

外周血单个核细胞内人类免疫缺陷病毒DNA和RNA定量对病毒转录活性的区分

杜娟¹ 宋波² 颜晓明³ 牛佳鸣⁴ 林元龙⁵ 陈晓红² 李锦⁶ 梁晗⁷ 张铮⁸
李宇欧⁹ 王福祥⁵ 邵冰³

【摘要】目的 基于人类免疫缺陷病毒 I 型 (HIV-1) 感染者外周血单个核细胞 (PBMCs) 中 HIV-1 总 DNA 和 RNA 定量检测结果对感染细胞内病毒的转录活性进行区分。**方法** 采集 2017 年 10 月至 2018 年 12 月于哈尔滨医科大学附属第四医院感染科就诊的 HIV-1 感染者血液样本, 分离 PBMCs 细胞, 采用 PCR 荧光探针法对 PBMCs 细胞内 HIV-1 总 DNA 和 RNA 进行定量检测, 并计算两者比值 (Ratio)。根据 Ratio 值筛选出 HIV-1 转录活跃组样本和相对非活跃组样本, 另外选择健康人 PBMCs 样本作为对照组。对 3 组样本进行基因转录组表达谱检测以及人口特征差异性检验, 并对基因表达谱检测结果进行主成分分析以验证对 3 组样本病毒转录活性区分的准确性。**结果** 从 60 例感染 HIV-1 患者的 PBMCs 样本中筛选出 HIV-1 转录活跃组样本 (10 例) 和相对非活跃组样本 (11 例), 另外选择 6 例健康人 PBMCs 样本作为对照组。其中转录活跃组样本 Ratio 值为 165.2~738.93, 平均为 (339.27 ± 189.68); 相对非活跃组 Ratio 值为 4.67~42.39, 平均为 (17.65 ± 11.78)。转录活跃组和相对非活跃组样本间的 CD4⁺ T 细胞计数 ($P = 0.049$) 和 Ratio 值 ($P < 0.001$) 差异均具有统计学意义; 3 组样本年龄 ($P = 0.989$) 和性别 ($P = 0.650$) 分布差异无统计学意义。对 3 组样本的 PBMCs 基因表达谱主成分分析结果显示: 对照组与 HIV-1 感染者 (包括转录活跃组和相对非活跃组) 间区分明显。转录活跃组和相对非活跃组间有部分样本重合, 同时结果也显示当 HIV-1 感染者的 CD4⁺ T 淋巴细胞计数与健康人无显著差异时, 其细胞内的基因表达与健康人接近。**结论** 基于 HIV-1 总 DNA 和 RNA 定量检测结果及两者间比值可以较好地区分 PBMCs 内病毒转录活性。HIV-1 感染细胞内部病毒的不同转录激活状况可导致其基因表达谱的异质性。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒; 脱氧核糖核酸; 核糖核酸; 外周血单个核细胞; 基因表达谱; 转录激活

Quantitative results of human immunodeficiency virus total deoxyribonucleic acid and ribonucleic acid in peripheral blood mononuclear cells to distinguish the activity of viral transcription

Du Juan¹, Song Bo², Yan Xiaoming³, Niu Jiaming⁴, Lin Yuanlong⁵, Chen Xiaohong², Li Jin⁶, Liang Han⁷, Zhang Zheng⁸, Li Yuou⁹, Wang Fuxiang⁵, Shao Bing³. ¹School of Pharmacy, ³School of Public Health, ⁴Clinical College, Jilin Medical University, Jilin 132013, China; ²Department of Infectious Diseases, The Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, Harbin 150001, China; ⁵The Third Department of Infection, Shenzhen Third People's Hospital, Shenzhen 518112, China; ⁶Department of AIDS, Changchun

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2022.03.004

基金项目: 国家自然科学基金 (No. 81602899、81971915); 吉林省科技发展计划优秀青年人才基金项目 (No. 20180520107JH); 吉林省卫生健康青年科技骨干培养计划 (No. 2019Q034); 吉林省教育厅“十三五”科学技术项目 (No. JJKH20200464KJ); 吉林省大学生创新创业训练计划项目 (No. 201913706001)

作者单位: 132013 吉林市, 吉林医药学院药学院¹、公共卫生学院³、临床医学部⁴; 150001 哈尔滨市, 哈尔滨医科大学附属第四医院感染科²; 518112 深圳市, 深圳市第三人民医院感染三科⁵; 130123 长春市, 长春市传染病医院艾滋病科⁶; 132002 吉林市, 吉林市传染病医院感染科⁷; 361101 厦门市, 厦门市第五医院感染科⁸; 150030 哈尔滨市, 哈尔滨市第六医院感染科⁹

通信作者: 邵冰, Email: shaob14@163.com

Hospital Infectious Diseases, Changchun 130123, China; ⁷Department of Infectious Diseases, Jilin Hospital of Infectious Diseases, Jilin 132002, China; ⁸Department of Infectious Diseases, Xiamen Fifth Hospital, Xiamen 361101, China; ⁹Department of Infectious Diseases, Harbin Sixth Hospital, Harbin 150030, China
Corresponding author: Shao Bing, Email: shaob14@163.com

【Abstract】 Objective Based on the quantitative results of total deoxyribonucleic acid (DNA) and ribonucleic acid (RNA) of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) in peripheral blood mononuclear cells (PBMCs) of patients with HIV-1 infection, transcriptional activity of HIV was distinguished. **Methods** Blood samples and separate PBMCs from healthy persons and HIV-1 infectors were collected from October 2017 to December 2018 in the Department of Infectious Diseases, the Fourth Affiliated Hospital of Harbin Medical University, PCR fluorescent probe method was applied to detect quantitative total DNA and RNA of HIV-1 in PBMCs, and the ratio values between them were calculated. According to ratio values, HIV-1 active transcription group and relatively inactive group were screened. In addition, PBMCs samples from healthy people were selected as controls. Gene transcriptome expression profile detection and populational characteristics difference were performed among the three groups, and principal component analysis was performed on the gene expression profiles among the three groups to verify the accuracy of distinguishing intracellular viral transcriptional activity. **Results** The HIV-1 active group samples (10 cases) and the relatively inactive group samples (11 cases) were screened from PBMCs samples of 60 HIV-1 infectors, and the PBMCs samples from 6 healthy people were selected as control group. The ratio value in active transcription group was 165.2-738.93, the mean and standard deviation was (339.27 ± 189.68) . In relatively inactive group, the ratio value was 4.67-42.39, the mean and standard deviation was (17.65 ± 11.78) . There were statistically significant differences in $CD4^+$ T counts ($P = 0.049$) and ratio values ($P < 0.001$) between the active transcription group and the relatively inactive group; there were no significant differences in age ($P = 0.989$) and gender ($P = 0.650$) distribution among the three groups. The principal component analysis results of gene expression profiles of PBMCs samples from the three groups showed that there was a clear difference between healthy people and HIV-1 infectors (active transcription and relatively inactive groups), but some samples overlapped between the active transcription group and the relatively inactive group. When $CD4^+$ T lymphocyte count of HIV-1 infectors was the same as healthy people, the state of gene expression within infected cells is similar to that of healthy people. **Conclusions** The ratio value of quantitative detection results of total DNA and RNA of HIV-1 could better distinguish the intracellular viral transcriptional activity. Differently transcriptional activation status of virus in infected cells could lead to intracellular heterogeneity of gene expression profile.

【Key words】 Human immunodeficiency virus type 1; Deoxyribonucleic acid; Ribonucleic acid; Peripheral blood mononuclear cells; Gene expression profile; Transcription activation

人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 一旦进入人体便可以整合到人体细胞基因组中, 主要表现在静息T淋巴细胞中呈持续性转录非激活状态, 并在T淋巴细胞活化后被重新激活。使得病毒即使处于抗病毒治疗下 (anti-retroviral therapy, ART) 也能长期存在, 无法根治^[1-2]。在原发感染阶段早期, HIV-1在 $CD4^+$ T淋巴细胞内就已发生潜伏感染^[3]。由于潜伏感染的静息细胞不表达病毒相关蛋白, 因此可以逃避宿主免疫系统的识别和清除, 一旦ART治疗停止后, 病毒便可以反弹, 这也是获得性免疫缺陷综合征

(acquired immune deficiency syndrome, AIDS) 治愈的最大障碍^[4-5]。如果处于静息期细胞被激活, 使其产生HIV-1相关蛋白并释放病毒颗粒, 最终这些激活细胞会被病毒杀死或者被机体的免疫系统识别并清除, 再利用机体免疫系统或抗病毒治疗药物将这些病毒杀灭, 最终达到彻底清除病毒的目的^[6-7]。因此, 寻找能够准确评估HIV-1转录激活状况的生物学指标, 对潜伏感染细胞内的病毒转录激活进行早期评估和监测, 可为临床医生判定抗病毒治疗时机提供决策依据, 将有助于提升AIDS患者的抗病毒治疗效果^[8]。

资料与方法

一、研究对象

收集2017年10月至2018年12月于哈尔滨医科大学附属第四医院感染科确诊的HIV-1感染者,在其接受抗病毒药物治疗或免疫调节治疗前采集血液样本。对患者的基本信息进行登记,包括年龄、性别和合并感染等,另外于门诊就诊或咨询的部分健康人中采集血液样本作为对照组。采血前征得患者的知情同意,本研究已通过吉林医药学院医学伦理委员会的批准(审批号:2016-GKJJ011)。

二、研究方法

1. PBMCs内HIV-1总DNA和RNA的定量检测:采集感染者静脉血20 ml, 0.15% EDTA抗凝,采用密度梯度离心法提取外周血单个核淋巴细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs),并分装成4管于一80 °C保存备用。

提取PBMCs内HIV-1总DNA和RNA,采用实时荧光定量PCR方法应用人类免疫缺陷病毒I型(HIV-1)DNA和RNA定量检测试剂盒(PCR-荧光探针法)(广州海力特生物科技有限公司)定量检测感染细胞内HIV-1总DNA和RNA。根据同一份标本中,用两条标准曲线分别定量HIV-1 DNA和RNA(拷贝/ μ l)再除以有核细胞定量结果(个/ μ l),再乘 10^6 得出标本中每 10^6 个有核细胞中HIV-1总DNA和RNA的含量(拷贝/ 10^6 cells),方法见参考文献^[9]。

根据HIV-1总DNA和RNA定量检测结果计算两者比值(Ratio),即各样本中HIV-1 RNA拷贝数除以DNA拷贝数,为直观地显示比值的大小,再将各样本Ratio值乘以100。根据Ratio值,在所有样本中挑出Ratio值最大的样本作为HIV-1转录活跃组,Ratio值最小的样本作为转录相对非活跃组,入选患者需排除有其他感染及并发症。

2. HIV-1感染细胞基因表达谱的检测:从PBMCs样本抽提总RNA并经电泳质检合格后使用RNeasy mini试剂盒和RNase-Free DNase Set(QIAGEN, GmBH, Germany)纯化总RNA。样品总RNA经NanoDrop ND-2000(Thermo Scientific)定量并经Agilent Bioanalyzer 2100(Agilent Technologies)检测RNA完整性。RNA质检合格后,样本标记、芯片杂交以及洗脱参照基因表达谱芯片标准操作流程。首先,总RNA

反转录成双链cDNA,再进一步合成用Cyanine-3-CTP(Cy3)标记的cRNA。标记好的cRNA和芯片杂交,按照Agilent表达谱芯片配套提供的杂交标准流程和配套试剂盒在滚动杂交炉Hybridization Oven中65 °C, 10 r/min,滚动杂交17 h,并在洗缸中洗片,洗脱后利用Agilent Microarray Scanner(Agilent Technologies)扫描得到原始图像。

采用Feature Extraction软件(version10.7.1.1, Agilent Technologies)处理原始图像并提取原始数据。检测芯片采用Agilent Human lncRNA Microarray 2018(4*180 k, Design ID: 085630),检测的RNA类型包括信使RNA(messenger RNA, mRNA)、长链非编码RNA(long non-coding RNA, lncRNA)和环状RNA(circular DNA, circRNA)等。

三、分析方法与统计学处理

利用GeneSpring GX软件(version 14.9)对原始数据进行Quantile标准化。采用R软件对样本基因表达谱进行背景校正和标准化,按照在感染组至少5个样本的检出标准对探针进行初步筛选,之后每个基因减去对照组样本中对应基因表达量的平均值,即获得基因的logFC值。再挑选至少在5个样本中logFC > 0.585(即FC > 1.5倍)的探针。最终对筛选出的64 525个探针对应的基因转录本利用R软件平台进行主成分分析(principal component analysis, PCA)。

应用SPSS 26.0软件采用非参数检验法和Fisher's确切概率法对转录活跃组和相对非活跃组间的CD4⁺T淋巴细胞计数和Ratio值,以及转录活跃组、相对非活跃组和健康对照组3组间年龄和性别分布的差异性进行检验,以P < 0.05为差异具有统计学意义。

结 果

一、PBMCs内HIV-1总DNA和RNA定量及两者比值对病毒转录活性的区分

从60例感染HIV-1的PBMCs细胞样本中,共挑选出10例Ratio值最大的样本作为HIV-1转录活跃组,11例Ratio值最小的样本作为转录相对非活跃组,另外挑选6例健康人PBMCs样本作为对照组。

转录活跃组样本Ratio值:165.20~738.93,平均为(339.27 ± 189.68),CD4⁺T细胞计数:

3~608个/ μl ，平均为(289.50 \pm 171.87)个/ μl ；非活跃组Ratio值：4.67~42.39，平均为(17.65 \pm 11.78)，CD4⁺T细胞计数：205~1 136个/ μl ，平均为(488.27 \pm 259.23)个/ μl 。转录活跃组和相对非活跃组两组样本间的CD4⁺T细胞计数($P = 0.049$)和Ratio值($P < 0.001$)差异具有统计学意义。转录活跃组样本平均年龄为(29.10 \pm 4.84)岁，相对非活跃组样本平均年龄为(30.18 \pm 7.57)岁，对照组平均年龄为(29.00 \pm 5.22)岁，3组年龄差异无统计学意义($P = 0.989$)。转录活跃组和相对非活跃组中各有1例女性，3组样本中性别比例分布差异无统计学意义($P = 0.650$)。3组样本HIV-1总DNA和RNA定量检测结果，PBMCs内病毒转录活性的划分及感染者的基本信息见表1。

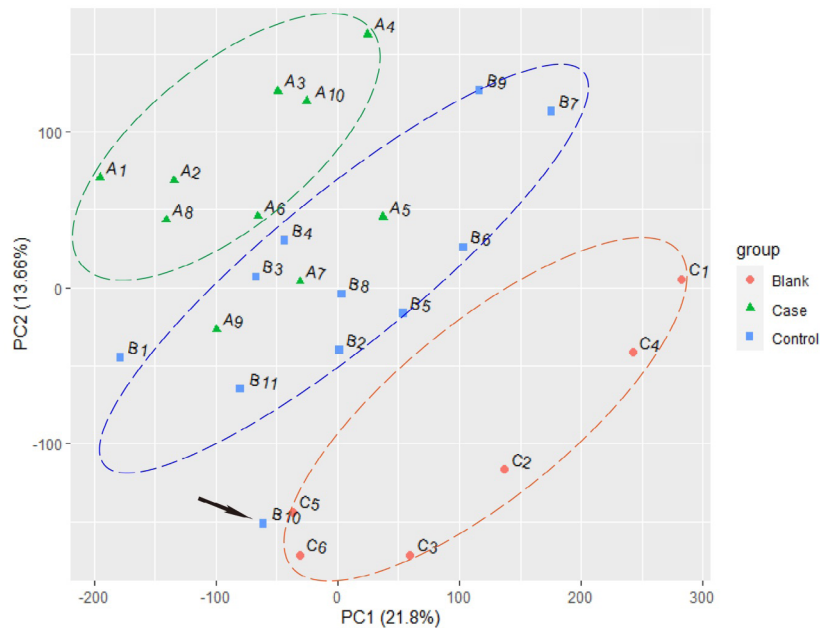
二、三组样本基因表达谱主成分分析

3组样本基因表达谱主成分分析(principal component analysis, PCA)见图1。健康对照组与HIV-1感染者(转录活跃组和相对非活跃组)间区分比较明显。转录活跃组和相对非活跃组间有部分样本存在交叉(样本A5、A7、A9)。进一步对样本A5、A7、A9分析发现，A5和A9为转录活跃组所有样本中Ratio值最小的样本(分别为165.20和184.92)。另外，PCA结果显示样本B10与对照组的距离最近(图1中黑色箭头所示)。分析发现B10样本的CD4⁺T淋巴细胞计数最高(1 136个/ μl)，与健康人无差异，这可能是其与健康对照组聚到一起的原因。这也提示当HIV-1感染者CD4⁺T淋巴细胞计数较大时，尤其是与健康人无差异时，其细胞

表1 PBMCs细胞内 HIV-1 总 DNA 和 RNA 定量及样本转录活性的划分

样本号	年龄	性别	DNA* (拷贝/ 10^6 cell)	RNA* (拷贝/ 10^6 cell)	CD4 ⁺ T细胞 (个/ μl)	Ratio值	分组
A1	38	男	1.18 $\times 10^3$	8.73 $\times 10^2$	608	738.83	活跃
A2	22	男	7.01 $\times 10^3$	1.41 $\times 10^3$	295	201.49	活跃
A3	30	男	8.41 $\times 10^3$	4.70 $\times 10^3$	94	559.40	活跃
A4	29	女	4.96 $\times 10^3$	2.16 $\times 10^3$	207	434.26	活跃
A5	27	男	1.05 $\times 10^3$	1.74 $\times 10^2$	463	165.20	活跃
A6	30	男	5.81 $\times 10^3$	1.05 $\times 10^3$	249	179.98	活跃
A7	28	男	3.29 $\times 10^3$	8.45 $\times 10^2$	353	256.59	活跃
A8	36	男	8.69 $\times 10^2$	2.70 $\times 10^2$	295	310.19	活跃
A9	25	男	8.12 $\times 10^2$	1.50 $\times 10^2$	328	184.92	活跃
A10	26	男	8.89 $\times 10^3$	3.22 $\times 10^3$	3	361.79	活跃
B1	47	男	5.48 $\times 10^2$	1.69 $\times 10^1$	350	30.83	相对非活跃
B2	38	男	3.96 $\times 10^2$	6.08 $\times 10^0$	612	15.35	相对非活跃
B3	25	男	6.61 $\times 10^2$	1.19 $\times 10^1$	371	18.00	相对非活跃
B4	22	男	1.80 $\times 10^2$	7.61 $\times 10^0$	278	42.39	相对非活跃
B5	36	男	6.42 $\times 10^2$	7.15 $\times 10^1$	648	11.14	相对非活跃
B6	31	男	3.98 $\times 10^3$	1.86 $\times 10^1$	579	4.67	相对非活跃
B7	23	男	4.55 $\times 10^3$	4.42 $\times 10^1$	323	9.70	相对非活跃
B8	29	男	6.38 $\times 10^3$	5.82 $\times 10^1$	205	9.12	相对非活跃
B9	27	男	1.99 $\times 10^3$	1.11 $\times 10^1$	354	5.56	相对非活跃
B10	24	男	6.11 $\times 10^3$	1.21 $\times 10^1$	1136	19.82	相对非活跃
B11	30	女	1.45 $\times 10^4$	4.00 $\times 10^2$	515	27.61	相对非活跃
C1	25	男	—	—	—	—	健康对照
C2	27	男	—	—	—	—	健康对照
C3	33	男	—	—	—	—	健康对照
C4	29	男	—	—	—	—	健康对照
C5	37	男	—	—	—	—	健康对照
C6	23	男	—	—	—	—	健康对照

注：* 科学计数法，保留小数点后2位。Ratio值：HIV-1 RNA拷贝数除以DNA拷贝数结果的比值再乘以100。“—”：未行相关检测



注: Blank: 对照组, Case: 活跃组, Control: 相对非活跃组

图1 各组样本基因表达谱的主成分分析

内基因表达与健康人接近。

基因表达谱PCA结果提示, HIV-1感染者和非感染者间以及病毒不同转录活性样本间基因表达谱存在差异;进一步证实了基于PBMCs内HIV-1总DNA和RNA的定量检测以及两者间定量比值可较好地区分感染细胞内部病毒的转录活性。

讨 论

HIV-1是一种逆转录病毒,一旦进入人体便可通过细胞表面受体进入细胞内部,病毒RNA模板逆转录成双链cDNA,并从细胞质进入细胞核中,从而整合到人体细胞基因组中^[10]。经转录后再经过多重剪切作用编码形成病毒的蛋白体成分,部分未剪切RNA则被组装进入病毒体内形成核心RNA^[11]。目前AIDS仍然无法测底治愈,由于HIV-1可整合到人体细胞基因组,形成潜伏感染,导致目前抗病毒药物无法有效清除细胞内病毒^[12]。寻找能够准确评估HIV-1转录活性的生物学指标,对潜伏感染细胞内病毒转录活性进行准确评估和监测,对提升AIDS患者的抗病毒疗效具有重要意义。

长期以来感染者PBMCs内HIV-1总DNA一直被视为病毒的存储库,近年来被用于评估AIDS患者的抗病毒疗效^[13-14]。对AIDS患者血浆中HIV-1 RNA

定量检测则反映患者体内病毒的复制水平,其与CD4⁺ T淋巴细胞计数作为临床中常用的抗病毒疗效的评价指标^[15-16]。而感染细胞内部HIV-1 RNA包括剪切和未经剪切的RNA都是由病毒整合到人体中的DNA转录而来^[17],由于HIV-1转录过程涉及到从整合的DNA转录成病毒相关RNA的过程,故评价感染细胞内病毒转录活性,同时考虑HIV-1 DNA和RNA定量结果应该更佳。本研究通过对HIV-1总DNA和RNA定量检测及两者比值对HIV-1感染细胞内病毒的转录活性进行相对区分。并通过对这些样本进行基因表达谱的检测和PCA分析,验证了基于PBMCs内HIV-1总DNA和RNA定量及两者比值可较好地区分出不同样本病毒的转录活性,这也提示了不同转录活性样本间基因表达谱存在差异。

PCA即主成分分析方法,是一种应用非常广泛的数据特征提取方法,主成分分析在高维度小样本的数据分析中表现得更加出色^[18],已被广泛应用于组学数据的分类降维^[19-22]。HIV-1感染人体后可引起感染细胞内基因表达谱改变,同时由于感染者年龄、性别以及其他并发感染等因素也可影响个体间基因表达谱差异。本研究在排除年龄、性别和其他合并感染等因素对感染者个体间基因表达谱差异的影响后,通过对样本基因表达谱进行PCA分析,显示HIV-1感染者与健康人间存在明显区别。HIV-1

感染人体后可引起机体免疫状态的改变,从而引起一系列免疫激活反应^[23],而免疫状态的改变需要启动相应的基因表达,这应是导致感染者与健康人基因表达存在明显区分的原因。另外,PCA分析也显示感染细胞样本中不同转录活性样本间也存在明显差异。HIV-1在感染细胞内从潜伏状态到转录激活状态需要启动多种细胞因子参与调控^[24],这同样需要启动多种相关基因的表达,已有研究显示HIV-1在感染细胞内转录复制的不同周期以及转录的不同活跃状态间,基因表达存在差异^[25-26],进一步印证了本次PCA分析结果。

样本B10按Ratio值应该属于转录相对非活跃组,但其PCA结果却与健康对照组接近,进一步分析发现,B10样本CD4⁺T细胞的计数值最大(1 136个/ μ l),与健康人无差异,提示当HIV-1感染者的CD4⁺T细胞计数较大时,其感染细胞内部基因表达与健康人接近。HIV-1转录活跃组和相对非活跃组样本间存在部分样本重叠。重叠样本A5、A9是转录活跃组中Ratio值最小的样本,样本A7也是转录活跃组中Ratio值较小的。转录活跃组中较低Ratio值样本的基因表达可能更靠近转录相对非活跃组中样本的基因表达,这可能是造成两组样本间存在部分交叉重叠的原因。另外,样本A1的CD4⁺T细胞计数为608个/ μ l,是转录活跃组患者中最高的,报道显示我国健康人外周血CD4⁺T淋巴细胞计数值约为(860.27 ± 255.15)个/ μ l^[27],本课题组前期研究发现CD4⁺T细胞计数与感染者PBMCs内HIV-1 RNA、以及与RNA与DNA定量比值间呈显著的负相关^[9]。患者CD4⁺T淋巴细胞计数高低可能与患者个体间差异有关。

本研究通过对感染HIV-1的PBMCs样本进行基因表达谱分析,验证了通过对HIV-1总DNA和RNA定量及两者间比值可较好地地区分出PBMCs内病毒转录活性。由于PBMCs分离在实验室内操作方便,易于实现,因此开展AIDS患者PBMCs内HIV-1 RNA和DNA定量检测以评估和监测病毒在细胞内早期激活状况,尤其是当患者抗病毒疗效不佳时,可能提示病毒早期耐药的产生,这对辅助临床抗病毒治疗具有一定参考价值。本研究还发现,当HIV-1感染者CD4⁺T淋巴细胞计数较高时,其细胞内基因表达与健康人接近。同时,本研究也揭示了不同转录活性样本间基因表达谱存在差异,这为今后进一步分析不同转录活性样本间基因差异表达情况,从

而为探究HIV-1转录激活过程的分子生物学机制奠定分析基础。

参 考 文 献

- [1] Le T, Farrar J, Shikuma C. Rebound of plasma viremia following cessation of antiretroviral therapy despite profoundly low levels of HIV reservoir: implications for eradication[J]. *AIDS*,2011,25(6):871-872.
- [2] 吴润东,刘光明,庞伟. HIV潜伏感染激活剂研究进展[J]. *中国药理学通报*,2014,30(1):1-6.
- [3] 焦艳梅,吴昊. HIV-1潜伏库研究进展[J]. *首都医科大学学报*,2009,30(5):639-642.
- [4] Chun TW, Fauci AS. HIV reservoirs: pathogenesis and obstacles to viral eradication and cure[J]. *AIDS*,2012,26(10):1261-1268.
- [5] Julg B, Barouch DH. HIV-1 latency by transition[J]. *Immunity*,2017,47(4):611-612.
- [6] 刘叔文,潘晓彦,赵伟. HIV治愈: 潜伏HIV的清除及其策略[J]. *遵义医学院学报*,2015,38(2):105-110.
- [7] 于佩霞,刘兆鹏,李荀. HIV病毒潜伏库的形成机制和对策挑战[J]. *生命的化学*,2021,41(1):97-105.
- [8] 方敏,邓梅花,梁飞立. HIV感染抗逆转录病毒治疗时机的研究进展[J/CD]. *中华实验和临床感染病杂志(电子版)*,2016,10(2):136-139.
- [9] 杜娟,颜晓明,牛佳鸣,等. HIV-1感染者CD4⁺T淋巴细胞数与外周血单个核细胞内病毒DNA和RNA定量检测结果的相关性[J]. *中国病毒病杂志*,2021,11(5):347-350.
- [10] 武佳伟,刘畅,梅庆步,等. HIV-1感染与细胞周期调控的相关研究进展[J]. *国际遗传学杂志*,2018,41(6):497-503.
- [11] Freed EO. HIV-1 assembly, release and maturation[J]. *Nat Rev Microbiol*,2015,13(8):484-96.
- [12] 康文,汪春付,孙永涛. 实现HIV功能性治愈的策略和挑战[J]. *传染病信息*,2014,27(6):328-332, 341.
- [13] Avettand-Fenoel V, Hocqueloux L, Ghosn J, et al. Total HIV-1 DNA, a marker of viral reservoir dynamics with clinical implications[J]. *Clin Microbiol Rev*,2016,29(4):859-80.
- [14] 陈霞,郑煜煌,加路,等. 艾滋病抗病毒治疗中外周血细胞病毒库的动态变化及其意义[J]. *中南大学学报(医学版)*,2013,(5):537-544.
- [15] 胡敏,朱碧帆,陆一涵,等. CD4⁺T淋巴细胞计数检测与HIV病毒载量检测在评价ART效果中的经济性比较及其影响因素[J]. *中国艾滋病性病*,2016,22(4):232-236.
- [16] 马媛媛,胡晓远,倪明健. 接受抗病毒治疗HIV/AIDS的CD4⁺T淋巴细胞计数与病毒载量相关性评价[J]. *疾病预防控制通报*,2019,34(6):18-20.
- [17] Pasternak AO, Lukashov VV, Berkhout B. Cell-associated HIV RNA: a dynamic biomarker of viral persistence[J]. *Retrovirology*,2013,10:41.
- [18] 赵准. 基于主成分分析的基因表达谱数据降维方法研究及可视化[D]. 2019: 哈尔滨工业大学.
- [19] 王成雄,饶妮妮,王玉. 用主成分分析探索基因表达模式[J]. *生物工程学报*,2007,24(4):736-741.
- [20] 杨文万,石鸥燕,张菊芳. 主成分分析在基因表达谱数据分析中的应用[J]. *包头医学院学报*,2005,21(4):435-436.
- [21] 阿基业,何骏,孙润彬. 代谢组学数据处理--主成分分析十个要点

- 问题[J]. 药学报,2018,53(6):929-937.
- [22] 王馨雨, 王蓉蓉, 王婷, 等. 不同品种百合内外鳞片游离氨基酸组成的主成分分析及聚类分析[J]. 食品科学,2020,41(12):211-220.
- [23] 吕婷霞, 李太生. HIV相关免疫激活及炎症发生机制研究进展[J]. 中国艾滋病性病,2019,25(6):643-647.
- [24] Mousseau G, Valente ST. Role of host factors on the regulation of tat-mediated HIV-1 transcription[J]. *Curr Pharm Des*,2017,23(28):4079-4090.
- [25] Trypsteen W, Mohammadi P, Van Hecke C, et al. Differential expression of lncRNAs during the HIV replication cycle: an underestimated layer in the HIV-host interplay[J]. *Sci Rep*,2016,6:36111.
- [26] Nair M, Sagar V, Pilakka-Kanthikeel S. Gene-expression reversal of lncRNAs and associated mRNAs expression in active vs latent HIV infection[J]. *Sci Rep*,2016,6:34862.
- [27] 宁铁林, 朱效科, 郑敏娜. 天津地区健康人外周血CD4, CD8淋巴细胞正常参考值研究[J]. 中国慢性病预防与控制,2007,15(5):432-434.

(收稿日期: 2021-09-18)

(本文编辑: 孙荣华)

杜娟, 宋波, 颜晓明, 等. 外周血单个核细胞内人类免疫缺陷病毒DNA和RNA定量对病毒转录活性的区分[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2022,16(3):165-171.