·综 述·

人免疫缺陷病毒储存库及其清除策略的研究进展

荀静娜[1]，卢洪洲[2*]
（上海市（复旦大学附属）公共卫生临床中心 1. 科学研究部；2. 感染与免疫科，上海 201508）

摘要：获得性免疫缺陷综合征（AIDS）是由人免疫缺陷病毒（HIV）感染引起的一种全球性传染病。消除 HIV 感染的主要挑战是 HIV 储存库的存在。近年多种类型的储存库细胞得到识别，且对于不同组织储存库的特点也有了更多认识。HIV 储存库清除策略的研究主要包括激活和杀伤策略、造血干细胞移植治疗、基因治疗以及促进特异性免疫治疗等。本文就上述领域的进展作简要综述。

关键词：获得性免疫缺陷综合征（AIDS）；人免疫缺陷病毒（HIV）储存库；清除策略
中图分类号：R512.91；R978.7 **文献标志码：**A **文章编号：**1672-9188（2018）11-0732-05
DOI：10.13683/j.wph.2018.11.003

Research advances on human immunodeficiency virus reservoir and eradication strategies

XUN Jing-na[1], LU Hong-zhou[2*]
（*1. Scientific Research Center; 2. Department of Infection and Immunology, Shanghai Public Health Clinical Center, Fudan University, Shanghai 201508, China*）

Abstract: Acquired immunodeficiency syndrome（AIDS）is the infectious disease caused by human immunodeficiency virus (HIV). The main challenge in eradicating is the existence of HIV reservoir. Recent advances in HIV studies mainly include the identification of more sorts of reservoir cells, and more understanding of the characteristics of the viral reservoirs in different tissues. Research on eliminating the reservoir includes: the shock and kill strategy, the stem cell transplantation therapy and the gene therapy, as well as inducing specific immunity against HIV. This article provides a brief overview of the progress in these areas above.

Key words: acquired immunodeficiency syndrome（AIDS）; human immunodeficiency virus（HIV）reservoir; eradication strategy

获得性免疫缺陷综合征（AIDS）是由人免疫缺陷病毒（HIV）感染引起的一种全球性传染病，尽管包括世界卫生组织在内的社会各界在不断努力防治，但截止到目前，全球仍有 3.67 亿 HIV 感染者，且感染呈上升趋势[1]。另一方面，抗逆转录病毒疗法（ART）能够有效抑制病毒的复制，恢复人体免疫功能，延长患者生存时间并提高其生活质量[2-3]，同时使 HIV 感染传播风险急剧下降，降低了 AIDS 的发病率[4]。然而，ART 要求患者终生服药，一旦实现有效病毒抑制的 HIV 感染者停用抗逆转录病毒药物后，血浆中病毒载量会急剧反弹并升至极高水平造成新一轮的感染[5]。HIV 清除与治疗的关键问题是 HIV 储存库的存在[6]。HIV 储存库是指在长期有效 ART 患者体内，具有复制能力的 HIV 的持续感染；储存库细胞是指携带整合进入宿主 DNA、具有复制能力的 HIV 前病毒的宿主细胞，有文献称之为 HIV 潜伏感染细胞[7]。这类细胞被重新激活之后，会再度生成完整的 HIV。本综述回顾分析 HIV 在 ART 方

收稿日期：2018-08-29；**修回日期：**2018-09-28
作者简介：荀静娜，技师，研究方向：感染性疾病的发病机制研究。
通信作者：卢洪洲，主任医师，教授，研究方向：感染性疾病的诊治与发病机制研究。
基金项目：十三五“重大新药创制”国家科技重大专项（2017ZX09304027）。

面取得的进展和阻碍，以及迄今为止研究的 HIV 储存库及其清除策略的基本原理和发现。

1　HIV 储存库

HIV 储存库是在没有病毒产生的情况下将具有复制能力的完整病毒整合到宿主基因组中。临床及动物试验显示，宿主细胞获得 HIV 感染的几天内就会很快建立 HIV 潜伏感染[8-9]。早期报道显示，HIV 储存库建立在静息 $CD4^+$ T 细胞中，然而随着研究的深入，发现 HIV 储存库也存在于多个 T 细胞亚群中，包括初始 $CD4^+$ T 细胞、中枢记忆 T 细胞、过渡型记忆 T 细胞及效应记忆 T 细胞等；在接受 ART 治疗的患者淋巴组织中，HIV 也富集于 B 淋巴细胞及滤泡 T 辅助细胞中[10]。此外，在猴免疫缺陷病毒（SIV）感染的非人灵长类动物的 ART 中，SIV 富集在卵泡外部的 T 调节细胞内[11]。

除外周血中 HIV 储存库外，在接受 ART 的患者体内，淋巴结和胃肠道等组织部位 $CD4^+$T 细胞中含有比血液中高得多的 HIV DNA 和 RNA[12-13]。在淋巴结组织中，病毒在 B 细胞滤泡内优先被检测到，细胞毒性 $CD8^+$T 细胞在 B 细胞滤泡内渗透不良，因此为病毒提供了良好的躲避免疫杀伤保护[10, 14]。胃肠道也可以为 HIV 持续性感染提供独特的环境，因为该组织位点大量的辅助性 T 细胞 17 细胞高水平表达 CCR5，无论患者是否开始了 ART，该组织区域经常被优先感染。组织巨噬细胞也可以感染 HIV，但巨噬细胞的感染并不会引起细胞病变，因此，尽管在 ART 控制下，这些长期存活的被感染巨噬细胞仍可以在大脑等部位存活[15]。同时，HIV 可在中枢神经系统内血管旁的小胶质细胞和星状细胞形成潜伏感染引发脑内 HIV 储存[16]。然而，一旦抗逆转录病毒药物停止，HIV 储存库就会发生病毒反弹引发新一轮感染。但每种 HIV 储存库类型对病毒反弹的反应程度目前仍知之甚少，也是目前开展 HIV 研究的重要领域。

2　清除 HIV 储存库的策略

2.1　激活和杀伤策略

1986 年，针对 HIV 潜伏感染于 $CD4^+$T 细胞的首次报道提示，潜伏感染的 HIV 无法被宿主免疫系统识别并清除，随后提出下列想法，即：如果潜伏的病毒能够被有意识地重新激活，随后再通过抗病毒药物或自身免疫系统等方式，利用 HIV 细胞病变效应或细胞毒性 T 淋巴细胞直接导致 T 细胞死亡即可达到清除病毒储存库的目的，同时抗 HIV 治疗将阻止新一轮感染，那么 HIV 感染将是可以治愈的。这种想法被称为“激活和杀伤策略”[17]。目前，一些逆转录病毒激活剂在激活 HIV 储存库方面已显现出良好应用前景，如组蛋白去乙酰化酶抑制剂（HDACi）、白介素（IL）-2、IL-7、IL-15、肿瘤坏死因子（TNF）-α 以及蛋白激酶 C 激活剂等[18]。

早期研究的潜伏 HIV 刺激剂是 HDACi。HDACi 能够抑制 HIV 储存库的激活，当使用 HDACi 时即可增强 HIV 启动子组蛋白乙酰化，导致转录增强[19]。已有多种 HDACi 被证实可作为 HIV 储存库的激活剂用于“激活和杀伤”策略，包括伏立诺他、帕比司他、罗米地辛及西达本胺等[20-21]。研究显示，以上所有的 HDACi 均可增加 $CD4^+$T 细胞中与细胞相关的未剪接的 HIV RNA 浓度，但是没有一种药物显示可导致感染细胞的数量减少。HDACi 的主要问题之一是安全性，包括持续改变宿主的基因表达，抑制 HIV 特异性 T 细胞和体内自然杀伤细胞的功能等[19]。因此，利用 HDACi 实现“激活和杀伤”策略仍有待于进一步研究验证。

2.2　造血干细胞移植策略

“柏林病例”是迄今为止惟一接受 CCR5 δ32 纯合子供体造血干细胞移植（HSCT）实现 HIV 彻底治愈的病例。据报道，在之后接受该疗法治疗的 6 例患者中，其中 1 例发生了病毒反弹，另外 5 例受试者死于造血干细胞移植的并发症或恶性肿瘤复发[22]。研究发现，将 CCR5 δ32 纯合子移植到接受 ART 的 HIV 感染的患者体内可以减少感染的细胞数量，但并未能实现最终的 HIV 清除及治愈。且造血干细胞移植引发的死亡率偏高导致其目前并不能成为实现

HIV 功能治愈研究的临床治疗策略[23]。在造血干细胞移植过程中，哪些成分有助于消除 ART 中被感染的细胞尚不清楚，单独使用化学疗法尚未观察到类似的效果[24]。关于造血干细胞移植疗法对感染细胞的清除效率需进一步优化 SIV 感染的猕猴模型进行实验探究。

2.3 基因治疗

随着高效 ART 在药物不良反应及病毒清除和疾病治愈过程中的局限性日益凸显，基因编辑技术应用于 AIDS 治疗的策略备受关注。常用的基因编辑技术包括 RNA 干扰技术、锌指核酸酶技术、转录激活样效应因子技术以及近年来快速发展的 CRISPR/Cas 9 技术等，这些技术已成功应用于开发建立更好的 HIV 研究模型，在胞内产生保护性突变、破坏 HIV 基因组甚至重新激活潜伏病毒，以便通过宿主免疫应答更好地清除 HIV[4]。

目前，针对 CCR5 及 HIV 自身的基因编辑正在积极探索中，基因编辑技术有望成为攻克 HIV 的新兴战略。锌指核酸酶靶定 CCR5 已在临床研究中取得了一定的成果。CRISPR/Cas9 已在动物模型和体外试验中应用于 CCR5 和 HIV DNA 自身的基因编辑[25]。然而报道显示，当这种技术被直接用于修饰 HIV 时会发生耐药性突变[26]。针对 HIV 基因组的基因编辑可能需要对多个病毒位点进行靶向修饰从而避免耐药现象。

2.4 HIV 特异性免疫治疗策略

对 HIV 疫苗最初的定义是预防病毒传播，但其同时可能实现清除病毒感染细胞和调控免疫应答反应控制未行 ART 下的病毒反弹[1]。然而，目前临床研究中尚未获得令人满意的 HIV 疫苗，尽管 ALVAC-HIV 和 AIDSVAX B/E 的临床研究表明该疫苗能够阻止 31% 的 HIV 感染，但却不能减缓 HIV 感染者临床疾病进程[27]。

近年来，广谱中和抗体的研究为 HIV 疫苗提供了新策略。广谱中和抗体能够中和游离病毒除外的广泛病毒株，这些抗体可以通过 Fc 组分与吞噬细胞和天然杀伤细胞受体相互作用来清除表面表达病毒抗原的细胞[28-30]。针对非人类灵长类动物模型试验显示，中和抗体可能通过结合抗原和激活抗原呈递细胞上的 Fc 受体，然后将抗原加工，呈递和交叉呈递给 $CD4^+$T 和 $CD8^+$T 细胞从而增强 $CD8^+$T 细胞的功能[31]。尽管如此，广谱的 HIV 特异性抗体并不能减少病毒储存库[32]。

中和抗体的使用需要相互之间的协同作用以减少病毒的抗性。此外，新一代抗体结合了不同中和抗体的抗原特异性并与病毒上的多个非重叠位点结合，这些双特异性和三特异性抗体在体外中和 HIV 的能力方面表现出很大的广度和效力[33-34]，与单独的抗体组合相比具有更好的协同作用。双特异性抗体可以同时结合病毒和 $CD4^+$T 细胞，从而导致抗体与病毒在进入位点结合，抑制病毒进入胞内[35]。双亲合重靶向抗体分子（DART）是通过二硫键连接的异二聚体结构，包含两种不同单克隆抗体的可变结构域，DART 的设计具有针对 HIV 包膜和 CD3 的特异性，可以使细胞毒性 $CD8^+$T 细胞与表面表达 HIV 包膜的感染细胞紧密接近，这些 DART 有助于体外清除 HIV 感染的细胞[36]。然而，无论是双特异性抗体、三特异性抗体还是 DART 目前均未应用于临床研究中。

3 研究进展及展望

HIV 储存库的长期维系机制主要有三种假说：抗原驱动的储存库细胞增殖；细胞因子介导的稳态增殖；HIV 整合导致的细胞自主增殖。Wang 等[37]最新研究证实了前两种机制的存在，而不支持第三种假说。近年来，国内机构和学者在 HIV 储存库领域也取得了一些重要发现。例如，Shan 等[38]参与的研究发现，HIV 储存库建立的时间窗口非常短暂，主要是 $CD4^+$T 淋巴细胞激活后的第 6 ～ 9 d，亦即 $CD4^+$T 淋巴细胞从效应细胞向记忆细胞转换的阶段。Wang 等[39]发现，感染早期 HIV 病毒序列多态性水平低的患者，在长期 ART 后，HIV DNA 水平下降得更多。Chen 等[40]在近期的研究发现，HIV 感染者

血浆吲哚胺 -2-3- 加氧环化酶的活性与储存库大小呈相关性，表明该酶可能参与 HIV 储存库的维持，但仍需通过基础实验验证该酶参与 HIV 储存库维持的重要机制，这有可能为 HIV 免疫治疗提供新靶标。

4 结语

科学界对于 HIV 如何、在何处以及为什么会在 ART 患者中持续存在的了解已经有了突破性进展，对 HIV 储存库的认知及检测方法也在不断地更新。以隐藏在免疫细胞中的潜伏 HIV 为目标，清除潜伏性感染的想法促使了针对 HIV 治疗的策略。但还需要确定潜伏感染细胞的表型标记和预测停止 ART 后结果的生物标志物。然而，目前针对 AIDS 治疗干预的临床研究的积极发现比预期的少很多。从开发疫苗到基因治疗策略到广谱中和抗体的研究，尽管这些方法应继续进行测试，但也应探索其他方法，包括寻求永久抑制潜伏病毒的方法。

不同的策略可能针对不同的病毒库，结果可能会是互补的。因此清除病毒储存库实现功能性治愈很可能需要一种综合的方法。相信随着对 HIV 储存库特征的不断探索解读，检测方法及清除策略的不断完善，战胜 AIDS 这一国际性难题将成为可能。

参考文献：

[1] Pitman MC, Lau JSY, McMahon JH, *et al*. Barriers and strategies to achieve a cure for HIV[J]. Lancet HIV, 2018, 5(6): e317-e328.

[2] The Antiretroviral Therapy Cohort Collaboration. Life expectancy of individuals on combination antiretroviral therapy in high-income countries: a collaborative analysis of 14 cohort studies[J]. Lancet, 2008, 296(9635): 293-299.

[3] Margolis DM, Garcia JV, Hazuda DJ, *et al*. Latency reversal and viral clearance to cure HIV-1[J]. Science, 2016, 353(6297): aaf6517-aaf6517.

[4] Kwarteng A, Ahuno ST, Kwakye-Nuako G. The therapeutic landscape of HIV-1 via genome editing[J]. AIDS Res Ther, 2017, 14(1): 32-32.

[5] Mellberg T, Gonzalez VD, Lindkvist A, *et al*. Rebound of residual plasma viremia after initial decrease following addition of intravenous immunoglobulin to effective antiretroviral treatment of HIV[J]. AIDS Res Ther, 2011, 8(1): 21-21.

[6] Deeks SG, Lewin SR, Ross AL, *et al*. International AIDS society global scientific strategy: towards an HIV cure 2016[J]. Nat Med, 2016, 22(8): 839-850.

[7] Churchill MJ, Deeks SG, Margolis DM, *et al*. HIV reservoirs: what, where and how to target them[J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 14(1): 55-60.

[8] Henrich TJ, Hatano H, Bacon O, *et al*. HIV-1 persistence following extremely early initiation of antiretroviral therapy (ART) during acute HIV-1 infection: an observational study[J]. PLoS Med, 2017, 14(11): e1002417-e1002417.

[9] Whitney JB, Hill AL, Sanisetty S, *et al*. Rapid seeding of the viral reservoir prior to SIV viraemia in rhesus monkeys[J]. Nature, 2014, 512(7512): 74-77.

[10] Banga R, Procopio FA, Noto A, *et al*. PD-1(+) and follicular helper T cells are responsible for persistent HIV-1 transcription in treated aviremic individuals[J]. Nat Med, 2016, 22(7): 754-761.

[11] McGary CS, Deleage C, Harper J, *et al*. CTLA-4^{+}PD-1^{-} memory CD4^{+} T cells critically contribute to viral persistence in antiretroviral therapy-suppressed, SIV-infected rhesus macaques[J]. Immunity, 2017, 47(4): 776-788.

[12] Estes JD, Kityo C, Ssali F, *et al*. Defining total-body AIDS-virus burden with implications for curative strategies[J]. Nat Med, 2017, 23(11): 1271-1276.

[13] Khoury G, Fromentin R, Solomon A, *et al*. Human immunodeficiency virus persistence and T-Cell Activation in blood, rectal, and lymph node tissue in human immunodeficiency virus-infected individuals receiving suppressive antiretroviral therapy[J]. J Infect Dis, 2017, 215(6): 911-919.

[14] Fukazawa Y, Lum R, Okoye AA, *et al*. B cell follicle sanctuary permits persistent productive simian immunodeficiency virus infection in elite controllers[J]. Nat Med, 2015, 21(2): 132-139.

[15] Castellano P, Prevedel L, Eugenin EA. HIV-infected macrophages and microglia that survive acute infection become viral reservoirs by a mechanism involving Bim[J]. Sci Rep, 2017, 7(1): 12866-12866.

[16] Desplats P, Dumaop W, Smith D, *et al*. Molecular and pathologic insights from latent HIV-1 infection in the human brain[J]. Neurology, 2013, 80(15): 1415-1423.

[17] Gallo RC. Shock and kill with caution[J]. Science, 2016,

354(6309): 177-178.

[18] 王海鹏, 陈承聪, 王芳香, 等. HIV 潜伏感染激活剂研究进展[J]. 病毒学报, 2017, 33(2): 293-302.

[19] Elliott JH, Wightman F, Solomon A, *et al*. Activation of HIV transcription with short-course vorinostat in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy[J]. PLoS Pathog, 2014, 10(10): e1004473-e1004473.

[20] Rasmussen TA, Tolstrup M, Brinkmann CR, *et al*. Panobinostat, a histone deacetylase inhibitor, for latent-virus reactivation in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy: a phase 1/2, single group, clinical trial[J]. Lancet HIV, 2014, 1(1): e13-e21.

[21] Sogaard OS, Graversen ME, Leth S, *et al*. The depsipeptide romidepsin reverses HIV-1 latency *in vivo*[J]. PLoS Pathog, 2015, 11(9): e1005142-e1005142.

[22] Hutter G. More on shift of HIV tropism in stem-cell transplantation with CCR5 delta 32/delta 32 mutation[J]. N Engl J Med, 2014, 371(25): 2437-2438.

[23] Cummins NW, Rizza S, Litzow MR, *et al*. Extensive virologic and immunologic characterization in an HIV-infected individual following allogeneic stem cell transplant and analytic cessation of antiretroviral therapy: a case study[J]. PLoS Med, 2017, 14(11): e1002461-e1002461.

[24] Cillo AR, Krishnan S, McMahon DK, *et al*. Impact of chemotherapy for HIV-1 related lymphoma on residual viremia and cellular HIV-1 DNA in patients on suppressive antiretroviral therapy[J]. PLoS One, 2014, 9(3): e92118-e92118.

[25] Tebas P, Stein D, Tang WW, *et al*. Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV[J]. N Engl J Med, 2014, 370(10): 901-910.

[26] Wang Z, Pan Q, Gendron P, *et al*. CRISPR/Cas9-derived mutations both inhibit HIV-1 replication and accelerate viral escape[J]. Cell Rep, 2016, 15(3): 481-489.

[27] 王若珂, 郭建影, 张林琦. 抗人类免疫缺陷病毒广谱中和抗体与疫苗设计[J]. 微生物与感染, 2013, 8(4): 203-212.

[28] Lu CL, Murakowski DK, Bournazos S, *et al*. Enhanced clearance of HIV-1-infected cells by broadly neutralizing antibodies against HIV-1 *in vivo*[J]. Science, 2016, 352(6288): 1001-1004.

[29] Schoofs T, Klein F, Braunschweig M, *et al*. HIV-1 therapy with monoclonal antibody 3BNC117 elicits host immune responses against HIV-1[J]. Science, 2016, 352(6288): 997-1001.

[30] Bruel T, Guivel-Benhassine F, Amraoui S, *et al*. Elimination of HIV-1-infected cells by broadly neutralizing antibodies[J]. Nat Commun, 2016, 7: 10844-10844.

[31] Nishimura Y, Gautam R, Chun TW, *et al*. Early antibody therapy can induce long-lasting immunity to SHIV[J]. Nature, 2017, 543(7646): 559-563.

[32] Casazza JP, Bowman KA, Adzaku S, *et al*. Therapeutic vaccination expands and improves the function of the HIV-specific memory T-cell repertoire[J]. J Infect Dis, 2013, 207(12): 1829-1840.

[33] Huang Y, Yu J, Lanzi A, *et al*. Engineered bispecific antibodies with exquisite HIV-1-neutralizing activity[J]. Cell, 2016, 165(7): 1621-1631.

[34] Xu L, Pegu A, Rao E, *et al*. Trispecific broadly neutralizing HIV antibodies mediate potent SHIV protection in macaques[J]. Science, 2017, 358(6359): 85-90.

[35] Pace CS, Song R, Ochsenbauer C, *et al*. Bispecific antibodies directed to CD4 domain 2 and HIV envelope exhibit exceptional breadth and picomolar potency against HIV-1[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2013, 110(33): 13540-13545.

[36] Sloan DD, Lam CYK, Koenig S, *et al*. Targeting HIV reservoir in infected CD4 T cells by dual-affinity re-targeting molecules (DARTs) that bind HIV envelope and recruit cytotoxic T cells[J]. PLoS Pathog, 2015, 11(11): e1005233-e1005233.

[37] Wang Z, Gurule EE, Brennan TP, *et al*. Expanded cellular clones carrying replication-competent HIV-1 persist, wax, and wane[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2018, 115(11): E2575-E2584.

[38] Shan L, Deng K, Gao H, *et al*. Transcriptional reprogramming during effector-to-memory transition renders $CD4^+$ T cells permissive for latent HIV-1 infection[J]. Immunity, 2017, 47(4): 766-775.

[39] Wang N, Li Y, Han Y, *et al*. HIV sequence diversity during the early phase of infection is associated with HIV DNA reductions during antiretroviral therapy[J]. J Med Virol, 2017, 89(6): 982-988.

[40] Chen J, Xun J, Yang J, *et al*. Plasma indoleamine 2, 3-dioxygenase activity is associated with the size of HIV reservoir in patients receiving antiretroviral therapy[J]. Clin Infect Dis, 2018, doi: 10.1093/cid/ciy676.

（责任编辑：王 佳）