

· 综述 ·

毒品滥用与艾滋病相关神经认知紊乱的研究进展

龚正¹ 龚亮² 郭鲁燕³ 唐红梅⁴ 行妍妍⁵ 王雪梅⁶ 汪军兵⁵ 董军⁵

HIV 感染者逐年增加,与毒品滥用关系密切。HIV 不感染神经元,对神经元损伤是通过其包膜糖蛋白 gp120 和反式激活因子 tat 蛋白实现的,其是 HIV-1 相关神经认知紊乱 (HIV-1 associated neurocognitive disorder, HAND) 的关键致病因子;吗啡、甲基苯丙胺 (methamphetamine, METH)、可卡因和美沙酮等流行毒品可损害中枢神经系统。HIV 蛋白与毒品可协同损伤神经元,其协同神经毒性可加速 HAND 病情进展。体内外研究表明毒品可增强 HIV 复制、协同 HIV 蛋白活化胶质细胞,破坏血脑屏障,损伤中枢神经元。了解 HIV 与毒品的协同神经毒性效应,阐明二者神经元毒性机制对 HAND 的治疗有重要意义。本文就毒品滥用与艾滋病相关神经认知紊乱的研究做一综述。

一、毒品滥用与 HIV 复制

1. 吗啡促进 HIV 复制:大量研究证实滥用毒品可增强 HIV 复制。Kumar 发现静脉注射吗啡的恒河猴 HIV 模型 CD4⁺T 细胞丢失、血浆病毒载量较对照组高,提示吗啡可促使 HIV 复制^[1]。阿片受体对 HIV 在单核细胞中的复制有双重作用, μ 阿片受体活化增强单核细胞中 HIV 复制,而 κ 阿片受体活化则抑制病毒在单核细胞和淋巴细胞中的复制^[2]。 μ 阿片受体活化可促使趋化因子受体 5 (C-C motif chemokine receptor 5, CCR5)、趋化因子受体 4 (C-X-C motif receptor 4, CXCR4) 和 CCR3 的表达,趋化因子受体属于 HIV 感染免疫细胞的共受体,其活化有利于病毒进入免疫细胞^[3]。 κ 阿片受体活化可上调 CCR2 的表达,但下调 CCR5 的表达。吗啡下调小胶质细胞的 μ 阿片受体的表达,但在 tat 存在的条件下其表达上调^[4]。由于表达 CCR5 的小胶质细胞是脑内感染 HIV 的主要细胞,因此,此结果表明滥用阿片类毒品可推动 HAND 病理进展。在 HIV 恒河猴模型实验中,吗啡可诱导 tat 基因的突变,加速病毒进化,吗啡依赖的恒河猴脑脊液 (cerebrospinal fluid, CSF) 中病毒蛋白 tat 突变效率远快于非吗啡依赖组^[5],有助于进化出高毒性病毒株。虽然一些体外和体内实验均证实了啡和 HIV 的协

同毒性,但值得注意的是,Donahoe 等^[6]设计的 9 个样本的恒河猴生存分析实验显示慢性吗啡依赖可减缓 AIDS 病情进展,降低病死率。

2. 甲基苯丙胺、可卡因和美沙酮促进 HIV 复制: METH 可加速脑内 HIV 复制,增加病毒载量^[7]。美沙酮也能激活巨噬细胞中处于静止期的 HIV 并大量复制。可卡因促使 HIV 在单核和巨噬细胞系中复制,其机制是通过产生 IL-10 发挥效应,同时上调巨噬细胞活化标记人类白细胞抗原 (human leukocyte antigen, HLA) -DR 的表达^[8],二者可共同推动 HAND 病理进展。可卡因也能促使星形胶质细胞中 HIV 的复制^[9],由于星形胶质细胞担负神经元的营养功能,并作为脑内 HIV 病毒库,因此这一作用对 HAND 的发病及病理进展十分重要。另外,可卡因也能活化树突状细胞表面特异的胞间黏附分子-3 捕获非整合素 (dendritic cell-specific C type ICAM-3-grabbing nonintegrin, DC-SIGN),从而加速 HIV 的感染^[10]。CCR5 和 CXCR4 是 HIV 进入细胞的共受体, METH 可增强巨噬细胞中 HIV 的复制,抑制 IFN- α 表达,上调巨噬细胞 CCR5 表达^[11]。METH 可增加单核细胞和树突状细胞表面 CCR5 和 CXCR4 的表达密度从而加剧 HIV-1 感染,该效应是 METH 与 HIV-1 共同激活细胞内 p38 丝裂原活化蛋白激酶 (mitogen-activated protein kinase, MAPK),抑制细胞外调节蛋白激酶 2 (extracellular regulated protein kinases 2, ERK2) 实现的。p38 阻滞剂 SB203580 和多巴胺受体 2 拮抗剂 SCH23390 和 SKF83566 能够逆转 METH 诱导的 CCR5 上调^[12]。Gavrilin 等^[13]发现在 HIV 猫模型中, METH 可促进星形胶质细胞中 HIV 复制并引起抗 HIV 药物产生耐受。吸食 METH 的脑内 HIV 感染者,其额叶皮质神经元 IFN- α 基因表达升高^[14],表明 METH 可引起 HIV 患者脑内固有免疫功能紊乱,而免疫功能紊乱加速 HIV 复制和扩散。

二、血脑屏障

1. 吗啡破坏血脑屏障损伤神经元:毒品滥用的 HIV 患者血脑屏障完整性受到影响。单用吗啡不能改变血脑屏障的通透性。吗啡与 TAT 蛋白一起活化肌球蛋白激酶,改变脑内皮细胞的紧密连接^[15]。若突然中断使用吗啡,血脑屏障也会受损。HIV 病毒和蛋白,炎症细胞因子可轻易穿过受损的血脑屏障,进入脑组织,活化胶质细胞,导致神经元退行性病变。

2. 甲基苯丙胺破坏血脑屏障损伤神经元:单用

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.2015.01.032

基金项目:国家自然科学基金(No. 81171134);国家自然科学基金(No. 81471235);宜昌市医疗卫生科研项目(No. A14301-06);湖北省卫计委科研项目(No. WJ2015MB173)

作者单位:443000 宜昌市,宜昌市中心人民医院¹; 441400 宜城市,宜城市人民医院²; 510080 广州市,中山大学附属第一医院³; 510515 广州市,南方医科大学⁴; 510632 广州市,暨南大学⁵; 420500 宜昌市,葛洲坝中心医院⁶

通讯作者:董军, Email: dongjunbox@163.com.

METH 可诱发氧化应激损害内皮细胞, 增加血脑屏障的通透性, 乙酰半胱氨酸阻止 METH 对内皮细胞的损害。METH 和 HIV 可通过损伤细胞紧密连接(endothelial tight junctions, TJ) 蛋白的表达破坏血脑屏障, 服用 METH 的 HIV 阳性患者, 血脑屏障通透性增加, 携带 HIV 的淋巴细胞易穿过血脑屏障。同样的, HIV 引起的血脑屏障通透性增加同时也导致 METH 进入脑组织的量增加。

3. 可卡因和美沙酮破坏血脑屏障损伤神经元: 体外研究显示, 可卡因可诱导血管内皮细胞黏附分子表达, 损伤血脑屏障内皮细胞间紧密连接, 增强单核细胞通过血脑屏障的迁移能力。这种损伤效应与早期 CSF 炎症有关, 特别与巨噬细胞炎性蛋白 1(macrophage inflammatory protein-1, MIP) 的浓度有关。血脑屏障破坏在 HIV 患者尸检中已经证实。其他体外与体内实验均证实 HIV 蛋白可改变内皮细胞功能^[16]。美沙酮也能单独改变血脑屏障的完整性。美沙酮与 HIV 包膜糖蛋白 gp120 可调控脑内皮细胞紧密连接表达。高剂量美沙酮可导致脑水肿和 CSF 离子浓度改变, 尽管多数急性期反应都是可逆性的, 但这些损伤效应在一定程度上加速神经退行性病变^[17]; 高剂量美沙酮干扰神经元内氧化反应, 活化转录因子, 对内皮细胞内炎症信号转导通路活化起重要作用。

三、神经胶质细胞的作用

关于毒品和 HIV 对胶质细胞的作用已经有许多体外和动物模型研究。但在非灵长类动物模型中, HIV 和毒品滥用对神经元退行性病变尚无实验研究。目前设计的实验均为 HIV 蛋白与毒品对培养细胞的毒性观察。最近的研究使用 tat 和 gp120 转基因鼠来观察神经元毒性机制。

1. 吗啡通过神经胶质细胞损伤神经元: 低浓度吗啡对神经元没有毒性, 但低浓度吗啡能够增加 Tat 蛋白的神经元毒性^[18], 在 tat 转基因小鼠中, 吗啡处理组可缩短树突长度, 导致少突胶质细胞退行性病变, 下游凋亡信号分子胱冬蛋白酶(caspase)-3 表达增高^[19]。树突棘是神经元间形成突触的主要部位, 在学习记忆过程中, 突触可塑性常与树突棘的形成、脱落、扩张和萎缩等形态变化相伴发生, tat 蛋白可减少树突棘数目, 吗啡可放大 tat 蛋白的这种效应^[20]。tat 转基因大鼠使用吗啡后, 可改变中间神经元代谢活性, 诱发应激反应^[21]。胶质细胞是中枢 HIV 最大的病毒库, 脑内炎症反应主要由小胶质细胞引起, 吗啡可活化 tat 转基因小鼠的巨噬细胞/小胶质细胞, 星形胶质细胞, 释放大细胞因子/趋化因子, 诱发中枢炎症反应。但吗啡可减少 tat 诱导的小胶质细胞神经毒性细胞因子和趋化因子 TNF- α 、IL-6 和单核细胞趋化蛋白-1(monocyte chemotactic protein 1, MCP-1) 的分泌^[22], 表明吗啡对胶质细胞的影响机制较复杂。

在神经元和胶质细胞体外共培养细胞系中加入吗啡与 gp120 后, 可使神经元的凋亡显著加强^[23], 滥用阿片类药物的 HIV-1 阳性患者外周血 TNF- α 的水平及单核细胞 mRNA 的表达显著高于 HIV-1 血清阴性的患者, 提示阿片类药物与 HIV-1 可协同刺激凋亡信号分子的表达^[24]。Fitting 等^[25]使用蛋白芯片发现星形胶质细胞暴露于 tat 后, IL-1、IL-6 和 TNF- α 等 23 种细胞因子/趋化因子中有 12 种表达增高, 但 tat 与吗啡, tat 与 gp120, 吗啡与 gp120 无交互作用, 吗啡可与 tat 协同增强刺激小胶质细胞分泌 TNF- α 、IL-1 β 与 IL-6 细胞因子^[26], 小胶质细胞为细胞因子/趋化因子分泌活跃的细胞, 据此可以推测, 一些其他实验中观察到 gp120 与吗啡, tat 与吗啡之间的交互作用可能是小胶质细胞存在的情形下产生的。

由于等位基因多态性, 不同患者对毒品和艾滋病蛋白的敏感性不同, 吸食吗啡的 HIV 患者中, 表达 ApoE-4 等位基因的患者较 ApoE-3 和 ApoE-2 患者更易出现神经元凋亡现象^[27]。也有研究结果显示, 吗啡可保护可刺激星形胶质细胞分泌 CCL5, 拮抗 gp120 对神经元的毒性^[28]。因此, 吗啡对神经元的作用是双重的, 关于吗啡对神经元的损害性研究报告多于其对神经元的保护性报告。

2. 甲基苯丙胺和可卡因通过神经胶质细胞损伤神经元: 早期研究发现尸检中, 滥用 METH 的 HIV 患者尾状核与黑质神经元多巴胺、高香草酸浓度降低, 表明黑质纹状体多巴胺神经元损伤, 随后发现脑其他区域也存在类似表现。METH 与 tat 蛋白通过氧化应激机制协同损伤多巴胺神经元^[29]。tat 蛋白与 METH 协同损伤多种细胞的线粒体功能, 包括多巴胺能神经元、非多巴胺能神经元、钙结合蛋白阳性的海马神经元与人类胎儿神经元^[30]。这种与线粒体相关的氧化应激能够被抗氧化剂拮抗。METH 与 gp120, tat 可降低脑内抗氧化剂谷胱甘肽(glutathione, GSH) 浓度和谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GPx), 用乙酰半胱氨酸预处理可减轻反应^[31]。在 HIV 阳性大鼠纹状体中, METH 可协同增加氧化还原反应酶因子的活性, 促进氧化应激标记物和炎症细胞因子的表达(IL-1 α 、IL-1 β 和 TNF- γ), 增强对多巴胺能神经元的毒性^[32]。

METH 与 tat 可通过与 NMDA 受体相互作用增强谷氨酸的毒性, 活化多巴胺受体 1 导致神经元死亡。长期使用 METH 产生神经元损害和炎症反应, 表现为神经元死亡和胶质细胞活化, Langford 等^[33]发现, 长期服用 METH 的 HIV 患者中, 小胶质细胞活化, 突触囊泡蛋白、突触蛋白、中间神经元蛋白钙结合蛋白丢失较未服用 METH 的 HIV 患者严重。Chana 等^[34]在类似的发现中观察到前额皮层钙结合蛋白、小白蛋白免疫反应阳性中间神经元缺失在服用 METH 的 HIV

患者中更为严重。这些实验表明氧化应激是毒品增强 HIV 蛋白的神经毒性的重要机制。其他机制在损伤中也发挥了效应,包括线粒体功能障碍、炎症和凋亡蛋白酶依赖的神经元凋亡。相似的,可卡因也能够活化胶质细胞,导致氧化应激,神经毒性。

四、结论和展望

吗啡、可卡因、美沙酮和海洛因可增强 HIV 复制,活化胶质细胞,破坏血脑屏障,毒品和 HIV 损害神经元的分子机制已经部分清楚。毒品与 HIV 的神经毒性是多因子参与的结果,是否主要依赖于宿主的免疫抑制与病毒感染的病理过程?阐明毒品和 HIV 损害神经元的病理机制有利于寻找治疗干预的特异靶点。为了更好地理解毒品滥用和 HAND 之间的关系,可使用 HAND 模型观察 HIV 感染大脑的不同病理阶段、不同类型细胞的病变情况及治疗干预的疗效。仅有少量研究毒品滥用对宿主基因的影响、宿主基因对毒品成瘾之间的关系。除此之外,毒品滥用对最初病毒感染的选择性影响尚不清楚。由于吸毒者常常吸食多种毒品,因此理论上,多种毒品组合的毒性也应该被观察。

发现和探寻新的 HAND 的标记物对临床诊断和治疗十分重要,许多动物实验提示抗氧化剂有显著疗效,虽然设计了一些毒品滥用 HAND 患者的临床试验,然而到目前为止,仅少量吸毒的 HIV 患者完成了 II 期临床实验,未发现一个药物有显著的疗效,也无任何临床规范实施用于治疗吸毒的 HIV 患者,所有关于 HAND 的临床实验性治疗都失败了。神经干细胞与神经元祖细胞对神经元再生,维持大脑功能有重要作用,但其在毒品滥用的 HIV 患者脑功能调控作用尚未研究,这是十分重要的。新的治疗方法需要不但能够保护神经元,而且可促使神经祖细胞增殖和分化,这种方法有利于神经元的修复,这是未来治疗研究的一个方向。

参考文献

- Kumar R, Torres C, Yamamura Y, et al. Modulation by morphine of viral set point in rhesus macaques infected with simian immunodeficiency virus and simian-human immunodeficiency virus. *J Virol*,2004,78(20):11425-11428.
- Lokensgard JR, Gekker G, Peterson PK. Kappa-opioid receptor agonist inhibition of HIV-1 envelope glycoprotein-mediated membrane fusion and CXCR4 expression on CD4(+) lymphocytes[J]. *Biochem Pharmacol*,2002,63(6):1037-1041.
- El-Hage N, Dever SM, Podhaizer EM, et al. A novel bivalent HIV-1 entry inhibitor reveals fundamental differences in CCR5-mu-opioid receptor interactions between human astroglia and microglia[J]. *AIDS*,2013,27(14):2181-2190.
- Turchan-Cholewo J, Dimayuga FO, Ding Q, et al. Cell-specific actions of HIV-Tat and morphine on opioid receptor expression in glia[J]. *J Neurosci Res*,2008,86(9):2100-2110.
- Noel RJ Jr, Kumar A. Virus replication and disease progression inversely correlate with SIV tat evolution in morphine-dependent and SIV/SHIV-infected Indian rhesus macaques[J]. *Virology*,2006,346(1):127-138.
- Donahoe RM, O'Neil SP, Marsteller FA, et al. Probable deceleration of progression of Simian AIDS affected by opiate dependency: studies with a rhesus macaque/SIVmm9 model[J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*,2009,50(3):241-249.
- Marcondes MC, Flynn C, Watry DD, et al. Methamphetamine increases brain viral load and activates natural killer cells in simian immunodeficiency virus-infected monkeys[J]. *Am J Pathol*,2010,177(1):355-361.
- Dhillon NK, Williams R, Peng F, et al. Cocaine-mediated enhancement of virus replication in macrophages: implications for human immunodeficiency virus-associated dementia[J]. *J Neurovirol*,2007,13(6):483-495.
- Reynolds JL, Mahajan SD, Bindukumar B, et al. Proteomic analysis of the effects of cocaine on the enhancement of HIV-1 replication in normal human astrocytes (NHA)[J]. *Brain Res*,2006,1123(1):226-236.
- Nair MP, Mahajan SD, Schwartz SA, et al. Cocaine modulates dendritic cell-specific C type intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin expression by dendritic cells in HIV-1 patients[J]. *J Immunol*,2005,174(11):6617-6626.
- Liang H, Wang X, Chen H, et al. Methamphetamine enhances HIV infection of macrophages[J]. *Am J Pathol*,2008,172(6):1617-1624.
- Nair MP, Saiyed ZM, Nair N, et al. Methamphetamine enhances HIV-1 infectivity in monocyte derived dendritic cells[J]. *J Neuroimmune Pharmacol*,2009,4(1):129-139.
- Gavrilin MA, Mathes LE, Podell M. Methamphetamine enhances cell-associated feline immunodeficiency virus replication in astrocytes. *J Neurovirol*,2002,8(3):240-249.
- Everall I, Salaria S, Roberts E, et al. Methamphetamine stimulates interferon inducible genes in HIV infected brain[J]. *J Neuroimmunol*,2005,170(1-2):158-171.
- Mahajan SD, Aalinkeel R, Sykes DE, et al. Tight junction regulation by morphine and HIV-1 tat modulates blood-brain barrier permeability[J]. *J Clin Immunol*,2008,28(5):528-541.
- Andras IE, Pu H, Tian J, et al. Signaling mechanisms of HIV-1 Tat-induced alterations of claudin-5 expression in brain endothelial cells[J]. *J Cereb Blood Flow Metab*,2005,25(9):1159-1170.
- Sharma HS, Kiyatkin EA. Rapid morphological brain abnormalities during acute methamphetamine intoxication in the rat: an experimental study using light and electron microscopy[J]. *J Chem Neuroanat*,2009,37(1):18-32.
- Gurwell JA, Nath A, Sun Q, et al. Synergistic neurotoxicity of opioids and human immunodeficiency virus-1 Tat protein in striatal neurons in vitro[J]. *Neuroscience*,2001,102(3):555-563.
- Hauser KF, Hahn YK, Adjan VV, et al. HIV-1 Tat and morphine have interactive effects on oligodendrocyte survival and morphology[J]. *Glia*,2009,57(2):194-206.
- Fitting S, Xu R, Bull C, et al. Interactive comorbidity between opioid drug abuse and HIV-1 Tat: chronic exposure augments spine loss and sublethal dendritic pathology in striatal neurons[J]. *Am J Pathol*,2010,177(3):1397-1410.
- Sultana S, Li H, Puche A, et al. Quantitation of parvalbumin+ neurons and human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) regulatory gene expression in the HIV-1 transgenic rat: effects of vitamin A deficiency and morphine[J]. *J Neurovirol*,2010,16(1):33-40.
- Turchan-Cholewo J, Dimayuga FO, Gupta S, et al. Morphine and HIV-Tat increase microglial-free radical production and oxidative stress: possible role in cytokine regulation[J]. *J*

- Neurochem,2009,108(1):202-215.
- 23 Hu S, Sheng WS, Lokensgard JR, et al. Morphine potentiates HIV-1 gp120-induced neuronal apoptosis[J]. J Infect Dis,2005,191(6):886-889.
- 24 Ownby RL, Kumar AM, Benny Fernandez J, et al. Tumor necrosis factor-alpha levels in HIV-1 seropositive injecting drug users[J]. J Neuroimmune Pharmacol,2009,4(3):350-358.
- 25 Fitting S, Zou S, Chen W, et al. Regional heterogeneity and diversity in cytokine and chemokine production by astroglia: differential responses to HIV-1 Tat, gp120, and morphine revealed by multiplex analysis[J]. J Proteome Res,2010,9(4):1795-1804.
- 26 Bokhari SM, Yao H, Bethel-Brown C, et al. Morphine enhances Tat-induced activation in murine microglia[J]. J Neurovirol,2009,15(3):219-228.
- 27 Turchan-Cholewo J, Liu Y, Gartner S, et al. Increased vulnerability of ApoE4 neurons to HIV proteins and opiates: protection by diosgenin and L-deprenyl[J]. Neurobiol Dis,2006,23(1):109-119.
- 28 Avdoshina V, Biggio F, Palchik G, et al. Morphine induces the release of CCL5 from astrocytes: potential neuroprotective mechanism against the HIV protein gp120[J]. Glia,58(13):1630-1639.
- 29 Theodore S, Cass WA, Maragos WF. Methamphetamine and human immunodeficiency virus protein Tat synergize to destroy dopaminergic terminals in the rat striatum[J]. Neuroscience,2006,137(3):925-935.
- 30 Langford D, Grigorian A, Hurford R, et al. The role of mitochondrial alterations in the combined toxic effects of human immunodeficiency virus Tat protein and methamphetamine on calbindin positive-neurons[J]. J Neurovirol,2004,10(6):327-337.
- 31 Banerjee A, Zhang X, Manda KR, et al. HIV proteins (gp120 and Tat) and methamphetamine in oxidative stress-induced damage in the brain: potential role of the thiol antioxidant N-acetylcysteine amide[J]. Free Radic Biol Med,2010,48(10):1388-1398.
- 32 Theodore S, Cass WA, Maragos WF. Involvement of cytokines in human immunodeficiency virus-1 protein Tat and methamphetamine interactions in the striatum[J]. Exp Neurol,2006,199(2):490-498.
- 33 Langford D, Adame A, Grigorian A, et al. Patterns of selective neuronal damage in methamphetamine-user AIDS patients[J]. J Acquir Immune Defic Syndr,2003,34(5):467-474.
- 34 Chana G, Everall IP, Crews L, et al. Cognitive deficits and degeneration of interneurons in HIV+ methamphetamine users[J]. Neurology,2006,67(8):1486-1489.

(收稿日期: 2014-04-28)

(本文编辑: 孙荣华)

龚正, 龚亮, 郭鲁燕, 等. 毒品滥用与艾滋病相关神经认知紊乱的研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2015, 9(1): 116-119.