

HIV 病毒父婴垂直传播的研究进展

康祥锦(综述)/黄天华*(审校)

(汕头大学医学院生殖医学研究中心, 广东 汕头 515041)

【摘要】人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)的传播途径除性传播、血液传播和围产期传播外,还存在经男性生殖细胞垂直传播的可能性。本文对 HIV 经人精子垂直传播的相关线索以及在 HIV 传播过程中发挥 HIV-1 受体功能的辅助受体等内容作简要综述。

【关键词】人免疫缺陷病毒;精子;垂直传播;受体;艾滋病

中图分类号: R512.91

文献标识码: A

文章编号: 1004-616X(2009)01-0074-03

获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)又称艾滋病,是人免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)攻击人体主要免疫细胞 CD4⁺T 细胞及单核巨噬细胞等引起,以严重免疫缺陷伴发致命性机会感染及恶性肿瘤为特征的一种综合征。据 WHO 最新统计,全球 HIV 感染人数高达 3 300 余万,其中亚洲感染人数约 490 万,2007 年造成的死亡人数达 210 余万,并仍有 250 余万新发病例^[1]。中国 HIV 感染人数达 84 万,处于流行的高速增长期^[2]。AIDS 已成为各国严重的社会问题及医学难题,其危害难以估量^[3-4]。HIV 世界大流行的原因除了对 AIDS 尚无有效的治疗手段外,更重要地在于病毒易于在人群中传播,因此其传播途径的研究一直是各国政府和科学家们高度重视的课题。

1 HIV 简介

HIV 属于逆转录病毒科慢病毒属,为包膜双链 RNA 病毒。病毒颗粒呈球形,直径 90~130 nm。病毒的核心呈中空锥形,由两条相同的单链 RNA 链、逆转录酶和蛋白质组成。病毒基因组含 3 个结构蛋白基因 *gag*、*pol*、*env*, 2 个调节蛋白基因 *tat*、*rev* 和 5 个辅助蛋白基因,编码 17 种蛋白质。HIV 主要感染 CD4⁺T 细胞、单核/巨噬细胞、B 细胞、中性粒细胞以及树突状细胞(DC),感染器官遍及全身多个组织。HIV 分为 HIV-1 型和 HIV-2 型,分别感染不同地区人群。HIV-1 有 11 个亚型,非洲流行 A、C、D、E 亚型,中国和欧美主要流行 B 亚型。由于感染细胞的嗜性不同, HIV-1 又分为嗜巨噬细胞 HIV (M tropic)和嗜 T 细胞 HIV (T tropic)。它们感染两类细胞使用的细胞辅助受体不同,前者使用 CCR5(C-C chemokine receptor 5)作为共受体;而后者使用 CXCR4(C-X-C chemokine receptor 4)作为感染的共受体。HIV-2 的毒性较弱,潜伏期长,引起的艾滋病病程较长,症状较轻。目前有关 HIV 的研究大多是围绕 HIV-1 进行的。

HIV 感染过程包括病毒的吸附、侵入、逆转录、基因组整合、表达及释放等过程。当感染发生时,病毒的外膜糖蛋白 gp120 首先与细胞表面的 CD4 分子结合并与辅助受体 CCR5 或 CXCR4 等结合, gp120 空间构象发生改变,暴露出跨膜蛋白 gp41 与细胞膜作用,导致病毒包膜与细胞膜融合,病毒核心进入细胞内,脱壳后病毒基因组在逆转录酶作用下以病毒 RNA 为模板合成 cDNA,再以此 cDNA 为模板合成双链 DNA,经环化后在病毒整合酶的作用下随机整合到细胞染色体上成为前病毒而长期存在并随细胞的分裂而传至子代细胞^[5]。

2 HIV 的传播途径

目前已知 HIV 的传播途径有:①性传播,异性间及同性恋者之间性行为时粘膜或伤口接触到对方含有 HIV 的分泌液而导致的传播,此传播途径是目前引起 HIV 大流行的主要途径;②血液传播,包括输血、注射、器官移植等途径输入或接触到被 HIV 污染的制品、器皿或器官所致传播;③母婴垂直传播,妊娠、分娩过程通过血液、产道分泌物或产后通过母乳将 HIV 传播给胎儿或新生儿^[6-9]。不过,最后一种传播方式虽然也是一种由母亲至胎儿的“垂直”传播方式,严格说来,还是一种个体与个体之间的感染,与本文要叙述的病毒基因经过生殖细胞垂直传递不同,所以似应称为围产期传播(perinatal transmission)更为合适;而本文要叙述的经生殖细胞传播,有学者称为真正的垂直传播(true vertical transmission)。

3 HIV 父婴垂直传播的研究

3.1 HIV 父婴垂直传播假说的提出

1989 年, Bagasra^[10]提出 HIV RNA 可能进入到宿主细胞的核内在世代间垂直传递。1998 年 Alexander^[11]提出“艾滋病毒有可能

收稿日期: 2008-07-29; 修订日期: 2008-09-19

基金项目: 国家自然科学基金资助(30800940)

作者简介: 康祥锦(1984-),男,河南省周口市人,硕士研究生,研究方向: 生殖遗传学。

* Correspondence to: HUANG Tian-hua, E-mail: thuang@stu.edu.cn

通过生殖细胞垂直传播”的假设。这一假设引起了各国学者的重视,他们分别从临床和基础角度对这一假说进行了探索。垂直传播(vertical transmission)是指 HIV 患者的生殖细胞受病毒感染,在受精时由精子或卵细胞作为载体,将病毒基因带到胚胎而使子代患病的一种新的、尚待证实的传播方式。按性别划分为父婴垂直传播和母婴垂直传播。父婴垂直传播是指男性 HIV 患者精子发生过程中,HIV 感染各期生殖细胞,导致病毒颗粒结合在精子细胞膜上和/或存在于精子胞浆中,或病毒 RNA 整合到宿主精子基因组内。受精时携带 HIV 基因的人精子进入正常卵母细胞。在胚胎发育过程中,HIV 基因随宿主细胞分裂复制和表达,从而使子代患病^[12]。同理母婴垂直传播指女性 HIV 患者在卵子发生过程中,HIV 随卵母细胞带入受精卵而使子代患病。由于获得人卵母细胞作为研究材料非常困难,很少有人对 HIV 是否能感染卵母细胞进行研究,因此关于真正的母婴垂直传播报道不多,而目前取得一定进展的是 HIV 经过精子传播新途径的研究。

3.2 HIV 父婴垂直传播相关线索

1988 年 Bagasra 等^[13]将正常人的精子和 HIV-1 共孵育,用电子显微镜技术证实精子细胞膜和胞浆内存在 HIV-1 颗粒,并在精子膜上检测到低丰度的 CD4 受体。在 5 例 HIV-1 血清阳性的男性患者精液中发现 HIV-1 的存在,并提示 HIV RNA 除了水平传播还具有垂直传播给下一代的可能性。1990 年 Bagasra 等^[10]用正常人的精子和 HIV-1 共孵育 5 h 后,充分洗去粘附在精子膜上的 HIV-1 颗粒,用电镜分析和多价的抗 HIV 抗体免疫荧光实验证实,在 5%~10% 的精子头部有小圆形的荧光颗粒,表明 HIV-1 颗粒可以穿透精子膜进入到胞浆中。1991 年 Bachiller 等^[14]通过单克隆和多克隆抗 HIV 抗体,在 AIDS 病人和正常人与 HIV 共孵育后的精子细胞器周围都发现了 HIV 病毒颗粒的存在,并认为 HIV 病毒颗粒在生命周期的不同时期都可以穿透入精子。随后 Dussaix 等^[15]把 17 例正常人精子和 HIV-1 共孵育后充分洗涤精子,并与外周血粒性白细胞共培养,电镜证实精子膜上和精子核内都有 HIV 病毒样颗粒的存在,并且发现 HIV-1 感染者的精子在体外可以把病毒传染给外周血粒性白细胞。1994 年 Bagasra 等^[16]用 PCR 和原位 PCR 法证实 HIV 病人的精子中有 HIV-1 前病毒 DNA。同年 Nuovo 等^[17]从 18 例男性 HIV 感染者的生殖道获得 46 块组织,进一步用原位 PCR 法检测 HIV-1 DNA 和 RNA 的存在,结果发现在睾丸组织中病毒的检出率达 92%;有 5%~20% 的精原细胞和精母细胞被感染,大约 1% 精子细胞呈 HIV-1 阳性,说明 HIV-1 可以在精子发生的不同时期感染精子。1998 年 Baccetti 等^[18]用抗 P24 抗体和多克隆抗 HIV-1 血清在精子顶体和线粒体区域获得了人精子中 HIV-1 存在的亚显微证据,并进一步用原位杂交和 PCR 技术明确证实了精子中 HIV-1 的存在。他们把 HIV-1 血清阳性患者的精子纯化后和正常人的卵细胞进行体外受精,检测到精子可以进行正常的顶体反应和穿过卵透明带,并且在胚胎 8-细胞期检测到 HIV-1 颗粒的存在。2007 年 Muciaccia 等^[19]利用 Percoll 多层密度梯度离心法和渗透压休克法,从 12 例血清阳性受试者精液标本中得到纯化的精子,并在精子解聚后用巢式 PCR 和原位 PCR 从 5 例受试者精子中检测到 HIV-1 DNA,经 TUNEL 法显示,小比例的精子出现结构异常,说明 HIV-1 感染者精液中含有少量 HIV-1 DNA 阳性异常精子。

3.3 HIV 与精子膜结合的分子生物学证据

3.3.1 人趋化因子受体

人趋化因子是一类分子量较小的可溶性蛋白家族。HIV-1 感染的辅助受体也是趋化因子受体家族中的成员,其中 G 蛋白趋化因子受体 CCR5 和 CXCR4 是 HIV-1 感染最重要的辅助受体。2004 年 Januchowski 等^[20]通过实时定量 PCR 技术分析 13 例正常男性的精子标本,发现精子中有 CCR5 mRNA 的存在。同年 Zhang 等^[21]在精子中也发现有 CX3CR1 mRNA 及蛋白的存在。2005 年 Muciaccia B 等^[22]在 33 例健康男性的精子膜上均检测到 CCR5 的存在,其中 8 例受试者精子表面还有 CCR3 的表达,免疫荧光实验发现 CCR5 定位于精子顶体周围区域而 CCR3 散在分布于精子头部或者集中在顶体前后区域。精子膜表面存在的 CCR5 单独或者和其他分子联合作用可能允许 HIV-1 吸附到精子膜表面并发生进一步的相互作用,提示精子细胞可能作为 HIV-1 病毒的潜在载体导致艾滋病的广泛传播。

3.3.2 半乳糖烷基甘油酯 (GalAAG)

早在 1991 年 Harouse 及其同事就已报道,在一些不表达 CD4 的神经细胞系和结肠上皮系中,只有半乳糖酰基鞘氨醇 (Galcer) 这种神经细胞膜主要成分存在时才能感染 HIV-1^[23]。尽管人精子细胞不表达 CD4、Galcer、硫化半乳糖酰基鞘氨醇 (Sgalcer) 这些可以与 gp120 结合的受体,但 Gadella 等^[24-25]发现在人精子膜外层存在一种与 gp120 具有亲和性且在结构上与 Sgalcer、Galcer 高同源性的特异性糖脂 GalAAG。通过对从鼠脑和人精子细胞获得的(硫代)半乳糖脂电脑模拟分子模型进行分析,发现二者分子结构上球和棒状投影中突出的脂质具有相似的首基空间定向,表明在二者脂质中糖苷键首基和上层疏水部分结构高度相似。GalAAG 集中表达在哺乳动物的睾丸和精子头部的赤道段以及精子尾部的中段,可以推测 gp120 空间构象发生改变之后打开 gp41 的融合潜能,暴露出的 gp41(gp36) 插入精子胞浆膜可能触发病毒粒子和精子细胞的融合。这些研究表明在人精子细胞膜上表达一种结构上类似于半乳糖酰基鞘氨醇的糖脂, GalAAG 可能是 gp120 的选择性受体,它在 CD4 细胞中可以发挥 HIV 受体的功能。

3.3.3 甘露糖受体 (mannose receptor, MR)

甘露糖受体属于 C 型凝集素超家族成员,可通过胞外区识别和结合特定的糖类分子,在识别病原体、呈递抗原和保持内环境稳定中发挥作用。MR 的相对分子质量约为 165~175 kD。甘露糖受体不仅仅只在巨噬细胞上表达,同时在未成熟的树突状细胞、一些上皮细胞亚群、精子细胞上都检测到 MR 的表达。在精子细胞上,MR 分子不但参与配子间的相互作用,其分布状态还受到顶体状态的影响。在顶体完整的精子上,MR 分布于整个精子头部,一旦发生顶体反应后,MR 伴随着顶体内含物的释放移位到赤道区域。在精子获能过程中,由于胆固醇受体介导胆固醇外流,进一步导致 MR 从富集区释放到精子膜上。Bandivdekar 等^[26]报道精子细胞膜上存在一种 160 kD 的受体,它可以和 HIV-1 上的 120 kD 大小的糖蛋白结合,并且这种结合不能被抗 CD4 抗体所抑制,说明 HIV-1 病毒与精子的结合和内化作用并不依赖于 CD4 分子的存在。随后 Cardona 等^[27]在 Bandivdekar 工作基础上提出假说:精子细胞膜上存在的 160 kD 受体类似 MR。Liu 等^[28]利用甘露糖聚糖和抗人甘露糖受体血清的抑制实验表明人星形胶质细胞可以通过 MR 感染 HIV-1。HIV-1 的包膜蛋白 gp120 拥有 24 个糖基化位点,其中 50%



被甘露糖糖基化。一些研究表明,外源性凝集素分子可以结合甘露糖,抑制 HIV-1 的感染。这些结果表明 gp120 的甘露糖糖基化在病毒的感染过程中发挥着重要作用。

4 展 望

上述研究虽然发现 HIV 能够感染男性患者的生殖细胞并为 HIV 通过生殖细胞垂直传播的可能性提供了线索,但尚缺乏足够的、直接的分子生物学证据。要证实“垂直传播”假说,必须回答如下几个关键问题:①HIV 感染男性生殖细胞后,除了结合在精子细胞膜上和或存在于精子胞浆中外,病毒基因能否整合到宿主生殖细胞基因组中?②在自然受精时,精子膜和或胞浆中含有病毒颗粒或者基因组中整合了 HIV 基因的人精子是否会受到选择性淘汰,它们能否完成正常的受精过程?③如果能,那么由精子带到受精卵中的 HIV 基因能否在胚胎细胞中复制表达。理论上,用 HIV 患者的精子与正常人卵母细胞受精,研究从精子、受精卵到胚胎发育各阶段中的 HIV 基因的行为是最理想的途径,但是这条途径既存在法律、伦理问题,也存在获取人卵母细胞的困难。因此从 Alexander 提出假设以来,近 10 年过去了,没有人能证实这个假说。

目前逐步完善的高效抗逆转录病毒疗法(HAART)已能有效控制 AIDS 病情,延长患者的寿命、提高患者生存质量,并由此唤起了他们生育自己后代的需求,开展 HIV 垂直传播的研究,回答上面提出的问题,证实 HIV 经生殖细胞传播新途径的存在,不仅在病毒学、传染病学、生殖医学领域具有重要的理论意义,而且对于维护人类生命健康、提高人口素质也具有重要的实践意义。

参考文献:

- [1] UNAIDS/WHO. AIDS Epidemic update[EB/OL]. [2008-06-30]. <http://data.unaids.org/pub/EPIslides/2007/2007-epiupdate-en.pdf>.
- [2] Wang L. Overview of the HIV/AIDS epidemic, scientific research and government responses in China[J]. AIDS, 2007, 21(Suppl8): 3-7.
- [3] Sun X, Wang N, Li D. The development of HIV/AIDS surveillance in China [J]. AIDS, 2007, 21(Suppl8): 33-38.
- [4] Hladik W, Musinguzi J, Kirungi W, et al. The estimated burden of HIV/AIDS in Uganda 2005-2010[J]. AIDS, 2008, 22(4): 503-510.
- [5] 李敬云. 艾滋病检测方法与应用[M]. 北京: 军事医学科学院出版社, 2006: 26.
- [6] Stover J, Bertozzi S, Gutierrez J, et al. The global impact of scaling up HIV/AIDS prevention programs in low- and middle-income countries [J]. Science, 2006, 311(5766): 1474-1476.
- [7] Correa M, Gisselquist D. Routes of HIV transmission in India: assessing the reliability of information from AIDS case surveillance [J]. Int J STD AIDS, 2006, 17(11): 731-735.
- [8] John Stewart GC. Breast-feeding and HIV-1 transmission: how risky for how long?[J]. J Infect Dis, 2007, 196(1): 1-3.
- [9] Andiman W, Boucher M, Burns D, et al. The mode of delivery and the risk of vertical transmission of human immunodeficiency virus type 1-A meta-analysis of 15 prospective cohort studies [J]. NEJM, 1999, 340(13): 977-987.
- [10] Bagasra O, Freund M, Condoluci D, et al. Presence of HIV-1 in sperm of patients with HIV/AIDS [J]. Mol Androl, 1990, 2: 109-125.

- [11] Alexander NJ. HIV and germinal cells: how close an association?[J]. J Reprod Immunol, 1998, 41(1/2): 17-26.
- [12] 张清健, 谢庆东, 黄天华. 乙型肝炎病毒垂直传播新途径的研究[J]. 癌变·畸变·突变, 2003, 15(2): 121-23.
- [13] Bagasra O, Freund M, Weidmann J, et al. Interaction of human immunodeficiency virus with human sperm in vitro[J]. Acquired Immune Defic Syndr, 1988, 1(5): 431-435.
- [14] Bachiller D, Schellander K, Peli J, et al. Liposome-mediated DNA uptake by sperm cells[J]. Mol Reprod, 1991, 30(3): 194-200.
- [15] Dussaix E, Guetard D, Dauguet C, et al. Spermatozoa as potential carriers of HIV [J]. Res Virol, 1993, 144(6): 487-495.
- [16] Bagasra O, Farzadegan H, Seshamma T, et al. Detection of HIV-1 proviral DNA in sperm from HIV-1 infected men [J]. AIDS, 1994, 8(12): 1669-1674.
- [17] Nuovo GJ, Becker J, Simsir A, et al. HIV nucleic acids localize to the spermatogonia and their progeny [J]. M Am J Pathol, 1994, 144(6): 1142-1148.
- [18] Baccetti B, Benedetto A, Collodel G, et al. The debate on the presence of HIV-1 in human gametes [J]. J Reprod Immunol, 1998, 41(1/2): 41-67.
- [19] Muciaccia B, Corallini S, Vicini E, et al. HIV-1 viral DNA is present in ejaculated abnormal spermatozoa of seropositive subjects [J]. Hum Reprod, 2007, 22(11): 2868-2878.
- [20] Januchowski R, Breborowicz AK, Ofori H, et al. Detection of a short CCR5 messenger RNA isoform in human spermatozoa [J]. J Androl, 2004, 25(5): 757-760.
- [21] Zhang Q, Shimoya K, Temma K, et al. Expression of fractalkine in the Fallopian tube and of CX3CR1 in sperm [J]. Hum Reprod, 2004, 19(2): 409-414.
- [22] Muciaccia B, Padula F, Vicini E, et al. Beta-chemokine receptors 5 and 3 are expressed on the head region of human spermatozoon [J]. FASEB, 2005, 19(14): 2048-2050.
- [23] Harouse JM, Bhat S, Spitalnik SL, et al. Inhibition of entry of HIV-1 in neural cell lines by antibodies against galactosyl ceramide [J]. Science, 1991, 9(6): 341.
- [24] Brogi A, Presentini R, Solazzo D, et al. Interaction of human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein gp120 with a galactoglycerolipid associated with human sperm[J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 1996, 12(6): 483-489.
- [25] Gadella BM, Hammache D, Pieroni G, et al. Glycolipids as potential binding sites for HIV: topology in the sperm plasma membrane in relation to the regulation of membrane fusion[J]. J Reprod Immunol, 1998, 41(1/2): 233-253.
- [26] Bandivdekar AH, Velhal SM, Raghavan VP. Identification of CD4 independent HIV receptors on spermatozoa [J]. Am J Reprod Immunol, 2003, 50(4): 322-327.
- [27] Cardona-Maya W, Herrera A, Rugeles MT, et al. The role of mannose receptor on HIV-1 entry into human spermatozoa[J]. Am J Reprod Immunol, 2006, 55(4): 245-250.
- [28] Liu Y, Liu H, Kim B, et al. Independent infection of astrocytes by human immunodeficiency virus type 1: requirement for the human mannose receptor [J]. Virol, 2004, 78(8): 4120-4133.