

HIV 超感染防御研究进展

熊 竞, 丛 喆, 魏 强

(中国医学科学院, 北京协和医学院, 医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学
重点实验室, 国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室, 北京 100021)

【摘要】 机体在原发感染病毒后, 体内能产生某种可能的干扰以阻挡、防止被同种(或同类别)株病毒再次感染现象, HIV 感染中也存在这种超感染防御现象。显然, 该的研究对于改进 HIV 疫苗研制策略及其他抗病毒策略十分重要。目前研究认为感染细胞在分子水平上产生的超感染抵抗(superinfection resistance, SIR)和机体免疫反应是感染个体能防御超感染的主要原因。但以上各种假说都没有得到充分验证, HIV 超感染防御依然尚未明确。本文将这些研究进行总结, 以期找出新的突破口, 推进该项研究。

【关键词】 HIV; 超感染抵抗(SIR); CD4 下调

【中图分类号】 R332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2012)03-0061-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2012.003.013

Introduction to the Superinfection with HIV Infection

XIONG Jing, CONG Zhe, WEI Qiang

(Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine, Ministry of Health; Institute of Medical Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine; Peking Union Medicine College, Beijing 100021, China)

【Abstract】 The retroviral phenomenon of superinfection resistance defines an interference mechanism that is established after primary infection, and provides possible protection against the challenge with the same virus. A better knowledge of superinfection resistance-induced mechanisms could be useful for the development of an HIV vaccine or other antiviral strategies. Present studies suggest that the SIR based on infected cells and the immune response in vivo were concluded to be the main possible reasons for the protection against superinfection. However, so far the real mechanism in protecting patients from HIV superinfection has not been studied thoroughly. This paper reviews the findings and introduces the updates of superinfection with HIV infection.

【Key words】 HIV; Superinfection resistance; SIR; CD4 downregulation

超感染(superinfection)是指在初次感染以及针对它的免疫反应已建立的情况下, 同种的另一病毒株可再次感染宿主的现象^[1,2]。临床研究发现 HIV 初始感染后可发生超感染现象。但是超感染的发生在 HIV 慢性感染中并不具有普遍性^[1]。一项针

对 14 对 HIV 血清型一致伴侣的研究结果表明这些人面临再次感染的高度危险但未发现超感染^[3]; 在对 37 个 HIV 感染的经静脉吸毒者 1~12 年治疗过程中取样研究有相似发现^[4]。在动物实验中, 二次攻毒不一定引起超感染, 即便发生了超感染其病毒载

【基金项目】 国家十二五科技重大专项课题(2012ZX10004-501, 2012ZX10001-006)。

【作者简介】 熊竞, 女, 硕士生, 从事实验动物病毒学研究工作。

【通讯作者】 魏强, 教授, 博士生导师, 研究方向: 实验动物病毒学。E-mail: weiqiang0430@sohu.com。

量及持续时间也低于初次感染^[5]。使用减毒活 SIV 病毒作为疫苗可以提供对野生型 SIV 株同源感染的完全或部分保护。这些都表明初次感染使机体能在一定程度上抵御超感染。那么, HIV 超感染的发生能否被预测及控制? 体内的 HIV 超感染抵抗到底是什么在起作用? 该在发生了超感染的个体中又因何失效? 减毒活疫苗的保护是否与之紧密相关? 这些问题的解答对于改进 HIV 疫苗研究策略有十分重要的作用。

1 感染细胞表面 CD4 受体及共受体 CCR5、CXCR4 下调介导的超感染抵抗

细胞实验研究表明, HIV/SIV 感染后, Vpu、Env、Nef 三种 HIV 蛋白通过不同下调细胞表面 CD4 受体表达^[6], 从而抑制了二次攻击毒株感染细胞。

Benson 等^[7]将 SIV 的 nef 基因稳定转染至 CD4⁺T 细胞, 检测发现 Nef 蛋白表达强烈抑制了细胞表面表达 CD4 受体, 而对细胞内 CD4 的整体表达水平没有显著影响。然后使用等量 HIV 感染 5 个表达 Nef 蛋白的细胞株及 3 个 Nef 蛋白表达阴性的细胞株, 结果表明 Nef 蛋白阴性的细胞株感染效率远远高于 Nef 蛋白阳性细胞。从中可推断超感染抵抗与表面 CD4 表达的下降有关。Wildum 等^[8]使用表达红色荧光蛋白的 vpu、env、nef 某一基因突变株感染 T 细胞然后用带有绿色荧光蛋白的野生毒株再次感染。发现感染表达 Nef 蛋白的 HIV 的 T 细胞从病毒基因表达的一开始就下调 CD4; 而 Vpu、Env 两种蛋白下调 CD4 的强度相对于 Nef 蛋白而言较弱, 对于超感染的抵抗强度也较弱, 再次反映了 CD4 下调与超感染抵抗正相关。除了能够下调感染细胞表面的 CD4, 病毒 Nef 蛋白也可以下调细胞表面 CCR5^[9]以及 CXCR4 受体^[10], 因此 CCR5、CXCR4 表达下调对超感染也有一定抑制作用。

另使用的共受体不同的 HIV-1 毒株研究发现, 感染早期出现的 CCR5 嗜性病毒不能使 CD4 下调, 但感染晚期出现的 CXCR4 或 CXCR4/CCR5 双嗜性病毒可明显地下调 CD4 表面表达^[11]。与此一致, Lusso 等^[12]发现 HIV-1 巨噬细胞嗜性非细胞病变株不能下调 CD4, 因此也不能抵抗致病性 HIV 病毒株对易感 T 细胞克隆株的再次感染。从另一角度反映了 CD4 下调与超感染抵抗正相关。

然而 HIV-1 感染的 T 细胞中 CD4 下调动力学分析对该假说提出了疑问。CD4 在感染两天后开

始下调, 此时距细胞进入死亡阶段仅有几小时。在这么短的时间内, T 细胞发生超感染的几率非常小, 因此 CD4 的下调的作用也不大。而且, CD4 的下调在初始 T 淋巴细胞中发生地更晚。患者中 HIV 感染的细胞半衰期预计为 1~2 d。Voldky 等^[13]已证实超感染抵抗早在 HIV 初次感染的 4~24 h 以内就已建立。因此 CD4 下调的动力学暗示 HIV 超感染抵抗的建立并不受 CD4 下调的控制。CD4 下调最主要的目的不见得是抵抗超感染, 而是提高病毒复制力并促进子代病毒的释放。其次 HIV 抑制 CD4 表达和二次感染可能是为了阻止未成熟的细胞死亡以增加病毒在细胞内的有效复制。CD4 下调等细胞水平上的也仅勉强用来解释感染细胞如何抑制再次感染, 但是如何抑制随后的病毒感染动物体内未感染细胞的仍无法解释。

2 阻断超感染病毒复制周期

部分研究显示, 细胞水平上存在与 CD4 下调不相关的来抵抗 HIV 超感染。Volsky 等^[13]证明在受 HIV 感染的 T 细胞仍表达高水平的 CD4 分子, 但其仍然可抵制 HIV 超感染。这些可能由于初次感染的病毒蛋白表达抑制了二次攻击毒株复制周期中的某一步, 因而抑制了超感染。

有研究表明超感染病毒整合过程受抑制可抵抗超感染。Levin 等^[14,15]指出在新近感染的细胞内整合频率由 Rev 蛋白来调节。感染了 rev 基因缺失的目的细胞中的整合事件至少比野生毒株感染高出 5 倍。Rev 蛋白对于第二株感染病毒的抑制作用在第一株病毒感染了 4~8 h 以后可观察到, 这与 Rev 蛋白的表达相一致。

HIV 病毒蛋白基因转染进细胞后, 发现 F12-HIV 的 Gag、Vif、Nef 蛋白都改变了超感染 HIV 毒株的复制^[16]。此外, Fackler 等发现 Nef 蛋白表达完全抑制了超感染 HIV 毒株, 在其复制的晚期。Nef 蛋白干扰了 Gag 蛋白 p41 前蛋白裂解成 p17 和 p24 从而抑制病毒复制^[17]。

3 CD8⁺T、CD4⁺T 细胞介导的特异性免疫反应抵抗超感染

在动物体内无论是初次感染或超感染都主要由免疫系统调节, 同时二次攻击病毒还可能感染体内未感染细胞, 这使动物超感染防御远不止细胞水平上的 SIR。

CD8⁺T 细胞介导的细胞毒作用是宿主体内适应性免疫反应的重要组成部分。初次感染或接种减毒活疫苗后通常产生显著的病毒特异性 CD8⁺CTL 反应^[18,19]。初次感染时产生病毒特异性 CD8⁺CTL 反应与病毒血症的清除和病毒复制的抑制情况相符,而且 CD8⁺T 能控制初次感染病毒的致病性。然而以上只是病毒特异性 CD8⁺CTL 在控制初次 HIV 感染时的作用^[20]。虽然一些研究者称减毒活疫苗所诱导的病毒特异性 CD8⁺CTL 与其后的超感染抵抗相关,另一些研究则没有观察到相应现象并对病毒特异性 CD8⁺CTL 反应在超感染抵抗中的作用产生质疑。

为了明确病毒特异性 CD8⁺CTL 反应在超感染抵抗中的作用,Stebbing 等^[21]研究结果显示所有 CD8⁺T 细胞敲除的免疫猴均对野生毒株产生抵抗,这说明 CTL 在接种 35 周后的超感染抵抗作用中并不起主要作用。随后 Stebbings 等又进一步验证了,对照组及 CD8⁺T 细胞敲除的实验组在攻毒后均没有可检测到的超感染,这表明病毒特异性 CD8⁺CTL 反应不是介导抵抗急性超感染的主要因素。以上说明 CD8⁺T 细胞对于控制初始 SIV 病毒血症十分重要,但是在接种减毒活疫苗后对抗超感染中不起关键作用。

CD4⁺T 细胞是特异性免疫反应的重要组成部分同时也是 HIV 攻击的目的细胞,由于其特殊性,对该部分功能的研究较局限,有深入挖掘的必要。就目前的研究结果来看限制性 CD4⁺T 细胞反应对超感染有一定抑制作用。Salha 等^[22]使用 SIVmacC8 和 SIVmacJ5 减毒活疫苗对恒河猴进行感染或假感染后再攻入 SHIV89.6,然后通过 HTA 技术长期跟踪监测其 CD4 细胞受体库。在所有抵御病毒攻击的恒河猴中,其早期感染时 CD4 受体库中 TRBV(受体 β 可变区)多样性减少且有一些优势 CD4⁺T 细胞克隆。而未受保护的恒河猴 T 细胞库中 TRBV 多样性仍较高。这些结果强调急性感染期时维持 CD4⁺T 细胞受体库成熟的重要性,并指出限制性 CD4⁺T 细胞与超感染抵抗作用相关。

4 中和抗体在超感染保护中的作用

宿主对病毒感染的常规反应时产生特异性中和抗体,与病毒结合使之失活。然而在 HIV 感染后宿主体内中和抗体反应对超感染发生的抑制作用还存在争议。

研究表明在感染过程中感染者能够产生具有交叉保护作用的中和抗体。有效的中和抗体用在动物模型中,能够完全阻止 SHIV 感染^[23]。Smith 等^[24]研究发现 3 个 HIV-1 二次感染的患者的交叉保护和自身的中和抗体应答都要弱于没有发生 HIV-1 二次感染的患者。

而另一些研究却显示,中和抗体反应不是超感染抵抗的关键因素。Blish 等^[25]发现尽管有相对强烈的中和抗体反应 HIV-1 超感染仍然发生。研究者测定了 6 名在初次感染后的 1~5 年中再次感染了 HIV 的女性体内中和抗体反应,并与 18 名未再次感染的女性作对比。再次感染之前超感染组的中和抗体反应的幅度和效能与对照组相比没有明显差别,并且超感染组还产生了相对广泛和有效地中和抗体反应。此外,大部分超感染个体在再次感染前,体中存在中和抗体可以中和第二感染毒株。超感染个体与未发生超感染个体的中和抗体水平无显著差异,另一些实验也有类似结论得出^[5]。

还有研究指出自身中和抗体在那些病毒载量较高者体内是无效的,因为病毒会持续产生中和抗体逃逸株,但在病毒载量较低者体内可能有一定作用^[26]。有动物模型的研究表明,需要高浓度的中和抗体才能保护动物不被感染^[27]。

从以上各种研究中可推测,中和抗体可能在超感染抵抗中发挥一定的作用,但并不是核心。

5 小结

超感染及超感染防御现象的出现,反映了机体不完全的免疫保护反应,对目前的疫苗研究策略也提出了重要的警示。HIV 超感染抵抗的研究亟待阐明,其对 HIV 的治疗、行为干预和疾病控制等一系列策略将产生重要影响。但无论是 CD4 受体下调、CD8⁺T、CD4⁺T 细胞介导的特异性免疫反应、还是中和抗体,都不能被充分证实,超感染保护更可能是细胞水平上的超感染抵抗与特异性免疫反应共同作用的结果。此外,固有免疫的作用也应引起足够的重视。

参考文献:

- [1] Smith DM, Richman DD, Little SJ. HIV superinfection[J]. J Infect Dis, 2005, 192(3): 438-444.
- [2] van der Kuyl AC, Cornelissen M. Identifying HIV-1 dual infections[J]. Retrovirology, 2007, 4:1-12.
- [3] Chakraborty B, Valer L, De Mendoza C, Soriano V, Quinones-

- Mateu ME. Failure to detect human immunodeficiency virus type 1 superinfection in 28 HIV-seroconcordant individuals with high risk of reexposure to the virus[J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2004, 20(9): 1026 – 1031.
- [4] Tsui R, Herring BL, Barbour JD, et al. Human immunodeficiency virus type 1 superinfection was not detected following 215 years of injection drug user exposure[J]. *J Virol*, 2004, 78(1): 94 – 103.
- [5] Yeh WW, Jaru-Ampornpan P, Nevidomskyy D, et al. Partial protection of Simian immuno-deficiency virus (SIV)-infected rhesus monkeys against superinfection with a heterologous SIV isolate[J]. *J Virol*, 83(6): 2686 – 2696.
- [6] Lama J. The physiological relevance of CD4 receptor down-modulation during HIV infection[J]. *Curr HIV Res*, 2003, 1(2): 167 – 184.
- [7] Benson RE, Sanfridson A, Ottinger JS, et al. Downregulation of cell-surface CD4 expression by simian immunodeficiency virus Nef prevents viral super infection[J]. *J Exp Med*, 1993, 177(6): 1561 – 1566.
- [8] Wildum S, Schindler M, Munch J, et al. Contribution of Vpu, Env, and Nef to CD4 down-modulation and resistance of human immunodeficiency virus type 1-infected T cells to superinfection[J]. *J Virol*, 2006, 80(16): 8047 – 8059.
- [9] Michel N, Allespach I, Venzke S, et al. The Nef protein of human immunodeficiency virus establishes superinfection immunity by a dual strategy to downregulate cell-surface CCR5 and CD4[J]. *Curr Biol*, 2005, 15(8): 714 – 723.
- [10] Venzke S, Michel N, Allespach I, et al. Expression of Nef downregulates CXCR4, the major coreceptor of human immunodeficiency virus, from the surfaces of target cells and thereby enhances resistance to superinfection[J]. *J Virol*, 2006, 80(22): 11141 – 11152.
- [11] Chenine AL, Sattentau Q, Moulard M. Selective HIV-1-induced downmodulation of CD4 and coreceptors[J]. *Arch Virol*, 2000, 145(3): 455 – 471.
- [12] Lusso P, Cocchi F, Balotta C, et al. Growth of macrophage-tropic and primary human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) isolates in a unique CD4 + T-cell clone (PM1): failure to downregulate CD4 and to interfere with cell-line-tropic HIV-1[J]. *J Virol*, 1995, 69(6): 3712 – 3720.
- [13] Volsky DJ, Simm M, Shahabuddin M, et al. Interference to human immunodeficiency virus type 1 infection in the absence of downmodulation of the principal virus receptor, CD4 [J]. *J Virol*, 1996, 70(6): 3823 – 3833.
- [14] Levin A, Hayouka Z, Brack-Werner R, et al. Novel regulation of HIV-1 replication and pathogenicity: Rev inhibition of integration. *Protein Eng Des Sel* [J]. *Protein Eng Des Sel*, 2009, 22(12): 753 – 763.
- [15] Levin A, Hayouka Z, Friedler A, et al. A novel role for the viral Rev protein in promoting resistance to superinfection by human immunodeficiency virus type 1[J]. *J Gen Virol*, 2010, 91(6): 1503 – 1513.
- [16] D'Aloja P, Olivetta E, Bona R, et al. gag, vif, and nef genes contribute to the homologous viral interference induced by a nonproducer human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) variant; identification of novel HIV-1-inhibiting viral protein mutants[J]. *J Virol*, 1998, 72(5): 4308 – 4319.
- [17] Fackler OT, d'Aloja P, Baur AS, et al. Nef from human immunodeficiency virus type 1 (F12) inhibits viral production and infectivity[J]. *J Virol*, 2001, 75(14): 6601 – 6608.
- [18] Vogel TU, Fournier J, Sherring A, et al. Presence of circulating CTL induced by infection with wild-type or attenuated SIV and their correlation with protection from pathogenic SHIV challenge[J]. *J Med Primatol*, 1998, 27(2–3): 65 – 72.
- [19] Nixon DF, Donahoe SM, Kakimoto WM, et al. Simian immunodeficiency virus-specific cytotoxic T lymphocytes and protection against challenge in rhesus macaques immunized with a live attenuated simian immunodeficiency virus vaccine [J]. *Virology*, 2000, 266(1): 203 – 210.
- [20] Metzner KJ, Jin X, Lee FV, et al. Effects of in vivo CD8(+) T cell depletion on virus replication in rhesus macaques immunized with a live, attenuated simian immunodeficiency virus vaccine [J]. *J Exp Med*, 2000, 191(11): 1921 – 1931.
- [21] Stebbings R, Berry N, Waldmann H, et al. CD8 + lymphocytes do not mediate protection against acute superinfection 20 days after vaccination with a live attenuated simian immunodeficiency virus[J]. *J Virol*, 2005, 79(19): 12264 – 12272.
- [22] Salha MD, Cheynier R, Halwani R, et al. Persistence of restricted CD4 T cell expansions in SIV-infected macaques resistant to SHIV89.6P superinfection[J]. *Virology*, 2008, 377(2): 239 – 247.
- [23] Stamatos L, Morris L, Burton DR, et al. Neutralizing antibodies generated during natural HIV-1 infection; good news for an HIV-1 vaccine[J]. *Nat Med*, 2009, 15(8): 866 – 870.
- [24] Smith DM, Strain MC, Frost SD, et al. Lack of neutralizing antibody response to HIV-1 predisposes to superinfection [J]. *Virology*, 2006, 355(1): 1 – 5.
- [25] Blish CA, Dogan OC, Derby NR, et al. Human immunodeficiency virus type 1 superinfection occurs despite relatively robust neutralizing antibody responses [J]. *J Virol*, 2008, 82(24): 12094 – 12103.
- [26] Moore PL, Gray ES, Morris L. Specificity of the autologous neutralizing antibody response. *Curr Opin HIV AIDS* [J]. *Curr Opin HIV AIDS*, 2009, 4(5): 358 – 363.
- [27] Hessel AJ, Poignard P, Hunter M, et al. Effective, low-titer antibody protection against low-dose repeated mucosal SHIV challenge in macaques[J]. *Nat Med*, 2009, 15(8): 951 – 954.

[修回日期] 2011-11-08