

## 匹伐他汀联合用药体外抗 HIV-1 活性研究<sup>\*</sup>

杨金轩<sup>1</sup>, 罗荣华<sup>2</sup>, 陈 欢<sup>1</sup>, 郑永唐<sup>2△</sup>

(1. 云南中医药大学中药学院, 云南 昆明 650500;

2. 中国科学院昆明动物研究所, 中国科学院动物模型与人类疾病机理重点实验室, 云南 昆明 650223)

**摘要:** **目的** 研究他汀类药物体外抗人类免疫缺陷病毒 1 型(human immunodeficiency virus type 1, HIV-1)活性并评价匹伐他汀与其它抗 HIV 药物联合使用时的抗病毒活性。**方法** 采用噻唑蓝(MTT)比色法测定他汀类药物对 C8166 细胞的毒性作用;合胞体计数检测他汀类药物对实验株 HIV-1<sub>IIIb</sub> 诱导 C8166 细胞病变的抑制作用;酶联免疫吸附测定法(ELISA)测定 HIV-1 p24 抗原检测他汀类药物对实验株 HIV-1<sub>IIIb</sub> 急性感染 C8166 细胞中病毒复制的抑制作用以及匹伐他汀与其它抗 HIV 药物联合用药的联合效应。**结果** 他汀类药物中匹伐他汀具有显著体外抗 HIV-1 活性,匹伐他汀与核苷类逆转录酶抑制剂(替诺福韦、恩曲他滨、拉米夫定、齐多夫定)和蛋白酶抑制剂(茚地那韦和达芦那韦)联合用药时,药物间呈现协同作用;与非核苷类逆转录酶抑制剂(依曲韦林)联合用药时,药物间呈现拮抗作用;与整合酶链转移抑制剂(雷特格韦和度鲁特韦)联合用药时,药物间呈现相加作用。**结论** 匹伐他汀除与依曲韦林联合时药物间呈现拮抗作用外,与其它抗 HIV 药物联用均呈现相加或协同作用。

**关键词:** 他汀;匹伐他汀;抗 HIV-1 活性;联合用药

中图分类号: R965.1

文献标志码: A

文章编号: 1000-2723(2021)06-0015-06

DOI: 10.19288/j.cnki.issn.1000-2723.2021.06.003

## The Combined Anti-HIV-1 Effects of Pitavastatin and Antiviral Drugs *in vitro*

YANG Jinxuan<sup>1</sup>, LUO Ronghua<sup>2</sup>, CHEN Huan<sup>1</sup>, ZHENG Yongtang<sup>2</sup>

(1. College of Traditional Chinese Medicine, Yunnan University of Chinese Medicine, Kunming 650500, China;

2. Key Laboratory of Animal Models and Human Disease Mechanisms of the Chinese Academy of Sciences, Kunming Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Kunming 650223, China)

**ABSTRACT:** **Objective** To investigate the *in vitro* anti-HIV-1 activity of statins and to evaluate the antiviral of pitavastatin in combination with other anti-HIV drugs. **Methods** The cytotoxicity of statins on C8166 cells was determined using the MTT assay. The inhibitory effect of statins on HIV-1<sub>IIIb</sub>-induced cytopathic effect was measured by counting the number of syncytia. The inhibitory effect of statins on the viral replication in C8166 cells acutely infected with laboratory-adapted strains HIV-1<sub>IIIb</sub> was detected by ELISA. The combination of pitavastatin and anti-HIV drugs with the different targets was measured by ELISA. **Results** Among statins, pivaastatin has significant anti-HIV-1 activity *in vitro*. The combination of pivaastatin with nucleoside reverse transcriptase inhibitors (tenofovir, emtricitabine, lamivudine and zidovudine) and protease inhibitors (indinavir and darunavir) showed synergistic effect. The combination of pivaastatin with non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor (etravirine) showed antagonism effect. The combination of pivaastatin with integrase strand transfer inhibitors (raltegravir and dolutegravir) showed additive effect. **Conclusion** Pitavastatin showed synergistic or additive effects when combined with other anti-HIV drugs, except for antagonism when combined with etravirine.

**KEY WORDS:** statins; pivaastatin; anti-HIV-1 activity; drug combination

收稿日期: 2021-12-06

<sup>\*</sup> 基金项目: 国家自然科学基金(82060670);云南省重大科技专项计划(202103AC100005)

第一作者简介: 杨金轩(1995-),女,在读硕士研究生,研究方向:抗 HIV 药物药理药效。

△通信作者: 郑永唐, E-mail: zhengyt@mail.kiz.ac.cn

他汀类药物是羟甲戊二酰辅酶 A 还原酶竞争性抑制剂,自美国 FDA 于 1987 年批准洛伐他汀上市以来,先后出现了辛伐他汀、氟伐他汀、瑞舒伐他汀、普伐他汀及阿托伐他汀等(化学结构式见图 1),其具有抗氧化、抗炎、调节一氧化氮合成、改善内皮功能等多种药理作用,主要用于心血管疾病的治疗<sup>[1-2]</sup>。

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)主要攻击宿主的 CD4<sup>+</sup>T 细胞,引起细胞耗竭、免疫缺陷,最后出现威胁生命的机会性感染。当前治疗艾滋病最为有效的方法仍然是联合抗逆转录病毒疗法(combined antiretroviral therapy, cART),可以将病毒载量控制在检测限水平以下、恢复和稳定 CD4<sup>+</sup>T 细胞的数量、降低炎症及免疫激活标志物水平,但有研究显示 HIV 感染者经 cART 治疗后产生的相关代谢疾病会使心血管疾病风险增加<sup>[3-6]</sup>。HIV 相关的

动脉粥样硬化性心血管疾病涉及的机制是复杂的,不仅与血脂异常、胰岛素抵抗及高血压等传统因素相关,也和 HIV 感染产生的慢性炎症及免疫激活与抑制有关<sup>[7-9]</sup>。

随着“发现即治疗”策略的出现,使艾滋病从致死性疾病转变为可以治疗但难以治愈的慢性疾病,延长了患者的存活期,HIV 感染者老龄化和长期 cART 治疗也势必增加心血管疾病的患病率。他汀类药物具有广泛的抗炎和免疫调节作用,这对 HIV 感染人群是十分有益的。目前他汀类药物如何调节 HIV 患者免疫功能的机制尚未完全阐明,有研究显示他汀类药物可能具有抗 HIV 活性<sup>[10]</sup>。本研究想探寻他汀类药物的抗 HIV 活性机制并在体外评价匹伐他汀与其它抗 HIV 药物联合用药时的联合抗病毒效应,旨在寻求适宜的联合用药方案。

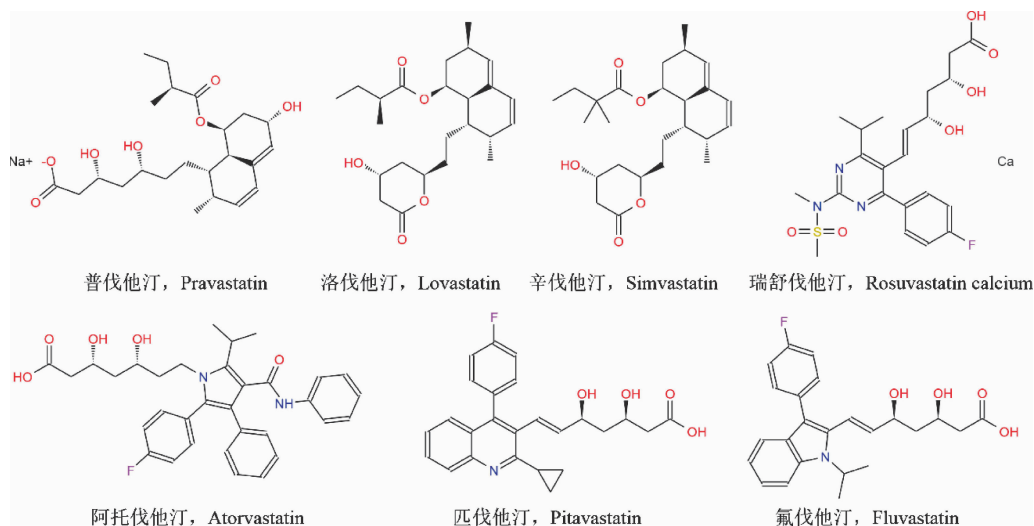


图 1 他汀类药物的化学结构式

## 1 材料与方法

1.1 试剂 噻唑蓝(3, (4,5-dimethylthiazol-2-yl, 噻唑蓝)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide, MTT)、氯化钠、氯化钾、磷酸二氢钾、磷酸氢二钠、Triton X-100、青霉素、Tween 20 和抗 IgG Fc 抗体(Sigma 公司产品);辣根过氧化物酶(HRP)标记羊抗兔 IgG 抗体(KPL 公司);十二烷基硫酸钠(Sodium dodecyl sulfate, SDS)(BioFR0XX 公司);二甲基亚砜(Dimethyl sulfoxide, DMSO)(VWR Life Science AMRESCO 公司);硫酸链霉素(Solarbio 公司);N,N-二甲基甲酰胺 DMF(N,N-dimethylformamine, DMF)(成都市科隆化学品有限公司);30%过氧化氢(西陇科学股份有限公

司);RPMI-1640 和胎牛血清(Fetal bovine serum, FBS)(Gibco 公司);脱脂奶粉(内蒙古伊利实业集团股份有限公司);抗 HIV p24 单克隆抗体和兔抗 HIV-1 p24 多克隆抗体(本实验室)。

1.2 仪器 离心机(Allegra X-30, Beckman), 二级生物安全柜(1287, Thermo), CO<sub>2</sub> 细胞培养箱(3111, Thermo), 2~8 °C 冰箱(HYC-360, Haier), -20 °C 冰箱(BCD-196E/D, Haier), -80 °C 冰箱(386L, -86 °C, Thermo), 酶标仪(800TS, Biotek), 倒置显微镜(TS-100F, Nikon)。

1.3 待测化合物及阳性对照药物 依曲韦林(E-travirine, ETR)(山东大学刘新泳教授馈赠);雷特格

韦(Raltegravir, RAL)(默沙东制药有限公司);拉米夫定(Lamivudine, 3TC)、齐多夫定(Zidovudine, AZT)、茚地那韦(Indinavir, IDV)和达芦那韦(Darunavir, DRV)(大连美仑生物技术有限公司);恩曲他滨(Emtricitabine, FTC)(北京中研医药科技开发有限公司);替诺福韦(Tenofovir, TDF)(黄石福尔泰医药科技有限公司);普伐他汀钠(Pravastatin sodium)、洛伐他汀(Lovastatin)、辛伐他汀(Simvastatin)、瑞舒伐他汀(Rosuvastatin)、阿托伐他汀(Atorvastatin)、匹伐他汀(Pitavastatin)和度鲁特韦(Dolutegravir, DTG)(Macklin 公司)。

**1.4 细胞与病毒** 人 T 淋巴细胞 C8166 细胞系、实验株 HIV-1<sub>IIIb</sub> 由 NIH AIDS Reagent Program 惠赠。根据常规方法培养制备 HIV-1 病毒并进行感染性滴度测定,将病毒小量分装, -80℃ 保存。C8166 细胞培养于含 10% FBS 的 RPMI-1640 培养基,实验前 1 天进行传代使细胞处于对数生长期。

**1.5 他汀类药物对 C8166 细胞的毒性实验** 96 孔板内将药物进行 5 倍梯度稀释,共设置 6 个药物浓度,每个药物浓度设 3 个复孔(100 μL/孔),同时设置无药物的阴性对照孔(NC)和空白对照孔(BC)。除 BC 孔外,每孔加入 100 μL 的细胞悬液。在 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养 3 d,采用 MTT 法测定化合物对不同细胞的毒性。800TS 酶标仪在 570/630 nm 波长下测定 OD 值,计算半数细胞毒性浓度(The 50% cytotoxicity concentration, CC<sub>50</sub>)。

**1.6 他汀类药物对 HIV-1<sub>IIIb</sub> 致 C8166 细胞病变的抑制作用** 96 孔板内将药物进行 5 倍梯度稀释,共设置 6 个药物浓度,每个药物浓度设 3 个复孔(100 μL/孔)。每孔加 50 μL C8166 细胞悬液与 50 μL HIV-1<sub>IIIb</sub> 病毒稀释液(1300 TCID<sub>50</sub>),同时设置含 C8166 细胞与病毒的阳性对照孔(PC),置于 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱内培养。第 3 天在倒置显微镜下(100×)观察合胞体的形成并计数,计算半数有效浓度(The 50% effective concentration, EC<sub>50</sub>)<sup>[11]</sup>。

**1.7 他汀类药物对 HIV-1<sub>IIIb</sub> 急性感染 C8166 细胞中病毒复制的抑制作用** 将 C8166 细胞悬液与 HIV-1<sub>IIIb</sub> 病毒液(2000 TCID<sub>50</sub>)混匀,置 37℃ 感染 4 h 后加入适量 1×PBS 缓冲液离心洗涤以便去除游离的病毒,用培养基重悬细胞备用。

96 孔板内将药物进行 5 倍梯度稀释,共设置 6

个药物浓度,每个药物浓度设 3 个复孔(100 μL/孔),同时设置无药物的阳性对照孔(PC)和空白对照孔(BC)。除 BC 孔外,每孔加入 100 μL 上述细胞,轻轻振荡混匀,37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。第 3 天收集细胞培养上清,用终浓度为 5% Triton X-100 裂解灭活。采用 ELISA 测定 HIV-1 p24 蛋白检测药物对 HIV-1 复制的抑制作用,计算 EC<sub>50</sub><sup>[12-13]</sup>。

**1.8 匹伐他汀与 ETR 等 9 个药联合用药对 HIV-1<sub>IIIb</sub> 急性感染 C8166 细胞中病毒复制的抑制作用** 96 孔板内,按匹伐他汀、ETR、FTC、AZT、3TC、TDF、DTG、RAL、IDV 和 DRV 单药对急性感染 C8166 细胞中抑制 HIV-1<sub>IIIb</sub> 复制的 EC<sub>50</sub> 值,设置 8×EC<sub>50</sub>、4×EC<sub>50</sub>、2×EC<sub>50</sub>、EC<sub>50</sub>、0.5×EC<sub>50</sub>、0.25×EC<sub>50</sub>、0.125×EC<sub>50</sub>、0.0625×EC<sub>50</sub> 共 8 个药物梯度,分别设置单药组和联合用药组。将 C8166 细胞悬液与 HIV-1<sub>IIIb</sub>(2000 TCID<sub>50</sub>)混匀,在 37℃ 下感染 4 h, 1×PBS 缓冲液洗涤 2 次以便去除游离的病毒,用培养基重悬细胞备用。

取上述 100 μL 细胞接种到含有 100 μL 不同浓度梯度稀释化合物的 96 孔板上,置 37℃, 5% CO<sub>2</sub> 培养箱培养。第 3 天收集培养上清,用终浓度为 5% Triton X-100 裂解灭活。ELISA 测定 HIV-1 p24 蛋白检测药物对 HIV-1 复制的抑制作用,计算 EC<sub>50</sub>。用 CompuSyn 软件计算联合指数(combination index, CI)和剂量降低系数(dose reduction index, DRI)<sup>[14-15]</sup>。

## 2 结果

**2.1 他汀类药物对 C8166 细胞的毒性** 本研究采用 MTT 法检测了他汀类药物对 C8166 细胞的毒性,发现普伐他汀、瑞舒伐他汀、辛伐他汀、洛伐他汀对 C8166 细胞无毒性作用,CC<sub>50</sub>>200 μmol·L<sup>-1</sup>;匹伐他汀和阿托伐他汀对 C8166 细胞有一定的毒性作用,CC<sub>50</sub> 分别为 105.67±1.68、99.49±2.08 μmol·L<sup>-1</sup>(图 2, 表 1)。

**2.2 他汀类药物的体外抗 HIV-1 活性** 采用合胞体计数和 ELISA 检测 p24 抗原的方法评估了他汀类药物的体外抗 HIV-1 活性。研究发现普伐他汀、瑞舒伐他汀、阿托伐他汀、辛伐他汀、洛伐他汀的治疗指数未超过 10, 无抗 HIV 活性。匹伐他汀经 2 种方法检测均有一定的抗病毒效应,EC<sub>50</sub> 分别为 5.12±1.44、9.88±4.55 μmol·L<sup>-1</sup>,因此,我们选择匹伐他汀进行进一步研究(表 1)。

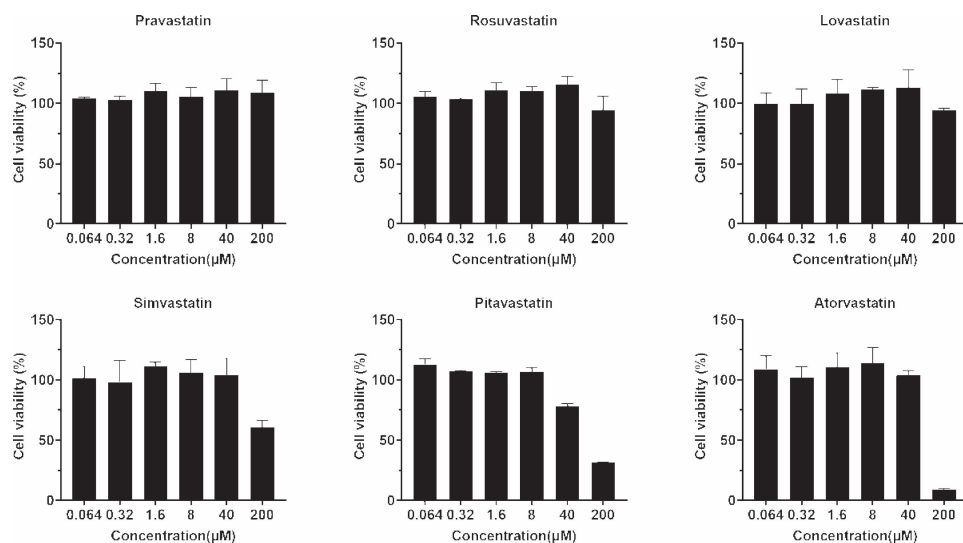


图 2 他汀类药物对 C8166 细胞的毒性作用

表 1 他汀类药物体外抗 HIV-1 活性( $\bar{x} \pm s, n=2$ )

| 药物           | CC <sub>50</sub><br>( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) | EC <sub>50</sub> ( $\mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) |             | TI        |          |
|--------------|-------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------|-------------|-----------|----------|
|              |                                                             | syncytium                                                | p24         | syncytium | p24      |
| Pravastatin  | >200                                                        | >200                                                     | >200        | inactive  | inactive |
| Rosuvastatin | >200                                                        | 105.56±32.61                                             | 92.31±17.81 | >1.89     | >2.16    |
| Pitavastatin | 105.67±1.68                                                 | 5.12±1.44                                                | 9.88±4.55   | 20.63     | 10.69    |
| Atorvastatin | 99.49±2.08                                                  | 21.33±2.42                                               | 18.66±1.47  | 4.66      | 5.33     |
| Simvastatin  | >200                                                        | 12.51±2.14                                               | 92.49±9.22  | >15.98    | >2.16    |
| Lovastatin   | >200                                                        | 59.05±0.04                                               | 92.77±8.68  | >3.38     | >2.16    |

注:CC<sub>50</sub>,半数细胞毒性浓度;EC<sub>50</sub>,半数有效浓度;TI,治疗指数。

2.3 匹伐他汀与其它抗HIV药物的联合用药 HIV与心血管疾病风险增加有关,心血管病严重影响患者的生存质量和预期寿命,可能需服用他汀类药物的治疗。我们发现匹伐他汀除了降血脂外,还有一定的抗 HIV-1 活性,因此,进一步研究匹伐他汀与其它抗 HIV 药物联合的抗病毒效应。采用周氏中效模型原理设计联合用药的实验方案 and 数据处理<sup>[16-18]</sup>,主要评价参数为 CI 值和 DRI 值。当 CI 值>1.1 时,药物间呈现拮抗作用;0.9≤CI 值≤1.1 时,药物间呈现相加作用;CI 值<0.9,药物间呈现协同作用<sup>[19]</sup>。DRI 值是指达到同一效应时药物联用的剂量比药物单用剂量降低的倍数。DRI 值越大,则表明药物联合时剂量降低得越多,可降低药物毒副作用的发生和减缓耐药病毒株的出现。

结果如表 2 所示,匹伐他汀与核苷类逆转录酶抑制剂(nucleoside reverse transcriptase inhibitors,NR-TIs)TDF、FTC、3TC、AZT 联合用药时的联合指数分别

为  $0.56 \pm 0.14$ 、 $0.67 \pm 0.15$ 、 $0.69 \pm 0.11$ 、 $0.80 \pm 0.12$ ,药物间呈现协同作用;匹伐他汀与蛋白酶抑制剂(protease inhibitor,PI)IDV 和 DRV 联合用药时联合指数分别为  $0.76 \pm 0.17$ 、 $0.58 \pm 0.15$ ,药物间呈现协同作用;匹伐他汀与非核苷类逆转录酶抑制剂(non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors,NNRTIs)ETR 联合用药时的联合指数为  $1.18 \pm 0.05$ ,药物间呈现拮抗作用;匹伐他汀与整合酶链转移抑制剂(Integrase strand transfer inhibitors,INSTIs)RAL 和 DTG 联合用药时的联合指数分别为  $1.03 \pm 0.04$ 、 $1.03 \pm 0.02$ ,药物间呈现相加作用。匹伐他汀与其他抗 HIV 药物联用时,每组单药的 DRI 值均>1,两药联用时剂量比药物单用剂量降低 1.10~14.50 倍。

### 3 讨论

HIV 相关的血脂异常和 HIV 感染者的心血管疾病通常使用他汀类药物作为初始治疗,然而他汀类药物与 PIs、可比西他、依法韦仑会存在药物相互作用,

表 2 匹伐他汀与不同抗 HIV 药物联合用药( $\bar{x} \pm s, n=2$ )

| 药物               | 单药           | DRI 值            |                  |                  |                  | CI 值      | 联合效果 |
|------------------|--------------|------------------|------------------|------------------|------------------|-----------|------|
|                  |              | ED <sub>50</sub> | ED <sub>75</sub> | ED <sub>90</sub> | ED <sub>95</sub> |           |      |
| Pitavastatin+TDF | Pitavastatin | 2.99±0.91        | 3.34±0.58        | 3.78±0.15        | 4.12±0.22        | 0.56±0.14 | 协同   |
|                  | TDF          | 2.32±1.04        | 3.10±1.32        | 4.14±1.66        | 5.04±1.94        |           |      |
| Pitavastatin+FTC | Pitavastatin | 9.43±7.07        | 9.87±3.54        | 11.44±1.16       | 13.45±5.49       | 0.67±0.15 | 协同   |
|                  | FTC          | 1.57±0.37        | 1.69±0.44        | 1.83±0.51        | 1.93±0.56        |           |      |
| Pitavastatin+3TC | Pitavastatin | 5.14±0.52        | 5.77±1.94        | 7.09±5.07        | 8.52±7.80        | 0.69±0.11 | 协同   |
|                  | 3TC          | 1.56±0.04        | 1.79±0.05        | 2.06±0.07        | 2.26±0.08        |           |      |
| Pitavastatin+AZT | Pitavastatin | 14.34±12.99      | 8.05±3.93        | 5.19±0.29        | 4.21±1.80        | 0.80±0.12 | 协同   |
|                  | AZT          | 1.12±0.17        | 1.43±0.30        | 1.82±0.48        | 2.15±0.64        |           |      |
| Pitavastatin+IDV | Pitavastatin | 2.68±0.20        | 4.09±0.17        | 6.26±0.97        | 8.40±1.95        | 0.76±0.17 | 协同   |
|                  | IDV          | 1.37±0.29        | 1.60±0.39        | 1.87±0.51        | 2.07±0.61        |           |      |
| Pitavastatin+DRV | Pitavastatin | 5.75±0.63        | 5.56±1.18        | 5.41±1.69        | 5.33±2.02        | 0.58±0.15 | 协同   |
|                  | DRV          | 2.88±0.31        | 2.74±0.20        | 2.65±0.66        | 2.62±0.96        |           |      |
| Pitavastatin+ETR | Pitavastatin | 3.18±0.08        | 3.89±0.28        | 4.77±0.56        | 5.47±0.81        | 1.18±0.05 | 拮抗   |
|                  | ETR          | 1.04±0.11        | 1.04±0.03        | 1.04±0.04        | 1.05±0.09        |           |      |
| Pitavastatin+RAL | Pitavastatin | 4.05±2.14        | 3.27±1.00        | 2.72±0.18        | 2.45±0.25        | 1.03±0.04 | 相加   |
|                  | RAL          | 1.52±0.56        | 1.51±0.29        | 1.53±0.00        | 1.56±0.20        |           |      |
| Pitavastatin+DTG | Pitavastatin | 2.05±0.41        | 2.11±0.63        | 2.19±0.87        | 2.24±1.04        | 1.03±0.02 | 相加   |
|                  | DTG          | 1.60±0.23        | 1.57±0.13        | 1.55±0.03        | 1.54±0.04        |           |      |

注:CI 值,联合用药指数;DRI 值,剂量降低指数。

并且药物剂量的高低也会影响治疗效果,在某种程度上限制了临床应用<sup>[20-21]</sup>。HIV 相关的心血管疾病日益受到关注,他汀类药物具有诸多优势且显现出越来越多“老药新用”的功效,如预防淋巴瘤的形成、增强生物或放化疗制剂的效果、降低阿尔兹海默症风险、降低心衰患者的癌症风险及相关死亡率等<sup>[22-24]</sup>,需根据药物间相互作用调整剂量选择合适的用药方案充分利用他汀类药物。

Elahi 等<sup>[25]</sup>研究发现阿托伐他汀通过甲戊二羟酸途径上调 p21,从而抑制 HIV-1 的复制。本文对几种他汀类药物初步筛选之后发现只有匹伐他汀在体外具有抗 HIV-1 活性作用,但相关的作用机制研究目前尚未完全阐明,有待进一步研究。阿托伐他汀无体外抗病毒活性,与先前报道的结果不一致,可能是由于所选用的细胞系、HIV-1 病毒株以及检测方法不同所导致的。

此外,我们进一步评估了匹伐他汀与其他类抗 HIV 药物联合时所呈现的药物间相互作用是协同、相加或拮抗。本研究中匹伐他汀是一种羟甲戊二酰辅酶 A 还原酶抑制剂,与其它抗 HIV 药物作用机制不同,

同时鉴于药物联合模型应用的简便高效性,采用周氏中效模型原理设计联合用药方案并用相关软件进行数据处理。当前的 cART 治疗是由 2 种 NRTIs+1 种 NNRTI 或 PI 或 INSTI 组成<sup>[26]</sup>,本研究对临床治疗中常用的 9 种抗艾滋病药物与匹伐他汀进行联合抗 HIV-1 药效分析,研究结果显示匹伐他汀除了与 NNRTI-ETR 联用呈现拮抗作用外,与 NRTIs、INSTIs、PIs 均呈现相加或协同作用。目前他汀类药物与抗逆转录病毒药物相互作用研究中关于匹伐他汀的支持证据有限,本研究为临床治疗方案的选择提供了一定的参考价值。

参考文献:

[1] 李涛. 他汀类药物临床多效性研究进展[J]. 临床合理用药杂志, 2021, 14(23): 179-181.

[2] CHEN L W, LIN C S, TSAI M C, et al. Pitavastatin exerts potent anti-inflammatory and immunomodulatory effects via the suppression of AP-1 signal transduction in human T cells[J]. Int J Mol Sci, 2019, 20(14): 3534.

[3] BAEKKEN M, OS I, SANDVIK L, et al. Hypertension in an urban HIV-positive population compared with the

- general population: influence of combination antiretroviral therapy[J]. *J Hypertens*, 2008, 26(11): 2126–2133.
- [4] ECKARD A R, MEISSNER E G, SINGH I, et al. Cardiovascular disease, statins, and HIV[J]. *J Infect Dis*, 2016, 214 Suppl 2(Suppl 2): S83–S92.
- [5] 王凌航, 赵红心, 毛羽. 艾滋病高效抗反转录病毒治疗并发高脂血症的研究进展[J]. *中国艾滋病性病*, 2010, 16(3): 319–322.
- [6] DAD STUDY GROUP, FRIIS-MØLLER N, REISS P, et al. Class of antiretroviral drugs and the risk of myocardial infarction[J]. *N Engl J Med*, 2007, 356(17): 1723–1735.
- [7] RETHY L, FEINSTEIN M J, SINHA A, et al. Coronary microvascular dysfunction in HIV: a review[J]. *J Am Heart Assoc*, 2020, 9(1): e014018.
- [8] BOCCARA F, LANG S, MEULEMAN C, et al. HIV and coronary heart disease: time for a better understanding[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2013, 61(5): 511–523.
- [9] CHELVANAMBI S, GUPTA S K, CHEN X, et al. HIV–Nef protein transfer to endothelial cells requires Rac1 activation and leads to endothelial dysfunction implications for statin treatment in HIV patients[J]. *Circ Res*, 2019, 125(9): 805–820.
- [10] LIU B F, ZHANG X, ZHANG W Y, et al. Lovastatin inhibits HIV–1-induced MHC–I downregulation by targeting Nef–AP–1 complex formation: a new strategy to boost immune eradication of HIV–1 infected cells[J]. *Front Immunol*, 2019, 10: 2151.
- [11] PRIYA DHARSHINI K, FANG H, RAMYA DEVI D, et al. pH-sensitive chitosan nanoparticles loaded with dolutegravir as milk and food admixture for paediatric anti-HIV therapy[J]. *Carbohydr Polym*, 2021, 256: 117440.
- [12] CHEN H, ZHANG R, LUO R H, et al. Anti-HIV activities and mechanism of 12-*O*-tricosanoylphorbol-20-acetate, a novel phorbol ester from *Ostodes katharinae* [J]. *Molecules*, 2017, 22(9): 1498.
- [13] LIU G J, WANG J P, XIAO J C, et al. Preparation and characterization of three monoclonal antibodies against HIV–1 p24 capsid protein[J]. *Cell Mol Immunol*, 2007, 4(3): 203–208.
- [14] WANG R R, YANG Q H, LUO R H, et al. Azvudine, a novel nucleoside reverse transcriptase inhibitor showed good drug combination features and better inhibition on drug-resistant strains than lamivudine *in vitro* [J]. *PLoS One*, 2014, 9(8): e105617.
- [15] 郑玉贵. CCR5 拮抗剂 DC521042 和 DC521043 体外抗 HIV–1 药效学研究[D]. 昆明: 昆明医科大学, 2019.
- [16] CHOU T C. Theoretical basis, experimental design, and computerized simulation of synergism and antagonism in drug combination studies[J]. *Pharmacol Rev*, 2006, 58(3): 621–681.
- [17] 王士群, 朱宇珍, 郑学宝. Chou–Talalay 在抗肿瘤联合用药中的研究应用概况[J]. *中国现代应用药学*, 2013, 30(4): 449–453.
- [18] JILEK B L, ZARR M, SAMPAH M E, et al. A quantitative basis for antiretroviral therapy for HIV–1 infection[J]. *Nat Med*, 2012, 18(3): 446–451.
- [19] HUANG X S, LUO R H, HU X L, et al. The new NNRTI ACC007 combined with lamivudine and tenofovir disoproxil fumarate show synergy anti-HIV activity *in vitro* [J]. *Curr HIV Res*, 2020, 18(5): 332–341.
- [20] ROSENSEN R S, COLANTONIO L D, BURKHOLDER G A, et al. Trends in utilization of statin therapy and contraindicated statin use in HIV–infected adults treated with antiretroviral therapy from 2007 through 2015[J]. *J Am Heart Assoc*, 2018, 7(24): e010345.
- [21] BOCCARA F, KUMAR P N, CARAMELLI B, et al. Evolocumab in HIV–infected patients with dyslipidemia: primary results of the randomized, double-blind BEIJER-INCK study[J]. *J Am Coll Cardiol*, 2020, 75(20): 2570–2584.
- [22] SMYTH L, BLUNT D N, GATOV E, et al. Statin and cyclooxygenase–2 inhibitors improve survival in newly diagnosed diffuse large B–cell lymphoma: a large population-based study of 4913 subjects[J]. *Br J Haematol*, 2020, 191(3): 396–404.
- [23] REN Q W, YU S Y, TENG T K, et al. Statin associated lower cancer risk and related mortality in patients with heart failure[J]. *Eur Heart J*, 2021, 42(32): 3049–3059.
- [24] ZISSIMOPOULOS J M, BARTHOLD D, BRINTON R D, et al. Sex and race differences in the association between statin use and the incidence of alzheimer disease[J]. *JAMA Neurol*, 2017, 74(2): 225–232.
- [25] ELAHI S, WEISS R H, MERANI S. Atorvastatin restricts HIV replication in CD4<sup>+</sup> T cells by upregulation of p21 [J]. *AIDS*, 2016, 30(2): 171–183.
- [26] NAMASIVAYAM V, VANANGAMUDI M, KRAMER V G, et al. The journey of HIV–1 non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs) from lab to clinic[J]. *J Med Chem*, 2019, 62(10): 4851–4883.