

홍삼복용후 무증상 HIV감염자의 림프아세포들의 변화

¹국립보건원 면역결핍연구실, ²고려대학교 생물학과 대학원

최병선^{1,2} · 박용근² · 기미경¹ · 조옥현^{1,2} · 이용우¹ · 신영오¹

=Abstract=

Change of Lymphocyte Subsets of HIV-Infected Asymptomatic Persons Administrated with Korean Red Ginseng

Byeong-Sun Choi^{1,2}, Yong-Keun Park², Mee-Kyung Kee¹, Ok-Hyun Cho,^{1,2}
Yong-Woo Lee¹ and Yung-Oh Shin¹

¹Center for AIDS Research, National Institute of Health, Seoul 122-020, ²Dept. of Biology, the Graduate School, Korea University, Seoul 136-701, Korea

For 16 years after the finding of HIV as an agent of AIDS in 1981, HIV therapeutic drugs of reverse transcriptase inhibitors (AZT, ddI, ddC, d4T) and protease inhibitors have been developed. Recent studies also were focused on a combination therapy by using HIV therapeutic drugs or natural compounds. Korean red ginseng (KRG) of natural compounds has been well known as a good reinforcement agent in Asia. The percentage of CD3+CD4+ T cell in nine HIV-infected patients without KRG treatment averaged 17.8% on baseline and decreased 15.8% after 6 months, whereas the percentage of the cell in fifteen HIV-infected patients with KRG treatment averaged 15.3% on baseline and increased up to 18.9% after the same period. The average percentage of CD3+CD8+ T cell of KRG-nontreated and KRG-treated HIV patients increased after 6 months 47.8% to 50.7% and 44.7% to 51.4%, respectively; and the average percentage of B and NK cell in the KRG-nontreated and KRG-treated HIV patients decreased 9.4% to 7.9% and 13.0% to 9.7%, 8.9% to 8.5% and 16.2% to 11.6%, respectively. KRG, therefore, didn't have any effects on the CD3+CD8+ T cell, B cell, and NK cell. However, it seems that KRG has a potential activity for stimulating the CD3+CD4+ T cell and some inhibition on destroying of this cell with no significance.

Key Words: HIV, CD3+CD4+ T cell, B cell, NK cell, Korean red ginseng (KRG)

서 론

AIDS (acquired immunodeficiency syndrome)는 HIV (human immunodeficiency virus)에 의해 유발되는 질병으로서 AIDS 유발 원인 HIV가 80년대 초 발견된 이래로 17년이상 많은 연구를 거듭하고 있으나 아직까지 완치제를 개발하지 못하고 있는 상황이다. 많은 국가들은 HIV를 제거하기

위하여 효과적인 AIDS 치료제 및 항HIV 물질 개발에 박차를 가하고 있으며 많은 연구성과를 얻었다. 항HIV 치료제 개발의 두가지 주류는 HIV에 대한 효과적인 중화항체 부위를 발견하는 방법과 HIV의 유전물질인 RNA를 DNA로 전환시키는 역전사과정을 차단하는 방법이다. 최근연구에 의하면 HIV에 대한 효과적인 중화항체부위는 당단백질이면서 5부위의 V (variable) region과 C (constant) region [1,2]으로 구성된 gp120의 V3

region [3,4]으로 밝혀졌으며 이밖에도 gp120의 V1, V2 region [5,6], gp41 protein [7], p17 protein [8,9,10]등에 대한 단일항체도 중화작용을 나타내는 것으로 밝혀졌다. HIV의 생활사중 역전사 과정을 차단하여 HIV의 증식을 억제하는 대표적인 항HIV물질은 1987년에 Wellcome사에 의하여 개발된 AZT (azidothymidine) 으로서 AZT투여후 16주내에는 AIDS로의 진전을 감소시키는 효과가 있으나 [11,12] 장기복용시 골수기능파괴, 복통, 메스꺼움 등의 부작용이 나타난다고 보고하고 있다 [13,14]. 또한 AZT의 장기복용시 내성을 갖는 HIV 균주의 출현 [15,16]으로 AZT의 항바이러스작용은 효과를 거두지 못하게 된다. 이러한 AZT의 결점을 보완하고자 ddI (dideoxyinosine), ddC (dideoxycytidine), d4T (stavudine) 등이 개발되어 복합제로서 사용되고 있다 [17,18,19,20]. 이밖에 1996년에 들어와 protease inhibitors [21]가 새로운 AIDS치료제로서 개발되어 각광을 받으면서 AZT, ddI, ddC, d4T와의 복합치료방법이 사용되고 있다.

이와같이 최근의 AIDS치료제와 치료방법의 개발은 단독치료보다는 복합치료제 사용이며, 개발된 AZT, ddI, protease inhibitors 등의 복합치료뿐만아니라 각종면역증강제의 병합복용에도 관심을 갖고 연구하고 있다. 특히, 과거부터 우리나라에서 전통적으로 많이 사용되어 온 한국인삼은 면역증강제로 널리 알려져 있으며 양질의 6년근만을 사용하여 특수하게 제조된 홍삼은 면역증강능력이 탁월한 것으로 알려지고 있다. 그러므로 본 연구를 통하여 홍삼이 HIV감염자들의 T 림프세포, B 림프세포, NK 세포 등의 림프아세포에 미치는 영향들을 분석하고 홍삼의 면역증강작용을 규명하여 AIDS치료제 개발에 효과적인 자료를 제공하고저 한다.

재료 및 방법

1. 연구 대상

본연구실에서 효소면역측정법 (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA), 입자응집법 (particle agglutination, PA) 및 Western blot에 의한 HIV 항체검사에서 양성으로 확정보고된 국내 HIV 감염자중 건강한 무증상 HIV감염자 30명을 연구대상으로 하였다. 이들 중 18명은 홍삼을 하루에 5.4 gram (18 capsules/day)씩 복용하였으며 나머지

12명은 대조군으로 사용되었다. 최종분석시 연구대상군은 홍삼 비복용자 및 2회이상 혈액학적 및 면역학적 검사를 받지 못한 HIV 감염자 6명을 제외한 24명 (홍삼복용군 15명, 홍삼비복용군 9명)이었다.

2. 연구 방법

1) 혈액검사

항 응고제인 tripotassium ethylenediamine tetra acetic acid (K3EDTA)를 처리한 진공 시험관에 채혈된 HIV 감염자의 말초혈액을 각각 100 μ l를 취하여 자동혈액 측정기인 Coulter Counter T660 (Coulter Electronics, Inc., Hialeah, FL)로 총 백혈구수, 총 백혈구수내의 림프세포 백분율 및 총 림프세포 절대수를 측정하였다.

2) 면역검사

각 검체마다 6개의 시험관을 준비하여 A, B, C, D, E, F라고 표시한후 A 시험관에 simultest CD45/CD14, B시험관에 simultest IgG1/IgG2, C시험관에 simultest CD3/CD4, D시험관에 simultest CD3/CD8, E시험관에 simultest CD3/CD19, F시험관에 simultest CD3/CD16+56 reagent를 20 μ l씩 넣고 항 응고제인 EDTA를 처리한 진공 시험관에 채혈된 HIV감염자의 말초혈액 100 μ l를 각각 첨가하여 림프세포들을 이중 면역 형광으로 염색한뒤 상온상태로 암실에서 30분간 반응시켰다. 반응 후 적혈구를 제거하기위해 2 ml의 적혈구 용혈용액을 첨가한 후 교반기로 잘 섞어 상온상태로 암실에다 10분간 방치하였다. 반응 후 300 x g 로 5분 동안 원심분리하여 50 μ l만 남기고 상층액을 제거한후 잔여분의 적혈구를 제거하기 위해 PBS 용액을 2 ml 첨가하여 200 x g로 원심분리하였다. 원심분리 후 다시 50 μ l만 남기고 상층액을 제거한 후 1% paraformaldehyde를 0.5 ml 첨가하여 이중 면역형광으로 염색된 림프세포들을 고정시켜 유색세포분석기인 FACStar (Beckton Dickinson, San Jose, CA)로 분석하였다. 각 검체마다 simultest CD45/CD14 reagent를 사용하여 림프세포부위만 선택하여 분석하였으며 (Fig. 1), simultest IgG1/IgG2 reagent를 사용하여 비특이반응이 일어난 것들을 제거하였다. 또한, 각각의 검체마다 10,000개의 림프세포를 측정하여 Consort 30 software를 사용하여 contour graph 상으로 CD3+CD4+ T 림프세포 백분율, CD3+CD8+ T 세포 백분율, B (CD19+)세포 백분율과 NK

(CD16+56+)세포 백분율을 구하였다 (Fig. 2).

3. 홍삼시료 및 투여방법

홍삼시료는 한국인삼연초연구원에서 제조한 6년근 인삼 분말 300 mg/capsule을 사용하였다. 홍삼투여대상자는 1일 6 capsule씩 3회 (5.4 g/1일)

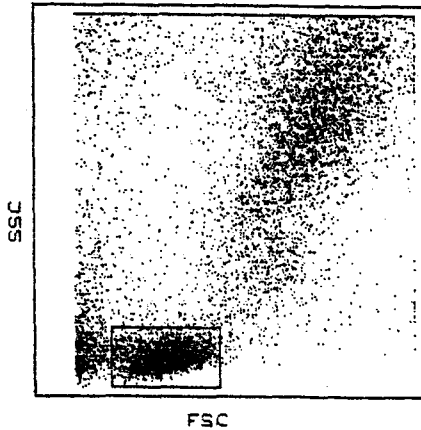


Fig. 1. Lymphocyte gating of a HIV-infected person on the FSC vs. SSC dot plot by using FACStar.

에 걸쳐 복용하였다.

4. 통계분석

모든 측정자료는 dBASE III+에 저장한 다음 SAS (statistical analysis system)를 사용하여 분석하였다.

홍삼복용 HIV감염자군과 홍삼비복용 HIV감염자군간의 비교는 student-t test를 사용하여 유의수준 0.05이하로 검증하였다.

림프구 아세포들은 개체변이에 의한 영향을 최소화하기 위하여 각각 median 값을 측정하여 비교분석 하였으며, 백혈구수와 림프세포 백분율에 의해 영향을 받지 않는 인자인 림프아세포 백분율을 선택하여 비교분석하였다.

결과 및 성적

1. 홍삼투여후 림프아세포들의 변화

Table 1과같이 홍삼복용 6개월후 HIV감염자의 경우 CD3+CD4+ T 림프세포 백분율은 15.3%

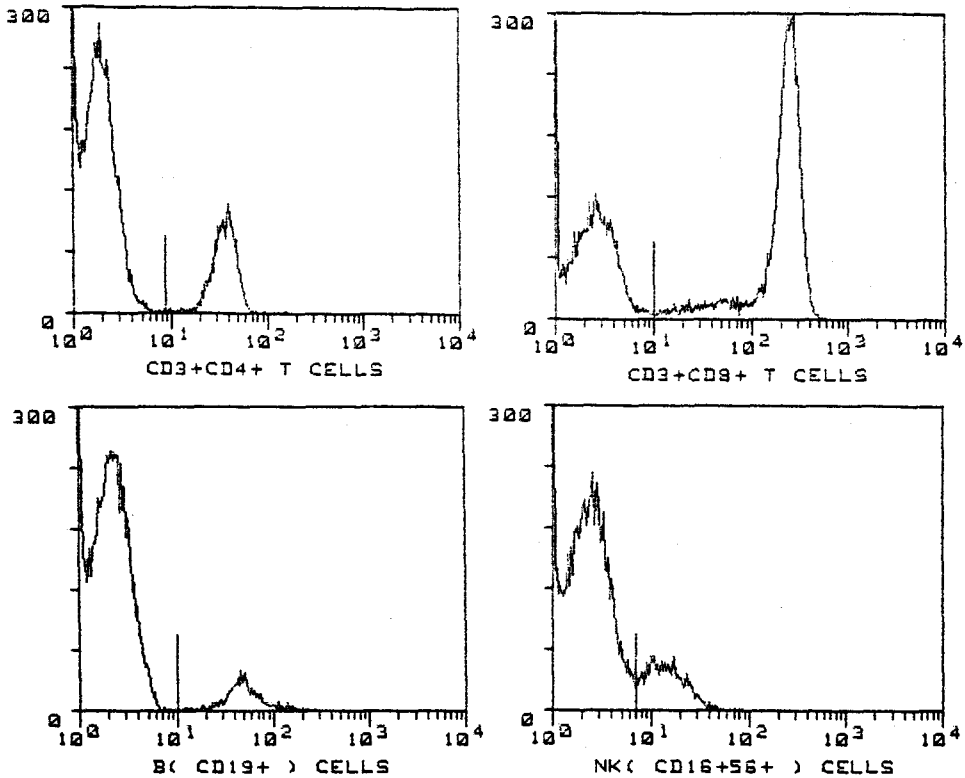


Fig. 2. The histogram of lymphocyte subsets (CD3+CD4+ T, CD3+CD8+ T, B, NK cell) of a HIV-infected person stained with monoclonal antibodies.

에서 18.9%로 매달 0.60%씩 증가하였으나 홍삼 비복용 HIV감염자의 경우 17.8%에서 15.8%로 매달 0.33%씩 감소하였다.

CD3+CD8+ T 림프세포 백분율의 경우 홍삼 복용 HIV감염자는 44.7%에서 51.4%로 매달 1.12%씩 증가하였고, 홍삼비복용 HIV감염자군도 47.8%에서 50.7%로 매달 0.48%씩 증가하였다.

B (CD19+) 림프세포 백분율의 경우 홍삼복용 HIV감염자는 8.9%에서 8.5%로 매달 0.07%씩 감소하였으며, 홍삼비복용 HIV감염자도 9.4%에서 7.9%로 매달 0.25%씩 감소하였다.

NK (CD16+56+) 세포 백분율의 경우 홍삼복용 HIV감염자는 16.2%에서 11.6%로 매달 0.77%씩 감소하였으며, 홍삼비복용 HIV감염자도 13.0%에서 9.7%로 매달 0.55%씩 감소하였다.

2. 홍삼투여후 HIV감염자들의 림프아세포 증감현황

Table 2와같이 홍삼복용 6개월후 HIV감염자의 림프아세포 증감현황을 보면 CD3+CD4+ T 림프세포 백분율의 경우 증가를 보인 HIV감염자는 8명 (53.3%), 감소를 보인 HIV감염자는 7명 (46.7%)이었으나, 홍삼비복용 HIV감염자의 경우 증가를 보인 HIV감염자는 4명 (44.4%), 감소를

보인 HIV감염자는 5명 (55.6%)이었다.

CD3+CD8+ T 림프세포 백분율은 홍삼복용 HIV감염자와 홍삼비복용 HIV감염자의 경우 증가를 보인 HIV감염자는 각각 12명 (80.0%)과 6명 (66.7%), 감소를 보인 HIV감염자는 각각 3명 (20.0%)과 3명 (33.3%)이었다.

B 림프세포 백분율과 NK 세포 백분율은 홍삼복용 HIV감염자의 경우 증가를 보인 HIV감염자는 각각 5명 (33.3%)과 3명 (20.0%), 감소를 보인 HIV감염자는 각각 10명 (66.7%)과 12명 (80.0%)이었으며, 홍삼비복용 HIV감염자의 경우 증가를 보인 HIV감염자는 각각 2명 (22.2%), 감소를 보인 HIV감염자는 각각 7명 (77.8%)이었다.

고 찰

HIV에 감염되면 면역기능에 관여하는 세포들에게 큰 영향을 주어 점차적으로 면역능을 감소시켜 AIDS로 전환되어 사망하게된다는 사실은 널리 알려져 있다.

HIV감염으로 일어나는 면역체계의 비정상적인 유형으로는 B 림프세포의 비정상적인 활성화 [22,23], 거대식세포의 antigen-presenting효과 감소 [24], NK 세포의 기능손실 및 세포독성효과 감소 [25,26], 도움 T세포 (CD3+CD4+ T)의 손실에 의한 면역기능 붕괴, 골수 및 림프조직파괴, apoptosis유도, cytokines의 비정상적인 발현에 의한 세포독성효과 유발 등 [27,28]이 있다. 이 중 가장 중요한 것은 HIV표적세포인 CD3+CD4+ T 림프세포의 선택적인 파괴에 의한 면역체계의 붕괴로서 CD3+CD4+ T 림프세포의 파괴는 HIV와 HIV의 구성단백질에 의한 직접적인 영향 [29, 30]뿐만 아니라 골수파괴, 림프조직파괴, CD4+ memory cell의 파괴 등에 의한 간접적인 영향 [31,32]으로 일어나고 있다.

본 연구를 통하여 무증상 HIV감염자의 림프아

Table 1. The change of percentages of lymphocyte subsets after Korean red ginseng administration

Items	KRG-nontreated group (N=9)		KRG-treated group (N=15)	
	baseline	6 months	baseline	6 months
CD3+CD4+ T	17.8	15.8	15.3	18.9
CD3+CD8+ T	47.8	50.7	44.7	51.4
CD19+ (B cell)	9.4	7.9	8.9	8.5
CD16+56+ (NK cell)	13.0	9.7	16.2	11.6

Table 2. The pattern of changes of lymphocyte subsets in HIV-infected persons after Korean red ginseng administration

Items	Group	KRG-nontreated group (N=9)		KRG-treated group (N=15)	
		+	-	+	-
CD3+CD4+ T		4 (44.4)	5 (55.6)	8 (53.3)	7 (46.7)
CD3+CD8+ T		6 (66.7)	3 (33.3)	12 (80.0)	3 (20.0)
CD19+ (B cell)		2 (22.2)	7 (77.8)	5 (33.3)	10 (66.7)
CD16+56+ (NK cell)		2 (22.2)	7 (77.8)	3 (20.0)	12 (80.0)

Note. +: increase of lymphocyte subsets, -: decrease of lymphocyte subsets, No.: No. of persons, (%): percentage.

세포에 대한 홍삼의 영향유무를 비교분석한 결과 홍삼복용 HIV감염자군과 홍삼비복용 HIV감염자군간의 CD3+CD4+ T 림프세포, CD3+CD8+ T 림프세포, B 세포, NK 세포에서 모두 유의한 차이를 나타내지는 않았다. 그러나 CD3+CD4+ T 림프세포 백분율은 홍삼복용 HIV감염자군에서 홍삼복용 6개월후 15.3%에서 18.9%로 증가한 반면, 홍삼비복용 HIV감염자군에서는 17.8%에서 15.8%로 감소하였다. 또한, 6개월후 CD3+CD4+ T 림프세포 백분율이 증가한 HIV감염자와 감소한 HIV감염자수는 홍삼복용 HIV감염자군의 경우 각각 8명 (53.3%)과 7명 (46.7%)인 반면, 홍삼비복용 HIV감염자군의 경우는 각각 4명 (44.4%)과 5명 (55.6%)이었다. 이와같은 결과를 종합해 볼때 건강무증상 HIV감염자의 경우 CD3+CD4+ T 세포가 HIV감염초기부터 400 - 500개/mm³로 떨어지는 동안 해마다 80개씩 이 세포가 감소하는 것에 비하면 [33], 홍삼이 미약하지만 CD3+CD4+ T 림프세포의 점진적인 파괴를 지연할 수 있는 능력이 있음을 보여 주었다.

반면, HIV감염자의 경우 CD3+CD8+ T 림프세포는 홍삼의 복용전후와는 무관하게 47.8%에서 50.7%, 44.7%에서 51.4%로 증가하는 경향을 보였으며, Table 2에서 보는바와같이 홍삼복용 HIV감염자군에서 이 림프아세포의 증가를 보인 HIV감염자수가 비복용군에 비해 다소 높은 것을 제외하곤 특별한 영향을 미치지 못하였다. 이처럼 HIV감염에 따른 CD3+CD8+ T 세포수 증가는 대부분 기능이 결여된 CD8+CD28- T 세포의 증가에 의해 유발된 결과로서 [34] 홍삼이 second signal인 CD28 표면항원의 결핍을 억제할 수 있는지에 대한 연구가 추후 진행되어야 할 것이다.

B 세포의 경우도 홍삼비복용 HIV감염자군과 홍삼복용 HIV감염자군의 경우 6개월후 각각 9.4%에서 7.9%, 8.9%에서 8.5%로 감소하는 경향을 나타내어 특별한 영향을 미치지지는 않았다.

HIV에 감염되면 세포독성작용으로 바이러스 감염을 조절하는 NK 세포가 HIV감염기간이 증가함에 따라 세포수와 기능 모든면에서 점진적인 감소가 일어나 기회성질환을 유발시키는데, 이 세포는 홍삼비복용 HIV감염자군과 홍삼복용 HIV감염자군의 경우 6개월후 각각 13.0%에서 9.7%, 16.2%에서 11.6%로 감소하는 경향을 보여 홍삼이 NK 세포 절대수와 백분율같은 표현형적

인 면에는 특별한 영향을 주지 않는 것으로 생각되었다.

Table 1과 2에서 보는 바와같이 홍삼은 림프아세포중 HIV표적세포인 CD3+CD4+ T 림프세포에 미약하지만 선택적으로 증강효과를 보인 반면, CD3+CD8+ T 림프세포, B 림프세포, NK 세포에는 특별한 영향을 주지 않는 것으로 밝혀졌다. 그러나 본 연구는 림프아세포의 표현형적인 분석으로서 홍삼의 효과를 정확히 평가하기 위하여 NKCF (natural killer cytotoxic factor) 생산량 측정과 같은 기능적인 측면의 분석이 요구되며, second signal로 널리 알려져 있는 CD28 표면항원과 홍삼의 상관관계를 분석하여 HIV감염기간의 증가에 따라 유발되는 CD28 표면항원의 소실을 억제하는데 홍삼이 영향을 줄 수 있는지 여부를 규명하여야 할 것이다.

결 론

예로부터 탁월한 면역증강제로 알려진 홍삼을 HIV감염자에게 복용시켜 림프아세포인 CD3+CD4+ T 림프세포, CD3+CD8+ T 림프세포, B 림프세포, NK 세포에 미치는 영향을 분석한 결과는 다음과 같았다.

1. 홍삼복용 HIV감염자군과 비복용 HIV감염자군간의 CD3+CD4+ T 림프세포, CD3+CD8+ T 림프세포, B 림프세포, NK 세포에 대해 시간경과에 따른 변화경향을 분석한 결과 군간의 유의한 차이를 나타내지는 않았으나 CD3+CD4+ T 림프세포 백분율에서만은 미약한 차이를 보였다.
2. HIV감염자는 홍삼복용후 CD3+CD4+ T 림프세포 백분율이 15.3%에서 18.9%로 증가한 반면, 홍삼비복용 HIV감염자는 17.8%에서 15.8%로 감소하였다.
3. CD3+CD4+ T 림프세포 백분율이 증가한 HIV감염자와 감소한 HIV감염자수는 홍삼복용 HIV감염자군의 경우 각각 8명 (53.3%)과 7명 (46.7%)인 반면, 홍삼비복용 HIV감염자군의 경우 각각 4명 (44.4%)과 5명 (55.6%)이었다.
4. 홍삼복용 HIV감염자군과 홍삼비복용 HIV감염자군의 경우 6개월후 CD3+CD8+ T 림프세포는 두군 모두에서 대부분의 HIV감염자가 증가하는 경향을 보인 반면, NK세포와 B 세포는 두군 모두 대부분의 HIV감염자가 감소하는 경향을 보여 홍삼이 이러한 아세포들에게 특별한 영향

을 주지 않는 것으로 사료되었다.

참 고 문 헌

1. Willey RL, Ross EK, Buckler-White AJ, Theodore TS, and Martin MA: Functional interaction of constant and variable domains of HIV-1 gp120. *J Virol* 63: 3595-3600, 1989.
2. Willey RL, Rutledge RA, Dias S, Folks T, Theodore T, Buckler CE, and Martin MA: Identification of conserved and divergent domains within the envelope gene of the acquired immunodeficiency syndrome retrovirus. *Proc Natl Acad Sci USA* 83: 5038-5042, 1986.
3. Grimaila RJ, Fuller BA, Rennert PD, Nelson MB, Hammarskjold ML, Potts B, Murray M, Putney SD, and Gray G: Mutations in the principal neutralization determinant of human immunodeficiency virus type affect syncytium formation, virus infectivity, growth kinetics, and neutralization. *J Virol* 66: 1875-1883, 1992.
4. Ivanoff LA, Dubay W, Morris JF, Roberts SJ, Gutshall L, Sternberg EJ, Hunter E, Matthews TJ, and Petteway SR, Jr: V3 loop region of the HIV-1 gp120 envelope protein is essential for virus infectivity. *Virology* 187: 423-432, 1992.
5. Carrillo A and Ratner L: Cooperative effects of the human immunodeficiency virus type 1 envelope variable loops V1 and V3 in mediating infectivity for T cells. *J Virol* 70: 1310-1316, 1996.
6. Koito A, Harrowe G, Levy JA, and Cheng-Mayer C: Functional role of the V1/V2 region of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein gp120 in infection of primary macrophages and soluble CD4 neutralization. *J Virol* 68: 2253-2259, 1994.
7. Broliden PA, Gegerfelt A, Clapham P, Rosen J, Fenyo EM, Wahren B, and Broliden K: Identification of human neutralization-inducing regions of the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoproteins. *Proc Natl Acad Sci USA* 89: 461-465, 1992.
8. Papsidero LD, Sheu M, and Ruscetti FW: Human immunodeficiency virus type 1-neutralizing monoclonal antibodies which react with p17 core protein: characterization and epitope mapping. *J Virol* 63: 267-272, 1989.
9. Sarin PS, Sun DK, Thornton AH, Naylor PH, and Goldstein AL: Neutralization of HTLV-III/LAV replication by antiserum to thymosin alpha 1. *Science* 232: 1135-1137, 1986.
10. Ritter J, Sepetjan M, and Monier JC: Lack of reactivity of anti-human immunodeficiency virus (HIV) p17/18 antibodies against alpha-1 thymosin and of anti-alpha-1 thymosin monoclonal antibody against p17/18 protein. *Immunol Lett* 16: 97-100, 1987.
11. Choi S, Lagakos SW, Schooley RT, and Volberding PA: CD4+ lymphocytes are an incomplete surrogate marker for clinical progression in persons with asymptomatic HIV infection taking zidovudine. *Ann Intern Med* 118: 674-680, 1993.
12. Mitsuya H, Weinhold KJ, Furman PA, St Clair MH, Lehrman SN, Gallo RC, Bolognesi R, Barry DW, and Broder S: 3'-Azido-3'-deoxythymidine (BW A509U): an antiviral agent that inhibits the infectivity and cytopathic effect of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy-associated virus in vitro. *Proc Natl Acad Sci USA* 82: 7096-7100, 1985.
13. Fischl MA, Richman DD, Grieco MH, Gottlieb MS, Volberding PA, Laskin OL, Leedom JM, Groopman JE, Mildvan D, Schooley RT, Jackson GG, Durack DT, and King D: The efficacy of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. A double blind placebo controlled trial. *N Engl J Med* 317: 185-191, 1987.
14. Richman DD, Fischl MA, Grieco MH, Gottlieb S, Volberding PA, Laskin OL, Leedom JM, Groopman JE, Mildvan E, Hirsch MS, Jackson GG, Durack DT, Nusinoff-Lehrman S, and Group ACW: The toxicity of azidothymidine (AZT) in the treatment of patients with AIDS and AIDS-related complex. *N Engl J Med* 317: 192-197, 1987.
15. Gao Q, Gu ZX, Parniak MA, Li XG, and Wainberg MA: *In vitro* selection of variants of hu-

- man immunodeficiency virus type 1 resistant 3'-azido-3'deoxythymidine and 2',3'-dideoxyinosine. *J Virol* 66: 12-19, 1992.
16. Hirsh MS, and Schooley RT: Resistance to antiviral drugs: the end of innocence. *N Engl J Med* 320: 313-314, 1989.
 17. Butler KM, Husson RN, Balis FM, Brouwers P, Eddy J, el-Amin D, Gress J, Hawkins M, Jarsinski P, Moss H, Poplack D, Santacroce S, Venzon D, Wiener L, Wolters P, and Pizzo PA: Dideoxyinosine in children with symptomatic human immunodeficiency virus infection. *N Engl J Med* 324: 137-144, 1991.
 18. Crumacker CS II: Molecular targets of antiviral therapy. *N Engl J Med* 321: 163-172, 1989.
 19. Kundu SK, and Merigan TC: Equivalent recognition of HIV proteins, *env*, *gag* and *RT* by CD4+ and CD8+ cytotoxic T lymphocytes. *AIDS* 6: 643-649, 1992.
 20. Browne M J, Mayer KH, Chafee SBD, Dudley MN, Posner MR, Steinberg SM, Graham K, Geletko SM, Zinner SH, Denman SL, Dunkle LM, Kaul S, McLaren C, Skowron G, Kouttab NM, Kennedy TA, Weitberg AB, and Curt GA: 2',3'-dideoxy-3'deoxy-thymidine (d4T) in patients with AIDS or AIDS-related complex: a phase I trial. *J Infect Dis* 167: 21-29, 1993.
 21. Roberts NA, Martin JA, Kinchington D, Broadhurst AV, Craig JC, Duncan IB, Galpin SA, Handa BJ, Kay J, Krohn A, Lambert RW, Merrett JH, Mills JS, Parkes KEB, Redshaw S, Ritchie AJ, Taylor DL, Thomas GJ, and Machin PJ: Rational design of peptide-based HIV proteinase inhibitors. *Science* 248: 358-361, 1990.
 22. Ammann AJ, Schiffman G, Abrams D, Volberding P, Ziegler J, and Conant M: B cell immunodeficiency in acquired immune deficiency syndrome. *JAMA* 251: 1447-1449, 1984.
 23. Chirmule N, Kalyanaraman VS, Saxinger C, Wong-Staal F, Ghayeb J, and Pahwa S: Localization of B-cell stimulatory activity of HIV-1 to the carboxyl terminus of gp41. *AIDS Res Hum Retroviruses* 6: 299-305, 1990.
 24. Poli G, Bottazzi B, Acero R, Bersani L, Rossi V, Introna M, Lazzarini A, Galli M, and Mantovani A: Monocyte function in intravenous drug abusers with acquired immunodeficiency syndrome: selective impairment of chemotaxis. *Clin Exp Immunol* 62: 136-142, 1985.
 25. Bonavida B, Katz J, and Gottlieb M: Mechanism of defective NK cell activity in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. Defective trigger on NK cells for NKCF production by target cells, and partial restoration by IL-2. *J Immunol* 137: 1157-1163, 1986.
 26. Cai Q, Huang XL, Rappocciolo G, and Rinaldo CR: Natural killer cell responses in homosexual men with early HIV infection. *J Acquired Immune Defic Syndr* 3: 669-676, 1990.
 27. Cohen DI, Tani IY, Tian H, Boone E, Samelson LW, and Lane EC: Participation of tyrosine phosphorylation in the cytopathic effect of human immunodeficiency virus-1. *Science* 256: 542-545, 1992.
 28. Donahue RE, Johnson MM, Zon LI, Clark SC, and Groopman GE: Suppression of *in vitro* haematopoiesis following human immunodeficiency virus infection. *Nature* 326: 200-203, 1987.
 29. Diamond DC, Sleckman BP, Gregory T, Lasky LA, Greenstein JL, and Burakoff SJ: Inhibition of CD4+ T cell function by the HIV envelope protein, gp120. *J Immunol* 141: 3715-3717, 1988.
 30. Viscidi RP, Mayur K, Lederman HM, and Frankel AD: Inhibition of antigen-induced lymphocyte proliferation by tat protein from HIV-1. *Science* 246: 1606-1608, 1989.
 31. Schnittman SM, Lane HC, Greenhouse J, Justement JS, Baseler M, and Fauci AS: Preferential infection of CD4+ memory T cells by human immunodeficiency virus type 1: evidence for a role in the selective T-cell functional defects observed in infected individuals. *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 6058-6062, 1990.
 32. Steinberg HN, Crumacker CS, and Chatis PA: *In vitro* suppression of normal human bone marrow progenitor cells by human immunodeficiency virus type 1. *J Clin Invest* 84: 151-156, 1989.

- ency virus. *J Virol* 65: 1765-1769, 1991.
33. Lang W, Perkins H, Anderson RE, Royce R, Jewell N, et al: Patterns of T-lymphocyte changes with human immunodeficiency virus infection: from seroconversion to the development of AIDS. *AIDS* 2: 63-69, 1990.
34. Borthwick NJ, Bofill M, Gombert WM, Akbar AN, Medina E, Sagawa K, Lipman KC, Johnson MA and Janossy G: Lymphocyte activation in HIV-1 infection. II. Functional defects of CD 28- T cells. *AIDS* 8: 431-441, 1994.
-