

张京京,童玲,陆佳涵,等. CD32 在艾滋病潜伏感染恒河猴模型的表达特征 [J]. 中国比较医学杂志, 2021, 31(5): 15-21.
Zhang JJ, Tong L, Lu JH, et al. Characteristics of CD32 in simian immunodeficiency virus mac239-infected rhesus macaques with antiretroviral therapy [J]. Chin J Comp Med, 2021, 31(5): 15-21.
doi: 10.3969/j.issn.1671-7856. 2021.05.003

CD32 在艾滋病潜伏感染恒河猴模型的表达特征

张京京,童玲,陆佳涵,卢秋翰,丛喆*,薛婧*

(北京协和医学院比较医学中心,中国医学科学院医学实验动物研究所,国家卫生健康委员会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,新发再发传染病动物模型研究北京市重点实验室,北京 100021)

【摘要】 目的 通过建立 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型,研究 CD32 在静息型、活化型和/或记忆性 CD4⁺ T 细胞亚群的表达特征,并分析其作为艾滋病潜伏库标志物的可能。**方法** SIVmac239 慢性感染的恒河猴给予联合抗逆转录病毒疗法,建立 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型。利用该模型,检测各阶段样本中血浆病毒载量、CD4⁺ T 细胞计数、CD4/CD8 细胞比值,及 CD32 在不同 CD4⁺ T 细胞亚群中的表达变化。**结果** 同感染前相比,CD32 在 SIV 感染后处于活化状态的幼稚 T 细胞中表达增加,在 HLA-DR⁺ CD4⁺ T 细胞中表达增加,但 CD32 在静息型 CD4⁺ T 细胞和各静息型记忆性 T 细胞亚群的表达无显著差异。**结论** 本研究为 CD32 不是艾滋病潜伏库标记物这一观点提供数据支持,并为后续艾滋病治愈研究提供信息。

【关键词】 CD32;恒河猴;潜伏库;动物模型;T 细胞亚群

【中图分类号】 R-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2021) 05-0015-07

Characteristics of CD32 in simian immunodeficiency virus mac239-infected rhesus macaques with antiretroviral therapy

ZHANG Jingjing, TONG Ling, LU Jiahuan, LU Qiuhan, CONG Zhe*, XUE Jing*

(Comparative Medicine Center, Peking Union College (PUMC) & Institute of Laboratory Animal Science, Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); NHC Key Laboratory of Human Disease Comparative Medicine; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State Administration of Traditional Chinese Medicine; Beijing Key Laboratory for Animal Models of Emerging and Remerging Infectious Diseases, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective We treated simian immunodeficiency virus (SIV) mac239-infected rhesus macaque monkeys with antiretroviral therapy and examined the characteristics of CD32 expression on resting, activated, and/or memory CD4⁺ T-cell subsets, to determine their potential as a biomarker of HIV/SIV reservoirs. **Methods** Four monkeys chronically infected with SIVmac239 were intramuscularly administrated antiretroviral therapy. Using this animal model, we detected plasma viral loads, CD4⁺ T-cell counts, CD4/CD8 ratios, and the percentage of CD32 expression in different CD4⁺ T-cell subsets at different stages. **Results** Compared with the pre-infection stage, the percentage of CD32 expression in activated naive CD4⁺ T cells and HLA-DR⁺ CD4⁺ T-cell subsets was significantly increased at the post-infection stage.

【基金项目】 国家自然科学基金(81971944);中国医学科学院医学与健康科技创新工程重大协同创新项目(2017-I2M-1-014);十三五传染病科技重大专项(2017ZX10304402,2018ZX10101001,2018ZX10301103);基础医学学科建设项目——病原生物学。

【作者简介】 张京京(1995—),女,硕士研究生,从事艾滋病病毒潜伏库研究工作。E-mail:1912547161@qq.com

【通信作者】 薛婧(1983—),女,博士,副研究员,博士生导师,从事艾滋病动物模型研究工作。E-mail:xuejing@cnilas.org

丛喆(1972—),女,硕士,副主任技师,从事实验动物病毒学研究工作。E-mail:congze@cnilas.org

* 共同通信作者

Moreover, there were no changes in the percentages of CD32 expression in resting CD4⁺ T cells, resting naive CD4⁺ T cells, resting central memory CD4⁺ T cells, resting effector memory CD4⁺ T cells, and resting TEMRA CD4⁺ T cells.

Conclusions This study provides more support for the view that CD32 is not the main biomarker of SIV reservoirs, and provides insight for future AIDS treatment.

【Keywords】 CD32; rhesus macaque; reservoir; animal model; T-cell subsets

联合抗逆转录病毒疗法 (combination antiretroviral therapy, cART) 可以有效地抑制 HIV 复制并缓解患者的疾病进程,但由于病毒长期潜伏使 HIV 治愈成为难题^[1]。病毒潜伏库是造成停药后病毒快速反弹的重要原因之一,它是含有可复制的完整的 HIV 前病毒 DNA 但转录并不活跃的细胞和组织。潜伏库细胞以静息 CD4⁺T 细胞为主^[2],近年来国内外有多篇关于潜伏库细胞标志物的研究报道^[3-6],CD32 能否作为 HIV 潜伏库的标记物成为国际上备受关注的热点之一。

CD32 (FcγRII) 是一种以低亲和力与 IgG Fc 段相结合的免疫球蛋白 Fc 受体,其主要表达于中性粒细胞、单核细胞、血小板和内皮细胞表面^[7],分为 CD32a (FcγRIIa), CD32b (FcγRIIb) 和 CD32c (FcγRIIc) 三个亚型^[8]。CD32 参与了巨噬细胞、NK 细胞等免疫细胞介导的免疫反应,是连接先天免疫和适应性免疫应答的关键分子^[9]。研究发现 CD32 在 HIV 感染的静息 CD4⁺ T 细胞上高表达,含有前病毒 DNA 的 CD32a⁺ CD4⁺ T 细胞占潜伏库细胞的 26.8% 至 83.3%^[10],并且 CD32⁺ CD4⁺ T 细胞与 PBMC 中的前病毒 DNA 水平成正相关^[11]。但也有研究证明 CD32 与多种活化标志物共表达,可能并不是潜伏库的标志物^[12]。CD32 与 HLA-DR 共表达可高达 79.2%^[13],CD32⁺ 静息 CD4⁺ T 细胞中含有的前病毒 DNA 与潜伏库细胞的比值小于 3%^[14]。由此,CD32 能否作为病毒潜伏库的标志物是值得商榷的,它能否成为治愈艾滋病的关键靶标也有待深入探究。

本研究中,利用建立的模拟 HIV 患者全病程的艾滋病潜伏感染恒河猴模型,研究感染前与 cART 不同的治疗阶段中 CD32 在 CD4⁺ T 细胞各亚群中的表达量变化,从而初步探索 CD32 与潜伏库的关系及其在艾滋病疾病进程中发挥的作用及功能。

1 材料和方法

1.1 实验材料

1.1.1 实验动物

本实验选用 4 只 SPF 级恒河猴,1 只雌性,3 只

雄性,购自北京协尔鑫生物资源研究所[SCXK(京)2015-0011],年龄为 3~4 岁,体重约 4 kg。实验前采用免疫荧光法进行筛查,排除猴单纯疱疹病毒 I 型(BV),猴逆转录病毒(SRV),猴免疫缺陷病毒(SIV)及猴 T 细胞白血病病毒(STLV)。实验动物饲养及动物实验研究经中国医学科学院医学实验动物研究所审批通过(IACUCXJ19005)。实验动物饲养及实验操作在生物安全三级实验室进行[SYXK(京)2017-0027],所有动物实验遵循 3R 原则。

1.1.2 毒株

实验毒株为 SIVmac239。由美国 Aaron Diamond 艾滋病研究中心的 Preston Marx 博士惠赠,经实验室使用 CEMx174 细胞株扩增制备,半数组织培养感染剂量(TCID₅₀)为 3×10⁵/mL。

1.2 主要试剂

APC mouse anti-NHP CD45 (货号:561290)、PerCP mouse anti-human CD3 (货号:552851)、PE mouse anti-human CD8 (货号:555367)、BD FACSTM lysing solution (货号:9224600)、BD TrucountTM tubes (货号:19276) 购自美国 BD Pharmingen 公司; FITC anti-human CD4 (货号:317408)、APC/Cy7 anti-human CD25 (货号:302614)、Brilliant Violet 421 anti-human CD69 (货号:310930)、Brilliant Violet 605 anti-human HLA-DR (货号:307640)、Brilliant Violet 650 anti-human CD197 (CCR7, 货号:353234)、APC mouse anti-human CD45RA (货号:561210)、PE mouse anti-human CD32 (货号:550586)、BV786 mouse anti-human CD3 (货号:563918) 购自美国 Biolegend 公司。

1.3 实验方法

1.3.1 实验样本收集与处理

分别于感染前(第 0 天),攻毒后(第 525 天),治疗中(第 637 天),停药后(第 700 天)采集猴外周血,用于全血流式 CD4⁺T 淋巴细胞计数分析,血浆病毒载量监测,及外周血单核细胞(PBMC)分离纯化。

1.3.2 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型建立

将本实验室保藏的 SIVmac239 毒株从液氮罐取出,于 37℃ 水浴融化,用 RPMI 1640 稀释至 500 TCID₅₀/mL,静脉途径感染恒河猴,建立 SIVmac239 感染恒河猴模型。从病毒接种后的第 525 天至第 672 天感染猴接受 cART,治疗方案为拉米夫定片 30 mg/kg、富马酸替诺福韦二吡呋酯片 20 mg/kg、克立芝 20 mg/kg。上述药物研磨后分别溶于 0.5 mL 三蒸水中混匀,再与等体积的 30% 环糊精混匀过滤,放置 -20℃ 保存,治疗期间拉米夫定、富马酸替诺福韦二吡呋酯每日肌肉注射给药一次,克立芝每日肌肉注射给药两次^[15],由此建立艾滋病潜伏感染恒河猴模型。实验期间,若实验动物体重低于 25% 即为仁慈终点,由兽医执行安乐死,尸体按医疗垃圾做无害化处理。

1.3.3 血浆病毒载量监测

利用 QIAGEN 公司的 Viral RNA Mini Kit 试剂盒从实验猴血浆中提取病毒 RNA,使用荧光定量 PCR 方法对血浆病毒载量进行定量分析^[16]。

1.3.4 外周血中 CD4⁺T 细胞绝对数及 CD4/CD8 比值的监测

将 50 μL 外周血置于流式管内,加入 APC-CD45, PerCP-CD3, FITC-CD4, PE-CD8 荧光抗体孵育 30 min,然后裂解红细胞,使用 Trucount™ tubes 进行细胞计数,应用 C6 流式细胞仪上机检测^[17]。

1.3.5 静息 CD4⁺T 细胞群及细胞亚群中 CD32 表达量测定

2×10⁶ 个 PBMC 中加入 BV786-CD3, FITC-CD4, APC-CD45RA, BV650-CCR7, APC/Cy7-CD25, BV421-CD69, PE-CD32, BV605-HLA-DR 荧光抗体孵育 30 min,固定后 24 h 内使用 BD FACS Arial II 流式细胞仪上机检测。

1.4 统计学方法

使用 Flowjo 10 软件对多色流式细胞仪进行结果分析,Graphpad 8.0 软件进行绘图和数据分析。实验结果以平均数±标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, $P < 0.05$,具有统计学差异。

2 结果

2.1 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型中血浆病毒载量、CD4⁺T 细胞计数, CD4⁺/CD8⁺ 比值的动态变化

SIVmac239 静脉感染的恒河猴 (cART-1, cART-2, cART-3, cART-4) 建立稳定的慢性感染后,经

cART 连续治疗 5 个月,血浆病毒载量在治疗期间被完全抑制,由 (5.04±0.51) log₁₀ copies/mL 至给药后第 3 周全部降低达检测线 2.00 log₁₀ copies/mL;停药后第 686~714 天观察到血浆病毒载量反弹为 (5.18±0.77) log₁₀ copies/mL (图 1A)。感染猴在慢性感染期,外周血 CD4⁺T 细胞绝对数处于较低水平每毫升 (529±102) 个 (图 1B),且 CD4⁺/CD8⁺ 比值出现倒置现象 (图 1C);cART 治疗期间,CD4⁺T 细胞绝对数增加至每毫升 (1525±611) 个 (图 1B),CD4⁺/CD8⁺ 比值升高至正常范围并维持在 (1.30±0.48) (图 1C),完成了部分免疫重建;停药后,随着病毒载量的反弹,CD4⁺T 细胞再次受到攻击,CD4⁺T 细胞绝对数降低,CD4⁺/CD8⁺ 比值再次出现倒置 (图 1B、1C)。

2.2 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型不同阶段 CD32 在静息型、活化型或总 CD4⁺T 细胞中的表达变化

从恒河猴外周血中分离得到 PBMC 并进行流式分析,根据 CD32 同型对照确定 CD4⁺T 细胞亚群中 CD32⁺的表达量 (图 2A)。与第 0 天处于未感染状态相比,恒河猴在 SIVmac239 感染后 CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在总 CD4⁺T 细胞中的比例显著升高,由未感染时的 (1.53±0.58)% 分别上升至治疗前 (3.90±1.30)%、治疗中 (4.56±1.58)% 和治疗后 (5.04±2.36)% (图 2B)。进而,将 CD4⁺T 细胞分为静息 CD4⁺T 细胞亚群 (CD25⁻CD69⁻HLA-DR⁻) 及活化 CD4⁺T 细胞亚群。研究发现,恒河猴处于未感染状态时,CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在静息 CD4⁺T 细胞中的比例低至 (1.01±0.66)%,且在感染后的不同阶段虽有升高但无显著差别 (治疗前 (2.28±1.37)%、治疗中 (3.53±2.08)%、治疗后 (3.04±1.17)% vs 未感染 (1.01±0.66)%; $P > 0.05$) (图 2C)。CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在活化 CD4⁺T 细胞中的比例较高 ((4.10±1.63)%),且在感染后治疗前 (18.93±4.50)% vs (4.10±1.63)%、治疗中 (32.05±14.17)% vs (4.10±1.63)%、治疗后 (26.42±17.58)% vs (4.10±1.63)% 三个阶段均具有显著性差异 ($P < 0.01$) (图 2D)。

2.3 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型不同阶段 CD32 在不同活化标记物 CD4⁺T 细胞亚群的表达变化

活化型 CD4⁺T 细胞又可细分为早期活化型 (CD69⁺)、中间活化型 (CD69⁺HLA-DR⁺) 和晚期活

化型(HLA-DR⁺)CD4⁺T 细胞。根据 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型未感染、治疗前、治疗中及治疗后四个阶段的研究发现,同未感染状态相比,CD32 在治疗前 CD69⁺CD4⁺早期活化型 T 细胞的比例显著增加((10.79±3.76)% vs (2.91±0.75)%),CD32 在治疗前((37.78±12.28)% vs (10.66±1.47)%及治疗中((49.53±19.30)% vs (10.66±1.47)%HLA-DR⁺CD4⁺晚期活化型 T 细胞的比例显著增加($P<0.05$,图 3A、3B)。图 3C 为 CD32 在四个阶段的早期、中间和晚期活化型 CD4⁺T 细胞的表达变化,结果显示早期活化型 CD32⁺CD4⁺T 细胞的比例在感染后持续下降,晚期活化型 CD32⁺CD4⁺T 细胞比例逐渐上升,中间活化型 CD32⁺CD4⁺T 细胞的比例基本维持不变。

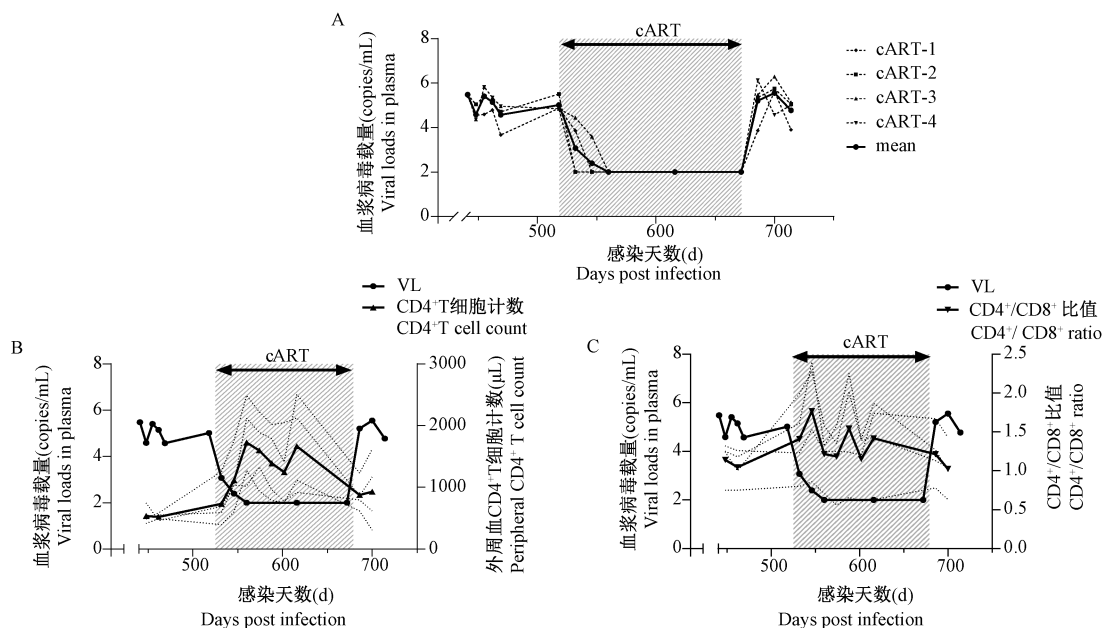
2.4 SIVmac239 感染前后 CD32 在静息型或活化型记忆性 CD4⁺T 细胞亚群中的表达变化

接下来,我们比较了病毒感染前后,即未感染组(第 0 天取样)和感染组(第 525 天取样),CD32 分别在静息或活化状态下中心记忆 T 细胞(TCM)、幼稚 T 细胞(T naive)、效应记忆 T 细胞(TEM)、终

末分化 T 细胞(TEMRA)等各记忆性 T 细胞亚群的表达变化。结果发现,在静息记忆性 CD4⁺T 细胞亚群中,恒河猴在 SIVmac239 感染后,CD32 在静息 TCM((0.74±0.57)% vs (0.47±0.44)%、静息 TEM((1.89±1.11)% vs (0.46±0.15)%、静息 Tnaive((0.17±0.13)% vs (0.07±0.07)%、TEMRA((0.36±0.34)% vs (0.09±0.07)%各记忆性 T 细胞亚群均无显著性差异($P>0.05$,图 4A)。在活化的记忆性 CD4⁺T 细胞亚群中,CD32 在 SIVmac239 感染后的活化型 Tnaive((12.33±2.13)% vs (2.41±0.72)%和活化型 TEMRA((2.85±1.35)% vs (0.64±0.56)%两个记忆性 CD4⁺T 细胞亚群中的比例显著增加,但在活化型 TCM((2.37±1.87)% vs (0.89±0.75%))和活化型 TEM((1.33±1.09)% vs (0.37±0.31)%两个亚群的比例无显著性差异($P>0.05$,图 4B)。

3 讨论

恒河猴感染 SIVmac239 后,血浆病毒载量长期维持在较高水平,出现 CD4/CD8 比值倒置、CD4⁺T



注:A;SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型血浆病毒载量的动态变化;B;SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型血浆病毒载量与 CD4⁺T 细胞计数的动态变化;C;SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型血浆病毒载量与 CD4⁺/CD8⁺比值的动态变化。

图 1 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型血浆病毒载量、CD4⁺T 细胞计数、CD4⁺/CD8⁺比值的动态变化

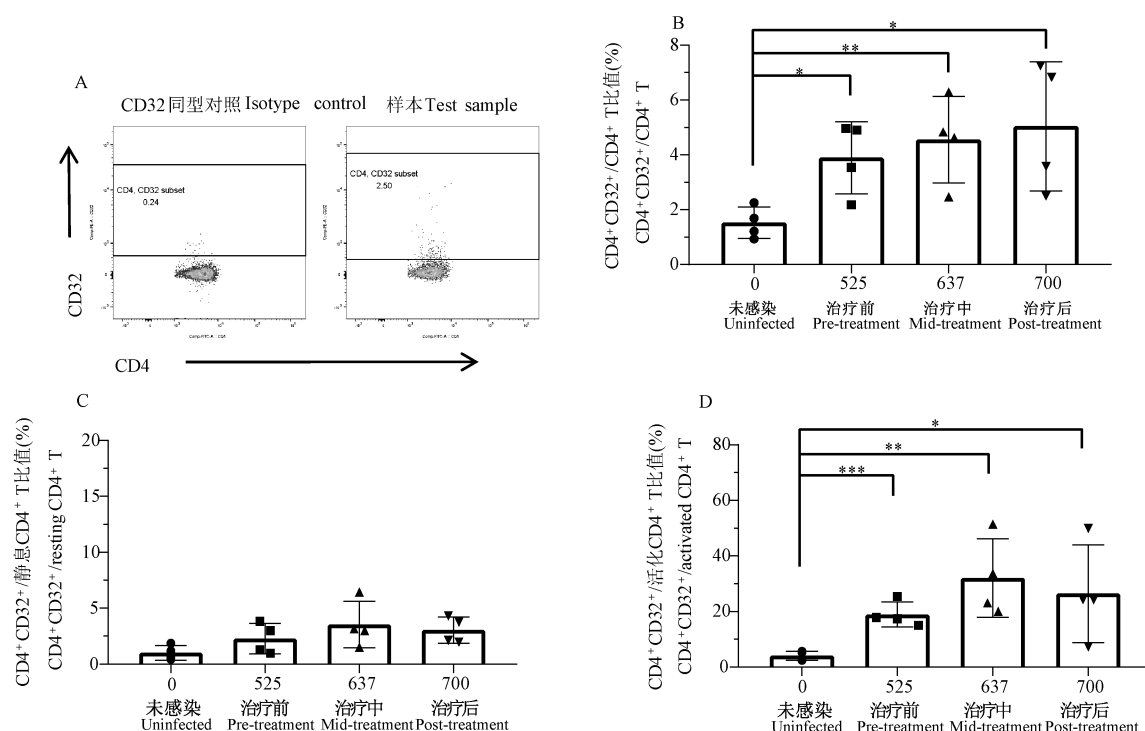
Note. A, Dynamics of viral loads in SIVmac239-infected rhesus macaques with cART. B, Dynamics of viral loads and CD4⁺T lymphocyte counts in SIVmac239-infected rhesus macaques with cART. C, Dynamics of viral loads and CD4⁺/CD8⁺ ratios in SIVmac239-infected rhesus macaques with cART.

Figure 1 Dynamics of viral loads, CD4⁺T lymphocyte counts and CD4⁺/CD8⁺ ratios in SIVmac239-infected rhesus macaques with cART

细胞耗竭等现象;处于稳定慢性感染的恒河猴在 cART 的治疗下,血浆病毒载量被完全抑制在检测线以下,CD4⁺T 细胞计数和 CD4/CD8 比值逐渐恢复;但一经停药后,病毒载量在一周内出现反弹,再次呈现病毒血症。由此,本研究成功建立了 SIVmac239 潜伏感染的恒河猴模型,实现了 cART 治疗有效地控制了病毒复制,并在停药后出现病毒反弹情况,这与临床上艾滋病患者表现出的全病程类似^[18]。

鉴于有文献报道 CD32 在 HIV 感染的静息 CD4⁺T 细胞上高表达,被认为是可能的潜伏库标记物之一^[10]。本研究选取 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型

的未感染、治疗前、治疗中、治疗后的四个阶段,利用 PBMC 分析在 cART 抑制病毒复制的治疗期间,CD32 能否在静息型 CD4⁺T 细胞、尤其是静息型 CD4⁺TCM 细胞上高表达。我们的结果发现恒河猴在感染后 CD32 在静息状态的 CD4⁺T 细胞中比例并未出现增加,却在活化状态的 CD4⁺T 细胞中显著升高。而且,CD32 的表达变化在 cART 治疗的不同阶段没有显著性差异,提示 CD32 的表达与 cART 对病毒复制的抑制没有直接关系。进而,通过我们对 CD32 在早期活化型(CD69⁺)、中间活化型(CD69⁺HLA-DR⁺)和晚期活化型(HLA⁺DR⁺)CD4⁺T 细胞中的表达分析,发现晚期活化型 CD4⁺T 细胞中 CD32 表达显著增加,提示



注: A: 流式细胞术分析 CD4⁺T 细胞中 CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群; B: CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在 CD4⁺T 细胞中的比例变化, 与未感染组相比, 治疗前、治疗中、治疗后的 CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在 CD4⁺T 细胞中的比例显著增加, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$; C: CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在静息的 CD4⁺T 细胞中 (CD45⁺CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁻CD69⁻CD25⁻) 的比例变化; D: CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在活化的 CD4⁺T 细胞中的比例变化, 与未感染组相比, 治疗前、治疗中、治疗后的 CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群在活化的 CD4⁺T 细胞中的比例显著增加, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$ 。

图 2 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型各阶段 CD32 在 CD4⁺T 细胞亚群在的比例变化

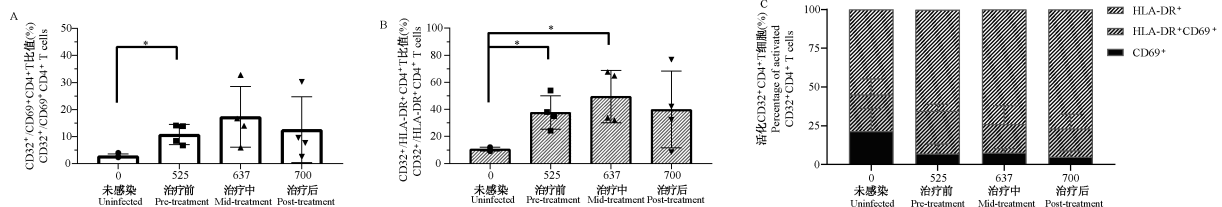
Note. A, Gating of CD32⁺CD4⁺T cell subsets by flow cytometry. B, The percentage of CD32 expression in CD4⁺T cells at the indicated stage of monkey model. Compared with uninfected group, the percentage of CD32 expression in CD4⁺T cells in pre-treatment group, mid-treatment group and post-treatment group are significantly increased, * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$. C, Percentage of CD32 expression in resting CD4⁺T cells (CD45⁺CD3⁺CD4⁺HLA-DR⁻CD69⁻CD25⁻) at the indicated stage of monkey model. D, Percentage of CD32 expression in activated CD4⁺T cells at the indicated stage of monkey model. Compared with uninfected group, the percentage of CD32 expression in activated CD4⁺T cells in pre-treatment group, mid-treatment group and post-treatment group are significantly increased. * $P < 0.05$, ** $P < 0.01$, *** $P < 0.001$.

Figure 2 Percentage of CD32 expression in CD4⁺T-cell subsets at the indicated stage of monkey model

了 HLA-DR⁺CD4⁺T 细胞是促成 SIV 感染后 CD32 表达上升的主要细胞亚群,推测 CD32 可能是 T 细胞晚期激活的标志之一,这与 CD32, CD38, Ki67 等活化标志物共表达的结果相一致^[14]。

静息型 CD4⁺T 细胞被认为是主要的 HIV 细胞潜伏库^[19],其中以静息型 TCM 细胞更为重要^[20]。我们的研究发现 CD32 在静息或活化状态的 CD4⁺

TCM 细胞中均未有显著增加,而在活化型的 CD4⁺Tnaive 细胞中比例上升,提示了 CD32 可能与 Tnaive 细胞的免疫活化相关。由于 Tnaive 有干细胞特性,具有高度分化能力^[21],可以分化为 TCM、TEM、Tfh、Th1、Th2 等细胞亚群,因此 CD32 在 SIV 感染后表达升高可能有助于促进 Tnaive 细胞分化成其他免疫相关细胞。

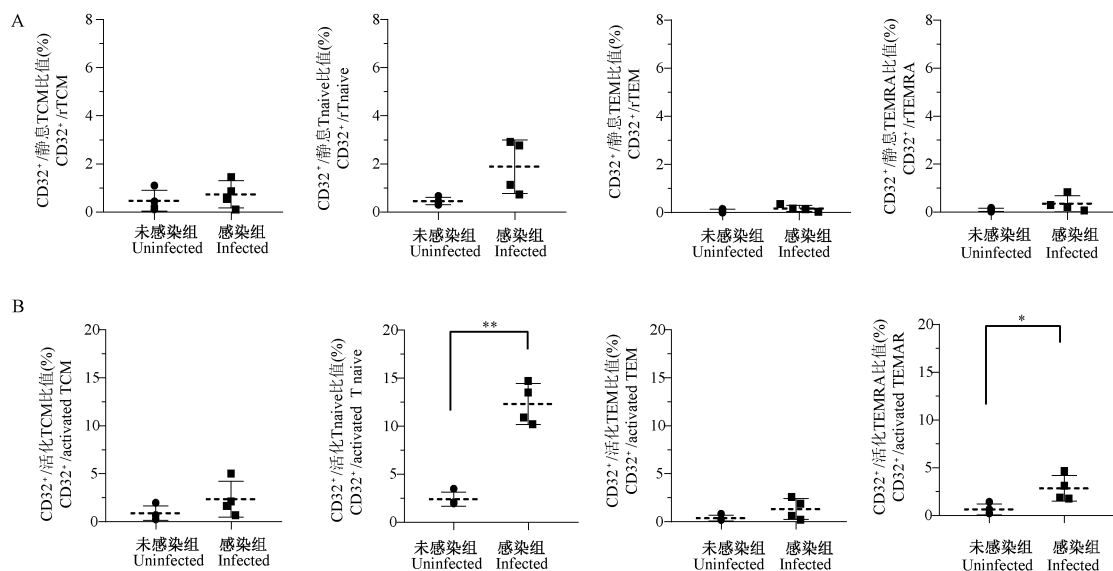


注:A:CD32 在早期活化型 CD69⁺CD4⁺T 细胞中的比例变化,与未感染组相比,治疗前的 CD32 在早期活化型 CD69⁺CD4⁺T 细胞中的比例显著增加, **P*<0.05;B:CD32 在晚期活化型 HLA-DR⁺CD4⁺T 细胞中的比例变化,与未感染组相比,治疗前、治疗中的 CD32 在晚期活化型 HLA-DR⁺CD4⁺T 细胞中的比例显著增加, **P*<0.05;C:早期活化型 CD69⁺、中间活化型 CD69⁺HLA-DR⁺及晚期活化型 HLA-DR⁺在 CD32⁺CD4⁺T 细胞亚群的比例变化。

图 3 CD32 在 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型各阶段处于不同活化状态的 CD4⁺T 细胞中的比例变化

Note, A, The percentage of CD32 expression in CD69⁺CD4⁺T cells at the indicated stages. Compared with uninfected group, the percentage of CD32 expression in CD69⁺CD4⁺T cells in pre-treatment group are significantly increased, **P*<0.05. B, The percentage of CD32 expression in HLA-DR⁺CD4⁺T cells at the indicated stages. Compared with uninfected group, the percentage of CD32 expression in HLA-DR⁺CD4⁺T cells in pre-treatment group and mid-treatment group are significantly increased, **P*<0.05. C, The percentage of CD69⁺, CD69⁺HLA-DR⁺, and HLA-DR⁺ in CD32⁺CD4⁺T cells at the indicated stages.

Figure 3 Percentage of CD32 expression in CD69⁺, CD69⁺HLA-DR⁺, and HLA-DR⁺ activated T-cell subsets at the indicated stages



注:A:CD32 在静息记忆性 CD4⁺T 细胞亚群中的比例变化;B:CD32 在活化记忆性 CD4⁺T 细胞亚群中的比例变化,与未感染组相比,感染后的 CD32 在活化 Tnaive 和 TEMRA 细胞亚群中的比例显著增加, **P*<0.05, ***P*<0.01。

图 4 CD32 在 SIVmac239 感染前后记忆性 CD4⁺T 细胞亚群中的比例变化

Note, A, The percentage of CD32 expression in resting TCM, Tnaive, TEM, and TEMRA at the pre- and post-infection stage. B, The percentage of CD32 expression in activated TCM, Tnaive, TEM, and TEMRA at the pre- and post-infection stage. Compared with uninfected group, the percentage of CD32 expression in activated Tnaive and TEMRA are significantly increased after infection, **P*<0.05, ***P*<0.01.

Figure 4 Percentage of CD32 expression in resting or activated memory CD4⁺T cells at the pre- and post-infection stage

综上所述,我们的研究表明在 SIVmac239 潜伏感染恒河猴模型中,CD32 与晚期活化型 CD4⁺T 细胞和活化的 T_{naive} 细胞相关,与静息型 CD4⁺T 细胞、静息型 CD4⁺TCM 细胞无关。这些为 CD32 不是艾滋病潜伏库标记物这一观点提供数据支持,并为后续艾滋病治愈研究提供信息。

参考文献:

- [1] Castro-Gonzalez S, Colomer-Lluch M, Serra-Moreno R. Barriers for HIV cure: the latent reservoir [J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 2018, 34(9): 739-759.
- [2] Soriano-Sarabia N, Bateson RE, Dahl NP, et al. Quantitation of replication-competent HIV-1 in populations of resting CD4⁺ T cells [J]. J Virol, 2014, 88(24): 14070-14077.
- [3] Sengupta S, Siliciano RF. Targeting the latent reservoir for HIV-1 [J]. Immunity, 2018, 48(5): 872-895.
- [4] Li X, Liu Z, Li Q, et al. CD161⁺ CD4⁺ T cells harbor clonally expanded replication-competent HIV-1 in antiretroviral therapy-suppressed individuals [J]. mBio, 10(5): e02121-19.
- [5] Sperk M, Domselaar RV, Neogi U. Immune checkpoints as the immune system regulators and potential biomarkers in HIV-1 Infection [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(7): 2000.
- [6] Zerbato JM, McMahon DK, Sobolewski MD, et al. Naive CD4⁺ T cells harbor a large inducible reservoir of latent, replication-competent human immunodeficiency virus type 1 [J]. Clin Infect Dis, 2019, 69(11): 1919-1925.
- [7] Hogarth PM, Pietersz GA. Fc receptor-targeted therapies for the treatment of inflammation, cancer and beyond [J]. Nat Rev Drug Discov, 2012, 11(4): 311-331.
- [8] Pincetic A, Bournazos S, DiLillo DJ, et al. Type I and type II Fc receptors regulate innate and adaptive immunity [J]. Nat Immunol, 2014, 15(8): 707-716.
- [9] Anania JC, Chenoweth AM, Wines BD, et al. The human FcγRII (CD32) family of leukocyte FcR in health and disease [J]. Front Immunol, 2019, 10: 464.
- [10] Descours B, Petitjean G, López-Zaragoza JL, et al. CD32a is a marker of a CD4 T-cell HIV reservoir harbouring replication-competent proviruses [J]. Nature, 2017, 543(7646): 564-567.
- [11] Darcis G, Kootstra NA, Hooibrink B, et al. CD32⁺CD4⁺ T cells are highly enriched for HIV DNA and can support transcriptional latency [J]. Cell Rep, 2020, 30(7): 2284-2296.
- [12] Osuna CE, Lim SY, Kublin JL, et al. Evidence that CD32a does not mark the HIV-1 latent reservoir [J]. Nature, 2018, 561(7723): E20-E28.
- [13] Badia R, Ballana E, Castellví M, et al. CD32 expression is associated to T-cell activation and is not a marker of the HIV-1 reservoir [J]. Nat Commun, 2018, 9(1): 2739.
- [14] Abdel-Mohsen M, Kuri-Cervantes L, Grau-Exposito J, et al. CD32 is expressed on cells with transcriptionally active HIV but does not enrich for HIV DNA in resting T cells [J]. Sci Transl Med, 2018, 10(437): eaar6759.
- [15] 田龙, 童玲, 丛喆, 等. HAART 治疗 SIVmac239 感染恒河猴血浆细胞因子与疾病指征的相关性分析 [J]. 中国比较医学杂志, 2020, 30(5): 21-26.
- [16] 王卫, 刘克剑, 吴芳新, 等. 猴免疫缺陷病毒(SIVmac239)多次直肠暴露对机体细胞免疫的影响 [J]. 中国比较医学杂志, 2014, 24(8): 1-6.
- [17] 李想, 薛婧, 陈霆, 等. SIV 感染猴外周血 CD14⁺单核细胞 CD169 分子表达的变化 [J]. 中国比较医学杂志, 2018, 28(5): 75-80.
- [18] Simon V, Ho DD, Abdool Karim Q. HIV/AIDS epidemiology, pathogenesis, prevention, and treatment [J]. Lancet, 2006, 368(9534): 489-504.
- [19] Bruner KM, Wang Z, Simonetti FR, et al. A quantitative approach for measuring the reservoir of latent HIV-1 proviruses [J]. Nature, 2019, 566(7742): 120-125.
- [20] Kulpa DA, Talla A, Brehm JH, et al. Differentiation into an effector memory phenotype potentiates HIV-1 latency reversal in CD4⁺ T cells [J]. J Virol, 2019, 93(24): e00969-19.
- [21] van den Broek T, Borghans JAM, van Wijk F. The full spectrum of human naive T cells [J]. Nat Rev Immunol, 2018, 18(6): 363-373.

[收稿日期] 2020-12-29