

DOI:10.13350/j.cjpb.230524

· 综述 ·

## HIV 潜伏病毒库清除策略的研究进展\*

邓博文<sup>1,2</sup>, 刘真<sup>1,2</sup>, 李承乘<sup>1,2</sup>, 杨瑶瑶<sup>1,2</sup>, 张清燕<sup>1,2</sup>, 桑锋<sup>1,2</sup>, 李杰<sup>1,2</sup>, 李强<sup>1,2,\*</sup>

(1. 河南中医药大学第一附属医院, 河南郑州 450000; 2. 河南省病毒性疾病中医药防治重点实验室)

**【摘要】** 艾滋病是严重危害人体健康的慢性传染性疾病, 目前尚无有效疫苗和根治药物。HIV 潜伏病毒库的存在是体内病毒不能被彻底清除的主要障碍, 如何清除 HIV 潜伏病毒库是现阶段艾滋病治愈的研究热点。本文通过阐述 HIV 潜伏病毒库的形成及维持机制、存储位置、检测方法、清除策略等方面的研究进展, 旨在为艾滋病功能性治愈的研究提供新思路。

**【关键词】** 艾滋病; 潜伏病毒库; 清除策略; 综述

**【中图分类号】** R373.9

**【文献标识码】** A

**【文章编号】** 1673-5234(2023)05-0614-05

[*Journal of Pathogen Biology*. 2023 May;18(5):614-618, inside back cover.]

### Research advance in the strategies for clearing latent viral reservoir of HIV

DENG Bowen<sup>1,2</sup>, LIU Zhen<sup>1,2</sup>, LI Chengcheng<sup>1,2</sup>, YANG Yaoyao<sup>1,2</sup>, ZHANG Qingyan<sup>1,2</sup>, SANG Feng<sup>1,2</sup>, LI Jie<sup>1,2</sup>, LI Qiang<sup>1,2</sup> (1. *The First Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450000, China*; 2. *Key Laboratory of Viral Diseases Prevention and Treatment of Traditional Chinese Medicine of Henan Province*)

**【Abstract】** AIDS is a chronic infectious disease that seriously endangers human health, and there is no effective vaccine and radical drug at present. The existence of HIV latent virus reservoir is the main obstacle that the virus can't be completely eliminated in vivo. Therefore, how to clear the latent virus reservoir is the focus of AIDS cure research at this stage. In this paper, the research progress of the formation and maintenance mechanism, storage location, detection methods and clearance strategies of HIV latent virus reservoir are described, which aims to provide new ideas for the research of functional cure of AIDS.

**【Key words】** HIV/AIDS; Latent viral reservoir; clearance strategies; review

\*\*\*人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)主要破坏人体免疫系统, 导致艾滋病(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)的发生。高效抗逆转录药物疗法(highly active antiretroviral therapy, HAART)是目前治疗 HIV/AIDS 的首选药物, 有效抑制 HIV 复制, 减少并发症, 延缓病程<sup>[1]</sup>。HIV 潜伏病毒库(latent viral reservoir, LVR)是指 HIV DNA 整合至宿主基因组中, 具产毒能力但处于长期潜伏状态。HIV 主要潜伏在静息 CD4<sup>+</sup>T 细胞中, 其半衰期约为 44 个月, HAART 将其清除需要治疗 60 年<sup>[2]</sup>, 一旦停止治疗, 潜伏的 HIV 在两周左右迅速反弹<sup>[3]</sup>, 无法彻底清除病毒达到完全治愈的效果。因此, 清除 HIV 潜伏病毒库是目前治愈艾滋病的重要策略。本文系统阐述 HIV LVR 的形成及维持机制、存储位置、检测方法、清除策略等方面的研究进展, 为研究艾滋病功能性治愈提供新思路。

### 1 HIV 潜伏病毒库的形成及维持机制

HIV 感染人体后, 包膜蛋白 gp120 与靶细胞 CD4-CCR5/CXCR4 相互作用暴露 gp41, 促使病毒和细胞融合, 核酸物质进入靶细胞。逆转录酶及 DNA 聚合酶的共同作用下, HIV RNA 合成 DNA。整合酶作用于病毒 DNA 及靶细胞 DNA 形成交叉切口, 病毒基因嵌入靶细胞 DNA, 形成 HIV 前病毒<sup>[4]</sup>。整合的 HIV 前病毒在活化的细胞中大部分转录翻译合成病毒, 导致感染的细胞死亡, 小部分则转变为潜伏细胞。在静息细胞

中, HIV 基因表达会被多种因素干扰, 大量凝集的异染色质在细胞中积累, 形成 LVR<sup>[5]</sup>。目前, 关于 HIV 潜伏感染维持机制的研究主要围绕以下 5 个方面。

**1.1 整合位点** HIV DNA 整合至靶细胞染色质是 HIV 潜伏的必要条件。HIV 整合酶与 DNA 聚合酶作用下, HIV DNA 整合至宿主细胞 DNA 内, 整合位置更倾向于转录活跃基因的内含子, 占比约 93%。病毒整合易影响宿主基因转录, 造成该区域基因沉默<sup>[6]</sup>。此外, HIV DNA 整合于靶细胞染色体着丝粒旁的基因空白区域或异染色质时, 染色质环境改变, 阻碍基因表达, 促进病毒潜伏<sup>[7]</sup>。

**1.2 表观遗传** 整合的 HIV DNA 易发生 DNA 甲基化, 组蛋

\* **【基金项目】** 国家自然科学基金青年基金项目(No. 82004207, 82205059, 82104559); 河南省重点研发与推广专项(科技攻关)课题(No. 222102310074, 212102311126); 河南省自然科学基金项目(No. 202300410255); 河南省高等学校重点科研项目计划支持(No. 22B360007, 21A360010); 河南省卫生健康委国家中临床研究基地科研专项(No. 2018JDZX066, 2021JDZX006, 2021JDZX076, 2021JDZY080)

\*\* **【通讯作者】** 李强, E-mail: strongmz@163.com

**【作者简介】** 邓博文(1990-), 男, 河南商丘人, 本科, 主管技师, 主要从事艾滋病中医药防治相关研究。  
E-mail: dengbowenabc@163.com

白(histone, HIS)尾部的甲基化、乙酰化及去乙酰化等蛋白质修饰<sup>[8]</sup>,该修饰不仅干扰染色体的凝聚,且调节转录激活因子对染色质的可及性。HIV核心转录启动子与上游序列结合抑制态蛋白(CBF-1、NF- $\kappa$ B)及负性调节蛋白(p50同源二聚体、Spl等)。其与YY1/CTIP-2募集组蛋白去乙酰化酶(HDACs)结合HIV LTR启动子,将核小体1(Nuc1)组蛋白去乙酰化,抑制RNA聚合酶II(RNAPII)与HIV核心启动子结合,阻碍HIV基因的延伸<sup>[9]</sup>,促使HIV潜伏。其次,负调节因子招募组蛋白甲基转移酶(HMTs)甲基化Nuc1上HIS3-Lys9(H3K9),进而与异染色体蛋白1 $\gamma$ (HP1 $\gamma$ )结合,促进染色体异质化<sup>[10]</sup>。负调控因子亦招募DNA甲基转移酶(DNMTs)甲基化LTR区的CpG序列,其通过MeCP的识别,募集HMTs及HDACs至LTR,阻止HIV转录<sup>[11]</sup>,导致HIV潜伏。再者,溴结构域外域(BET)蛋白BRD4募集P-TEFb,使HIS乙酰化,导致转录沉默,促使病毒潜伏。此外,CBF-1降低RNAPII的数量,募集HDACs至LTR去除Nuc1的乙酰化,阻碍HIV转录,导致病毒潜伏<sup>[12]</sup>。

**1.3 转录因子** 转录因子与RNAPII结合形成转录起始复合体,共同参与转录起始。整合的HIV DNA转录启动子含有大量转录因子结合点。静息细胞内含有大量YY1/LSF等抑制物,阻碍转录因子及调节因子与HIV 5'-LTR转录调节区的正常结合,影响HIV基因转录<sup>[13]</sup>。因转录延伸因子p-TEFb的功能受HEXIM1及BRD4等的限制,转录因子无法与RNAPII结合,阻碍HIV转录延伸。转录至启动子下游+59区时,Nuc1与自身结合的负转录延伸因子DSIF及NELF结合,中止转录,导致HIV潜伏。

**1.4 微小RNA(micro RNA, miRNA)** 细胞产生的特定miRNA靶向结合mRNA,降解mRNA或抑制mRNA翻译。如miR-29a与Nef mRNA碱基互补配对,阻碍HIV基因表达使其潜伏<sup>[14]</sup>。其次,miRNA亦调节细胞因子表达,影响病毒复制和靶细胞的免疫功能,调控HIV潜伏。

**1.5 病毒蛋白** HIV潜伏细胞被Tat及Rev等多个病毒蛋白调控。Tat蛋白为转录反式激活因子,招募p-TEFb与HIV TAR结合,促使Tat乙酰化及转录延伸,激活潜伏细胞。反之,Tat的缺乏将导致HIV潜伏<sup>[15]</sup>。再者,调控蛋白Rev结合HIV mRNA,加速其核质转运,阻碍病毒潜伏。Rev的表达缺少引起HIV的潜伏<sup>[16]</sup>。此外,潜伏细胞骨架区Gag基因的突变或缺陷可直接导致HIV潜伏<sup>[17]</sup>。

## 2 HIV潜伏病毒库的储存位置

前期研究显示,HIV主要潜伏在半衰期较长的静息CD4<sup>+</sup>T细胞,随着研究的深入,在其他免疫细胞中亦存在HIV LVR,如巨噬细胞(M $\phi$ )、树突状细胞(DC)、单核细胞(MoNo)及自然杀伤细胞(NK)等<sup>[18]</sup>。

**2.1 T细胞** 静息CD4<sup>+</sup>T细胞常以初始性T细胞与记忆性T细胞两类形式存在。当HIV进入初始细胞,因缺少反转录调节因子及转运元件而阻止HIV复制,最终初始T细胞分化为静息记忆性T细胞<sup>[19]</sup>。不同的记忆性T细胞中HIV DNA特性不同。Chomont等<sup>[20]</sup>发现,中心记忆性T细胞包含较多HIV DNA,是HAART时期HIV长期存在的主要场所,而效应记忆性T细胞中整合HIV DNA却高于中心记忆性T细胞。干细胞样记忆性T细胞是HAART时期HIV存在较长时间的

细胞种类,其HIV DNA的半衰期约277个月,而中央记忆性T细胞与效应记忆性T细胞为144及88个月<sup>[21]</sup>。此外,HAART时期的辅助性T细胞中,Th17细胞的HIV DNA含量较高,持久性较强,而Th1细胞的HIV DNA却消减较快<sup>[22]</sup>。

**2.2 巨噬细胞** M $\phi$ 可直接被HIV感染,亦被吞噬带毒的CD4<sup>+</sup>T细胞感染<sup>[23]</sup>。在HAART时期,被HIV感染的M $\phi$ 仍可存活,暂停服药后即恢复感染。M $\phi$ 以融合或旁分泌的形式将HIV扩散至CD4<sup>+</sup>T细胞,增加HIV潜伏感染的数量<sup>[24]</sup>。

**2.3 树突状细胞** DC中潜伏的HIV细胞数量约占1%,能被刺激活化,并产生病毒颗粒<sup>[25]</sup>。Pena-Cruz等<sup>[26]</sup>研究表明,HAART期间女性CD1a<sup>+</sup>阴道上皮DC中表达的HIV DNA含量较高,其能成为阴道组织中的LVR。滤泡树突状细胞在不感染的情况下,通过其表面携带稳定的HIV成为潜伏病毒库<sup>[27]</sup>。

**2.4 其他细胞和组织** 接受HAART治疗的患者淋巴组织中,HIV虽主要存在于滤泡辅助T细胞,但HIV LVR却存在于B细胞的滤泡区,因CD8<sup>+</sup>T细胞难以进入此区,病毒可躲避CD8<sup>+</sup>T细胞的直接杀伤<sup>[28]</sup>。体内有许多类似免疫豁免的特殊部位,包含多个淋巴器官和组织,如脾脏、淋巴结、中枢神经系统及肠道相关淋巴组织等。此外,因HAART药物不能进入人体的生理屏障,导致组织利用率下降,为病毒的潜伏创造了有利的生理环境<sup>[29]</sup>。

## 3 HIV潜伏病毒库的检测方法

目前,HIV LVR的检测方法通常包括基于体外细胞培养的病毒生长测定及基于PCR技术的HIV DNA测定。

### 3.1 基于细胞培养的检测方法

**3.1.1 定量病毒生长测定(quantitative viral out-growth assay, Q-VOA)** Q-VOA是LVR测定的金标准,能检测到可复制的前病毒含量<sup>[30]</sup>。标准的Q-VOA方法为:倍比稀释从患者体内分离的静息CD4<sup>+</sup>T细胞;添加植物血凝素及辐照的同种异体外周血单个核细胞激活静息CD4<sup>+</sup>T细胞;第2、7 d分别加入正常的CD4<sup>+</sup>T细胞来扩增感染细胞释放的病毒;两周后测定培养液中的HIV p24抗原含量,评估静息细胞感染的频率。

Laird等<sup>[31]</sup>改良的Q-VOA利用表达CD4、CCR5和CXCR4较高的MOLT4/CCR5细胞株替代健康人CD4<sup>+</sup>T细胞,采用RT-PCR测定培养第7 d的游离病毒,计算潜伏感染频率,以此替代ELISA测定第14 d p24抗原。该检测方法的优点是能定量检测携带有复制能力潜伏病毒细胞的最小数目。缺点是Q-VOA耗时长、成本高,单轮刺激仅能激活小部分的前病毒,大部分需要反复刺激才被激活,导致QVOA低估体内潜伏病毒库的60倍。

**3.1.2 TZA(TZM-bl based assay, TZA)** Sanyal等<sup>[32]</sup>在改良的Q-VOA的基础上开发的主要用于估算被诱导的潜伏病毒库。此技术基于TZM-bl细胞系稳定表达CD4、CCR5和CXCR4,并具有荧光素酶及 $\beta$ -半乳糖苷酶报告基因,使用高效激活剂激活静息CD4<sup>+</sup>T细胞,将其与TZM-bl报告细胞共培养48 h,通过检测实验组和阴性对照组中 $\beta$ -半乳糖苷酶的表达量,定量测定具有复制能力的HIV。TZA是Q-VOA预估潜伏病毒库的70多倍。其优点是周期短、样本少、灵敏度高、成本

仅为 Q-VOA 的 1/3, 可实现高通量的病毒库检测<sup>[33]</sup>, 缺点是 TZ4 对复制缺陷的病毒颗粒并不敏感, 易忽视此类病毒库。

### 3.2 基于 PCR 的检测方法

**3.2.1 Alu-gag PCR** 此方法定量测定细胞中整合前病毒<sup>[34]</sup>, 采用巢式 PCR 扩增 gag 与 Alu 之间的片段<sup>[35]</sup>, 再对扩增片段中 LTR 的 R-U5 区进行扩增。其对整合前病毒检测的特异性与灵敏性较高, 不仅能辨出整合与非整合的 HIV DNA, 还用于评价药物对 HIV DNA 整合率的影响。Alu-gag PCR 检测的缺点是首轮 PCR 扩增效率易受基因整合数、扩增距离及基因突变等因素的影响, 导致结果不精确。此外, 因其无法辨别整合 DNA 是否存在缺陷, 导致高估具有复制力的潜伏病毒库。

**3.2.2 Tat/Rev 诱导的限制稀释法 (tat/rev induced limiting dilution assay, TILDA)** 此方法通过测定潜伏感染细胞诱导产生的 tat/rev 多拼接 RNA (msRNA) 对潜伏病毒库进行定量。在确保细胞活性的前提下, 对纯化的 CD4<sup>+</sup> T 细胞以最高限度诱导激活, 清除激活剂并对细胞梯度稀释, 吸取微量细胞稀释液预扩增。通过定量 PCR 检测实验组及对照组 msRNA 的含量, 计算 HIV 潜伏感染的细胞频率。TILDA 不需提取病毒 RNA, 具有较高的特异性和重复性, 周期约为两天。在静息的 CD4<sup>+</sup> T 细胞中使用超灵敏的方法检测到 msRNA, 因 msRNA 不一定形成病毒, 则 TILDA 会高估潜伏病毒库<sup>[36]</sup>。

**3.2.3 完整前病毒 DNA 检测技术 (intact proviral DNA assay, IPDA)** 此技术是 Bruner 等<sup>[37]</sup>在 ddPCR 多重检测技术基础上研发的。通过近全基因组测序方法 (nFGS) 找出除 5'-LTR 区域外整个基因组中存在的缺陷类型并设计识别探针, 利用两个保守序列设计引物和高突变识别探针, 对 HIV 的包装信号和 REV 进行检测, 将大部分缺失或突变严重的前病毒与完整的前病毒区别开。IPDA 识别 nFGS 中发现的 97% 缺陷的前病毒, 对完整的前病毒有较高的选择性, 能精确定量变异基因拷贝数。IPDA 仅检测 HIV 全基因组的 2% 高频突变区域来量化完整的前病毒 DNA, 因此, 该技术会高估完整的潜伏病毒库。

## 4 HIV 潜伏病毒库的清除策略

**4.1 骨髓移植及基因疗法** “柏林病人”与“伦敦病人”骨髓移植治疗不仅抑制 HIV 的复制和感染, 还清除 HIV 潜伏病毒库<sup>[38]</sup>。正常人中携带 CCR5 $\Delta$ 32/ $\Delta$ 32 纯合子基因的概率较低, 与患者骨髓配型成功的概率更低, 因此该方法不易被推广。

基于“柏林病人”治愈的案例, 研究人员采用锌指核酶技术、转录激活因子效应物核酶技术或 CRISPR/Cas9 系统<sup>[39]</sup>剪切细胞内整合的 HIV 前病毒。研究显示 LTR 靶向的 CRISPR/Cas9 系统不仅能完全清除潜伏感染细胞中整合的 HIV 前病毒, 还防止被 HIV 再次感染。该方法存在脱靶效应等技术难题, 因此, 具体实施时具有风险性。

**4.2 “激活再杀灭”策略** “激活再杀灭”是用潜伏逆转剂 (latency reversing agents, LRAs) 激活潜伏的 HIV, 通过自身的免疫功能及药物最大程度清除体内的 HIV<sup>[40]</sup>。此方案的成功与高效激活 HIV 潜伏病毒库密切相关。现有 LRAs 尚不能将所有的潜伏病毒激活, 研究者根据宿主基因的表现遗传学及 HIV 转录调控机制等特点发现多种潜伏逆转剂, 部分药物已用

于临床研究<sup>[41]</sup>。

**4.3 “阻滞并锁定”策略** 基于现有 LRAs 不能彻底激活 HIV 潜伏病毒库, 研究者提出“阻滞并锁定”策略, 其利用潜伏病毒库的特性抑制 HIV 潜伏病毒库转录, 致使潜伏的 HIV 病毒永久沉默<sup>[42]</sup>。

**4.3.1 维持潜伏机制干预** Murry 等<sup>[43]</sup>研究发现, 氯酸盐及愈创木酚等药物能够抑制磺化通路, INK128 可抑制病毒的转录。p300-HAT 抑制剂通过抑制细胞的乙酰化阻碍 HIV 基因的表达<sup>[44]</sup>。双脱氧皮质酮 A 与 Tat 蛋白的 TAR 结合域结合, 降低细胞和组织内的病毒 RNA, 使病毒保持潜伏状态<sup>[45]</sup>。

**4.3.2 转录基因沉默技术** 基于转录基因沉默技术将针对 HIV LTR 的小干扰 RNA (siRNA) 或人工短发夹 RNA (shRNA) 转入病毒感染的细胞, 加速特异性前病毒 RNA 序列的降解抑制病毒的转录和翻译, 进而抑制 HIV 的复制。目前发现的 shRNA 的靶点有 HIV 的启动子、长末端重复序列、gag、vif 及 nef 基因等, 此技术在体内的特异性较低, 导致正常的 mRNA 降解, 具有发生一系列安全风险<sup>[46]</sup>。

## 5 潜伏逆转剂

HIV 潜伏病毒库清除策略中, 骨髓移植成功率极低、基因疗法存在脱靶效应的风险、“阻滞并锁定”策略评价周期较长且永久沉默难以评估, 使得“激活再杀灭”策略成为研究的热点。LRA 是“激活再杀灭”策略的核心, 亦是清除 HIV 潜伏病毒库较有价值的药物, 根据 LRA 作用原理不同, 分为如下几类。

### 5.1 表观遗传修饰类

**5.1.1 DNA 甲基化抑制剂** DNMT 抑制剂是通过抑制甲基化转移酶而降低 DNA 的甲基化, 促进潜伏病毒复制。Aza-CdR 作为甲基化抑制剂, 将 HIV 转录起始位点的 CpG 区域去甲基, 使核小体解螺旋, 促进潜伏病毒库复制, 实现潜伏库逆转<sup>[47]</sup>。此类经典药品包括 UNCO638 及地西他滨, 其中地西他滨不仅能阻止 DNA 甲基化酶所诱导的潜伏病毒复制, 还可抗 HIV, 与白藜芦醇联合使用时能降低 HIV 的感染率。

**5.1.2 组蛋白修饰抑制剂** HMT 抑制剂可抑制病毒 DNA 的甲基化而激活潜伏的 HIV。因激活其效率不高, 常与其他 LRA 联合应用。此类经典药品有 Chaetocin 和 BIX01294 等<sup>[48]</sup>。此外, 组蛋白去甲基化酶 (HDMTs) 则能去甲基化 Nuc1 上的 H3K9, 促进 HIV 的转录。组蛋白乙酰转移酶 (HATs) 与组蛋白去乙酰化酶抑制剂 (HDACi) 拮抗 HDACs, 激活 HIV LTR 转录。HDACi 是目前研究最多的 1 类 LRA, 此类药品有伏立诺他及帕比司他等, 体外能有效激活潜伏病毒库<sup>[49]</sup>。

**5.2 正性转录延伸因子 b 激动剂** P-TEFb 是 RNAPII 转录所必需的物质, 由 Cyc T1 和 CDK9 构成, 与 Tat 蛋白形成复合体后结合 TAR RNA, 靠近转录停止的聚合酶, 诱导病毒产生<sup>[50]</sup>。小分子化合物 JQ1 通过竞争结合 P-TEFb 的抑制性复合物 BRD4<sup>[51]</sup>, 使 P-TEFb 两个复合物 CDK9 及 Cyc T1 与 BRD4 发生解离, HIV TAT 蛋白募集其与 TAR 位点结合促使转录延伸。此外, HMBA 通过激活 PI3K/Akt 信号通路导致 HEXIM1 磷酸化, 激活 P-TEFb, 促使 HIV 基因的转录延伸<sup>[52]</sup>。

**5.3 溴结构域抑制剂** 溴结构域及末端结构域 (BET) 抑制剂抑制 BRD4 与 P-TEFb 结合, 促使 Tat 与 P-TEFb 的结合,

诱导 HIV 前病毒的转录。此类分子有 JQ1 及 I-BET151 等,其中 JQ1 与 HDAC 抑制剂联合应用时能引起高水平潜伏 HIV 激活。OTX015 是高效 BRD 抑制剂,其在体外模型中能激活潜伏的前病毒,激活效率高于 JQ1<sup>[53]</sup>。此外,Apabetalone 既能激活潜伏病毒库转录,能诱导潜伏细胞死亡,促进 HIV 的清除,是一个多效的 LRA<sup>[54]</sup>。

**5.4 蛋白激酶 C 激动剂** 蛋白激酶 C(PKC)作用于多个 HIV LTR 调控元件,激活 PKC 诱导 I $\kappa$ B 的磷酸化及降解,促使 NF- $\kappa$ B 活化入核与 HIV LTR 对应位点相结合进行起始转录<sup>[55]</sup>。PKC 激动剂可促进组蛋白去甲基化及下游转录。此类激动剂有苔藓抑素、巨大戟醇-B 及佛波酯类等,其中巨大戟醇-B 激活性强、毒性小<sup>[56]</sup>。PKC 激动剂与 BET 抑制剂或 HMT 抑制剂联合应用能显著激活潜伏的 HIV<sup>[57]</sup>。

**5.5 Toll 样受体激动剂** Toll 样受体(toll-like receptors, TLRs) 激动剂能提高人体固有免疫,增强适应性免疫反应。MGN1703 作为 TLR9 激动剂不仅能诱导 CD4<sup>+</sup> T 细胞中潜伏的 HIV 表达,还活化 NK 细胞及 CD8<sup>+</sup> T 细胞,提高 IFN- $\alpha$  表达,促进病毒清除<sup>[58]</sup>。TLR7 激动剂 GS-9620 既能从潜伏感染的细胞中诱导产生 HIV RNA,同时能够杀伤 HIV 感染的 CD4<sup>+</sup> T 细胞<sup>[59]</sup>。此外,TLR1、TLR2、TLR5、TLR8 激活剂亦能激活潜伏感染细胞产生 HIV RNA。

**5.6 PI3K/AKT 激活剂** 戒酒硫(DSF)通过消耗细胞内负性调节蛋白 PTEN,调节 PI3K/AKT 信号通路,促使 NF- $\kappa$ B 启动前病毒转录,激活病毒库。临床研究表明 DSF 不仅增加患者血浆 HIV RNA 的病毒载量,且 DSF 与 HIV 转录存在剂量依赖性,激活潜伏病毒库<sup>[60]</sup>。

**5.7 细胞因子** IL-2、IL-7、IL-15、TNF- $\alpha$  及 GM-CSF 等细胞因子诱导 STAT5 的 C 末端磷酸化,激活 STAT5 同源或异源二聚体 STAT5A 与 STAT5B,激活 NFAT 及 NF- $\kappa$ B 等转录因子促使 HIV 的复制<sup>[61]</sup>。

## 6 小结

清除 HIV 潜伏病毒库是治愈艾滋病的关键环节。本文综述近年来关于 HIV 潜伏病毒库的理论及机制研究,以病毒库的形成作为出发点,明确病毒库存储位置,阐释潜伏病毒库的检测方法,聚焦于潜伏病毒库的清除策略。潜伏病毒库的形成及维持机制的深入研究为新的激活剂靶点提供研究方向;潜伏病毒库的位置及高精度的检测方法为量化潜伏病毒库的大小提供可靠研究平台;阐述清除潜伏病毒库的策略,综合运用各种策略的优点为清除潜伏病毒库提供新方案。据此,深入了解 HIV 潜伏病毒库从形成到清除的过程及研究进展,将为清除 HIV 潜伏病毒的研究提供新思路,亦为艾滋病的功能性治愈提供参考。

### 【参考文献】

[1] Lu DY, Wu HY, Yarla NS, et al. HAART in HIV/AIDS treatments: future trends[J]. Infect Disord Drug Targets, 2018, 18(1):15-22.

[2] Kulkosky J, Nunnari G, Otero M, et al. Intensification and stimulation therapy for human immunodeficiency virus type 1 reservoirs in infected persons receiving virally suppressive highly active antiretroviral therapy[J]. J Infect Dis, 2002, 186(10): 1403-1411.

[3] Davey RT Jr, Bhat N, Yoder C, et al. HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1999, 96(26):15109-15114.

[4] Turner BG, Summers MF. Structural biology of HIV[J]. J Mol Biol, 1999, 285(1):1-32.

[5] Archin NM, Margolis DM. Emerging strategies to deplete the HIV reservoir[J]. Curr Opin Infect Dis, 2014, 27(1):29-35.

[6] Shearwin KE, Callen BP, Egan JB. Transcriptional interference—a crash course[J]. Trends Genet, 2005, 21(6):339-345.

[7] Brady T, Agosto LM, Malani N, et al. HIV integration site distributions in resting and activated CD4<sup>+</sup> T cells infected in culture[J]. AIDS, 2009, 23(12):1461-1471.

[8] Nikolai BC, Feng Q. HIV latency gets a new histone mark[J]. Cell Host Microbe, 2017, 21(5):549-550.

[9] Turner AW, Margolis DM. Chromatin regulation and the histone code in HIV latency [J]. Yale J Biol Med, 2017, 90(2):229-243.

[10] Tyagi M, Pearson R J, Karn J. Establishment of HIV latency in primary CD4<sup>+</sup> cells is due to epigenetic transcriptional silencing and P-TEFb restriction[J]. J Virol, 2010, 84(13):6425-6437.

[11] Suzuki MM, Bird A. DNA methylation landscapes: Provocative insights from epigenomics[J]. Nat Rev Genet, 2008, 9(6):465-476.

[12] Tyagi M, Karn J. CBF-1 promotes transcriptional silencing during the establishment of HIV-1 latency[J]. EMBO J, 2007, 26(24):4985-4995.

[13] Chan CN, Dietrich I, Hosie MJ, et al. Recent developments in human immunodeficiency virus-1 latency research [J]. J Gen Virol, 2013, 94(5):917-932.

[14] Wang PF, Qu X, Zhou X, et al. Two cellular micro RNAs, miR-196b and miR-1290, contribute to HIV-1 latency[J]. Virology, 2015(486):228-238.

[15] Mbyone U, Karn J. The Molecular Basis for Human Immunodeficiency Virus Latency[J]. Annu Rev Virol, 2017, 4(1):261-285.

[16] Malim MH, Cullen BR. HIV-1 structural gene expression requires the binding of multiple Rev monomers to the viral RRE: Implications for HIV-1 latency[J]. Cell, 1991, 65(2):241-248.

[17] Ho YC, Shan L, Hosmane NN, et al. Replication-competent noninduced proviruses in the latent reservoir increase barrier to HIV-1 cure[J]. Cell, 2013, 155(3):540-551.

[18] Churchill MJ, Deeks SG, Margolis DM, et al. HIV reservoirs: what, where and how to target them[J]. Nat Rev Microbiol, 2016, 14(1):1-6.

- [19] Soriano-Sarabia N, Bateson RE, Dahl NP, et al. Quantitation of replication-competent HIV-1 in populations of resting CD4<sup>+</sup> T cells[J]. *J Virol*, 2014, 88(24):14070-14077.
- [20] Chomont N, El-Far M, Ancuta P, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation[J]. *Nat Med*, 2009, 15(8):893-900.
- [21] Buzon MJ, Sun H, Li C, et al. HIV-1 persistence in CD4<sup>+</sup> T cells with stem cell-like properties[J]. *Nat Med*, 2014, 20(2):139-142.
- [22] Sum H, Kim D, Li X, et al. Th1/17 polarization of CD4<sup>+</sup> T cells supports HIV-1 DNA persistence during antiretroviral therapy [J]. *J Virol*, 2015, 89(22):11284-11293.
- [23] Honeycutt JB, Wahl A, Baker C, et al. Macrophages sustain HIV replication in vivo independently of T cells [J]. *J Clin Invest*, 2016, 126(4):1353-1366.
- [24] Welsch S, Keppler OT, Habermann A, et al. HIV-1 buds predominantly at the plasma membrane of primary human macrophages [J]. *PLoS Pathog*, 2007, 3(3):e36.
- [25] Wu L, KewalRamani VN. Dendritic-cell interactions with HIV: infection and viral dissemination[J]. *Nat Rev Immunol*, 2006, 6(11):859-868.
- [26] Pena-Cruz V, Agosto LM, Akiyama H, et al. HIV-1 replicates and persists in vaginal epithelial dendritic cells[J]. *J Clin Invest*, 2018, 128(8):3439-3444.
- [27] Spiegel H, Herbst H, Niedobitek G, et al. Follicular dendritic cells are a major reservoir for human immunodeficiency virus type 1 in lymphoid tissues facilitating infection of CD4<sup>+</sup> T-helper cells[J]. *Am J Pathol*, 1992, 140(1):15-22.
- [28] 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):132-139.
- [29] Stein J, Storcksdieck M, Streeck H. Barriers to HIV cure[J]. *HLA*, 2016, 88(4):155-163.
- [30] Bruner KM, Hosmane NN, Siliciano RF. Towards an HIV-1 cure: measuring the latent reservoir[J]. *Trends Microbiol*, 2015, 23(4):192-203.
- [31] Laird GM, Eisele EE, Rabi SA, et al. Rapid quantification of the latent reservoir for HIV-1 using a viral outgrowth assay[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(5):e1003398.
- [32] Sanyal A, Maillard RB, Rinaldo CR, et al. Novel assay reveals a large, inducible, replication-competent HIV-1 reservoir in resting CD4(+) T cells[J]. *Nat Med*, 2017, 23(7):885-889.
- [33] Sanyal A, Rangachar VS, Gupta P. TZA, a sensitive reporter cell-based assay to accurately and rapidly quantify inducible, replication-competent latent HIV-1 from resting CD4<sup>+</sup> T Cells [J]. *Bio Protoc*, 2019, 9(10):e3232.
- [34] Liszewski MK, Yu JJ, O'Doherty U. Detecting HIV-1 integration by repetitive-sampling Alu-gag PCR[J]. *Methods*, 2009, 47(4):254-260.
- [35] Brady T, Kelly BJ, Male F, et al. Quantitation of HIV DNA integration: Effects of differential integration site distributions on Alu-PCR assays[J]. *J Virol Methods*, 2013, 189(1):53-57.
- [36] Procopio FA, Fromentin R, Kulpa DA, et al. A novel assay to measure the magnitude of the inducible viral reservoir in HIV-infected individuals[J]. *EBioMedicine*, 2015, 2(8):874-883.
- [37] Bruner KM, Wang Z, Simonetti FR, et al. A novel quantitative approach for measuring the reservoir of latent HIV-1 proviruses [J]. *Nature*, 2019, 566(7742):120-125.
- [38] Hutter G, Nowak D, Mossner M, et al. Long-Term Control of HIV by CCR5 Delta32/Delta32 stem-cell transplantation [J]. *New Engl J Med*, 2009, 360(7):692-698.
- [39] Wang P, Qu X, Wang X, et al. Specific reactivation of latent HIV-1 with designer zinc-finger transcription factors targeting the HIV-1 5'-LTR promoter[J]. *Gene Ther*, 2014, 21(5):490-495.
- [40] Deeks SG. HIV: Shock and kill[J]. *Nature*, 2012, 487(7408):439-440.
- [41] Gutierrez C, Serrano-Villar S, Madrid-Elena N, et al. Bryostatin-1 for latent virus reactivation in HIV-infected patients on antiretroviral therapy[J]. *AIDS*, 2016, 30(9):1385-1392.
- [42] Vansant G, Bruggemans A, Janssens J, et al. Block-and-lock strategies to cure HIV infection[J]. *Viruses*, 2020, 12(1):84.
- [43] Murry JP, Godoy J, Mukim A, et al. Sulfonation pathway inhibitors block reactivation of latent HIV-1 [J]. *Virology*, 2014:471-473.
- [44] Mantelingu K, Reddy BA, Swaminathan V, et al. Specific inhibition of p300-HAT alters global gene expression and represses HIV replication[J]. *Chem Biol*, 2007, 14(6):645-657.
- [45] Mousseau G, Clementz MA, Bakeman WN, et al. An analog of the natural steroidal alkaloid cortistatin A potently suppresses Tat-dependent HIV transcription[J]. *Cell Host Microbe*, 2012, 12(1):97-108.
- [46] Ahlenstiel C, Mendez C, Lim ST, et al. Novel RNA Duplex Locks HIV-1 in a Latent State via Chromatin-mediated Transcriptional Silencing[J]. *Mol Ther Nucleic Acids*, 2015, 4(10):e261.
- [47] Blazkova J, Trejbalova K, Gondois-Rey F, et al. CpG methylation controls reactivation of HIV from latency[J]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(8):e1000554.
- [48] Bouchat S, Gatot JS, Kabeya K, et al. Histone methyltransferase inhibitors induce HIV-1 recovery in resting CD4(+) T cells from HIV-1-infected HAART-treated patients[J]. *AIDS*, 2012, 26(12):1473-1482.
- [49] 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.
- [50] Tahirov TH, Babayeva ND, Varzavand K, et al. Crystal structure of HIV-1 Tat complexed with human P-TEFb [J]. *Nature*, 2010, 465(7299):747-751.
- [51] Hakre S, Chavez L, Shirakawa K, et al. HIV latency: experimental systems and molecular models [J]. *FEMS Microbiol Rev*, 2012, 36(3):706-716.
- [52] Contreras X, Barboric M, Lenasi T, et al. HMBA releases P-TEFb from HEXIM1 and 7SK snRNA via PI3K / Akt and activates HIV transcription [J]. *PLoS Pathog*, 2007, 3(10):1459-1469.

牢固性。学生通过作业、拓展练习、学习平台测验等巩固知识与技能。通过学生课前与课中的互动表现、课后线上测试成绩等学情数据分析,教师可以评估每个学生的学习需求和学习能力,针对学生个体差异分层、分阶段布置个性化作业。

如果有虚拟仿真实验平台的实验条件,青年教师可以运用虚拟仿真实训平台布置不同实验学习任务,录制实验指导的慕课视频,设计线上实验比赛活动来激发学生们学习的积极性,以方便学生随时随地进行实验练习,这使得病原生物与免疫学线上线下教学更加智能化、便捷化,以此提升课程整体教学质量<sup>[10]</sup>。

与此同时学生利用此类平台可以进行课下练习,根据实验任务选择和运用相应的实验器材,开启录像功能,记录自己的实验操作过程,方便学生后续查看自己的实验操作视频,明确自身操作存在的不足,从而提升自身实验操作能力。

### 3 小结

青年教师是教师队伍中的中坚力量,他们积极探索教育教

学的新模式,致力于提升教育教学的质量。他们采用线上线下相结合的方式,对传统教学模式进行全新的优化,既能利用科学技术突破传统教学中的难点,也能有效地激发学生的学习热情。疫情的爆发使得线上授课成为教学的新常态,青年教师们积极探索并应用交互式的教学模式,利用疫情期间线上授课的机会,顺应了社会发展的需求,同时也与培养人才的需要相适应。在不断探索和实践的过程中,青年教师们不断地寻找教育教学新模式,推动课堂的多元化、智能化、延伸化发展,力求培

### 【参考文献】

- [1] 张艳,陈超群,陆春雪,等. 智慧教室环境下医学免疫学教学模式创新研究[J]. 基础医学教育,2022,24(10):749-773.
- [2] 肖家祁,杨杨,吴健桦,等. 病原生物学实验教学改革的探索[J]. 上海交通大学学报(医学版),2008,28(Suppl.):46-48.
- [3] 韩雪,李瑶,吴凤娇,等. 医学免疫学翻转课堂及多元化形成性评价实践[J]. 吉林医药学院学报,2022,43(5):384-385.
- [4] 张艳,陈超群,陆春雪,等. 智慧教室环境下医学免疫学教学模式创新研究[J]. 基础医学教育,2022,24(10):749-773.
- [5] 马建雄. “互联网+”背景下的高职病原生物与免疫学课程教学研究[J]. 医学科技,2021,(23):138-140.
- [6] 高强,卢芳国,宁毅,等. 对提高《免疫学基础与病原生物学》教学质量的一点思考[J]. 2021(23):246.
- [7] 孙元杰,张春梅,张溪洋,等. 免疫学实验课教学模式和方法的探讨[J]. 细胞与分子免疫学杂志,2022,38(9):858-861.
- [8] 武嘉瑶,胡卫星. 智慧互动教学系统的构建与应用模式分析[J]. 中国教育信息化,2019(13):57-59.
- [9] 王恩漫,刘伟,常凤军,等. 病原生物学实验教学中虚拟仿真方法的应用研究[J]. 中国病原生物学杂志,2022,17(8):991-992.
- [10] 潘润存,冯彬,雷世鑫. 病原生物学与免疫学教学改革的探讨与研究[J]. 中国教育信息化,2022,39(1):197-198.

【收稿日期】 2022-12-10 【修回日期】 2023-02-16

(上接 618 页)

- [53] Lu P, Qu X, Shen Y, et al. The BET inhibitor OTX015 reactivates latent HIV-1 through P-TEFb[J]. Sci Rep, 2016(6): 24100-24113.
- [54] Zhang XX, Lin J, Liang TZ, et al. The BET bromodomain inhibitor apabetalone induces apoptosis of latent HIV-1 reservoir cells following viral reactivation[J]. Acta Pharmacol Sin, 2019, 40(1):98-110.
- [55] Qi X, Koya Y, Saitoh T, et al. Efficient induction of HIV-1 replication in latently infected cells through contact with CD4<sup>+</sup> T cells: involvement of NF-kappaB activation[J]. Virology, 2007, 361(2):325-334.
- [56] Jiang G, Mendes EA, Kaiser P, et al. Reactivation of HIV latency by a newly modified Ingenol derivative via protein kinase Cdelta-NF-kappaB signaling[J]. AIDS, 2014, 28(11):1555-1566.
- [57] Laird GM, Bullen CK, Rosenbloom DI, et al. Ex vivo analysis identifies effective HIV-1 latency-reversing drug combinations [J]. J Clin Invest, 2015, 125(5):1901-1912.
- [58] Vibholm L, Schleimann MH, Hojen JF, et al. Short-course Toll-like receptor 9 agonist treatment impacts innate immunity and plasma viremia in individuals with human immunodeficiency virus infection[J]. Clin Infect Dis, 2017, 4(12):1686-1695.
- [59] Tsai A, Irrinki A, Kaur J, et al. Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 induces HIV expression and HIV-specific immunity in cells from HIV-infected individuals on suppressive antiretroviral therapy[J]. J Virol, 2017, 91(8):e02166-16.
- [60] Spivak AM, Andrade A, Eisele E, et al. A pilot study assessing the safety and latency-reversing activity of disulfiram in HIV-1-infected adults on antiretroviral therapy[J]. Clin Infect Dis, 2014, 58(6):883-890.
- [61] Van Lint C, Bouchat S, Marcello A. HIV-1 transcription and latency: An update[J]. Retrovirology, 2013(10):67.

【收稿日期】 2022-12-26 【修回日期】 2023-03-05