

HIV 特异细胞免疫研究进展及其对疫苗发展的意义

阮光萍,姚翔综述,潘兴华 审校

(中国人民解放军昆明总医院临床实验科 650032)

关键词:HIV; T淋巴细胞,细胞毒性; 免疫,细胞; 疫苗

DOI:10.3969/j.issn.1673-4130.2011.01.038

文献标识码:A

文章编号:1673-4130(2011)01-0080-03

细胞毒 T 淋巴细胞(CTLs)在控制人类免疫缺陷病毒(HIV)1型感染中起重要作用。然而其作用是有限的,因为 HIV-1 变异株的不断出现,这些变异株的 CTL 表位也发生了突变。一些 HIV 感染者疾病长期不进展,在这些感染者中存在高频数的 HIV-1 特异 CTLs,是 HIV 感染被控制的原因还是结果需要进一步研究。新观点认为,不是 CTLs 溶解细胞活性,而是通过选择复制能力降低 HIV-1 变异株,使病毒载量减少。研究表明,为了达到防止 HIV-1 感染,疫苗应该引起广泛的、有效的中和抗体反应,同时引起有效的 CTLs 反应。本文对 HIV 细胞免疫研究进展和 HIV 疫苗的发展作一综述。

1 HIV-1 感染的临床进展

人类免疫缺陷病毒 1 型(human immunodeficiency virus type 1, HIV-1)感染后,不同人群的疾病进展有很大的不同,不进行抗病毒治疗,通常感染后 5~7 年发展为艾滋病,快速的疾病进展有的小于 2 年,也有大于 25 年。长期没有发展的 HIV 感染者(long-term nonprogressors, LTNPs)称为无症状 HIV-1 阳性患者,连续观察 9 年,CD4 计数稳定地高于 400 个细胞,在 HIV-1 感染人群中,大约占 5%^[1]。LTNPs 者的病毒载量很低,但可以检测,最近还被称为“精确控制者”,其不进行抗病毒治疗,能维持 HIV RNA 低于 50 copy/mL 至少 1 年,这在 HIV 感染者中低于 1%^[2]。

影响 HIV-1 疾病进展率的几个因素被确定,包括感染减弱的病毒,如 HIV-1 变异株(删除了病毒的 nef 基因),这类患者表现为长期的无症状存活,然而当病毒载量升高到一定程度时,病毒的复制能力增强,这时疾病将加速进展。

宿主的原因也影响感染的临床进展,如 CCR5 基因的第 32 位碱基对(编码 HIV-1 的共受体)的删除与推迟疾病进展有关。HIV-1 特异性免疫反应对控制病毒血症和疾病进展的作用也很受重视。尽管抗体对保护感染很重要,但对推迟和防止疾病进展的作用有限。这一观察,加上特定的人类白细胞抗原(HLA) I 类分子和病毒控制之间的相关性,说明有效的 HIV 特异 CD8⁺ T 细胞免疫是驱除 HIV 病毒的主要因素,尽管确切的机制还不清楚。

2 细胞毒 T 淋巴细胞的作用

HIV-1 特异细胞毒 T 淋巴细胞(cytotoxic T lymphocyte, CTL)强有力的活性表明了细胞免疫和控制 HIV-1 感染之间的因果关系,也进一步强调了在急性感染时,病毒特异 CTL 反

应发生和病毒血症减弱之间的暂时联系。尽管在 HIV 特异 CD8⁺ T 细胞频数(由 IFN- γ 产生确定)和病毒血症被控制之间没有明确的联系,关于这些细胞的功能,LTNPs 者、精确控制者与进展者、未控制者不同,对 HIV 抗原作出的反应都不同,包括 HIV 特异 T 细胞增生的能力,产生溶细胞蛋白穿孔素,产生多种细胞因子(IFN- γ 、MIP1- β 、TNF- α 、IL-2 和(或)CD107a)的能力都不同^[3-4]。而且 LTNPs 者和精确控制者新鲜分离的 CD8⁺ T 细胞的抗病毒溶解细胞的能力高于进展者和未控制者^[5]。来自 LTNPs 者的 CD8⁺ T 细胞通常的目标蛋白是 Gag,而在进展者 CD8⁺ T 细胞的目标蛋白通常是 Env 和附属/调节蛋白^[6-8]。总之,这些数据强烈地表明针对 HIV 的有力的 CD8⁺ T 细胞反应,至少在一些 HIV 控制者是控制 HIV 的原因。

为了进一步探讨这个问题,研究者在猿免疫缺陷病毒(SIV)感染的猿模型进行了几个研究,这样可以更细致地定义体内的病毒控制的免疫学机制。如同在人类,小部分猿能自发地控制致病的 SIV 感染,在这些动物中抗体介导地清除 CD8⁺ T 细胞导致快速升高的 SIV 载量^[9]。另外,在可检测到病毒载量的动物,它们缺乏自然控制病毒血症的能力,清除它们的 CD8⁺ T 细胞会导致病毒载量的升高。这些观察似乎证明控制病毒血症至少部分通过 CD8⁺ T 细胞介导。然而,在猿的 CD8⁺ T 细胞清除实验中发现,CD8⁺ T 细胞的动力学和潜在的功能都会发生显著的变化。很明显,这些变化也影响病毒的动力学^[10]。尽管 CD8⁺ T 细胞的再出现在所有研究中都与病毒载量的下降有关,但不能排除其他 CD8⁺ T 细胞,如自然杀伤(NK)细胞也被清除,因此控制病毒血症不是或仅是部分关于 CD8⁺ CTL 功能。有效的 CD8⁺ T 细胞的再出现与病毒载量的减低有关,表明又建立了病毒控制。尽管这些数据强烈支持 HIV 特异 CTLs 控制病毒血症的作用,在众多研究中仍然争论 CTLs 不总是能完成这个保护作用。实际上,最早的研究检测记忆 CTL 前体表明,在快速进展者和 LTNPs 者感染早期有高频数的 CTL 前体细胞,然而随着时间的推移 LTNPs 者的这些 CTL 前体细胞频数一直保存着,而进展者后来消失了。与非控制者对比,HIV 特异 CD8⁺ T 细胞功能很好地保存在 LTNPs 者和精确控制者。

最近进行的前瞻性群组研究表明,96 个参与者来自阿姆斯特丹群组,在跟踪中其 HIV-1 抗体发生阳转,在感染后早期

不能证明 T 细胞免疫和病毒载量之间有联系,更重要的是在无症状感染早期由 HIV-1 肽引起的 IFN- γ 和 IL-2 产生证明,充足的 T 细胞免疫不能防止和推迟进展到获得性免疫缺乏综合征(AIDS)。尽管进展者和 LTNP 者在感染早期 CTL 反应没有区别,进展者在感染过程中失去 HIV 特异 T 细胞免疫更快速,研究认为,免疫力的失去是疾病进展的结果而不是原因。在研究中发现面对增加的病毒载量,观察到 IFN- γ 阳性 T 细胞的扩增明显不能控制病毒复制,说明病毒载量的增加促使 HIV 特异 T 细胞的扩增,而不是 HIV 特异 T 细胞对控制病毒载量起作用。这些研究表明,在慢性感染时病毒载量不能或仅是部分被 T 细胞免疫控制,而且抗原水平似乎决定了 T 细胞的功能和表型。在高病毒载量的患者,HIV 特异 T 细胞上增加表达的抑制受体程序细胞凋亡-1(PD-1)和细胞毒 T 淋巴细胞抗原-4(CTLA-4)也与这个结论相一致^[11-12]。以 HIV-1 Gag 蛋白为目标的细胞免疫和 Gag 特异反应的增强使疾病进展较慢。

3 病毒突变

有观点反对 CTLs 在控制 HIV 感染中的关键作用,实际上 HIV-1 变异株的 CTL 表位突变是不断选择的,因此证明了 CTLs 对病毒是有作用的。由于致突变的反转录酶缺乏校对活性,每轮复制循环每个基因组至少 1 个点突变,每天大约 10^{10} 个新的病毒体被产生,因此理论上每天每个可能的突变在基因组每个位点能被产生,包括 CTL 表位的突变。

逃脱 CTL 攻击的多种机制被描述,如果突变发生在所谓的表位的锚定残基位置,肽不再可能连接到 MHC-I 类分子,导致感染细胞表面完全失去了表位呈递。而且突变在 CTL 表位侧面会影响抗原处理。表位的突变,有一些发生在锚定残基位置,不损害肽/MHC-I 类分子连接,在这种情况下,表位仍然呈递到细胞表面与 MHC-I 类分子连接,但是被 T 细胞受体识别和随后活化 CTL 效应功能会明显受影响。

在锚定残基位置的突变会导致失去表位呈递,在这种情况下,1 个新的 CTL 反应会产生。然而在 CTL 识别的部分表位的突变不影响肽呈递,将不会妨碍产生新的 CTL 反应。

4 CTL 选择 HIV 变异株

研究表明,随着病毒载量的快速增加,HIV-1 变异株会出现,并快速进展为艾滋病。然而,一些变异株对感染的临床进展没有影响。实际上 CTLs 通过选择不能存活的 SIV 或 HIV-1 变异株,间接地帮助宿主控制病毒载量,突变会传递病毒给 MHC-I 类不相配的受体,而逃脱 CTL 的攻击^[13-14]。

考虑到 HIV-1 逃脱 CTL 控制的容易,推测不是 CTL 的溶细胞功能,而是 CTL 的选择产生了 HIV-1 变异株,通过选择不能存活的 HIV-1 变异株是 CTLs 减少病毒载量最重要的作用。

5 HLA 和 HIV-1 感染的临床进展之间的关系

HLA 分子呈递肽给 CTLs,提供了免疫系统对病原产生特异反应的机制。HIV 特异免疫反应的多样性对抑制病毒起了关键的作用,HLA 分子决定了多样性。因此,HLA 多态性将影响疾病进展,观察特定等位基因的作用表明,任何 MHC-I 类 HLA 等位基因的杂合子会推迟疾病进展,因此快速进展与一些等位基因相关,如 HLA-B35 和 Cw4。HLA-B57 等位基因,占高加索人群的 11%和大约 9%的 HIV 阳性人群,与长期不进展相关,并相关于较低的病毒载量和无症状的急性 HIV 感染。相似的 HLA-B* 5703 等位基因,是非洲流行的 B57 亚型,在非洲人群中高度集中,这些人能维持低的病毒

载量。

6 免疫活化和疾病进展

研究表明,许多人群有 HIV 特异 CTL 反应,有助于在感染早期控制病毒载量,然而不仅是病毒突变的出现能减弱 CTL 的效果,而且 CTL 功能的缺失成为 HIV-1 感染进展的基础。实际上在 LTNP 者中,CTL 功能似乎更好地保持着,而在进展者 CTL 功能受损。

超免疫活化,与 HIV 诱导的适应免疫系统活化是不同的,是由微生物产物诱导,包括脂多糖是胃肠道渗透的结果,其次是在急性感染时大量的损失记忆的 CCR5⁺ CD4⁺ T 细胞。LTNP 者和进展者,在胃肠道记忆 CD4⁺ T 细胞清除的程度是不同的,微生物迁移到外周血中的程度也不同。

在天然免疫通路中,基因的多态性可以决定对微生物产物反应的免疫活化水平和后来的 HIV 疾病进展。抑制受体 KIR3DL1 和它的配体 Bw4-80I,与控制血浆病毒载量和推迟进展为艾滋病有关^[15]。

7 HIV 疫苗发展的当前状态

引起 HIV 特异 T 细胞免疫的疫苗有助于减少病毒载量,因此不仅能推迟疾病进展,而且能减少传播的危险。实际上,尽管疫苗组合了 3 个重组 Ad5 载体(Ad5-gag, Ad5-pol, Ad5-Nef),能引起 HIV 特异 CD8⁺ T 淋巴细胞的效应,但不能减少这些感染的病毒载量。诱导 HIV 特异 T 细胞免疫并且保存这些反应是疫苗发展的目标,观察发现不是 CTLs 的溶解细胞活性,而是它们对复制能力受损的 HIV-1 变异株的选择,使病毒载量降低,这方面还需要进行深入探索。

尽管极大的努力在于发展 HIV 疫苗引起病毒特异 T 细胞反应,这个研究是否真正能控制 HIV 感染仍然未知,决定什么 T 细胞反应对最初 HIV 控制起作用是很重要的。最近, HIV 疫苗实验表明,疫苗诱导高度有效的细胞毒 T 淋巴细胞(CTLs)在猴的艾滋病模型中病毒被清除。CTLs 对病毒复制发挥强烈的抑制效应,分析 CTL 诱导的病毒多态性将有助于决定有效的 CTLs 是 HIV 控制所必需的。传统疫苗尽力诱导保护性抗体和 CD8⁺ 淋巴细胞反应抗 HIV 和猴免疫缺陷病毒(SIV)是失败的,大量病毒的多样性直到最近才被疫苗学者认识。假说认为以 CTL 为基础的疫苗是 CD8⁺ 淋巴细胞直接抗原至少 5 个表位,它们来源于功能和结构限制区,将控制病原 SIV 的复制。这有点类似于通过 3 种药物来治疗或中和抗体以控制病毒复制。

8 小结

研究表明,为了达到防止 HIV-1 感染,疫苗应该引起广泛的、有效的中和抗体反应,同时引起有效的 CTL 反应。几乎近 25 年的研究没有产生 1 个疫苗能防止感染或推迟疾病进展,达到这个目标需要更进一步的研究。

参考文献

- [1] Navis M, Schellens I, van Baarle D, et al. Viral replication capacity as a correlate of HLA-B57/B5801-associated nonprogressive HIV-1 infection[J]. J Immunol, 2007, 179(5):3133-3143.
- [2] Lambotte O, Boufassa F, Madec Y, et al. HIV controllers: a homogeneous group of HIV-1-infected patients with spontaneous control of viral replication[J]. Clin Infect Dis, 2005, 41(7):1053-1056.
- [3] 李好蓉, 赵金媛, 李朝争, 等. HIV-1 感染对吞噬细胞功能

- 的影响[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(11): 1048-1049.
- [4] 陈茶, 黄彬, 姜悦. 1 种细胞免疫学新技术——酶联免疫斑点技术[J]. 国际检验医学杂志, 2006, 27(3): 243-246.
- [5] Saez-Cirion A, Lacabaratz C, Lambotte O, et al. HIV controllers exhibit potent CD8 T-cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104(16): 6776-6781.
- [6] Kiepiela P, Ngumbela K, Thobakgale C, et al. CD8⁺ T-cell responses to different HIV proteins have discordant associations with viral load[J]. Nat Med, 2007, 13(1): 46-53.
- [7] Honeyborne I, Prendergast A, Pereyra F, et al. Control of human immunodeficiency virus type 1 is associated with HLA-B*13 and targeting of multiple Gag-specific CD8⁺ T-cell epitopes[J]. J Virol, 2007, 81(7): 3667-3672.
- [8] Honeyborne I, Prendergast A, Pereyra F, et al. Control of human immunodeficiency virus type 1 is associated with HLA-B*13 and targeting of multiple Gag-specific CD8⁺ T-cell epitopes[J]. J Virol, 2007, 81(7): 3667-3672.
- [9] Friedrich TC, Valentine LE, Yant LJ, et al. Subdominant CD8⁺ T-cell responses are involved in durable control of AIDS virus replication[J]. J Virol, 2007, 81(7): 3465-3476.
- [10] Veazey RS, Acierno PM, McEvers KJ, et al. Increased loss of CCR5⁺ CD45RA-CD4⁺ T cells in CD8⁺ lymphocyte-depleted simian immunodeficiency virus-infected rhesus monkeys[J]. J Virol, 2008, 82(11): 5618-5630.
- [11] Trautmann L, Janbazian L, Chomont N, et al. Upregulation of PD-1 expression on HIV-specific CD8⁺ T cells leads to reversible immune dysfunction[J]. Nat Med, 2006, 12(10): 1198-1202.
- [12] Day CL, Kaufmann DE, Kiepiela P, et al. PD-1 expression on HIV-specific T cells is associated with T-cell exhaustion and disease progression [J]. Nature, 2006, 443(7109): 350-354.
- [13] Seki S, Kawada M, Takeda A, et al. Transmission of simian immunodeficiency virus carrying multiple cytotoxic T-lymphocyte escape mutations with diminished replicative ability can result in AIDS progression in rhesus macaques [J]. J Virol, 2008, 82(10): 5093-5098.
- [14] Loh L, Batten CJ, Petravic J, et al. In vivo fitness costs of different Gag CD8 T-cell escape mutant simian-human immunodeficiency viruses for macaques[J]. J Virol, 2007, 81(10): 5418-5422.
- [15] Martin MP, Qi Y, Gao X, et al. Innate partnership of HLA-B and KIR3DL1 subtypes against HIV-1 [J]. Nat Genet, 2007, 39(6): 733-740.