)	GenBank 编号序列
提取 KRC 的 18 个 LTRs							
87-05	87 年 4 月	1	1	588	202	78	EF70107
	90 年 10 月	1	1	643	147	265	EF70108
	00 年 3 月	2	1	无数据	无数据	无数据	29154 ^c
	01 年 1 月	1	1	487	286	427	EF70109
	93 年 7 月	2	3	466	294	427	EU04764
89-17	91 年 1 月	1	1	155	275	155	EF70110
	93 年 7 月	2	1	357	433	433	EF70111
						474bp 的 484	
	96 年 10 月	1	1	678 + 1,223	112	346 + 4	EF70112
	00 年 3 月	2	4	438	332	419	EF70113
90-05	00 年 3 月	2	4	341	366	366	EF70114
	01 年 7 月	1	1	636	154	578	EF70115
	93 年 10 月	2	1	374	349	缺失	EF70116
				1,102	缺失	86	EF70117
	95 年 5 月	1	1	335	163	缺失	EF70118
90-18	01 年 5 月	1	1	452	398	398	EF70119
	01 年 5 月	1	1	449	341	254	EF70120
				383	406	39	EF70121
	02 年 3 月	1	1	571	219	205	EF70122
	00 年 1 月	1	1	654	411	384	EF70123
90-18	93 年 6 月	5	2	607	185	100	EF70124
	94 年 8 月	1	1	711	78	77	EF70125
	00 年 3 月	2	1	654	153	538	EF70126
	02 年 4 月	1	1	671	118	459	EF70127
	03 年 2 月	2	1	493	297	205	EF70128

1、一种用于使 HIV-1 具有 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷的药物组合物，其特征在于，该组合物含有作为有效成分的高丽人参。

2、根据权利要求 1 所述的组合物，其特征在于，所述高丽人参为红参。

3、根据权利要求 1 或 2 所述的组合物，其特征在于，该组合物用于对感染有 HIV-1 的患者进行给药。

4、根据权利要求 2 所述的组合物，其特征在于，以 50-100 毫克/千克/天的给药量对男性进行给药，以 20-70 毫克/千克/天的给药量对女性进行给药。

5、根据权利要求 1 或 2 所述的组合物，其特征在于，所述 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷选自具有提前终止密码子、缺少起始密码子。

6、根据权利要求 2 所述的组合物，其特征在于，所述 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷表示为具有以下 GenBank 登录号的序列：EF 370172, EF 370173, EF 370175, EU 047612, EF 370184, EF 370186, EF 370187, EF 370188, EF 370191, EF 370192, EF 370193, EF 370196, EF 370197, EF 370199, EF 370201, EF 370200, EF 370202, EF 370205, EF 370207, EF 370211, EF 370213, EF 3702115, EF 3702116, EF 3702118, EF 370219, EF 370221, EF 370223, EF 370224, EF 370225, EF 370226, EF 370227, EF 370228, EF 370231, EF 370235, EF 370237, EF 370239, EU 047647, EF 370245, EF 370250, EF 370251, EF 370252, EF 370253, EF 370256, EF 370259, EF 370262, EF 370261, EF 370265, DQ 295196, EF 370275, EF 370276,

EF 370277, EF 3702778, EF 370279, EF 370282, EU 047673, EF 370283,
EF 370285, EF 370286, EF 370287, EF 370288, EF 370292。

含有高丽人参的用于使 HIV-1 具有 5'LTR/gag 基因缺陷的药物组合物

技术领域

本发明涉及一种含有作为有效成分的高丽人参的用于使 HIV-1 具有 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷的药物组合物。

背景技术

HIV-1（人体免疫缺陷病毒-1）是获得性免疫缺陷综合症（Acquired Immunodeficiency Syndrome；以下简称为“AIDS”）的病因。HIV-1 与 HIV-2 同属于逆转录病毒科（retroviridae）的慢病毒亚科（lentivirinae），感染性病毒体具有由两条相同的单链形成的 RNA（+）染色体。HIV-1 感染细胞时，通过上述 RNA（+）编码的逆转录酶，RNA 转换为双链 DNA，该 DNA 插入到宿主细胞的染色体中，形成前病毒。在前病毒状态下，病毒是通过转录病毒基因生产在复制和装配中所必需的蛋白质的 mRNA 而增殖的。

HIV-1 基因组（9.2kb）由 gag、pol、env 的结构基因（structural gene）和 tat、rev、nef、vif、vpu、vpr 等的附加基因（accessory gene）以及两端的长末端重复序列（long terminal repeat sequence (LTRs)）构成（参照图 8）。gag 和 pol 蛋白质分解形成前驱体蛋白质，env 蛋白质变成 gp160 前体蛋白（precursor protein），在装配过程中分解成 gp120 和 gp41。最初感染 HIV 时没有症状，或者表现为象感冒的症状，病毒在 CD4 T 细胞、巨噬细胞、小胶质细胞等中潜伏感染（latent infection），长期处于潜伏状态。对 gp120 的抗体在感染后第 3-20 周出现，此后可以诊断有无感染。经过 2-10 年的潜伏期，免疫体系中诱导出变化，在出现免疫缺陷症状之前，表现为前驱期症状（艾滋病相关综合症（ARC）—疲劳、发烧、体重减少、腹泻）。由于 HIV 感染使得 CD4 T 细胞的数量降低至 200/u1 以下，此时表现出免疫缺陷的症状，从

而在临床上定义为 AIDS。

高丽人参 (*Panax ginseng* C. A. Meyer (*Panax schinseng* Nees)) 属五加科 (*Araliaceae*) 人参属的多年生宿根草本植物, 数千年来在东亚各国用于各种疾病的辅助治疗。至今为止许多药理实验表明高丽人参具有如下活性: 降低胆固醇、抗脂质过氧化、降低血压、增加血流、扩张脑血管、增进心功能、抗心律不齐、抗血栓、慢性肾功能衰竭治疗效果、免疫调节作用、增强记忆力、增进脑代谢、抗压力、抗氧化作用、抗衰老作用、抗溃疡和抑制胃液分泌、抗糖尿病、解毒、增加肝细胞酶、治疗哮喘、抗炎症、镇痛作用、治疗贫血、增进生殖能力、降低血醇浓度、抗过敏、抗癌等。

此外, 高丽人参以及红参 (Red Ginseng) 是根据加工方法来区分的, 所谓的高丽人参在没有经过加工的情况下, 将干燥后的高丽人参称为干参, 将未干燥的高丽人参称为水参。红参是通过将高丽人参蒸制并干燥, 使得水分含量为 14% 以下, 在制备过程中促进茶色化反应, 形成显示为深茶褐色的颜色的硬质的形态, 并保持为圆形的高丽人参。因此, 高丽人参在含有 75% 左右的水分的水参的状态下, 难以长期保存, 在流通状态中由于微生物污染引起腐败、或高丽人参自身含有的各种酶使得高丽人参成分发生分解; 而红参具有通过加工干燥后水分减少, 可以防止细菌、发霉以及微生物的污染, 且体积和重量减少, 容易保存、运送的优点。由于作为高丽人参的代表性的有效成分的皂苷的定量方法和质量管理的发展, 从而可以在加工过程中最大限度地抑制皂苷的分解。除了皂苷之外, 还能进一步生成麦芽醇、人参皂苷 Rh2 等的有效成分。即, 高丽人参的主要成分为皂苷, 红参是加工后未改变功效的高丽人参。

红参尤其对于中枢神经具有镇静作用和兴奋作用, 作用于循环系统具有预防高血压和动脉硬化的效果, 另外, 能使造血作用和血糖值降低, 保护肝, 作用于内分泌系统间接地对性功能和生殖功能有效, 具有抗炎以及抗肿瘤作

用，有防御放射线的效果、起保护及柔滑皮肤的作用。此外，在红参的效果中重要的是作为适应素（adaptogen）效果来增加对于来自周围环境的各种有害作用的溢泪病、各种压力等的防御能力，使得身体更容易地适应的效果。目前为止，对红参的成分以及药理功效，韩国国内外已经有了很多研究，尤其是报道了红参具有抗氧化活性（クオン・ヨンフンなど、高麗人参学会誌,24(1),29-34,2000）。

此外，本发明人之前已经研究了对 HIV-1 感染患者进行单独的高丽人参（KRG, Korean red ginseng）治疗（参见参考文献 1-4）、1991 年以后的并用高丽人参参与叠氮胸苷（ZDV,zidovudine）的治疗（参见参考文献 5）、以及 1997 年以后的并用高丽人参参与非常强的高效抗逆转录病毒药物的治疗（HAART, highly active antiretroviral drug therapy）（参见参考文献 6）。经过临床学应用期间（参见参考文献 1-7），KRG 治疗与获得性免疫缺陷综合症（AIDS）的进展速度（progression rate）之间表现出显著的逆向相关关系（参见参考文献 8）。HIV-1 基因的变异率与 KRG 治疗存在相反关系。而且，KRG 治疗能延缓对叠氮胸苷的抗药性的发展。根据本发明人的研究结果，KRG 治疗与治疗法或患者等的其它的特性无关，可以减缓 CD4 T 细胞的减少。分析了 KRG 与 HARRT 的组合治疗后发现，没有发生耐药突变，通过该组合治疗能够进行一贯的病毒调节（参见参考文献 7）。

本发明人的研究团体（cohorts）在此说明从长期间疾病未恶化的人（long-term nonprogressor; LTNPs）或者长期生存者（long-term survivors; LTSs）可见的获得性免疫缺陷综合症的缓慢进展的原因。最近，本发明人对持续接受 KRG 治疗的 10 个 LTS 的 nef 基因的大规模缺陷的比例与 KRG 摄取时间之间的关联性作了报道（参见参考文献 9）。比较这 10 个长期生存者的 nef 基因中扩增的生成物，结果在 gag 区域和 5'LTR 区域扩增的生成物中，前病毒全长的碱基序列以高比例表现出两个带（band）（野生型以及未缩短

的带 (band))。

对于 LTNP 中 (参见参考文献 10-18) 的 *nef* 基因大规模缺陷已经进行了许多研究, 但是, 至今为止仅在几种场合报道了在 *gag* 区域和 5'LTR 区域中大规模缺陷的相关性。更具体地说, 已经报道了在感染了 HIV 亚型 C 的一个 LTS 的 *gag* 基因中的三个氨基酸密码子中的一个的缺陷 (参见参考文献 19)。在其它的研究中, 24 个没有治疗经历的人中的两个在 5'LTR 中表现为 16bp 的缺陷和 9bp 的小缺陷 (参见参考文献 20)。但是, 没有关于维持长期间未恶化的状态或 HIV 感染的缓慢进展与 5'LTR 和 *gag* 区域的基因缺陷之间的可能的联系的报道。

参考文献:

1. Cho YK, Kim YK, Lee I, Choi MH, and Shin YO: The effect of Korean red ginseng (KRG), zidovudine (ZDV), and the combination of KRG and ZDV on HIV-infected patients. J Korean Soc Microbiol 1996; 31:353-360.
2. Cho YK, Lee HJ, Kim YB, Oh WI, and Kim YK: Sequence analysis of C2/V3 region of human immunodeficiency virus type 1 gp120 and its correlation with clinical significance; the effect of long-term intake of KRG on *env* gene variation. J Korean Soc Microbiol 1997; 32:611-623.
3. Cho YK, Lee HJ, and Desrosiers RC: Complete sequences of HIV-1 in a Korean longterm nonprogressor with HIV-1 infection. J Korean Soc Microbiol 1999; 29:107-118.
4. Cho YK, Sung H, Kim TK, Lim J, Jung YS, and Kang SM: KRG significantly slows CD4 T cell depletion over 10 years in HIV-1 infected patients: association with HLA. J Ginseng Res 2004; 28:173-182.
5. Cho YK, Sung H, Ahn SH, Bae IG, Woo JH, Won YH, et al.: High frequency of mutations conferring resistance to nucleoside reverse transcriptase inhibitors in human immunodeficiency virus type-1 infected patients in Korea. J Clin Microbiol 2002;40:1319-1325.

6. Cho YK, Sung H, Lee HJ, Joo CH, and Cho GJ: Long-term intake of KRG in HIV-1-infected patients: development of resistance mutation to zidovudine is delayed. *Int Immunopharmacol* 2001; 1:1295-1305.
7. Sung H, Jung YS, Kang MW, Bae IG, Chang HH, Chang MS, et al.: High frequency of drug resistance mutations in human immunodeficiency virus type 1-infected Korean patients treated with HAART. (In press), *AIDS Res Hum Retroviruses*.
8. Sung H, Kang SM, Lee MS, Kim TG, and Cho YK: KRG slows depletion of CD4 T cells in human immunodeficiency virus type 1-infected patients. *Clin Diagn Lab Immunol* 2005; 12:497-501.
9. Cho YK, Lim JY, Jung YS, Oh SK, Lee HJ, and Sung H: High frequency of grossly deleted *nef* genes in HIV-1 infected longterm survivor streated with Korean red ginseng. *Curr HIV Res* 2006; 4:457-467.
10. Kirchhoff F, Greenough TC, Brettler DB, Sullivan JL, and Desrosiers RC: Brief report: absence of intact *nef* sequences in a long-term survivor with nonprogressive HIV-1 infection. *N Engl J Med* 1995; 332:228-232.
11. Deacon NJ, Tsykin A, Solomon A, Smith K, Ludford-Menting M, Hooker DJ, et al.: Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 1995; 270:988-991.
12. Mariani R, Kirchhoff F, Greenough TC, Sullivan JL, Desrosiers RC, and Skowronski J: High frequency of defective *nef* alleles in a long-term survivor with nonprogressive human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 1996; 70:7752-7764.
13. Salvi R, Garbuglia AR, Di Caro A, Pulciani S, Montella F, and Benedetto A: Grossly defective *nef* gene sequences in a human immunodeficiency virus type 1-seropositive long-term nonprogressor. *J Virol* 1998; 72:3646-3657.
14. Brambilla A, Turchetto L, Gatti A, Bovolenta C, Veglia F, Santagostino

E, et al.: Defective *nef* alleles in a cohort of hemophiliacs with progressing and nonprogressing HIV-1 infection. *Virology* 1999; 259:349-368.

15. Rhodes DI, Ashton L, Solomon A, Carr A, Cooper D, Kaldor J, et al.: Characterization of three *nef*-defective human immunodeficiency virus type 1 strains associated with long-term nonprogression. Australian Long-Term Nonprogressor Study Group. *J Virol* 2000; 74:10581-10588.

16. Foster JL, Molina RP, Luo T, Arora VK, Huang Y, Ho DD, et al.: Genetic and functional diversity of human immunodeficiency virus type 1 subtype B Nef primary isolates. *J Virol* 2001; 75:1672-1680.

17. Casartelli N, Di Matteo G, Argentini C, Cancrini C, Bernardi S, Castelli G, et al.: Structural defects and variations in the HIV-1 *nef* gene from rapid, slow and nonprogressor children. *AIDS* 2003; 17:1291-301.

18. Rodes B, Toro C, Paxinos E, Poveda E, Martinez-Padial M, Benito JM, et al.: Differences in disease progression in a cohort of long-term non-progressors after more than 16 years of HIV-1 infection. *AIDS* 2004; 18:1109-1115.

19. McCormack GP, Glynn JR, Clewley JP, Crampin AC, Travers SA, Redmond N, et al.: Emergence of a three codon deletion in gag p17 in HIV type 1 subtype C long-term survivors, and general population spread. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2006; 22:195-201.

20. Copeland KF, Chen Z, Fiebig M, Ni L, Savoy S, Smaill FM, et al.: Identification of mutations in proviral long terminal repeats of HIV type 1-infected subjects naive to drug therapy. *AIDS Res Hum Retroviruses* 2004; 20:1019-1021.

21. Cho YK, Foley BT, Sung H, Kim YB, and Kim JH: Molecular epidemiologic study of an HIV-1 outbreak in hemophiliacs B infected through clotting factor 9 after 1990. *Vox Sanguinis*. 2007; 42:113-120,

22. Alexander L, Weiskopf E, Greenough TC, Gaddis NC, Auerbach MR, Malim M H, et al.: Unusual polymorphisms in human immunodeficiency virus

type 1 associated with nonprogressive infection. J Virol 2000; 74:4361-4376.

23. Zhang L, Huang Y, Yuan H, Chen BK, Ip J, and Ho DD: Genotypic and phenotypic characterization of long terminal repeat sequences from long-term survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. J Virol 1997;71:5608-5613.

24. Huang Y, Zhang L, and Ho DD: Characterization of *gag* and *pol* sequences from longterm survivors of human immunodeficiency virus type 1 infection. Virology 1998;240:36-49.

25. Calugi G, Montella F, Favalli C, and Benedetto A: Entire genome of a strain of human immunodeficiency virus type 1 with a deletion of *nef* that was recovered 20 years after primary infection:large pool of proviruses with deletions of *env*. J Virol. 2006;80:11892-11896.

26. Blankson JN, Bailey JR, Thayil S, Yang HC, Lassen K, Lai J, et al.: Isolation and characterization of replication-competent human immunodeficiency virus type 1 from a subset of elite suppressors. J Virol. 2007; 81:2508-18.

27. Jones KA, Kadonaga JT, Luciw PA, and Tjian R: Activation of the AIDS retrovirus promoter by the cellular transcription factor, Sp1. Science. 1986; 232:755-59.

28. Keum YS, Han SS, Chun KS, Park KK, Park JH, Lee SK, et al.: Inhibitory effects of the ginsenoside Rg3 on phorbol ester-induced cyclooxygenase-2 expression, NF-kappaB activation and tumor promotion. Mutation Res. 2003;523-524:75-85.

29. Kim K H, Lee YS, Jung IS, Park SY, Chung HY, Lee IR, and Yun YS. Acidic polysaccharide from Panax ginseng, ginsan, induces Th1 cell and macrophage cytokines and generates LAK cells in synergy with rIL-2. Planta Med. 1998;64:110-115.

30. Han SK, Song JY, Yun YS, Yi SY. Ginsan improved Th1 immune response inhibited by gamma radiation. Arch Pharm Res. 2005;28:343-50.

31. Larsen MW, Moser C, Hoiby N, Song Z, Kharazmi A. Ginseng modulates the immune response by induction of interleukin-12 production. APMIS. 2004;112:369-73.

32. Lee EJ, Ko E, Lee J, Rho S, Ko S, Shin MK, et al. Ginsenoside Rg1 enhances CD4(+) T cell activities and modulates Th1/Th2 differentiation. Int Immunopharmacol. 2004;4:235-44.

发明内容

本发明人在研究 AIDS 的治疗方法时,通过对感染有 HIV-1 的患者长期给予红参以确认 HIV-1 中的 5'LTR 和 gag 基因的缺陷,从而完成本发明。

本发明的目的是提供一种含有作为有效成分的高丽人参的用于使 HIV-1 具有 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷的药物组合物。

为了实现本发明的目的,本发明提供了一种含有作为有效成分的高丽人参的用于使 HIV-1 具有 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷的药物组合物。

下面详细说明本发明。

本发明特征在于查明了高丽人参的摄取能使得与病毒成长和 AIDS 病因有密切联系的 HIV-1 中的 5'LTR/gag 基因产生缺陷。

优选情况下,本发明的特征在于所述高丽人参为红参。

在本发明的一个实施例中,为了确定在 5'LTR 和 gag 区域的大规模缺陷(g Δ)的发生与 KRG 摄取之间是否存在关联性,本发明人从用 KRG(总共 13,364 $\pm$ 5,364g)治疗 12 年以上的 10 个长期生存者(long-term survivors; LTSs)和未摄取或少量摄取高丽人参(总共 1,436 $\pm$ 1,027g)的 8 个长期生存者(对照组)中检查了围绕该 5'LTR 和 gag 区域的 1,125 个碱基序列。上述 10 个 LTS 中,在 80 个外周血单核细胞(PBMC)样品中获得 189 个 PCR 产物,总共 80 个 PBMC 中的 44 个(55%)与 189 个 PCR 产物中的 71 个(37.6%)表现出大规模缺陷(g Δ)。在 10 个 LTS 中发现 55%的 PBMC 与 37.6

%的 PCR 产物，但是，8 个对照组 LTS 的值分别为 30.3%和 14.8%。这样的差异具有统计学意义 ($P < 0.05$ ，且 P 可以为 0)。此外，未服用红参的 28 个一般对照组患者的缺陷基因比例以 PBMC 和 PCR 产物为基准分别为 13.3%和 8.3% (参考实施例 3，图 1 至图 3)。

因此，通过向个体给予红参可以诱导 HIV-1 中的 5'LTR/gag 基因产生缺陷，从而可以在 AIDS 的预防以及治疗中起作用。

用作本发明的药物组合物的有效成分的红参可以通过公知的方法制备。

一般情况下，红参是经过在一定的温度条件下对水参（水分约 75%）进行水蒸气蒸制的蒸煮阶段以及对蒸煮后的水参进行干燥的干燥阶段而制得的。将这样制得的红参进行加热提取，制得红参提取液，将该红参提取液浓缩，可以制得红参浓缩液。

另外，本发明中，上述红参提取液或浓缩液可以单独使用，也可以加入一种以上的药学上允许的载体、赋形剂或稀释剂，按照常规的方法进行制剂化后使用。上述“药学上允许”是指生理学上允许，是指在对人体进行给药时，一般不会引起肠胃障碍、头晕等的过敏反应或与此类似的反应。此外，如上所述的制剂化的本发明的红参可以通过适当的给药途径进行给药。适当的给药途径可以是口服给药。

优选以粉末、颗粒、片剂、丸剂、糖衣片剂、胶囊剂、液体制剂、凝胶剂、浆剂、悬浊液等的用于口服给药的制剂的形态按照本领域公知的方法进行制剂化。例如，口服用制剂是通过将活性成分与固体赋形剂混合后，将其粉碎并添加适当的助剂后，加工成颗粒混合物，从而可以获得片剂或糖衣片剂。适当的赋形剂例如可以为：包括乳糖、葡萄糖、蔗糖、山梨糖醇、甘露醇、木糖醇、赤藓糖醇以及麦芽糖醇等在内的糖类，包括玉米淀粉、小麦淀粉、米淀粉以及土豆淀粉等在内的淀粉类，包括纤维素、甲基纤维素、羧甲基纤维素钠以及羟丙基甲基纤维素等在内的纤维素类，包括明胶、聚乙烯吡

咯烷酮等在内的填充剂。此外,根据情况也可以添加包括交联聚乙烯吡咯烷酮、琼脂、海藻酸或海藻酸钠(Sodium Alginate)等在内的崩解剂。另外,本发明的药物组合物还可以含有抗絮凝剂、润滑剂、湿润剂、香料、乳化剂以及防腐剂等。此外,作为本发明的药物组合物的有效成分的红参可以商购得到。在本发明的一个实施例中使用了韩国人参公社销售的红参粉末胶囊。

本发明的药物组合物可以用于对哺乳动物,尤其是包括人在内的动物进行给药。优选以有效量对感染有 HIV-1 的患者进行给药。上述“有效量”是指对于在体外或者生物体内使得 HIV-1 中的 nef 基因产生缺陷的有效量的量。

本发明的药物组合物的有效量需要考虑给药途径、治疗次数、治疗必要的个体的年龄、体重、健康状况、性别、疾病的严重度、饮食以及排泄率等多种因素,本领域技术人员可以根据特定的用途来确定适当的有效给药量。优选情况下,本发明的含红参的药物组合物的有效量,男性为 50-100 毫克/千克/天,女性为 20-70 毫克/千克/天。

本发明的药物组合物可以在个体诊断后进行持续给药来延缓 AIDS 疾病的发展。

另外,本发明中,上述 5'LTR 和/或 gag 基因的缺陷可以定义为具有提前终止密码子(pre premature stop codon)、缺少起始密码子(initiation codon)。

在本发明的一个实施例中,从 10 个 LTS 生成的扩增产物中观察到如非蛋氨酸起始密码子、G 至 A 超变异(hypermutation)引起的提前终止密码子、以及小缺陷的基因缺陷(实施例 4)。在各个患者以及 10 个 LTS 内,缺陷、重复或插入的大小不完全相同。即使在 8 个对照组 LTS 中,也观察到了提前终止密码子、非蛋氨酸起始密码子引起的基因缺陷(图 4)。

优选情况下,通过本发明的方法产生的缺陷的 5'LTR 和/或 gag 基因可以表示为如下的序列: GenBank 登录号为 EF 370172, EF 370173, EF 370175, EU 047612, EF 370184, EF 370186, EF 370187, EF 370188, EF 370191,

EF 370192, EF 370193, EF 370196, EF 370197, EF 370199, EF 370201, EF 370200, EF 370202, EF 370205, EF 370207, EF 370211, EF 370213, EF 3702115, EF 3702116, EF 3702118, EF 370219, EF 370221, EF 370223, EF 370224, EF 370225, EF 370226, EF 370227, EF 370228, EF 370231, EF 370235, EF 370237, EF 370239, EU 047647, EF 370245, EF 370250, EF 370251, EF 370252, EF 370253, EF 370256, EF 370259, EF 370262, EF 370261, EF 370265, DQ 295196, EF 370275, EF 370276, EF 370277, EF 3702778, EF 370279, EF 370282, EU 047673, EF 370283, EF 370285, EF 370286, EF 370287, EF 370288, EF 370292。

如上所述,本发明的药物组合物通过对 HIV 感染个体进行给药,可以诱导 HIV-1 具有 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷。因此,本发明可以用于 AIDS 的预防和治疗。

附图说明

图 1 是表示未进行抗逆转录病毒治疗、给予最小量的 KRG 或不给予 KRG 的 8 个对照组 LTS (图 1k~r) 和接受最大量的 KRG 给药的 10 个 LTS (图 1a~j) 的 CD4 T 细胞数的变化的图。给予红参期间利用条 (bar) 来表示。三个的 PCR 反应伴随着一个样品的扩增,5'LTR 和 gag 基因的序列中使用的样品与表示 5'LTR 和 gag 基因大规模缺陷的样品分别在下部以向下箭头和向上箭头表示。在两个组中,CD4 T 细胞数在 10 年后减少。由此,除了 KRG 给药量,两个组之间没有显著的差别。

图 2 是表示从最初确诊的 3 个 LTS 得到的外周血单核细胞中的 5'LTR 和 gag 的序列分析的图。分离通过 1% 琼脂糖凝胶的电泳进行扩增的产物。来自患者 87-05、89-17、90-05 的 PCR 产物分别以道 (lane) 1-10、11-18、19-31 来表示。患者 87-05 具有 4 种野生型 (wild type, 道 1、3、6、9)、与

3 个重复带（道 2、7、10）和两个单条短带（道 4、8）那样的五条短带。患者 89-17 表示 7 个短带（道 11、12、13、14、16-18），其中，道 14 是一条短带（14%）。患者 90-05 具有 7 条短带（道 19、22、23、24、26、29、30），其中，道 22、24、26、29、30 表现为一条短带（71%）。

（M：标记，WT：野生型带（wild type band））

图 3 是表示比较 3 组大规模缺陷频率的图。表示大规模缺陷的外周血单核细胞样品的比例，KRG LTS（55%）不仅比其它的 28 个患者（13.3%）高，而且比 9 个对照组 LTS 的 26.7% 高。而且，对大规模缺陷阳性的 PCR 产物的比例，给予了 KRG 的 10 个 LTS（37.6%）不仅比其它的 28 个患者（8.3%）显著地高，而且比 8 个对照组 LTS 的 13.9% 显著地高。28 个患者中还包括 87-05 和 90-50 的妻子。而且，他们的一部分即使在确诊为 HIV-1 之后未超过 10 年，也可能成为 LTS。

图 4 是表示感染了 HIV-1 的 10 个 LTS 中代表性的部分 gag 蛋白质的预想氨基酸序列的图。来自美国的非进展患者的 gag 蛋白质的共同氨基酸序列显示在最上列（参见参考文献 23），而且 10 个 LTS 的预想序列如下所示。点（dot）表示序列的相同部分，条（bar）表示除变异部分之外的部分缺陷或大规模缺陷。另外，问号表示提前终止密码子。氨基酸序列由一个文字编码表示。各序列的出处由各患者编码（最初两位数字表示 HIV 确诊年度，连字符后的两位数字表示在韩国向各个患者分配的固有的号码）进行确认。各自的 GenBank 号码对应的样品的日期如图 7 所示。图 7 中看不到在 gag 基因中不含缺陷的 7 种碱基序列。

图 5 是表示感染有 HIV-1 的 18 个 LTS 的临床学特征的表。除了过去的一年，LTS 中的患者 91-20 的顺应度与 90-05 同样是最好的，而且他的实际 KRG 服用量通过个人购买达到了 22,422g 以上。患者 91-22 和 91-23 是由于接受了 91-20 提供的血液而被感染 HIV-1 的。除了 LTS 87-05，所有的患者

为感染有 HIV-1 亚型 B 的韩国分支 (subclade)。

图 6 是表示 18 个 LTS 以及 28 个非 KRG 给药患者的 5'LTR/gag 基因的大规模缺陷的特征。

图 7 是表示与 nef 基因的大规模缺陷相比较, 5'LTR/gag 基因的大规模缺陷的频率的表。

具体实施方式

下面通过实施例对本发明作更详细的说明。但是, 以下实施例是用于对本发明进行举例说明的例子, 本发明并不受以下实施例的限定, 可以进行各种修改以及改变。

实施例 1

实验对象以及 KRG 治疗

研究组包括: 摄取最大量 KRG 的 10 个长期生存者 (LTSS; long-term survivors), 8 个对照组 LTS, 28 个未摄取 KRG 的 HIV 感染患者。

本研究中, 10 个 LTS 已经在本发明人的以前的研究中进行了详细说明 (参见参考文献 9)。上述 10 个 LTS 均在 1987 年至 1996 年 3 月间被确诊, 在本研究中, 除了一个患者 (93-04) 之外, 对其他患者均未给予任何的抗逆转录病毒治疗。该患者 (93-04) 在 1993 年 4 月至 1997 年 8 月间断地使用了 ZDV (日剂量 200mg 或 300mg)。

8 个对照组 LTS 由本发明人的研究团体 (cohorts) 选择。被分到上述对照组 LTS 中的患者在 1996 年之前被诊断为感染有 HIV-1, 他们在没有进行强的抗逆转录病毒药物治疗的情况下, 使用了最小剂量 ($1,526 \pm 1,183$ g) 的 KRG 或者完全不使用 KRG (患者 89-05 完全未使用 KRG)。唯一一个患者 91-23 从 1993 年 4 月至 1999 年 8 月使用了 ZDV。患者 89-05 在 1997 年去了

其它国家,因此从本发明的研究样本中删除。在8个对照组 LTS 中,包括接受了长期生存者 91-20 输血的两个受血者(recipients,患者 91-22 和 91-23)。患者 89-26 和 92-23 抵制摄取 KRG。患者 90-01 为进行了 83 次有偿提供血浆的血浆提供者。该患者 90-01 被记作提供者 O(参见参考文献 21)。因此,在对 10 个高 KRG 摄取 LTS 和 8 个对照组 LTS 进行比较时,最基本的特征(baseline characteristics)是相同的。

换言之,10 个 LTS 和 8 个对照组 LTS 之间,除了 KRG 的摄入量不同之外,基本的疾病进展速度(progression rate)或 CD4 T 细胞数没有显著的差别。

此外还调查了其他 28 个对照组患者。这 28 人中也包括 87-05 和 90-50 的妻子。这 28 个患者中的一部分为长期生存者。但是,他们是在 1997 年以后被确诊的,因此,不包括在长期生存者组中。各参加者提供了同意书。

对感染有 HIV-1 的患者进行 KRG 治疗是从 1991 年下半年在韩国的 NIH 开始的。实验中使用的 KRG 为韩国人参公社销售的红参粉末胶囊。对各个患者的 KRG 的一日给药量,男性为 5.4g(一天服用三次,每次六粒 300mg 的胶囊),女性为 1.8g。各患者的 KRG 给药时间如图 1 所示。

10 个 LTS 服用的红参的平均剂量为在 155 ± 28 个月期间为 $13,364 \pm 5,364\text{g}$, 8 个对照组 LTS 服用的红参的平均剂量为在 132 ± 29 个月期间为 $1,436 \pm 1,027\text{g}$ (图 5)。在 10 个 LTS 和 8 个对照组 LTS 中, KRG 的年剂量各自为 1,035g 和 131g。在 KRG 摄入水平中,7.9 倍具有统计学意义($P < 0.001$)。

实施例 2

CD4 T 细胞数和血浆 HIV-1 RNA 复制水平(copy level)

间隔 3 个月至 6 个月后,对实施例 1 的各患者进行采血,分别将各样本中的外周血单核细胞和结合有藻红蛋白(phycoerythrin, PE)以及异硫氰酸

荧光素 (FITC) 的与 CD4 抗原对应的抗体进行培养 (Simultest reagent; Becton Dickinson, San Jose, CA, USA)。CD4 T 细胞的水平通过 FACSscan (Becton-Dickinson) 流式细胞仪 (flow cytometry) 进行测定。血浆的 HIV-1 RNA 浓度通过 Amplicor HIV-1 Monitor kit (Roche Diagnostics, Branchburg, NJ) 进行测定 (参见参考文献 7)。

每 6 个月目测摄入了红参的 10 个 LTS 和 8 个对照组 LTS 的 CD4 T 细胞数, 结果与图 1 所示相同。

接受最大红参治疗给药量的 10 个 LTS 的 CD4 T 细胞数从最初测得的 $555 \pm 208/\text{ul}$ 显著地减少到 168 $\pm$ 29 个月后测定的 $245 \pm 160/\text{ul}$ (一年减少 22/ ul , 图 1a 至图 1j)。此外, 8 个对照组 LTS 的 CD4 T 细胞数从最初测得的 $574 \pm 222/\text{ul}$ 减少到 132 $\pm$ 29 个月后测定的 $353 \pm 297/\text{ul}$ (一年减少 20/ ul , 图 1k 至图 1r)。

可以确认在两个组中 CD4 T 细胞数在 10 年中均以类似的方式减少。

实施例 3

部分 5'LTR 区域 (region) 和 gag 基因的扩增

前病毒 DNA 从实施例 2 中得到的未培养的 PBMCs 中提取。通过利用了第一轮引物 (first round primer) CE23 (5'-tgtggatctaccacacacaaggctactt-3'; 46 至 73; 序列号 1)、514 (5'-tccagaatgctggtagggtatac-3'; 1,617 至 1,640; 序列号 2)、第二轮引物 CE1 (5'-cgagagctgcatccggagtacta-3'; 297 至 319; 序列号 3)、512 (5'-ctgcagcttcctcattgatggtc-3'; 1,398 至 1,420; 序列号 4)、第三轮引物 501 (5'-gtgtggcctgggcgggactg-3'; 380 至 399; 序列号 5) 以及 510 (5'-gatgtaccatttggcccctgga-3'; 1,202 至 1,222; 序列号 6) 的双重 (极少的三重) 巢式聚合酶链反应 (nested PCR), 从 297 号至 1,421 号 (在此以及以下, 编号来源于 HIV NL4-3 的序列) 的 1,125bp 的 PCR 产物由各样品扩增 (上

述从 297 号至 1,421 号的位置为代表部分的 5'LTR 部分和 gag 基因的部分)。

含阴性对照组的各样本一次进行的最大 PCR 反应为 4 个, 而为了扩增 nef 基因, 含阴性对照组的各样本一次进行的最大 PCR 反应为 5 个。精制 PCR 产物, 直接排序。PCR 有无污染通过 PCR 产物的物理分离来进行监控, PCR 产物的物理分离通过 BLAST 检索、由人工排列 (manual alignment) 进行的氨基酸密码子比较以及系统分析的各手续来进行。

实验结果用平均值±标准偏差来表示。统计学意义用 SPSS package version 12.0 进行双尾 t 检验 (Student's two-tailed t-test) 以及卡方检验 (Chi-square test) 来确认。

实验结果, 由在不同的时间点从 10 个 LTS 获得的 80 个 PMBC 样品扩增成 189 个 PCR 产物 (图 1a 至图 1j)。在大多数时间点, 所有的 10 个 LTS 在 5'LTR/gag 基因区域表现出 gΔ (图 1)。80 个样本中的 44 个 (55%) 观察到缺陷 (图 2)。189 个 PCR 产物中, 71 个 (37.6%) 表现出 gΔ5'LTR/gag。其中, 23 个 (32.4%) 的扩增仅表现为一条短带 (short band), 没有野生型基因。71 个的 gΔ5'LTR/gag 的特征在图 7 中进行了概括。

5 个 PCR 产物 (2007 年 1 月从患者 87-05、2001 年 7 月从患者 89-17、1993 年 10 月从患者 90-05、以及 2006 年 2 月和 2004 年 5 月从患者 92-13 获得) 和 2 个 PCR 产物 (1993 年 10 月从患者 90-05 获得的 Δ 86bp 和 2006 年从患者 90-50 获得的 Δ 420bp) 仅在 5'LTR 区域内或 gag 基因内分别含有 gΔ (表 3)。剩余的 PCR 产物中的缺陷位于 5'LTR 的两侧末端的部分 (至少含有 753 位置; Δ 37bp) 和 gag 基因的起始部分 (在 HIV-1 NL43 中的 818 号位置的 Δ 29bp)。换言之, 缺陷在 gag 基因的起始密码子的附近为 66bp 以上。

因此, 在 5'LTR 区域的 gΔ 的比例为 36.5% (69/189), 基于 gag 基因的 gΔ 的比例为 34.9% (66/189)。这说明了 KRG 给药对 5'LTR 的影响大于对 gag 基因的影响。

除去任何样品都没有用的患者 91-20 和 93-60 之外，在 KRG 摄取开始后 5'LTR 和 gag 区域的 g Δ 的最初观察早于 nef 基因缺陷的最初观察。从 KRG 的摄取开始至最初 g Δ 观察的中间时间为 26 个月（19 个月至 101 个月）。这比 nef 基因缺陷观察所要求的时间更短。

患者 87-05 同时感染了来自在国外产生的污染的血液凝固因子 9 的 HIV-1 亚型 B 以及 HCV。该患者在 1994 年 6 月开始进行 KRG 给药。虽然在所有的扩增物中有 9bp 的小缺陷，但是在 10 个 LTS 中，只有该患者不表现 g Δ nef（参见参考文献 9）。令人惊讶的是，本发明人在 1997 年 4 月得到的最初有用的样品中观察到了 g Δ ，从 12 个样品中的 4 个得到的 36 个 PCR 产物中观察到了总共 7 个 g Δ （图 1a 至图 1j，图 5）。该患者从 2007 年 4 月开始未表现出任何的与获得性免疫缺陷综合症相关的症状，这是韩国首例未经过任何的抗逆转录病毒治疗而生存 20 年以上的患者。

患者 89-17 在 1991 年 12 月开始进行 KRG 给药。但是对于给药的顺应度不是始终如一的。1993 年 7 月报告的一个 g Δ 是一个例外。原因为 Δ 917bp 被 pol 基因（在相反方向 NL4-3 的 4,296 号至 4,037 号）的 474bp 以及 gag 基因（2,029bp 至 1,838bp）的终止部分替换。该患者在 2002 年 2 月开始进行 HART 治疗，CD4 T 细胞数在 2007 年 4 月为 513/ul。

患者 90-05 在 1990 年 2 月确诊为 HIV-1 感染，在 1991 年 12 月开始摄取 KRG。该患者在本研究中对于 KRG 治疗表现出最好的顺应度。除了供给的 21,522g 的 KRG，该患者还摄取了自己持有的 KRG。在 95% 的顺应度下 KRG 的日剂量为 6.0g（一天两次，每次 10 粒 300mg 的胶囊）。g Δ 的最初观察相比在 2001 年 1 月（KRG 给药开始后第 111 个月，共摄取 KRG12,012g）的 g Δ nef 最初观察要早 87 个月（图 6a、6b、6c）。g Δ 的例子和剩余 7 个 LTS 的详细情况如图 1 以及图 6 所示。

此外，将从追加的 8 个对照组 LTS 得到的 33 个 PBMC 样品的 88 个 PCR

产物进行了扩增。13 个 g Δ (扩增后的 PCR 产物中的 14.8%) 存在于 10 个 PBMC 样品中 (总共的 30.3%)。在 PBMC 样品和 PCR 产品上, 10 个 LTS 相比 8 个对照组 LTS, 含有显著高的比例的 g Δ (前者 $P < 0.05$, 后者 $P < 0.0001$) (图 3)。

此外, 将在临床学阶段无关地从未给予 KRG 的 28 个患者中得到的 30 个 PBMC 样品的 60 个 PCR 产物进行扩增。5 个 g Δ (扩增后的 PCR 产物中的 8.3%) 存在于 4 个 PBMC 中 (总共的 13.3%)。

实施例 4

遗传缺陷和小缺陷

除了大规模缺陷之外, 本发明人观察到了如下的基因缺陷, 例如, 非蛋氨酸起始密码子、G 至 A 超变异 (hypermutation) 引起的提前终止密码子以及小缺陷。在 10 个 LTS 中, 患者 87-05 在 4 个序列 (EU047601、EU047605、EU047607、EU047609) 中显示出提前终止密码子, 患者 89-17 也含有作为提前终止密码子和起始密码子 (GenBank EF370193) 的异亮氨酸。患者 90-18 在 gag 基因中具有 6bp 的插入, 患者 92-13 具有 102bp (GenBank EF370252) 的两个重复 (duplications)、在 5'LTR 区域的 159bp 的缺陷、以及 G 至 A 超变异 (Genbank EF370256), 另外该患者在 327 和 328 区域 (GenBank EF370258) 具有 6bp 的插入 (图 4)。

在 8 个对照组 LTS 中, 患者 91-22 在提前终止密码子或 3 个序列 (GenBank EF370314、EU047654、EU047655) 中具有作为起始密码子的异亮氨酸。患者 89-26 在一个序列 (EU047635) 中具有两个提前终止密码子。

实施例 5

随着 CD4 T 细胞数而不同的大规模缺陷的频率

本发明人分析了随着 CD4 T 细胞数而不同的大规模缺陷的频率。其中,最好将 10 个 LTS 的 PCR 扩增产物按照 CD4 T 细胞数 200/ul 以下、200-400/ul、400/ul 以上进行分组。在给予了 KRG 的 10 个 LTS 中大规模缺陷的频率为 47.4% (9/19)、51.8% (14/27) 以及 61.8% (21/34), 这表明对 CD4 T 细胞数的若干依赖性。但是, 在 8 个对照组 LTS 中, 大规模缺陷比例为 44.4%(4/9)、20% (4/20)、50% (2/4), 此外未给予 KRG 的 28 个 HIV-1 阳性患者为 18.2% (2/11)、14.3% (1/7)、8.3% (1/12)。

讨论

本发明人在韩国长期关注 LTS 或 LTNP 的健康, 其结果即使不存在像 CCR5 中的 32bp 缺陷这样的有益的寄主因子 (host factor) 或韩国人的 HLA-B57, 本发明人可以对从 1993 年 12 月 31 日开始确诊的 323 个 HIV-1 感染者中的多数 LTS 进行观察。

更具体地说, 9 个 HIV-1 感染患者在 1987 年在韩国被确诊, 其中三个患者仍然存活, 该三人均使用单独的 KRG 治疗或与 HARRT 并用。长期生存者 87-05 作为这些患者中的一个, 在 1996 年 6 月以后开始摄取 KRG(图 1a)。这些患者中的其他的两人从 1998 年至 1999 年同时接受 HARRT 和 KRG 治疗, 他们的 CD4 T 细胞数从 1998 年的 231/ul、1999 年的 6/ul 增加至 2004 年 12 月的 1,052/ul、2006 年的 1,127/ul。

此外, 22 个 HIV-1 患者在 1988 年被确诊, 仅有进行 KRG 治疗的两个患者 (9%) 仍然存活。患者的 HIV-1 亚型为 CRF02_AG, 因此该患者不包括在本发明的研究中, 但是, 该患者被分到 CD4 T 细胞数为 500/ul 以上的 LTNP 中。1997 年以后确诊的多数患者同时进行 KRG 治疗和 HARRT 治疗, 他们不存在耐药突变 (drug resistance mutations), 这些患者对该并行治疗法表现出良好的反应。

本发明人通过以前的研究，已经报道了 HIV-1 感染患者的 KRG 治疗与 nef 基因大规模缺陷（参见参考文献 9）的高频率之间有关联，KRG 治疗能减缓疾病的发展（参见参考文献 18）。

本发明中，对来自各样品的三个 PCR 产物进行扩增，尽管这比由 nef 基因扩增的四个 PCR 产物少（参见参考文献 9），但是本发明人在相同的 10 个 LTS 中观察到，与 nef 缺陷（样品的 34.3% 和 PCR 产物的 18.8%）（参见参考文献 9）相比较，大规模缺陷（样品的 55% 和 PCR 产物的 37.6%）的频率更高（ $P < 0.0001$ ）。5'LTR/gag 的缺陷频率比在 nef 基因缺陷中确认的频率高 1.6 倍/2.0 倍。在总共 80 个样品中，61 个之前适用于 nef 基因的扩增。上述 61 个样品中的 13 个（21.3%）在两个基因中均有大规模缺陷。尤其是患者 87-05、89-17、90-05、90-50、96-51 在 5'LTR/gag 基因中比在 nef 基因中显示出显著高的大规模缺陷的频率（ $P < 0.05$ ）（图 5）。此外，显示出大规模缺陷的样品的比例在接受 KRG 治疗的 10 个 LTS 中确认为 37.6%，这比 8 个对照组 LTS（14.8%）和 28 个 HIV-1 感染患者（8.3%）明显要高。而且，本发明中，可以确认 8 个对照组 LTS 或其他的 28 个患者的任何的组中大规模缺陷频率与 CD4 T 细胞数之间不存在任何联系（实施例 5），根据该发现，可以证明大规模缺陷和 KRG 摄取之间的关系。

上述发现表现出与在 10 个 LTS 中的相对于 CD4 T 细胞数的适当的依赖性（modest dependency）的良好的比较。接受 KRG 治疗的 10 个 LTS 中一直坚持的患者 87-05、90-05、92-13、96-51 维持了 CD4 T 细胞数（图 1a、1c、1g、1j），但是相反最近 1-2 年间未坚持的患者 90-50、91-20、93-60 的 CD4 T 细胞数很快减少（图 1e、1f、1i）。如上所述，由态度引起的 CD4 T 细胞数减少已经在患者 89-17 和 90-18 中出现（图 1b、1d）。在超过 10 年的长时间下没有任何的 AIDS 相关症状，因此，多数患者有不注意他们的健康状况或无视 KRG 的摄取的倾向。

最近的几篇论文公开了 LTNP 中的全长病毒序列的遗传特征。Alexander 等(参见参考文献 22)除了在 nef 基因中之外没有其它的基因中发现缺陷,而发现了提前终止密码子、无规缺陷(out-of frame deletions)以及整体缺陷。不常见的多形性(polymorphism)和 nef 基因大规模缺陷在 8 个 LTNP 中被发现。此外, Huang 等(参见参考文献 23、24)报告了 8 个 LTS 中 5'LTR 和 gag 基因的遗传性缺陷。在该研究中得到了全长病毒序列,仅在一个患者的 5'LTR 和 gag 基因中发现 G 至 A 超变异(hypermutations)。最近, Calugi 等在 env 基因(与 nef 基因相邻的基因)中确认了大规模缺陷(参见参考文献 25)。Blankson 等(参见参考文献 26)在比 50copies/mL 少的血浆 RNA 的病毒负荷量(viral loads)下没有在抑制因子(supressor)的 HIV-1 全长的碱基序列中发现任何的大规模缺陷。

HIV-1 基因表达通过在含有 TATA box、转录因子 NF-kB 以及 Spl(参见参考文献 27)的结合区域的 LTR 中的几个高保存的顺式作用调节元件(cis-acting regulatory elements)进行调节。人参的某些成分抑制了人体细胞株中的 NF-kB 和 Ap-1 转录因子活动(参见参考文献 28)。相比 HIV-1 的其它部分, LTR 部分更有可能受 KRG 摄取的影响。

本发明中,在包括患者 87-05(未表现出 nef 基因大规模缺陷)的 10 个 LTS 中观察到 5'LTR 的大规模缺陷。而且,观察到的各个大规模缺陷的尺寸较大,但是仅位于基因内的单一位置。本发明人在得到 HIV-1 全长碱基序列时确认了 6 个 LTS(患者 90-05、90-18、90-50、91-20、92-13 以及 96-51)的 env 基因大规模缺陷(>1000bp)(数据未图示)。

因此,不考虑 KRG 摄取和基因缺陷之间的关系,尽管本发明的观察仅是在本发明的研究中获得的各种有益的因素中的一个发现,但是本发明的结果提供了初步数据,该初步数据是指在 5'LTR 部分和 gag 部分的大规模缺陷与 HIV 疾病的进展率有显著联系(参见参考文献 1-9)。关于病毒基因缺陷

怎样影响 LTS 或 LNTP 的可能的机理，本发明人推断基因缺陷是 KRG 的摄取引起的间接的免疫调节 (immune modulation) 的结果。众所周知，高丽人参以通过 Th1 细胞因子 (cytokines) 的细胞介质性免疫反应 (cell mediated immune response) 为媒介 (参见参考文献 29-32)，在 HIV-1 感染中抑制一般的免疫活性状态 (generalized immune activation state)。然而，不给予 KRG 的 LTS 相比感染 HIV 的其它的 28 个患者仍旧具有更高的 5'LTR/gag 缺陷，因此 KRG 摄取可能不是唯一的要素。该发现证明了在 LTS 或 LNTP 的生命延长中由 KRG 摄取引起的基因缺陷的重要性。

<碱基序列的结果 (Sequence DATA) >

总共的 336 个碱基序列中的 178 个已经提交给 GenBank，并给出了 GenBank 登录号：EF370172 至 EF370349、EU047600 至 EU047667、EU047670 至 EU047676、以及 EU047681 至 EU047693。

工业实用性

具体地说，本发明的药物组合物可以通过向 HIV 感染个体给药而诱导 HIV-1 具有 5'LTR 和/或 gag 基因缺陷。因此，本发明提供的药物组合物可以用于 AIDS 的预防以及治疗。

序列表

<110> (株)韩国人参公社
蔚山大学校产学协力团

<120> 含有高丽人参的用于使 HIV-1 具有 5'LTR/gag 基因缺陷的药物组合物

<150> KR10-2008-0037555

<151> 2008-04-23

<160> 6

<170> PatentIn version 3.3

<210> 1

<211> 28

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 第一轮引物 CE23

<400> 1

tgtggatcta ccacacacaa ggctactt

<210> 2

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 第一轮引物 514

<400> 2

tccagaatgc tggtagggtac tac

<210> 3

<211> 23

<212> DNA

<213> 人工序列

<220>

<223> 第二轮引物 CE1

<400> 3

cgagagctgc atccggagta cta

<210> 4
<211> 23
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 第二轮引物 512

<400> 4
ctgcagcttc ctcattgatg gtc

<210> 5
<211> 20
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 第三轮引物 501

<400> 5
gtgtggcctg ggcgggactg

<210> 6
<211> 21
<212> DNA
<213> 人工序列

<220>
<223> 第三轮引物 510

<400> 6
gatgtacat ttgccctgg a

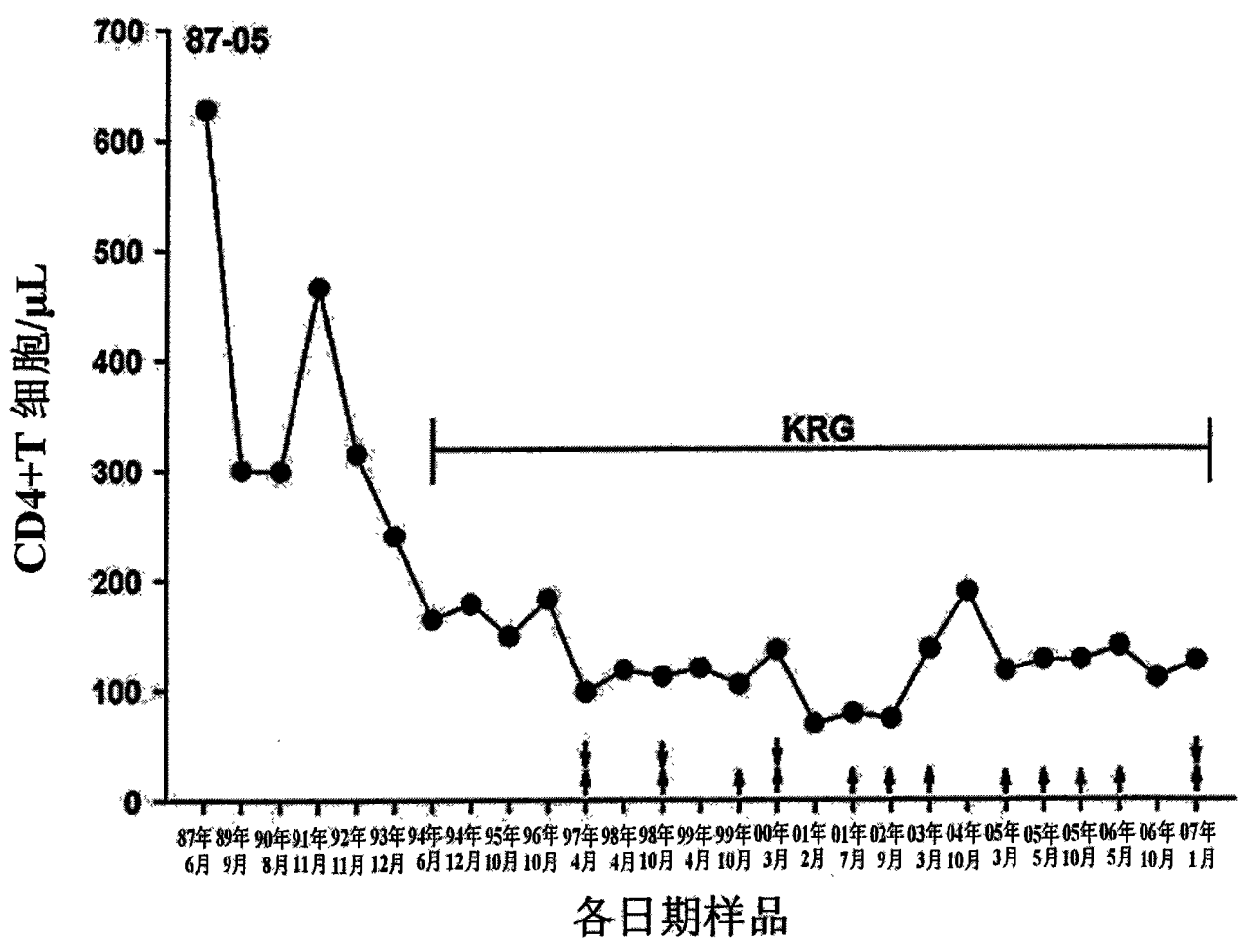


图 1a

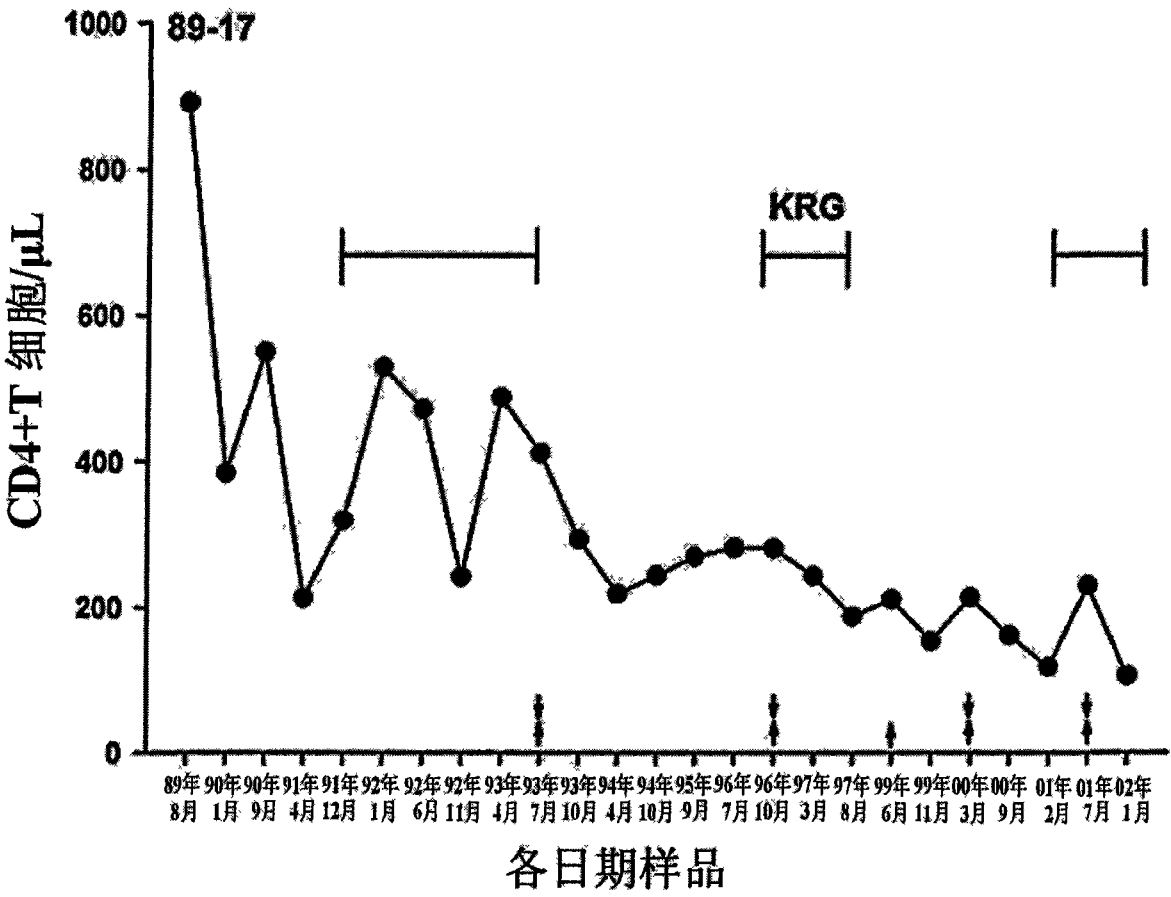


图 1b

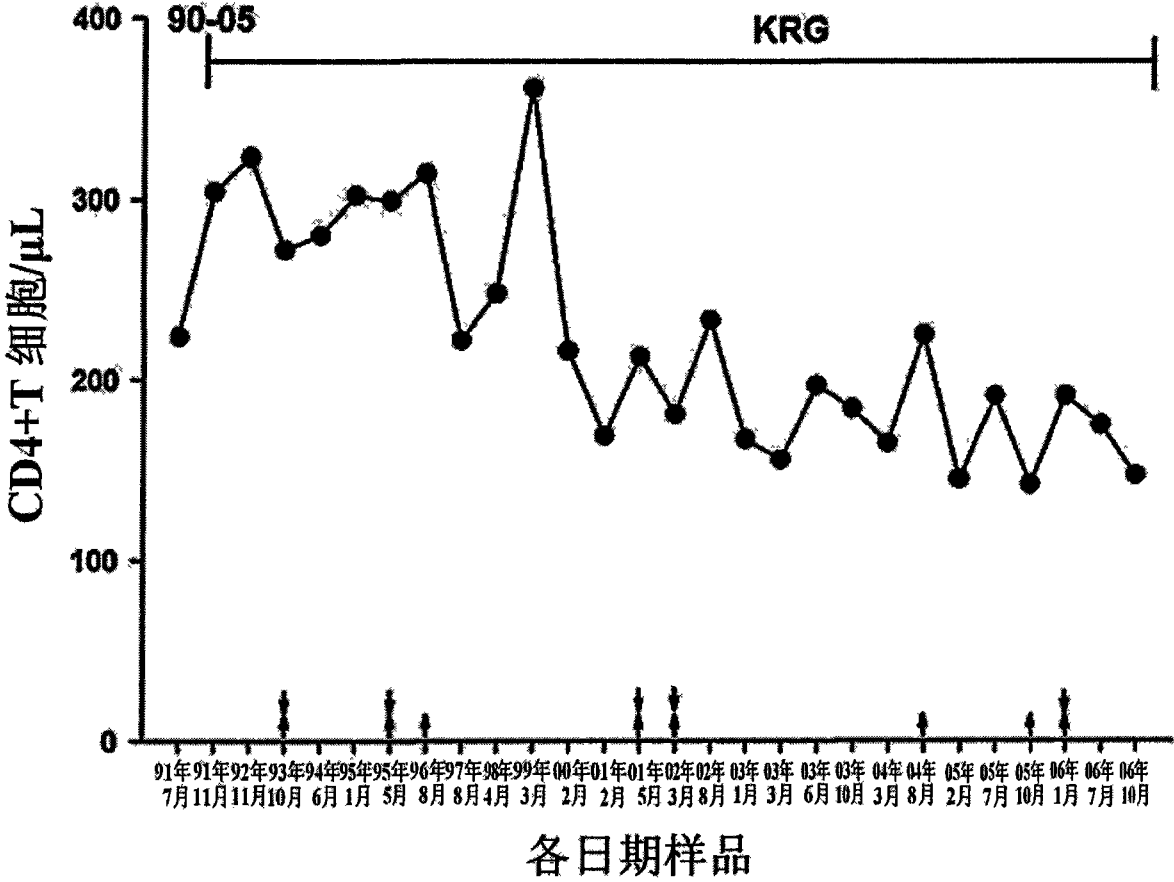


图 1c

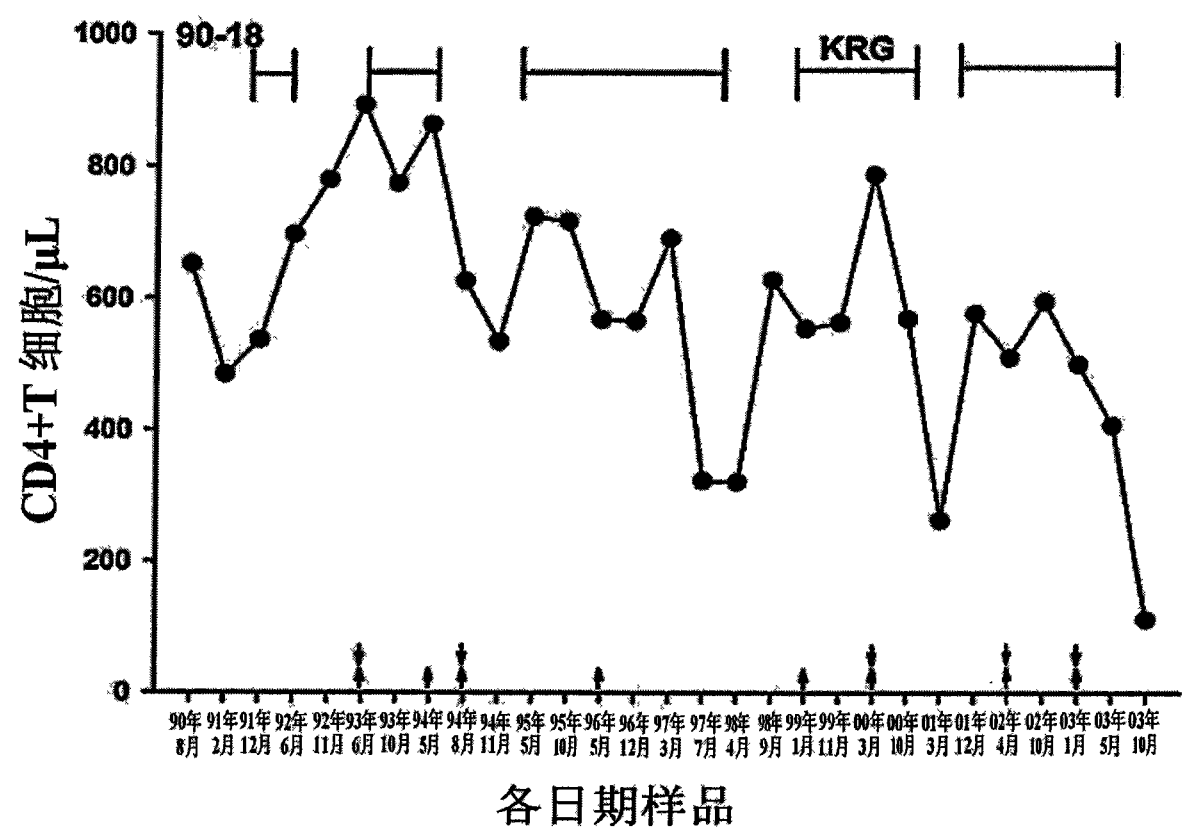


图 1d

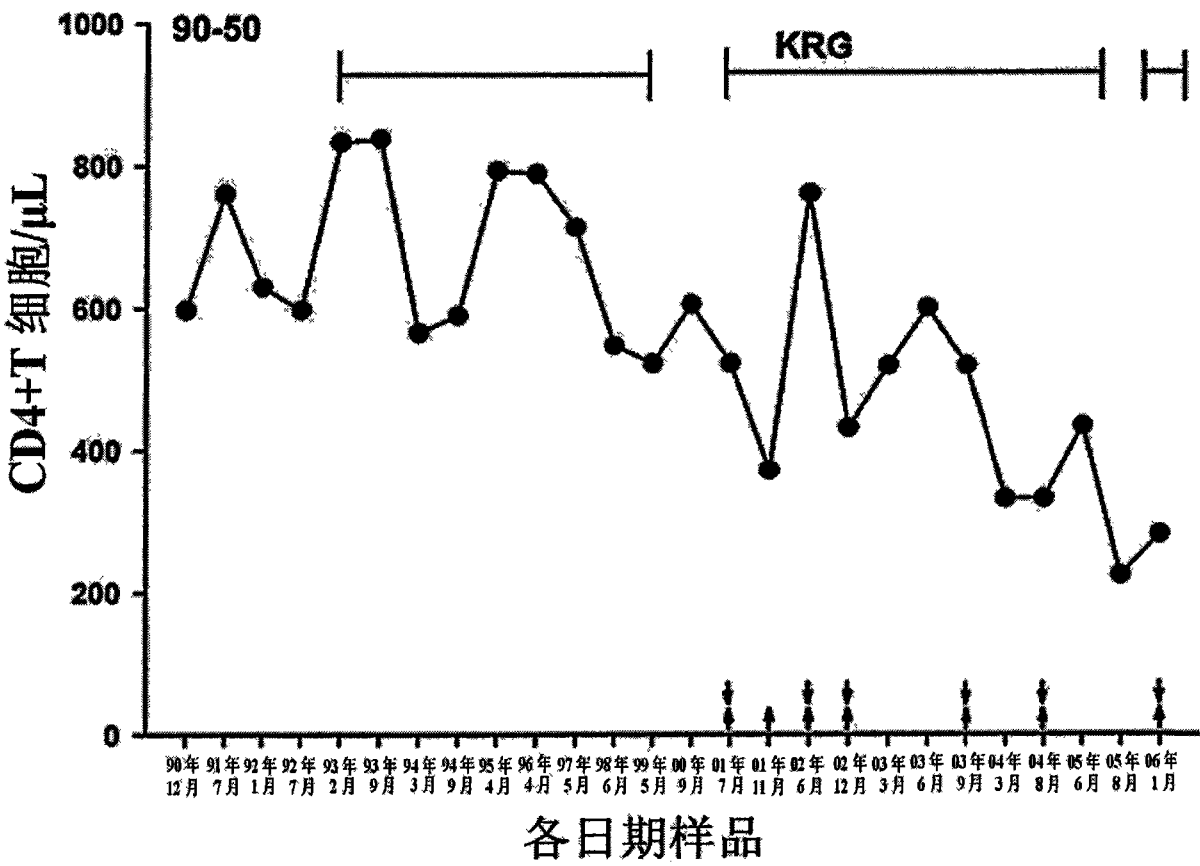


图 1e

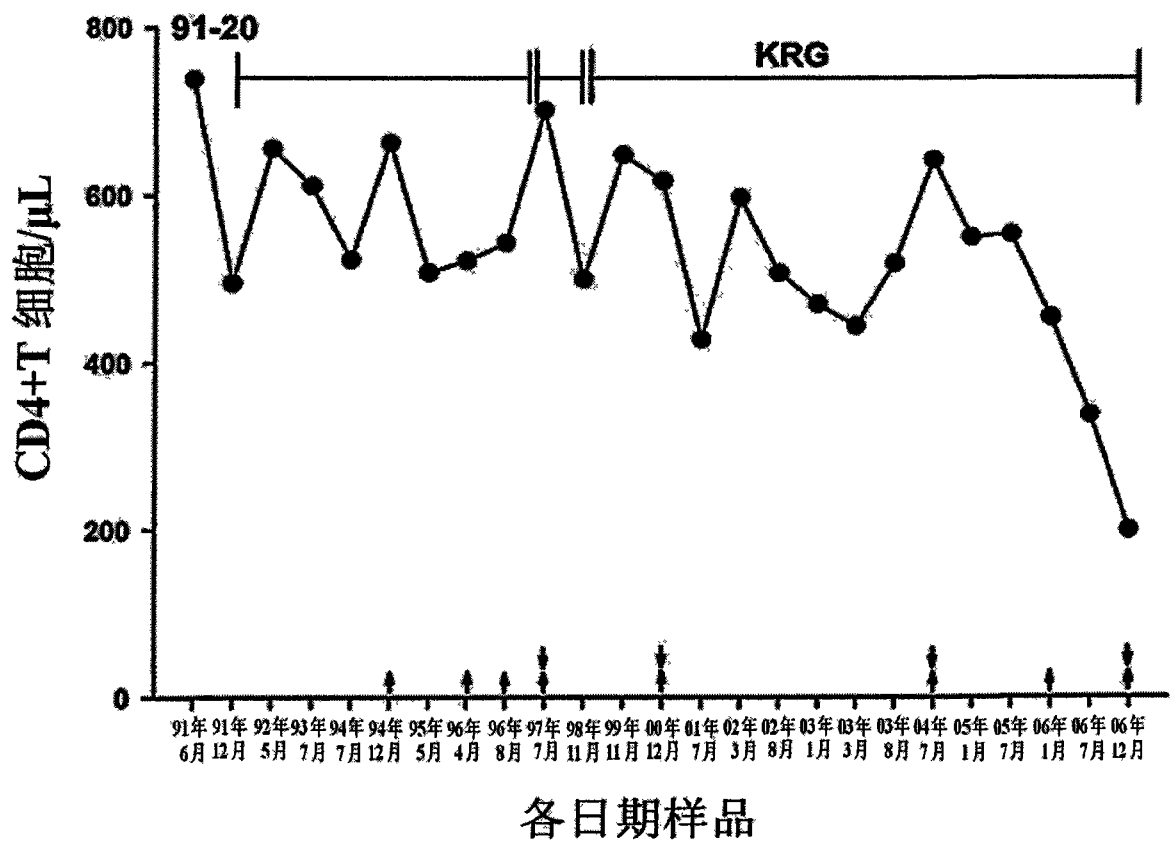


图 1f

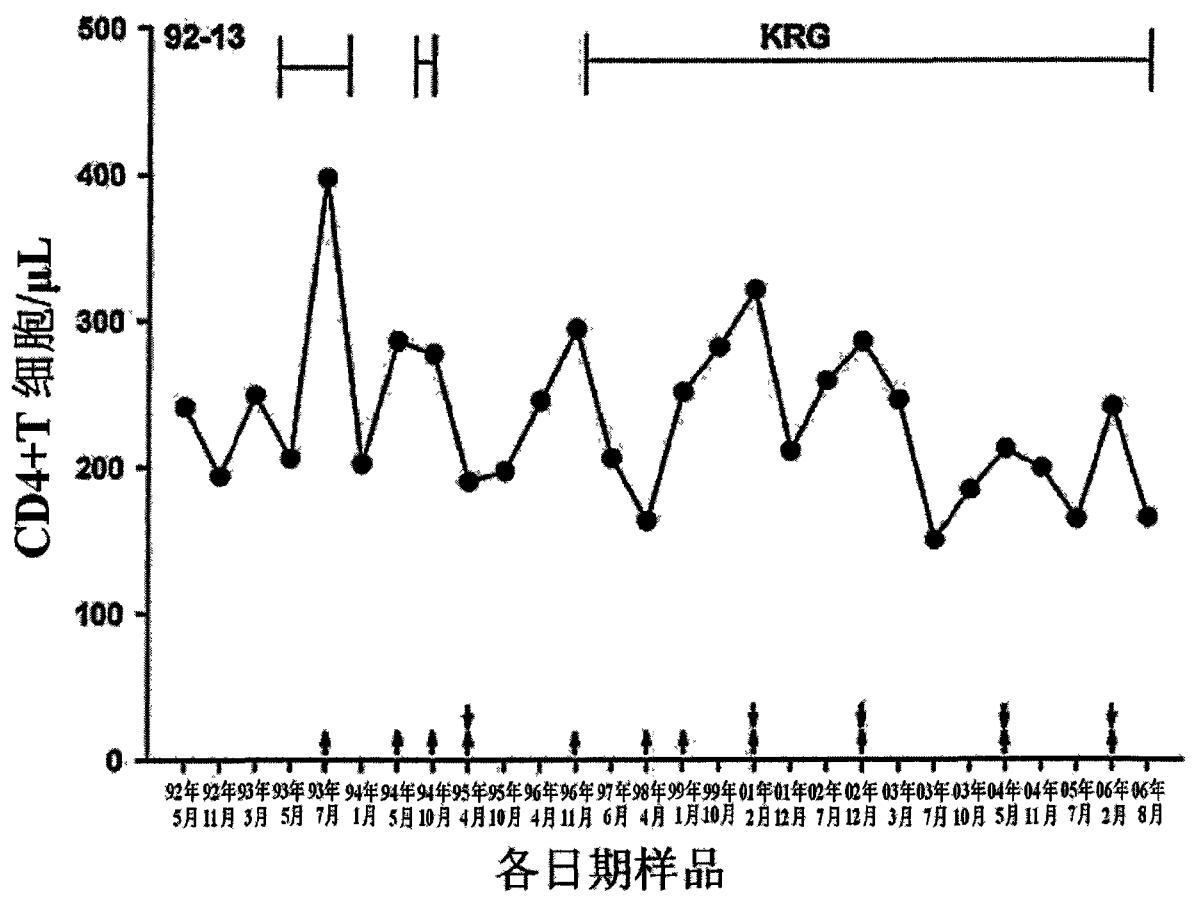


图 1g

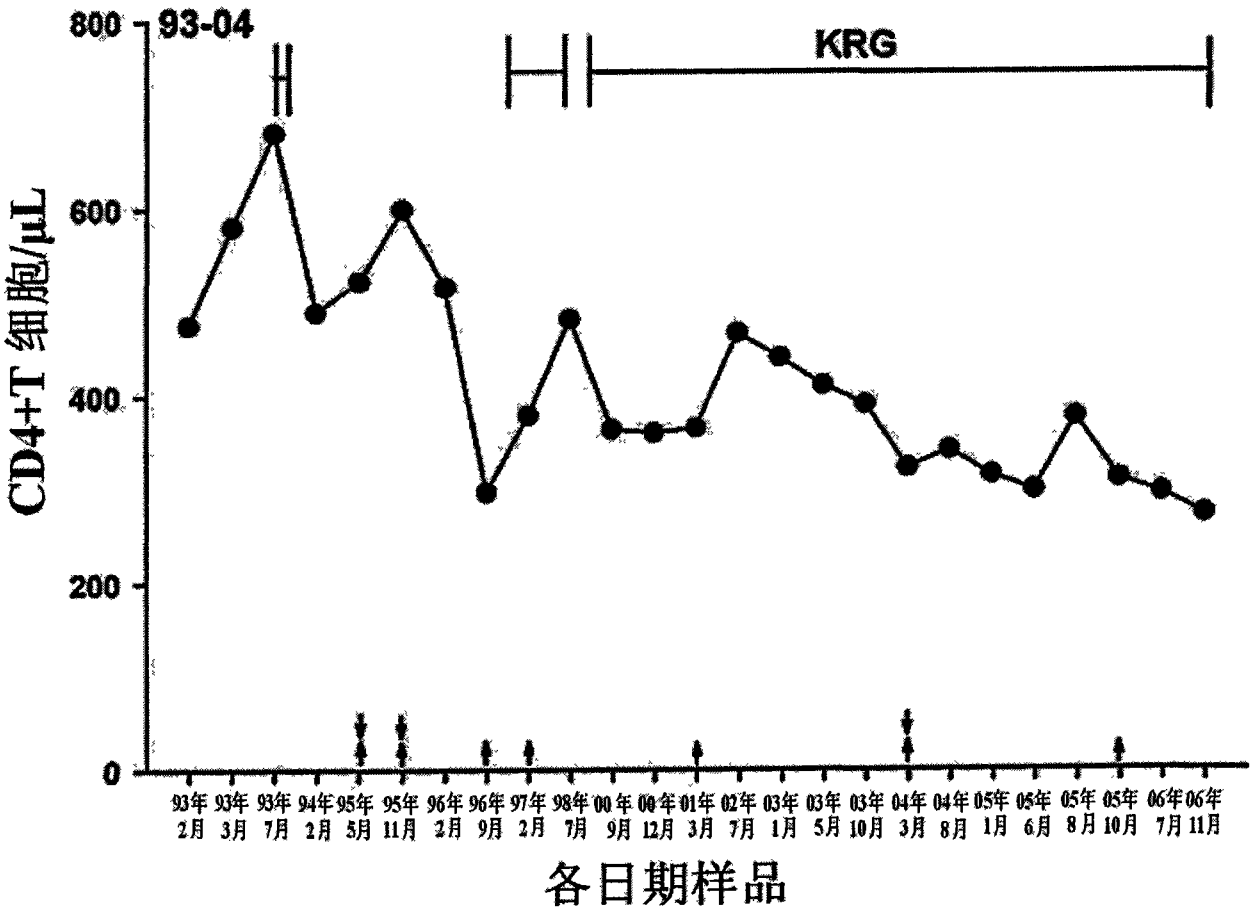


图 1h

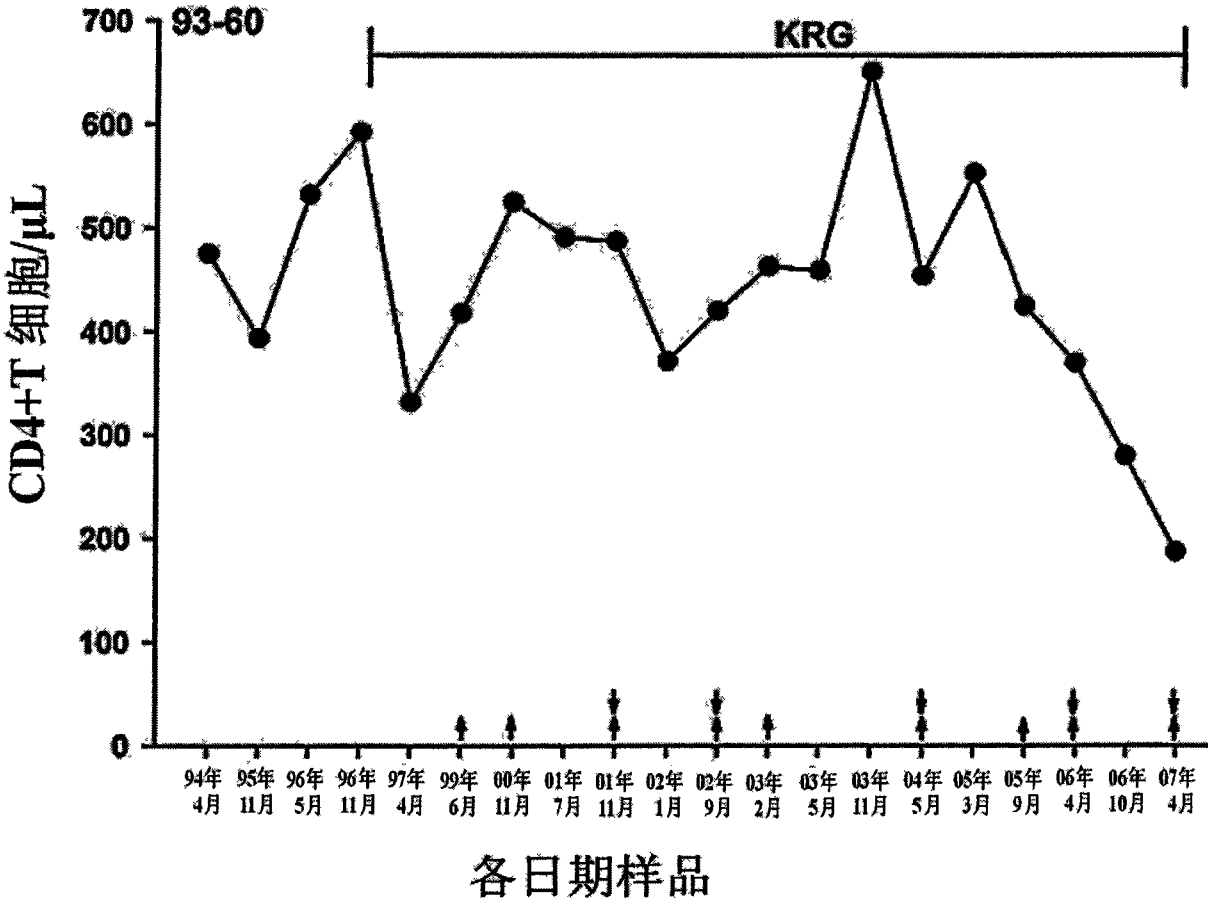


图 1i

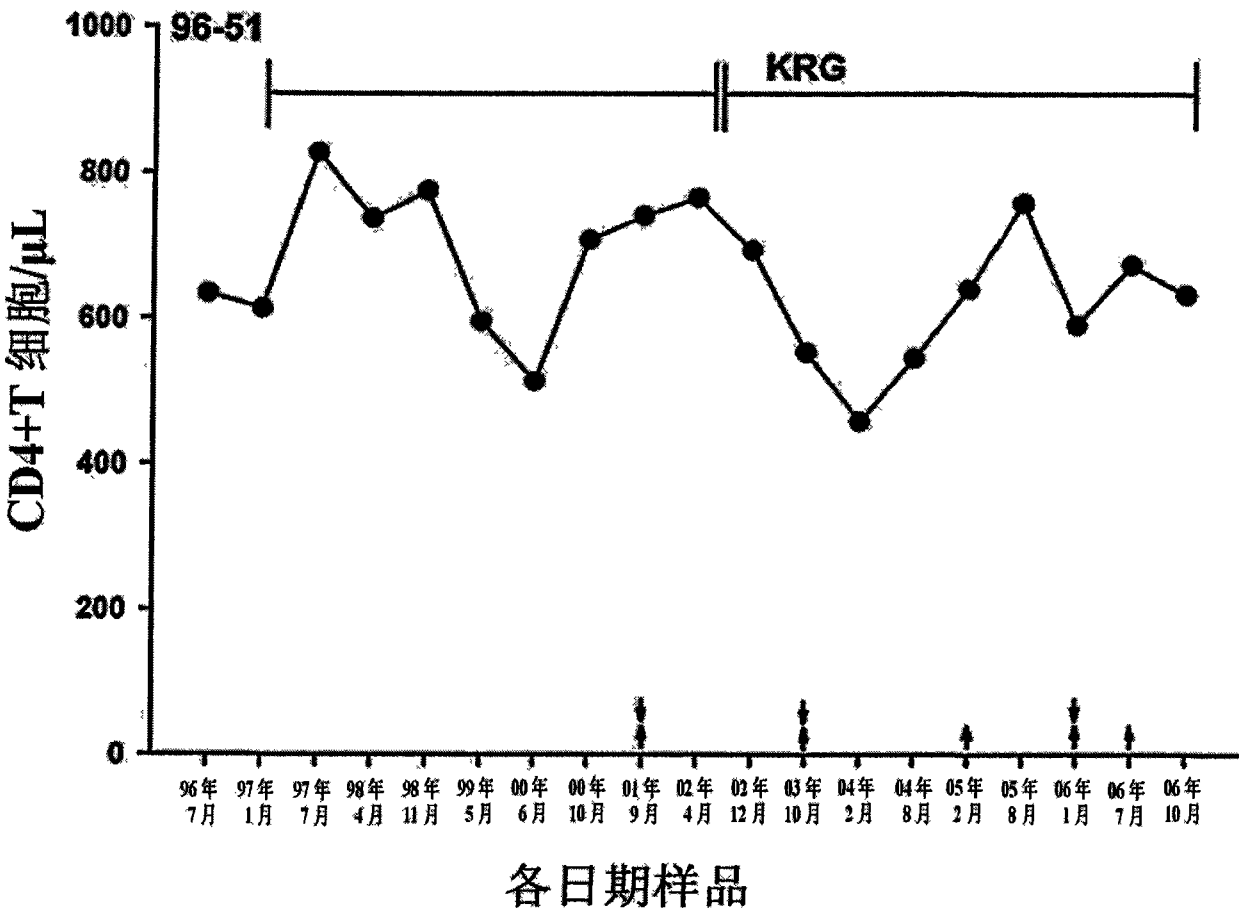


图 1j

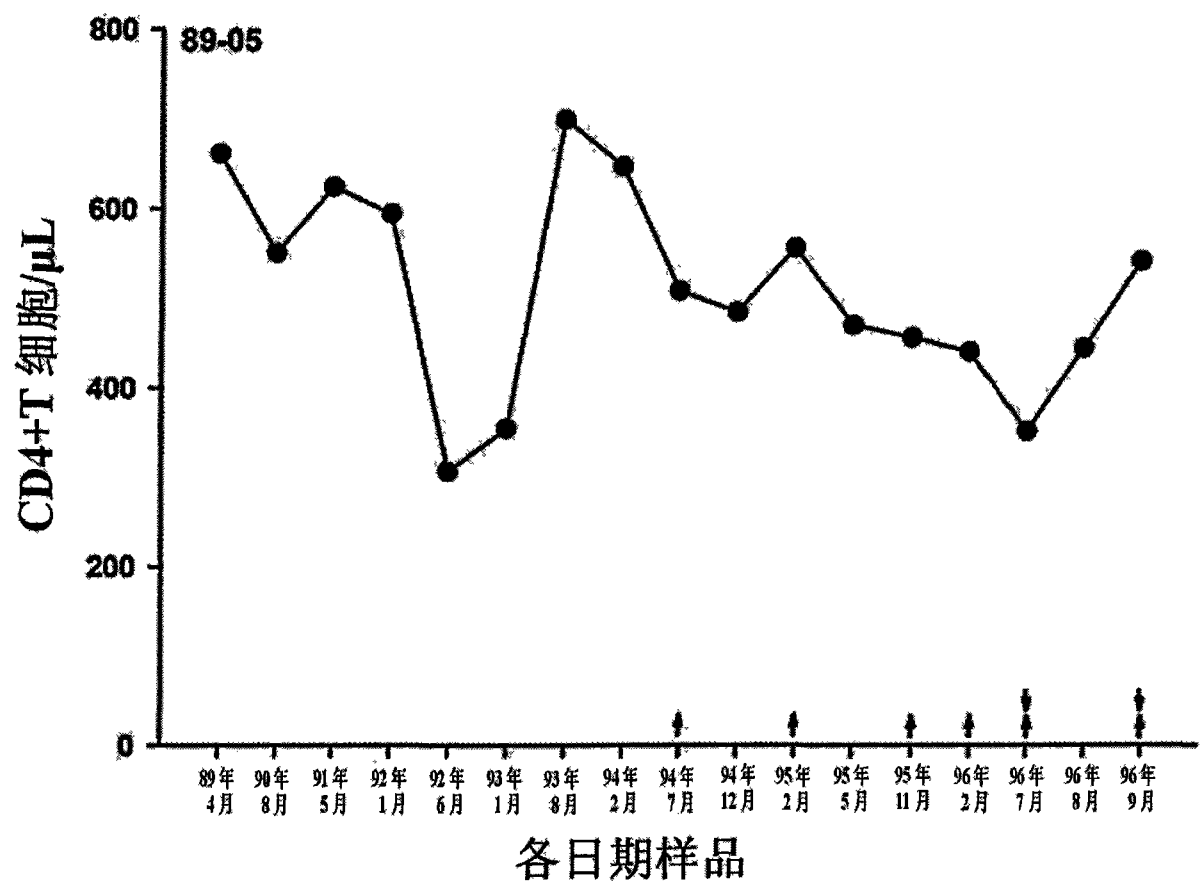


图 1k

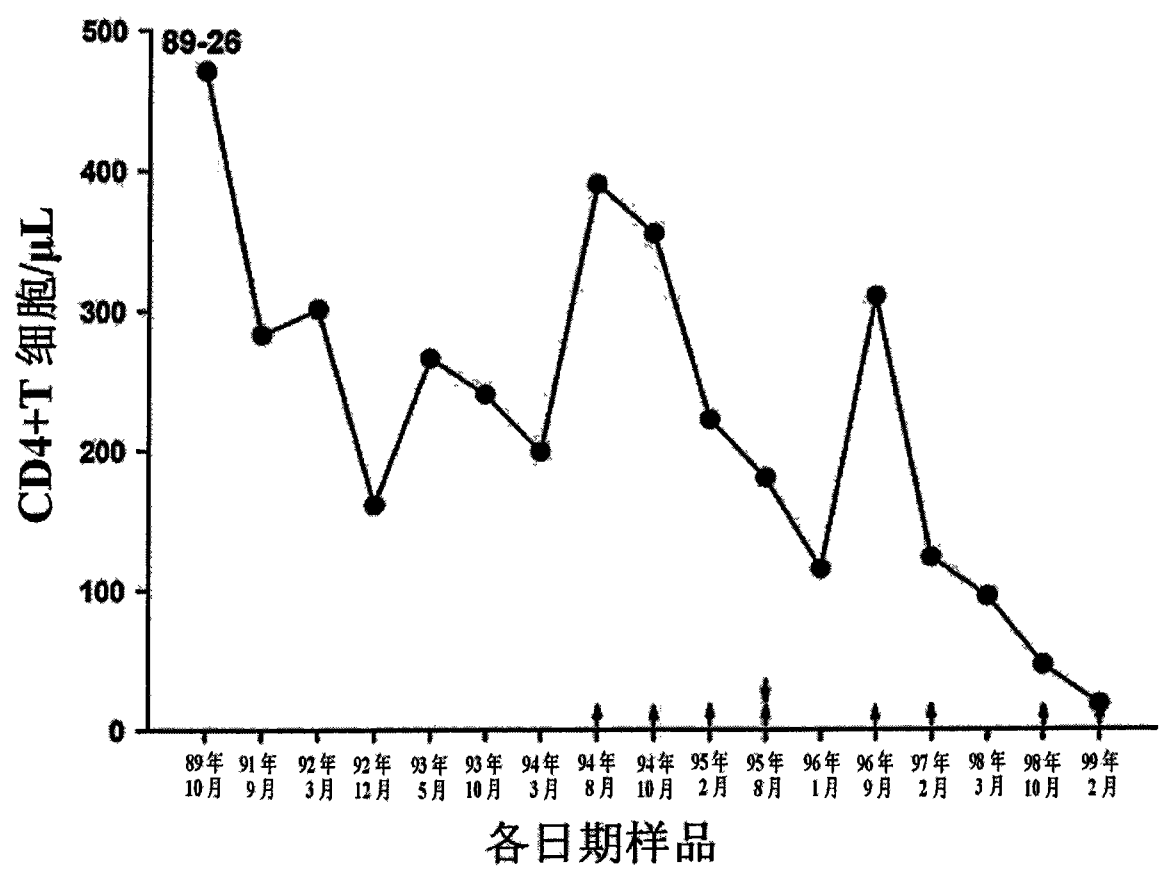


图 11

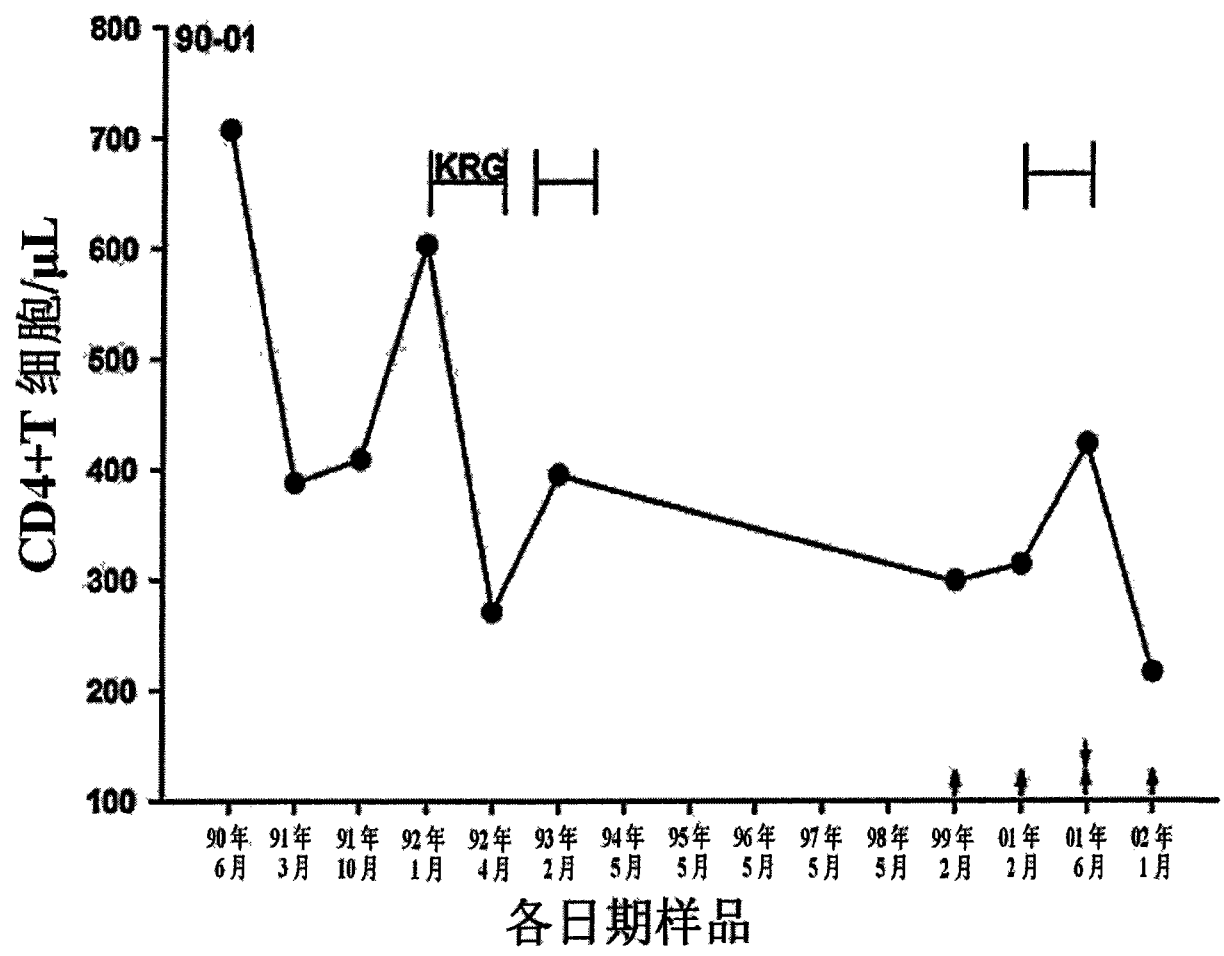


图 1m

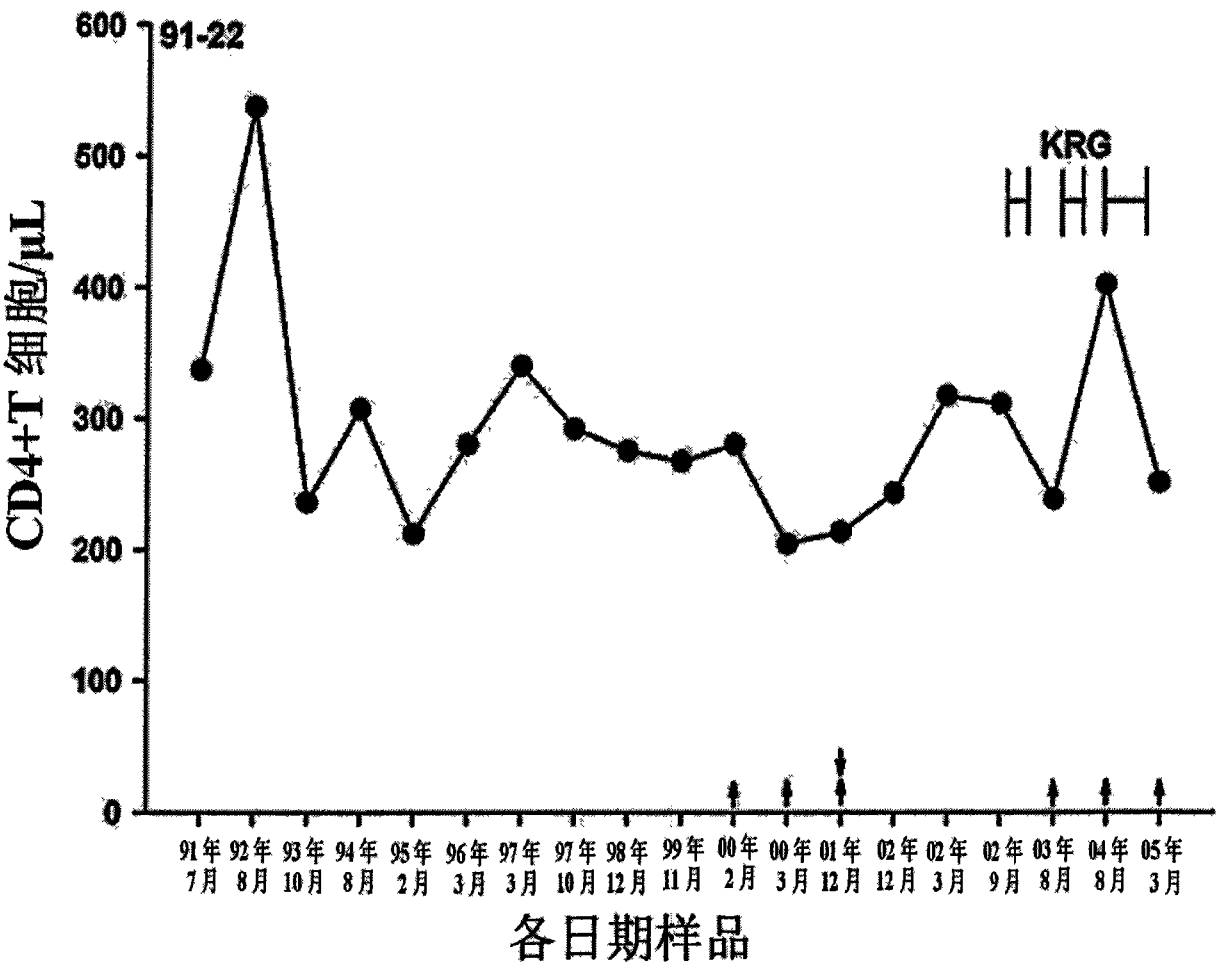


图 1n

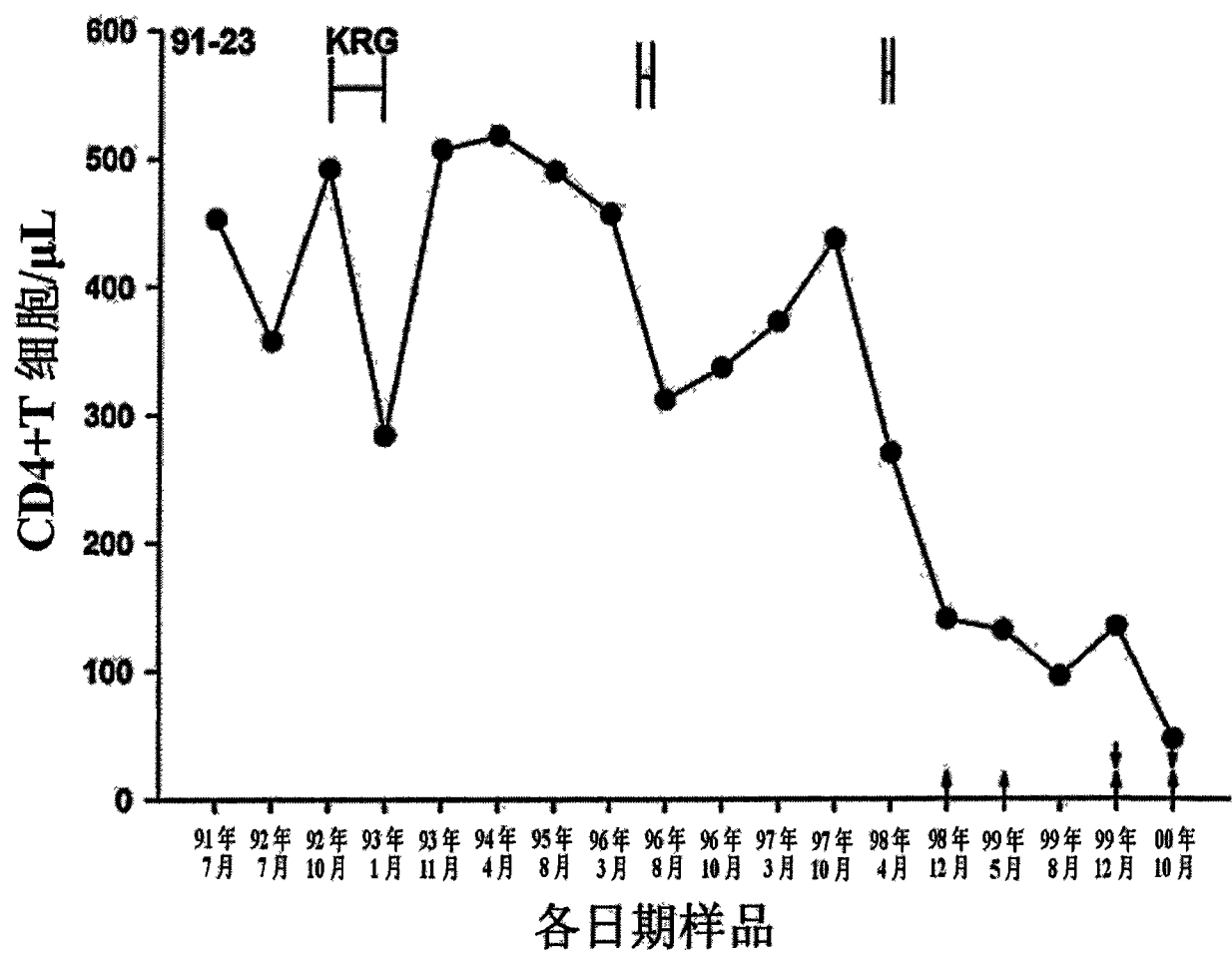


图 1o

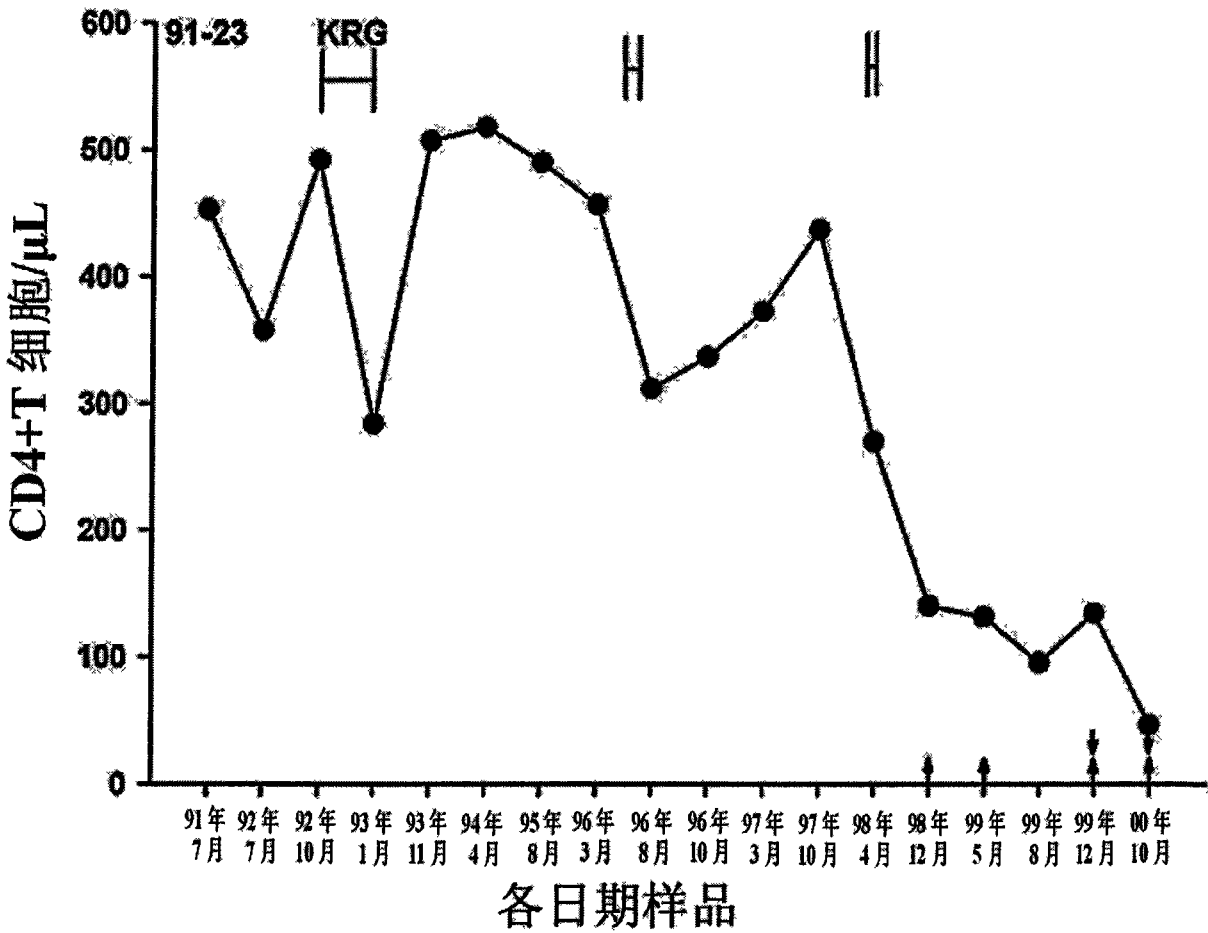


图 1p

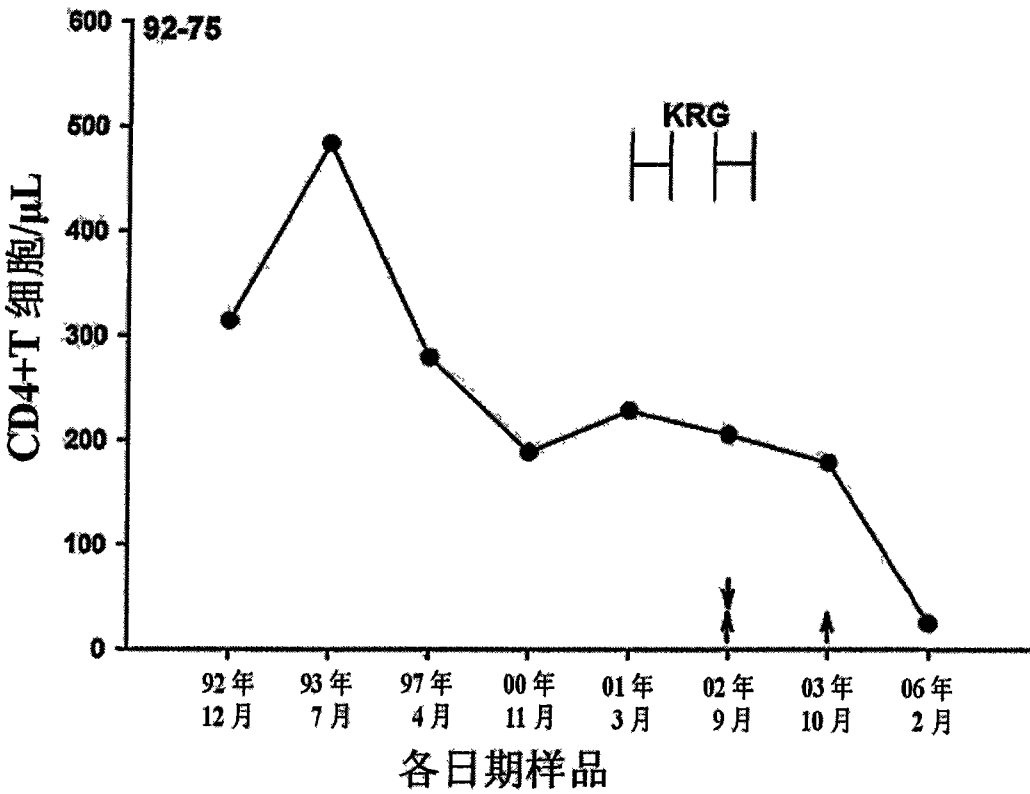


图 1q

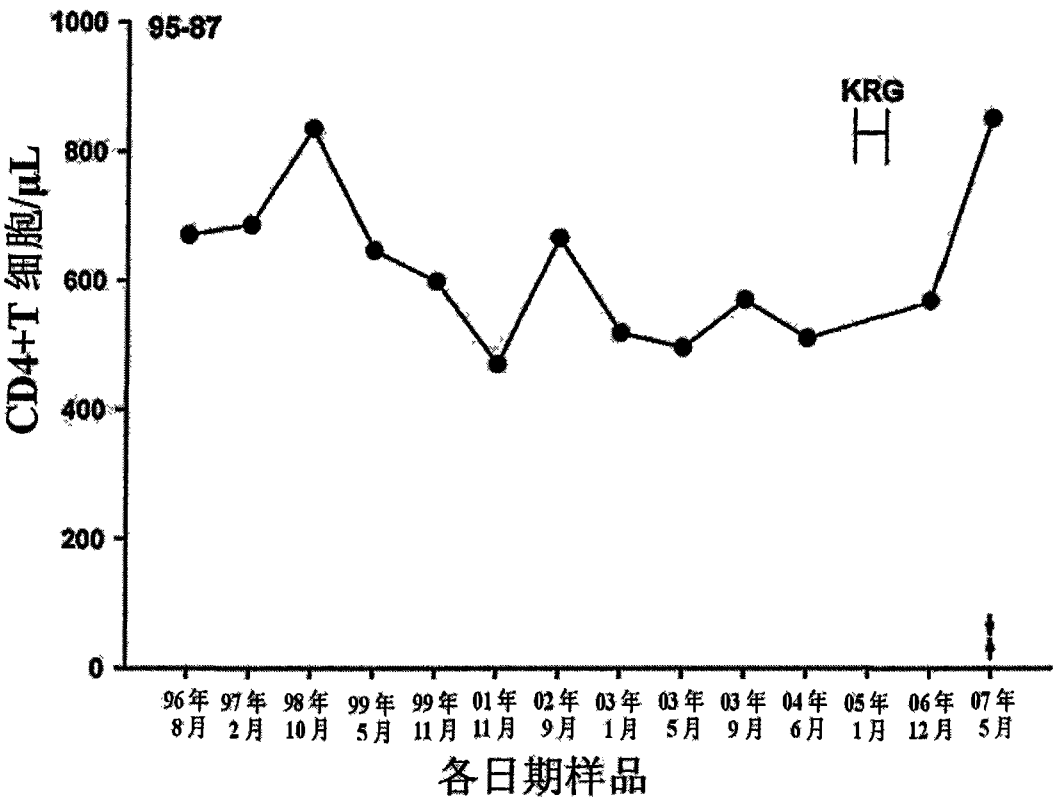


图 1r

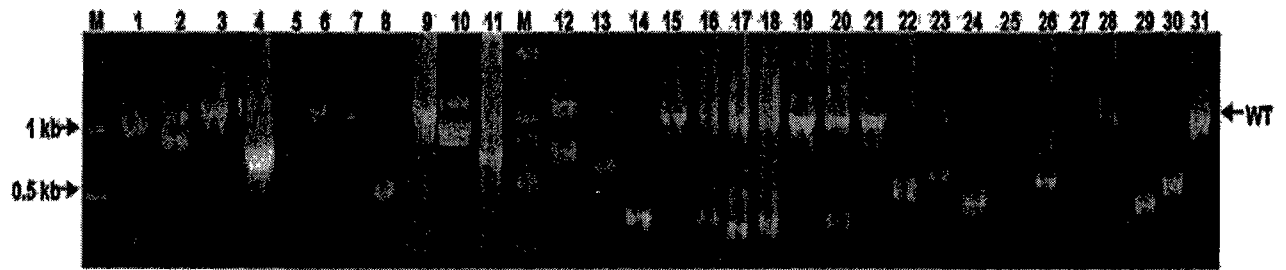


图 2

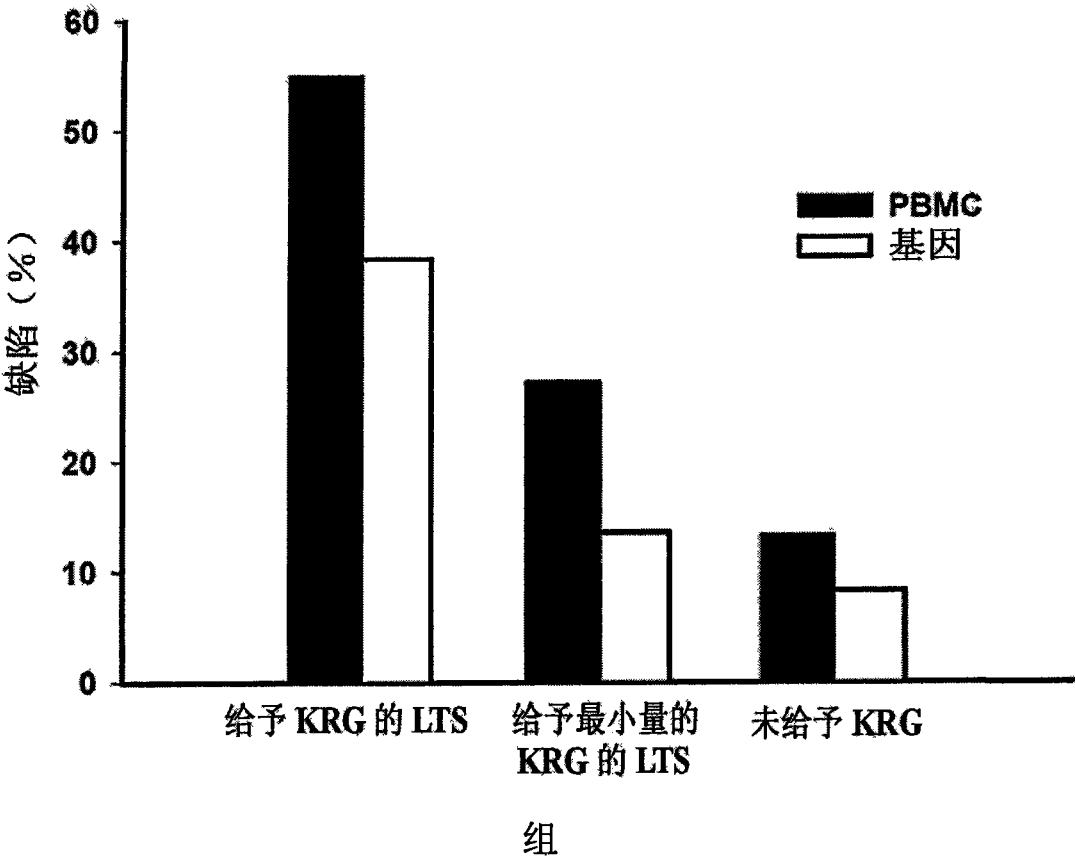


图 3

1	1	99
Gag HIV-1	MCARASVLSGGELDRWEKIRLRPGSKYFVLEKHTVWASRELERFVNPGLLETSGCRQILGQPSLQTCSSEELRSYNTVATLYCFQRLEVKDTKE	
10 个给予 KRG 的 LTS		
97CSR4	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.D.....	R.D.....
98CSR10	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.D.....	R.D.....
00CSR3	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
01CSR7	_____Q.....E.K.....L*.....KQ.....S.K.A.....K.H.AL.....R.N.....	R.N.....
03CSR3	_____Q.....E.K.....L*.....KQ.....S.K.A.....K.H.AL.....R.D.....	R.D.....
07CSR1	_____Q.....K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.D.....	R.D.....
98KJS7#	_____K.K.R.....K.R.....L.....G.....K.F.....G.IR.....	G.IR.....
93KJS7	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
96KJS10a	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
96KJS10b	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
00KJS3a	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
00KJS3b	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
01KJS7	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
04KJS8	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
93LSK10a	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
93LSK10b	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
95LSK5	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
01LSK5a	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
01LSK5b	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
02LSK3	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
06LSK1	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
93LSH6	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
94LSH8	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
99LSH1	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
02LSH4	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
03LSH1	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
01KJin7a	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
01KJin7b	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
02KJin12a	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....
02KJin12b	_____K.....L.....S.....A.....K.H.AL.....R.....	R.....

图 4a

1	1	P17	99
Gag HIV-1	10 个给予 KRG 的 LTS	10 个给予 KRG 的 LTS	
03KJin9a			
03KJin9b			
03KJin9c			L....
03KJin9d			
04KJin8			K.....V.....
06KJin1			
97JWK7			
00JWK12			
04JWK7			
06JWK12			
95CWS4			
01CWS2			L....
02CWS12a			
02CWS12b			
02CWS12c			
95KYR5a			IR....
95KYR5b			
95KYR11			K.F.....IR....
01KMH11			
02KMH9			
04KMH5a			
04KMH5b			
04KMH5c			
06KMH4			K.F.....G....R....
07KMH4			
01YJN9			
03YJN10a			R.E.....A.....K.F.T.V.....G.L....
03YJN10b			
03YJN10c			
03YJN10d			
06JYN1			

图 4b

1	P17	99
Gag HIV-1	MGARASVLSGGLDRWEKIRLRPGGKYYKIKHIVWASRELERFAVNPGLLETSGCQRQILGQLQPSLQTGSEELRSLINTVATLYCVHQRIEWDITKE	
8 个对照组 LTS		
96HSH7a	A.....A.....IK.....I.....	
96HSH7b	,IK.....I.....	
96HSH8		
95HYH8		
010SG6		
01HJY12		
99KGS12		
00KGS10	I...K..Q.....???????????????? 只在 LTR 中有缺失 ??????????????????	
02JIS9	L...K..I..R.....R..K..R.....A.....K..F..I..V.....I.....	
07KY4	28 个未给予 KRG 的患者	
05HPS5a	I...K..A.....K..R..L.....K..F.....IR....	
05HPS5b		
05LSgH5	,.....T.....A.....K..F.....K..I.....	
06LSang8	,.....K..F..A..V.....I.....	
06PHT1		
Gag HIV-1	MGARASVLSGGLDRWEKIRLRPGGKYYKIKHIVWASRELERFAVNPGLLETSGCQRQILGQLQPSLQTGSEELRSLINTVATLYCVHQRIEWDITKE	

图 4c

100	Gag HIV-1	→ P24	201
			10个给予 KRG 的 LTS
97CSR4	..E..A..HS...T...A.....L.....		
98CSR10	..E..VA...S...T...T.....L.....		
00CSR3	P.....		
01CSR7	..E..A...S...T...A.....L.....		
93KJS7w	..E.....T...G.....PL.....		
93KJS7	..E.....T...G.....PL.....		
96KJS10a	G...P.....L.....		
96KJS10b	PL.....		
00KJS3a	L.....PL.....		
00KJS3b	PL.....		
01KJS7	P...R.....PL.....		
04KJS8	R...I.....*		
93LSK10a	..E.....T...N.....R...I.....*		
93LSK10b	..E.....T...N.....R...I.....*		
95LSK5	..E.....T.....L.....		
01LSK5a	..E.....T.....L.....		
01LSK5b	..E.....T.....L.....		
02LSK3	T.....PL.....L.....		
06LSK1	L.....		
93LSH6	..E.....T...G.....L.....T.....		
94LSH8	..E...S...T...A.....L.....		
99LSH1	..E.....T...GA...R.....L.....		
02LSH4	L.....T.....		
03LSH1	T...GA...L.....T.....		
01KJin7a	T.....M.....		
01KJin7b	M.....		
02KJin12a	T.....M.....L.....		
02KJin12b	T.....M.....L.....		
03KJin9a	T.....M.....L.....		
03KJin9b	T.....M.....L.....		
03KJin9c	T.....M.....L.....		

图 4d

100	101	
Gag HIV-1	→ P24	201
10 个给予 KRG 的 LTS		
03KJin9d	, T, ...	
04KJin8	, M, ...	
06KJin1	, A, ...	
97JWK7	, A, ...	
00JWK12		
04JWK7		
06JWK12	, T, K.S., ...	
95CWS4	, T, ...	
01CWS2	, P, ...	
02CWS12a	, R, ...	
02CWS12b	, P, ...	
02CWS12c	, L, ...	
95KTR5a	, M, P, ...	
95KTR5b	, R.L., ...	
95KTR11	, H, ...	
01KMH11		
02KMH9	, L, ...	
04KMH5a	, L, ...	
04KMH5b		
04KMH5c		
06KMH4	, V, ...	
07KMH4	, PL, ...	
01YJN9	, PL, ...	
03YJN10a		
03YJN10b	, G, ...	
03YJN10c	, P, ...	
03YJN10d		
06YJN1	, ELS, ...	

图 4e

100	→ P24	201
Gag HIV-1	ALDKTIEEQNSKKKAAQQAQAADTGNSSQVNPVQNLCQMVHQAISPRILNANWKVVEEKAFSPETVPSALSEGATPDINTMLATVGGHQAAM	
8 个对照组 LTS		
96HSH7a	T.G.....L.....I.....	
96HSH7b	T.G.....L.....T.....	
96HSH8		
95HYH8		
010SG6	PL.....	
01HY12	R.....T.....PL.....	
99KGS12	R.....T.....	
02JIS9		
07KY4	A.....P.....L.....	
28 个未给予 KRG 的患者		
05HPS5a	G.....PL.....L.....T.....	
05HPS5b	R.....PL.....L.....T.....	
06LSang8	T.....N..H.....	
06PH11	T.....	
Gag HIV-1	ALDKTIEEQNSKKKAAQQAQAADTGNSSQVNPVQNLCQMVHQAISPRILNANWKVVEEKAFSPETVPSALSEGATPDINTMLATVGGHQAAM	

表 1、感染有 HIV-1 的 18 个 LTS 的临床学特征

患者编码 以及首字母	性别/诊断时 的年龄(岁)	诊断时间	感染预测时间	传播方式	供给的 KRG (g)	最近血浆 RNA (/ml)
摄取 KRG 的 10 个 LTS						
87-05 CSR	M/9	1987 年 5 月	1985 年之前	凝固因子 9	>13,968	26,900
89-17 KJS	M/21	1989 年 6 月	1988 年 6 月	两性爱	4,356	162,000
90-05 LSK	M/23	1990 年 1 月	1989 年 4 月	同性爱	>22,422	4,500
90-18 LSH	M/28	1990 年 4 月	1989 年	异性爱	12,822	116,000
90-50 KJln	M/20	1990 年 11 月	1989 年初	异性爱	>18,316	104,000
92-13 CWS	M/19	1992 年 2 月	1991 年 4 月	凝固因子 9	>18,520	3,765
91-20 JWK	M/30	1991 年 4 月	1989 年 10 月	异性爱	>13,736*	17,800
93-04 KYR	M/30	1993 年 1 月	1992 年 4 月	同性爱	>10,560	31,900
93-60 KMH	F/26	1993 年 9 月	1993 年 3 月	异性爱	>9,630	5,750
96-51 YIN	M/28	1996 年 3 月	1995 年 6 月 至 12 月	同性爱	>8,767	29,200
8 个对照组 LTS						
89-05 HSH	M/28	1989 年 4 月	1988 年末	同性爱	0	未测出
89-26 HYH	M/25	1989 年 10 月	1986 年至 1988 年	同性爱	690	11,000
90-01 OSG	M/27	1989 年 11 月	1989 年 9 月至 10 月	同性爱	3,126	97,800
91-22 HIY	M/8	1991 年 6 月	1989 年 11 月	输血	2,520	9,400
91-23 KGS	M/16	1991 年 6 月	1989 年 11 月	输血	1,860	366,197
92-23 KYY	M/20	1992 年 3 月	1991 年 3 月	同性爱	960	未测出
92-75 JIS	M/22	1992 年 12 月	1991 年	凝固因子 9	1,470	未测出
95-87 SSS	M/32	1995 年 10 月	1995 年	同性爱	864	44,000

图 5

表 2、18 个 LTS 以及 28 个非 KRG 给予患者的
5'LTR/gag 基因的大规模缺陷的特征

患者 编码	采样时间	PCR ^a 引 起的带数	在缺陷 ^b 中 的 PCR 反 应的次数	相对于 HIV-1 中的 NL4-3 的 开始部分	5'LTR 内的 缺陷大小 (bp)	gag 基因内 的缺陷大小 (bp)	GenBank 碱基序列
摄取 KRG 的 10 个 LTS							
87-05	97 年 4 月	2	1	588	202	78	EF370172
	98 年 10 月	1	1	643	147	265	EF370173
	00 年 3 月	2	1	无数据	无数据	无数据	2915s1
		1	1	487	296	427	EF370175
		2	3	466	294	缺失	EU047612
89-17	07 年 1 月	1	1	635	155	缺失	EF370184
	93 年 7 月	1	1	357	433	填充有	EF370186
		2	1			474bp 的 484	
				678 + 1,223	112	346 + 4	EF370187
	96 年 10 月	1	1	458	332	419	EF370188
90-05	00 年 3 月	2	1	449	341	366	EF370191
		2	1	636	154	578	EF370192
		1	1	374	349	缺失	EF370193
	01 年 7 月	2	1	1,102	缺失	86	EF370196
	93 年 10 月	1	1	610	163	缺失	EF370197
90-18	95 年 5 月	1	2	455	335	398	EF370199
	01 年 5 月	1	1	449	341	254	EF370201
		2	1	383	406	39	EF370200
		1	1	571	219	205	EF370202
	02 年 3 月	1	1	654	136	411	EF370205
90-18	06 年 1 月	5	2	607	185	100	EF370207
	93 年 6 月	1	1	711	78	77	EF370211
	94 年 8 月	2	1	654	135	538	EF370213
	00 年 3 月	2	1	671	118	459	EF370215
	02 年 4 月	2	1	493	297	205	EF370216
90-18	03 年 1 月	2	1				(继续)

图 6a

表 2、18 个 LTS 以及 28 个非 KRG 给予患者的 5'LTR/gag 基因的大规模缺陷的特征

患者 编码	采样时间	PCR ^a 引 起的带数	在缺陷 ^b 中 的 PCR 反 应的次数	相对于 HIV-1 中的 NL4-3 的 开始部分	5'LTR 内的 缺陷大小 (bp)	gag 基因内 的缺陷大小 (bp)	GenBank 碱基序列
摄取 KRG 的 10 个 LTS							
90-30	01 年 7 月	2	1	327	463	95	EF3702118
	02 年 6 月	2	1	461	328	365	EF370219
	02 年 12 月	2	1	无数据	无数据	无数据	2865s1
	03 年 9 月	2	1	589	200	527	EF370221
		2	2	559	231	269	EF370223
91-20	04 年 8 月 06 年 1 月 97 年 7 月 00 年 12 月 04 年 7 月	2	1	522	267	526	EF370224
		2	1	650	141	529	EF370225
		2	1	646	143	254	EF370226
		3	1	548	242	572	EF370227
		2	1	320	470	39	EF370228
92-13	04 年 8 月 06 年 1 月 97 年 7 月 00 年 12 月 04 年 7 月	2	1	858	缺失	420	EF370231
		1	1	362	429	476	EF370235
		1	1	602	188	608	EF370237
		2	2	684	105	503	EF370239
		2	1	554	236	294	EU047647
93-04	06 年 12 月 95 年 4 月 01 年 2 月 02 年 12 月	1	1	657	133	322	EF370245
		2	1	大约 <387	>402		EF370250
		1	1	751	39	604	EF370251
		1	1	634	156	529	EF370252
		1	1	563	227	529	EF370253
93-04	04 年 5 月 06 年 2 月 95 年 5 月	2	1	110	159	缺失	EF370256 ^a
		1	1	163	17	缺失	EF370259
		不足 2	1	650	139	572	EF370262
		2	1	615	175	251	EF370261
		2	1	645	144	29	EF370265
93-60	95 年 11 月 04 月 8 月 01 年 11 月 02 年 9 月 04 年 5 月	2	1	607	183	435	DQ295196
		2	1	666	124	538	EF370275
		1	1	558	232	394	EF370276
		2	2	578	213	470	EF370277-8
		2	1	321	470	507	EF370279
93-60	06 年 4 月 07 年 4 月	2	1	543	247	216	EF370282
		3	2	338	452	401	EU047673
							(继续)

图 6b

表 2、18 个 LTS 以及 28 个非 KRG 给予患者的 5'LTR/gag 基因的大规模缺陷的特征

患者 编码	采样时间	PCR ^a 引 起的带数	在缺陷 ^b 中 的 PCR 反 应的次数	相对于 HIV-1 中的 NL4-3 的 开始部分	5'LTR 内的 缺陷大小 (bp)	gag 基因内 的缺陷大小 (bp)	GenBank 碱基序列
96-51	01 年 9 月	2	1	669	121	520	EF370283
	03 年 10 月	2	1	753	37	480	EF370285
		2	1	349	442	114	EF370286
		2	1	696	94	530	EF370287
		2	1	无数据	~700	无数据	EF370288
06 年 1 月		2	1	660	130	412	EF370292
		2	1	558	233	393	2453s
		1	1				
最小量提取或未提取 KRG 的 8 个 LTS 对照组							
89-05	96 年 7 月	1	1	715	75	130	EF370302
89-26	96 年 8 月	1	1	330	440	206	EF370301
	95 年 8 月	1	1	742	47	539	EU047625
		1	1	342	447	451	EU047631
90-01	01 年 6 月	1	1	413	376	303	EU047632
	01 年 12 月	2	1	605	184	556	EU047638
91-22	99 年 12 月	1	1	654	136	411	EF370315
91-23	00 年 10 月	1	1	660	130	325	EU047657
92-23	07 年 4 月	1	1	426	364	缺失	EU047658
92-75	02 年 9 月	1	1	623	151	缺失	EU047665
95-87	07 年 5 月	2	1	579	211	302	EU047689
未提取 KRG 的 28 个患者	04HPS 05 年 5 月	1	2	634	136	412	3387s
	05LSang 06 年 8 月	1	1	427	363	302	EF370333
	04LSph 05 年 5 月	1	1	608	182	188	EF370340
	05PHT 06 年 1 月	1	1	640	150	101	EF370337
		1	1			307	EF370348

^a: 1 和 2 各自表示单独的单一短带 (single short band) (Δ5'LTR/gag) 以及具有 Δ5'LTR/gag 的野生型。
^b: 含有具有每个样品的 3 次以外的 PCR 反应的 ga 的 PCR 产物数。
^c: 在反方向填充 pol 基因 (4296-4037) 以及 gag 末端部分 (2029-1838) 的 474bp。
^d: HIV-1 NL4.3 内 1318 至 1422 的 105bp 的复制。

图 6c

表 3、5'LTR/gag 基因的大规模缺陷的频率以及其与 nef 基因的大规模缺陷的比较

患者 编码	5'LTR/gag 内的第一 gΔ	具有 gΔ 的样品 数/样品数 (%)	gΔ 的数量/得到的 序列的数量 (%)	gΔ 的数量/得到的 序列的数量 (%) ^a
摄取 KRG 的 10 个 LTS				
87-05	1997 年 4 月	4/12 (33)	7/36 (19)	0/27 (0)
89-17	1993 年 7 月	4/5 (80)	7/15 (47)	8/36 (22)
90-05	1993 年 10 月	5/8 (63)	8/18 (44)	15/88 (17)
90-18	1993 年 6 月	5/8 (56)	6/16 (38)	10/39 (26)
90-50	2001 年 7 月	6/7 (86)	11/16 (69)	12/49 (25)
91-20	1997 年 7 月	4/8 (50)	5/19 (26)	11/42 (26)
92-13	1995 年 4 月	5/11 (46)	7/20 (35)	7/39 (18)
93-04	1995 年 5 月	3/7 (38)	4/17 (24)	2/62 (3)
93-60	2001 年 11 月	5/9 (56)	9/17 (53)	17/45 (38)
96-51	2001 年 9 月	3/5 (60)	7/15 (47)	8/52 (15)
总计		44/80 (55.0) ^b	71/189 (37.6) ^c	80/479 (18.3) ^d
最小量摄取或未摄取 KRG 的 8 个 LTS 对照组				
89-05	1996 年 7 月	2/6 (33)	3/16 (19)	0/6 (0)
89-26	1995 年 8 月	1/8 (13)	2/20 (10)	1/13 (8)
90-01	2001 年 6 月	1/4 (25)	1/11 (9)	0/24 (0) ^d
91-22	2001 年 12 月	1/6 (17)	1/14 (7)	2/16 (20)
91-23	1999 年 12 月	2/4 (50)	2/10 (20)	3/10 (30)
92-23	2007 年 4 月	1/2 (50)	1/8 (13)	0/23 (0)
92-75	2002 年 9 月	1/2 (50)	1/5 (20)	2/17 (12)
95-87	2007 年 5 月	1/1 (100)	2/4 (50)	1/10 (10)
总计		10/33 (30.3) ^{b,d}	13/88 (14.8) ^c	9/113 (8.0) ^d
未摄取 KRG 的 28 个患者				
总计		4/30 (13.3) ^d	5/60 (8.3)	1/106 (0.9) ^d

a: 摄取 KRG 的 10 个 LTS 中的数据由 nef 基因内 Cho et al. (参见参考文献 9) gΔnef 大规模缺陷复制。
b: 相同栏内 2 个组间 P<0.05。
c: 相同栏内 2 个组间 P<0.001。
d: 相同栏内 2 个组间 P=0.067。

图 7