

· 综述 ·

自噬在人类免疫缺陷病毒和结核分枝杆菌共同感染中的作用

张霞^{1,3} 付玉荣² 李猛¹ 孟祥英¹ 高昆山³ 伊正君¹

【摘要】人类免疫缺陷病毒/结核分枝杆菌(HIV/M.tb)共同感染已经成为发展中国家的主要公共卫生威胁。自噬是一种溶酶体分解代谢过程,正常状态下维持细胞内环境的稳态,还涉及细胞内病原体如HIV-1和M.tb的清除,可增强机体的免疫防御能力。本文概述在HIV-1和M.tb单独感染以及共同感染的背景下自噬对机体免疫防御的调控,全面了解病原体与自噬的相互作用,展望未来开发基于自噬原理新的预防性疫苗和治疗干预措施的巨大潜力。

【关键词】自噬;人类免疫缺陷病毒;结核分枝杆菌;共同感染

Autophagy in human immunodeficiency virus and *Mycobacterium tuberculosis* coinfection Zhang Xia^{1,3}, Fu Yurong², Li Meng¹, Meng Xiangying¹, Gao Kunshan³, Yi Zhengjun¹. ¹Department of Laboratory Medicine, ²Department of Microbiology, Weifang Medical University, Shandong Province, Weifang 261053, China; ³Clinical Laboratory of Affiliated Hospital of Weifang Medical University, Shandong Province, Weifang 261031, China
Corresponding Author: Yi Zhengjun, Email: yizhengjun@126.com

【Abstract】HIV/M.tb coinfection has become a major public health threat in developing countries. Autophagy is a process of lysosomal catabolism that maintains the homeostasis of the cell under normal conditions but also involves the clearance of intracellular pathogens such as HIV-1 and M.tb. It also enhances the host's immune defense mechanisms against infectious diseases. This review summarizes the regulation of autophagy on immune defense in the context of HIV-1 and M.tb infection alone and coinfection, overviews the comprehensive understanding of the pathogen-autophagy interaction and highlights the future development concerning the new prophylaxis vaccines improvement and the great potential of therapeutic interventions based on the principle of autophagy.

【Key words】Autophagy; Human immunodeficiency virus 1; *Mycobacterium tuberculosis*; Coinfection

人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus 1, HIV-1)感染者中,至少有1/3同时存在结核分枝杆菌(*Mycobacterium*, M.tb)感染。并且,HIV-1感染者发展成为活动性结核病的概率是未感染人群的20~30倍^[1]。HIV-1和M.tb共同感染(HIV/M.tb)是一个非常严重的问题,全球约1 400万人存在HIV-1和M.tb双重感染^[2]。两种病原体相互促进,加速免疫功能的恶化,造成感染率和病死率居高不下。2016年,据WHO统计约170万人死于结核病,其中包括37.4万合并HIV-1感染者^[3]。

过去十年,自噬在抗细菌和抗病毒、增强宿主的免疫防御等领域的作用成为研究新热点。自噬作用于抗病毒免疫的不同阶段,通过自噬过程降解整个病毒或特定病毒蛋白,将病毒核酸递送至Toll样受体(Toll-like receptors, TLR)来激活固有免疫应答,以及将病毒抗原递呈给主要组织相容性复合体(major histocompatibility complex,

MHC) I类和MHC II类分子来激活适应性免疫应答。本文重点阐述HIV-1和M.tb单独感染和共同感染的背景下,自噬抵御病原体入侵的作用以及与宿主免疫应答的相互关系,展望了自噬在临床预防和治疗领域的发展前景。

一、自噬的基本过程

自噬是一种涉及蛋白质和细胞器降解的膜运输通路,也是一个严格调控的过程,涉及30多种专门的自噬相关蛋白(autophagy-related genes, Atgs)^[4]。自噬过程由两个复合物unc-51样激酶(unc-51-like kinase 1, ULK1)和自噬相关蛋白Beclin-1引发,首先形成杯形隔离膜,该膜扩大逐渐与细胞质膜隔离,并可将胞浆中的任何成分包裹入内,然后封闭形成双层膜的自噬体。最终,自噬体与溶酶体融合形成自噬溶酶体,降解其包裹的内容物,维持细胞稳态。

自噬过程被认为具有防御和应激调控作用,既能保证细胞在压力下维持生存,还能清除入侵的病原体,在固有性和适应性免疫中发挥重要作用^[5],与疾病密切相关。

二、自噬参与HIV-1感染免疫应答的调控

自噬与HIV-1感染的相互作用在HIV感染和发病机制中呈现出多种作用。HIV-1感染早期,病毒蛋白Vif能够抑制自噬,从而导致CD4⁺T淋巴细胞(包括未感染T细胞)感染和死亡;相反,自噬通过选择性降解病毒反式激活因子Tat

DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-1358.04.001

基金项目: 山东省自然科学基金(No. ZR2016BL19)

作者单位: 261053 潍坊市, 山东省潍坊医学院医学检验学系¹、临床医学院微生物教研室²; 261031 潍坊市, 山东省潍坊医学院附属医院检验科³

通信作者: 伊正君, Email: yizhengjun@126.com

来限制HIV-1感染。

1. HIV-1感染诱导自噬: HIV-1通过自噬调节来利于自身复制,其调节取决于细胞类型(CD4⁺ T细胞、巨噬细胞或树突状细胞)和细胞状态(即感染或未感染的细胞)。HIV-1在原发性感染早期阶段诱导自噬体形成,并增加Jurkat细胞和CD4⁺ T细胞中Beclin-1和微管相关蛋白轻链3(microtubule-associated protein light chain 3, LC3)蛋白表达^[6]。Espert等^[7]证实,HIV-1的包糖蛋白(Env)与未感染CD4⁺ T细胞的趋化因子受体4(C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4)受体结合后,通过快速募集Beclin-1,触发自噬,引起细胞凋亡,可能为CD4⁺ T细胞耗竭导致免疫缺陷的因素。

2. 自噬限制HIV-1感染和进展:虽然自噬可在未感染的CD4⁺ T细胞中被诱导,但其调节效果下调,且自噬在不同免疫细胞呈现抑制HIV-1感染的不同效果。有文献报道自噬关键组分p62/SQSTM1和HIV-1 Tat因子间相互作用,导致Tat通过选择性自噬被靶向溶酶体降解,抑制HIV-1复制,但具体机制仍有待进一步证实^[8-9]。此外,HIV-1感染的长期不进展者(HIV-1 long-term nonprogressors, LTNP; 指携带HIV,不需要抗逆转录病毒治疗也可保持无症状的人群)和精英控制者(elite controllers, EC; 是指感染HIV后,病毒持续低水平复制,病毒载量长期低于一定数值,即使不进行抗逆转录病毒治疗也可以控制感染。外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cells, PBMCs)中可检测到高水平的自噬体和自噬体标志物^[10],也提示自噬在抑制HIV-1感染病程中发挥着不可或缺的作用。

3. HIV-1进化出抑制自噬的机制: HIV进化形成各种抑制或阻断自噬的机制,以避免被宿主的吞噬细胞清除。一方面,HIV-1反式激活因子Vif的C-末端与感染早期CD4⁺ T细胞中的微管相关蛋白轻链3B(microtubule-associated protein light chain 3B, LC3B)相互作用,阻断自噬体的形成^[11]。另外,HIV-1调节因子Nef与Beclin-1蛋白复合物结合,可激活哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mammalian target of rapamycin, mTOR),导致参与ATG蛋白质生物合成的转录因子TFEB的磷酸化和隔离,最终抑制自噬的发生。HIV-1 Tat因子通过抑制STAT1蛋白磷酸化来干扰IFN- γ 诱导的自噬,导致包括LC3B在内的自噬基因的表达降低,最终抑制自噬体与溶酶体的融合^[12]。

三、自噬参与结核分枝杆菌感染免疫应答的调控

越来越多的证据表明,吞噬细胞中的自噬是控制M.tb生长的重要效应机制,而M.tb逃避自噬决定了其致病性。Th1细胞在抗结核细胞免疫应答中发挥着关键性作用^[13]。研究表明CD8⁺ T细胞以及识别M.tb脂质的CD1限制性T细胞^[14]有助于实现结核病的最有效控制。尽管对机体的保护作用不如细胞免疫应答,M.tb感染仍然可刺激机体产生体液免疫应答,抗体及B细胞也在此过程中发挥重要作用。

1. 结核分枝杆菌感染阻遏自噬: 结核分枝杆菌感染过程中,通过阻断吞噬体成熟,抑制自噬过程,避免被巨噬细胞吞噬清除。结核分枝杆菌产生一系列脂质和脂聚糖,通

过模拟VPS34(III型磷脂酰肌醇-3激酶复合物的组分)合成磷脂酰肌醇-3-磷酸(phosphatidylinositol 3-phosphate, PI3P)过程,不仅抑制自噬而且阻断PI3P依赖性运输途径^[15-17]。此外,结核分枝杆菌还分泌酪氨酸磷酸酶,进一步降低PI3P的吞噬体水平,并通过与液泡分选蛋白33b(vacuolar protein sorting-associated protein 33b, VPS33b)相互作用阻断吞噬体与溶酶体的融合。冠粒蛋白(coronin-1a)是一种宿主的F-肌动蛋白结合蛋白,该蛋白被M.tb激活通过抑制TLR信号途径诱导自噬所必需的p38丝裂原活化蛋白激酶(p38 mitogen activated protein kinase, p38MAPK)的激活,并抑制含有芽孢杆菌的自噬体形成^[18]。

2. 自噬调节结核分枝杆菌的感染和清除: 结核分枝杆菌感染巨噬细胞诱导自噬,产生清除M.tb作用。自噬清除M.tb的机制已明确为泛素依赖性机制,含有细菌的吞噬体被泛素链标记,随后被自噬接头p62和核点蛋白52(nuclear dot protein 52, NDP52)识别,招募自噬降解所必需的组份^[19-20]。

TANK结合激酶1(TANK-binding kinase 1, TBK-1)在泛素依赖性机制清除M.tb方面起关键作用。其中机制之一是干扰素基因的刺激因子(stimulator of interferon genes, STING)依赖的胞质DNA传导通路触发受损的含有M.tb的吞噬体的泛素化^[21]。STING识别胞外M.tb DNA,通过依赖泛素-自噬接头的机制促进由泛素连接酶Parkin介导的M.tb泛素化标记,以及自噬接头p62和NDP52的募集和随后的LC3募集^[21-22]。最近研究发现,依赖于ras癌基因家族RAB8b视神经蛋白和p62也可调节M.tb的自噬清除。TBK-1不仅抑制自噬溶酶体的成熟,还触发p62的C-末端泛素相关结构域(ubiquitin-associated domains, UBA)中的丝氨酸403的磷酸化,增加其对泛素标记的结核分枝杆菌的亲合力,诱导自噬清除。

自噬清除M.tb的作用虽然得到证实,但自噬相关蛋白的作用和M.tb感染对自噬调节机制等问题仍有待解决。

四、自噬在HIV-M.tb共感染中的作用

HIV-1和结核分枝杆菌共感染抑制宿主的免疫防御,加速对免疫系统的破坏,加剧感染病情的恶化。HIV-1或M.tb单一感染,对机体免疫系统的抑制有利于另一种感染的发生,如HIV-1感染诱导分泌的白细胞介素10(interleukin-10, IL-10)不仅在M.tb感染时抑制巨噬细胞的凋亡^[23],还阻碍其对M.tb的细胞免疫应答^[24]。另一方面,M.tb感染导致白细胞介素8(interleukin-8, IL-8)水平增高,通过诱导T细胞归巢,有利于HIV-1的增殖。

HIV-1和M.tb共感染对机体免疫系统有协同抑制作用,但目前研究证实机体也存在诱导自噬,抵御HIV-1和M.tb感染的关键效应分子为维生素D。维生素D是维持机体代谢必不可少的一种脂溶性维生素,其活性代谢产物1, 25-(OH)₂-VD₃与受体结合后,可以增强 β -防御素2/4和4A基因以及导管素的表达^[25-26]。这两种基因表达的产物介导细胞内抗菌和抗病毒感染作用,并且导管素还可以诱导自噬关键成分Atg5、

Beclin1和核苷酸结合寡聚化结构域2 (nucleotide-binding oligomerization domain-containing 2, NOD2) 的转录^[26-27]。生理水平的1, 25-(OH)₂-VD₃以自噬依赖性方式抑制HIV-1和M.tb的复制^[28-29], 此过程主要依赖Beclin-1和Atg5发挥作用。此外, 维生素D诱导的自噬通过导管素作用可以消除HIV-1和M.tb单独感染或共同感染^[28]。

五、未来与展望

目前, 对感染过程中自噬作用的了解尚不完整, 许多问题还有待解决。体外和体内HIV-1和M.tb感染和与自噬间复杂的相互作用也亟待深入研究。虽然面临许多挑战, 但自噬作用对研发新疫苗、疫苗改良和感染性疾病的治疗具有巨大的潜力。自噬作为新的治疗靶点, 开发自噬调节药物, 改善抗病毒治疗的疗效; 研发基于自噬的疫苗有效地防治结核病, 可能成为感染性疾病治疗的一个方向。

参 考 文 献

- [1] World Health Organization. Global Tuberculosis Report 2016 [EB/OL]. Geneva: 2016. <http://www.searo.who.int/indonesia/documents/9789241564809/en/>.
- [2] Getahun H, Gunneberg C, Granich R, et al. HIV infection-associated tuberculosis: the epidemiology and the response[J]. Clin Infect Dis, 2010, 50(3):201-207.
- [3] World Health Organization. Global tuberculosis report 2017[EB/OL]. Geneva: 2017. http://www.who.int/tb/publications/global_report/en/.
- [4] Lamb CA, Yoshimori T, Tooze SA, et al. The autophagosome: origins unknown, biogenesis complex[J]. Nat Rev Mol Cell Bio, 2013, 14(12):759-774.
- [5] Xu Y, Eissa NT. Autophagy in innate and adaptive immunity[J]. Proc Am Thorac Soc, 2010, 7(1):22-28.
- [6] Wang X, Gao Y, Tan J, et al. HIV-1 and HIV-2 infections induce autophagy in Jurkat and CD4⁺ T cells[J]. Cell Signal, 2012, 24(7):1414-1419.
- [7] Espert L, Denizot M, Grimaldi M, et al. Autophagy is involved in T cell death after binding of HIV-1 envelope proteins to CXCR4[J]. J Clin Invest, 2006, 116(8):2161-2172.
- [8] El-Hage N, Rodriguez M, Dever SM, et al. HIV-1 and morphine regulation of autophagy in Microglia: limited interactions in the context of HIV-1 infection and opioid abuse[J]. J Virol, 2015, 89(2):1024-1035.
- [9] Sagnier S, Daussy CF, Borel S, et al. Autophagy Restricts HIV-1 infection by selectively degrading Tat in CD4⁺ T lymphocytes[J]. J Virol, 2015, 89(1):615-625.
- [10] Nardacci R, Amendola A, Ciccocanti F, et al. Autophagy plays an important role in the containment of HIV-1 in nonprogressor-infected patients[J]. Autophagy, 2014, 10(7):1167-1178.
- [11] Borel S, Robert-Hebmann V, Alfaisal J, et al. HIV-1 viral infectivity factor interacts with microtubule-associated protein light chain 3 and inhibits autophagy[J]. AIDS, 2015, 29(3):275-286.
- [12] Li JC, Au K, Fang J, et al. HIV-1 trans-activator protein dysregulates IFN- γ signaling and contributes to the suppression of autophagy induction[J]. AIDS, 2011, 25(1):15-25.
- [13] North RJ, Jung YJ. Immunity to tuberculosis[J]. Annu Rev Immuno, 2004, 22(3569):599-623.
- [14] Ladel CH, Blum C, Dreher A, et al. Protective role of gamma/delta T cells and alpha/beta T cells in tuberculosis[J]. Eur J Immunol, 1995, 25(10):2877-2881.
- [15] Fratti RA, Chua J, Vergne I, et al. Mycobacterium tuberculosis glycosylated phosphatidylinositol causes phagosome maturation arrest[J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2003, 100(9):5437-5442.
- [16] Vergne I, Fratti RA, Hill PJ, et al. Mycobacterium tuberculosis phagosome maturation arrest: Mycobacterial phosphatidylinositol analog phosphatidylinositol mannoside stimulates early endosomal fusion[J]. Mol Biol Cell, 2003, 15(2):751-760.
- [17] Shui W, Petzold CJ, Redding AM, et al. Organelle membrane proteomics reveals differential influence of *Mycobacterial lipoglycans* on macrophage phagosome maturation and autophagosome accumulation[J]. J Proteome Res, 2011, 10(1):339-348.
- [18] Seto S, Tsujimura K, Koide Y, et al. Coronin-1a inhibits autophagosome formation around *Mycobacterium tuberculosis*-containing phagosomes and assists mycobacterial survival in macrophages[J]. Cell Microbiol, 2012, 14(5):710-727.
- [19] Gomes LC, Dikic I. Autophagy in antimicrobial immunity[J]. Mol Cell, 2014, 54(2):224-233.
- [20] Huang J, Brummell JH. Bacteria-autophagy interplay: a battle for survival[J]. Nat Rev Microbiol, 2014, 12(2):101-114.
- [21] Watson RO, Manzanillo P, Cox JS, et al. Extracellular *M. tuberculosis* DNA targets bacteria for autophagy by activating the host DNA-sensing pathway[J]. Cell, 2012, 150(4):803-815.
- [22] Manzanillo P, Ayres JS, Watson RO, et al. The ubiquitin ligase parkin mediates resistance to intracellular pathogens[J]. Nature, 2013, 501(7468):512-516.
- [23] Patel NR, Swan K, Li X, et al. Impaired M. tuberculosis-mediated apoptosis in alveolar macrophages from HIV+ persons: potential role of IL-10 and BCL-3[J]. J Leukoc Biol, 2009, 86(1):53-60.
- [24] Jasenosky LD, Scriba TJ, Hanekom WA, et al. T cells and adaptive immunity to *Mycobacterium tuberculosis* in humans[J]. Immunol Rev, 2015, 264(1):74-87.
- [25] Liu PT, Stenger S, Li H, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response[J]. Science, 2006, 311(5768):1770-1773.
- [26] Borella E, Nesher G, Israeli E, et al. Vitamin D: a new anti-infective agent?[J]. Ann NY Acad Sci, 2014, 1317(1):76-83.
- [27] Yuk J, Shin D, Lee H, et al. Vitamin D3 induces autophagy in human monocytes/macrophages via cathelicidin[J]. Cell Host Microbe, 2009, 6(3):231-243.
- [28] Campbell GR, Spector SA. Vitamin D inhibits human immunodeficiency virus type 1 and *Mycobacterium tuberculosis* infection in macrophages through the induction of autophagy[J]. PLoS Pathog, 2012, 8(5):e1002689.
- [29] Anandaiah A, Sinha S, Bole M, et al. Vitamin D rescues impaired *Mycobacterium tuberculosis*-mediated tumor necrosis factor release in macrophages of HIV-seropositive individuals through an enhanced Toll-like receptor signaling pathway in vitro[J]. Infect Immun, 2013, 81(1):2-10.

(收稿日期: 2017-12-22)

(本文编辑: 孙荣华)

张霞, 付玉荣, 李猛, 等. 自噬在人类免疫缺陷病毒和结核分枝杆菌共同感染中的作用[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志(电子版), 2018, 12(4):313-315.