

## Transwell 技术模拟人类免疫缺陷病毒感染黏膜及其他屏障系统的应用

林光正<sup>1</sup>, 裘佳寅<sup>2</sup>, 刘叔文<sup>2</sup>, 李琳<sup>2</sup>

1. 南方医科大学第一临床医学院, 广州 510515; 2. 南方医科大学药学院, 广州 510515

**摘要:**近年来,由于 Transwell 小室能在体外模拟机体许多黏膜及生物屏障系统,如人生殖道黏膜、直肠组织黏膜以及血-脑屏障、血-视网膜屏障等,重现人类免疫缺陷病毒(HIV)感染机体的过程,对 HIV 感染机体的机制研究极为重要,因而被广泛应用。目前,尚无有效抗 HIV 疫苗问世,因此开发能阻断 HIV 性传播的药物是有效途径之一。应用 Transwell 技术深入研究 HIV 穿透黏膜及屏障系统感染机体的机制,也能为 HIV 防治药物的研发寻找新的作用靶点。本文就近年来 Transwell 技术在 HIV 感染黏膜及其他屏障系统中的应用作一综述。

**关键词:** Transwell 技术; 人类免疫缺陷病毒; 性传播; 黏膜感染; 滤泡树突细胞; 屏障系统

## Modeling human immunodeficiency virus infection through mucosa and other barrier systems with Transwell

LIN Guang-Zheng<sup>1</sup>, QIU Jia-Yin<sup>2</sup>, LIU Shu-Wen<sup>2</sup>, LI Lin<sup>2</sup>

1. *First School of Clinical Medical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou 510515, China;*

2. *School of Pharmaceutical Sciences, Southern Medical University, Guangzhou, 510515, China*

**Abstract:** Transwell is a device widely used for simulating mucosal and physiologic barrier systems, such as human reproductive tract mucosa, rectal mucosa, blood-brain barrier and blood-retina barrier *in vitro*. This device has been used to study the process of human immunodeficiency virus (HIV) entering into the body and to help us to illustrate the mechanism of HIV infection. The system is also being used to facilitate the discovery of new vaccines and drugs for HIV. This review covers the current progresses of Transwell applications in HIV-related studies.

**Key words:** Transwell; Human immunodeficiency virus; Sexual transmission; Mucosal infection; Follicular dendritic cell; Barrier system

性传播是目前人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)传播的最主要方式,而生殖道及直肠黏膜感染是 HIV 性传播的主要途径。生殖道及直肠黏膜是机体抵抗 HIV 感染的第 1 道屏障,此外尚有许多其他屏障系统可抵御 HIV 在机体内播散,如血-脑屏障及血-视网膜屏障等。

但目前 HIV 感染黏膜及穿透机体自身屏障系统的具体机制尚不明确, HIV 黏膜及屏障系统感染的模拟性实验研究也存在许多局限性。Transwell 技术可在体外模拟 HIV 感染机体黏膜及生物屏障系统,使 HIV 感染机制的研究能深入展开,在某种程度上能解决上述难题,也为 HIV 黏膜保护疫苗和药物的

基金项目:国家自然科学基金(30801412)

通信作者:李琳

Corresponding author. LI Lin, E-mail: li75lin@126.com

研发寻找新的作用靶点。

## 1 Transwell 技术概述

Transwell 技术是目前细胞生物学中常用的实验方法之一,在生物医学研究领域有着极其广泛的应用。Transwell 小室(Transwell insert)底部是一张具有通透性的膜,一般为聚碳酸酯膜(polycarbonate member),孔径为  $0.1\sim 12.0\ \mu\text{m}$ ,该膜体系能满足细胞在膜内正常生长、繁殖(图 1)。通常将 Transwell 小室放入细胞培养板中,小室内称上室(apical chamber),培养板内称下室(basolateral chamber)。应用不同孔径和不同处理的聚碳酸酯膜,可进行细胞共培养、细胞趋化、细胞迁移、细胞侵袭等多方面的研究。Transwell 技术主要是根据不同实验需求模拟机体生物屏障,以简单、经济的手段模拟生物体内膜转运系统,在免疫学、药理学、药剂学等领域均发挥重要作用,尤其是在抗肿瘤研究中起非常重要的作用。目前,研究较多且相对较成熟的生物屏障模拟系统包括血-脑屏障、肠黏膜屏障、血-视网膜屏障、胎盘屏障和腹膜透析屏障等。

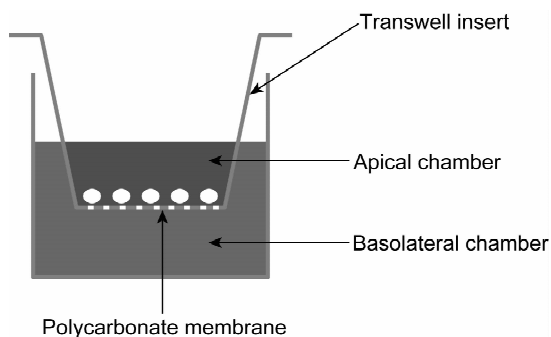


图 1 Transwell 小室示意图

Fig. 1 Transwell insert

## 2 Transwell 技术模拟 HIV 黏膜感染模型的建立

目前,性传播已成为 HIV 传播的最主要途径。在性交过程中,HIV 感染者体液中的病毒极易透过生殖器黏膜屏障或直肠屏障进入未感染的性伴侣体内,从而造成 HIV 在体内广泛传播。经生殖道黏膜和直肠黏膜感染 HIV 是目前 HIV 黏膜感染最主要的 2 种途径,90% 以上 HIV 感染者均是通过黏膜感染病毒的<sup>[1]</sup>。有报道指出,HIV 从生殖道部位入侵到宿主体内并导致机体系统感染的周期为  $3\sim 4\ \text{d}$ <sup>[2,3]</sup>。但 HIV 如何透过黏膜表面进而感染靶细胞?其中又有哪些细胞或因子参与到整个感染过程?很

多问题尚待深入研究。因此,研究 HIV 黏膜感染的作用特点及机制至关重要。

灵长类动物模型无疑是最直观、有效的研究体系,其在组织结构、免疫和生理等方面均与人类高度相似,能系统、直观地再现 HIV 的类似病毒——猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)感染宿主的全过程,为临床研究提供了很大的参考价值。但其价格昂贵,进行深入的基础性研究存在困难;且 SIV 与 HIV 存在明显差别,宿主不会出现获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrom, AIDS),不能完全模拟临床 HIV 感染患者的情况,也不适合用来研究发病机制和评价抗病毒药物和疫苗。此外,不同地域的灵长类动物,如非洲猴及亚洲猴,感染不同的免疫缺陷病毒株后,其免疫反应、临床症状和发病情况都存在较大差异,实验室之间无法将结果进行比较,重现性较低。

采用 Transwell 技术建立人生殖道黏膜、直肠组织黏膜和细胞模型,体外模拟 HIV 在生物体内的黏膜感染过程,是目前 HIV 黏膜感染研究的热点之一。该模型具有成本低、简单、易于操作和重现性强等特点,能较为客观地反映病毒透过黏膜组织或细胞进而感染机体的过程,更容易观察特定区域内细胞及相关因子在 HIV 感染前后的变化,从而客观分析 HIV 感染机制的研究,是促进 HIV 感染机制研究较为有效的手段之一。但是该模型也存在一定的缺点,如黏膜组织和黏膜细胞均属于离体状态,不能完全再现机体病毒感染的复杂全过程。研究表明,Transwell 模型在模拟女性生殖道黏膜感染中存在缺陷,因为该模型中 HIV 可能通过其他方式透过上皮细胞,对其严谨性提出质疑<sup>[4,5]</sup>。虽然 Transwell 技术在组织及细胞模型中的应用仍存在一定的缺陷和争议,但不可否认其对 HIV 作用机制的深入研究可提供帮助。

目前,采用 Transwell 技术模拟生殖道黏膜及其他屏障系统主要有以下几种方式。Collins 等<sup>[6]</sup>将人宫颈复层鳞状上皮组织黏膜置入上室滤膜,采用琼脂糖凝胶灌注封闭,并留空中心 1 圈,将病毒与未封闭的黏膜表面接触来研究其与黏膜组织的相互作用。Shen 等<sup>[7]</sup>则将黏膜组织置入上室,在黏膜面上放置聚丙烯小桶,以外科手术用凝胶将小桶四周封闭。常用细胞模型主要选用原代培养细胞或可永生代化的细胞系。如 Nazli 等<sup>[8]</sup>利用女性生殖道原代上皮细胞和 T84 肠道细胞系,建立了生殖道黏

膜及肠黏膜 Transwell 模型,研究了 HIV-1 对黏膜屏障的损伤作用。Bai 等<sup>[9]</sup>选用人 D407 视网膜色素上皮细胞系建立血-视网膜屏障模型,研究 HIV-1 Tat 蛋白对 HIV 感染黏膜细胞的影响。这些 Transwell 模型具有各自的优缺点,都有一定的应用,但均需进一步完善。

### 3 Transwell 技术在研究 HIV 黏膜感染中的应用

宿主黏膜基层中存在大量表面带有 CD4 受体的淋巴细胞和巨噬细胞,这些正是 HIV 作用的靶细胞。有研究表明<sup>[10,11]</sup>,HIV 黏膜感染主要通过黏膜上皮层中的朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LC)、树突细胞(dendritic cell, DC)及 M 细胞(microfold cell)等,经跨膜转运方式将病毒转运至基层的 HIV 靶细胞。以上研究大多是在动物模型中进行的。Hanley 等<sup>[12]</sup>从血液中分离出 DC 和 T 细胞,并对核受体家族中的过氧化物酶体增殖物激活受体  $\gamma$  (peroxisome proliferator-activated receptor, PPAR $\gamma$ )和肝 X 受体(liver X receptor, LXR)在 HIV 传播中的活性作用进行验证。结果发现,能激活 PPAR $\gamma$  和 LXR 的药物可抑制 DC 捕捉 HIV 及将 HIV 传递给 T 细胞的能力。因此,Transwell 技术对深入研究 HIV 经黏膜转运进入机体靶细胞的机制有较大的应用价值。

#### 3.1 生殖道及直肠黏膜上皮细胞

性传播主要包括异性性传播及同性性传播。异性性传播感染的途径主要是透过生殖道黏膜屏障,包括子宫颈及阴道黏膜屏障。而透过直肠黏膜屏障是同性性传播感染的最主要方式。Nazli 等<sup>[8]</sup>用女性生殖道原代上皮细胞和 T84 肠道细胞系建立生殖道黏膜及肠黏膜的 Transwell 模型,研究 HIV-1 破坏黏膜功能的机制。结果发现,黏膜暴露于 HIV 颗粒 24 h 后,Transwell 模型的膜跨上皮电阻(trans epithelial resistance, TER)降低了 30%~60%,生殖道及肠黏膜屏障的通透性增加。进一步研究表明,肠黏膜上皮直接应答于 HIV-1 包膜糖蛋白,上调炎性细胞因子表达而使屏障功能受损。这一机制可能对研究 HIV-1 黏膜传播和免疫激活有帮助。

#### 3.2 滤泡树突细胞

滤泡树突细胞(follicular dendritic cell, FDC)存在于二级淋巴组织的生发中心<sup>[13]</sup>,与 T 细胞和 B 细胞紧密接触,对免疫记忆的维持,B 细胞的分化、

成熟及记忆 B 细胞的形成均具有极其重要的作用<sup>[14,15]</sup>。研究发现<sup>[16]</sup>,FDC 细胞是 HIV 感染的第 1 道防线。机体感染 HIV 后,FDC 通过细胞表面的 DC 特异性细胞间黏附分子 3 结合非整合素因子(dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin, DC-SIGN)吸附大量病毒颗粒,但其本身不被 HIV 感染,即使在高浓度中和抗体存在下,其吸附的 HIV-抗体免疫复合物依然具有很高的感染性<sup>[17-20]</sup>。另有研究表明,FDC 可捕捉 HIV,藏于胞内,且在不复制的情况下长期保持活性,条件适宜时病毒又可大量复制<sup>[21]</sup>。

目前,采用 Transwell 技术研究 FDC 对 HIV 的作用也是研究热点。姜拥军等<sup>[22]</sup>将  $1 \times 10^6$  个淋巴细胞置于 Transwell 上室,将  $2 \times 10^6$  个 FDC 置于下室,进行趋化实验。结果表明,FDC 对淋巴细胞有明显的趋化作用。该实验还同时评估了 FDC 对 HIV 结合及进入淋巴细胞的影响。结果表明,FDC 可增强 HIV 在淋巴细胞内的感染<sup>[23,24]</sup>,可能原因是其能促进 HIV 复制。另有研究表明,FDC 可延长 HIV 的体外存活时间<sup>[25]</sup>。

#### 3.3 T 细胞

HIV 经黏膜上皮细胞转运到达黏膜下层后,需与靶细胞(即 T 细胞)特异性结合,进而进入宿主体内。白细胞介素 7(interleukin 7, IL-7)是维持外周成熟 T 细胞稳态的重要调节因子,在病毒感染后的免疫应答及病毒特异性 CD4<sup>+</sup> 和 CD8<sup>+</sup> 记忆性 T 细胞库的产生及维持过程中发挥重要作用<sup>[26]</sup>。对 IL-7 的特异性应答主要通过 CD127 表达调控,Vranjkovic 等<sup>[27]</sup>将感染 HIV 的外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)在 Transwell 小室中培养,之后将 CD8<sup>+</sup> T 细胞暴露于 Transwell 小室中,结果 CD8<sup>+</sup> T 细胞表面 CD127 表达下降。Lang 等则发现,HIV 感染的 CD4<sup>+</sup> T 细胞分泌 Tat 蛋白,通过旁分泌可特异性下调 CD127 在各型 CD8<sup>+</sup> T 细胞中的表达,且这种下调作用是可逆的。效应性 CD8<sup>+</sup> T 细胞表面 CD127 表达下调可促进效应性 CD8<sup>+</sup> T 细胞凋亡,记忆性 CD8<sup>+</sup> T 细胞耗尽,导致病毒持续感染<sup>[28]</sup>。此外,HIV 还可对 CD4<sup>+</sup> T 细胞表面的 CD127 表达产生影响。最近研究表明,在 HIV 感染早期,由于免疫系统活化水平提高及 CD4<sup>+</sup> T 细胞凋亡增加,CD4<sup>+</sup> T 细胞表面 CD127 表达水平降低<sup>[29]</sup>。CD127 在 CD4<sup>+</sup> T 细胞表达缺失引起的细胞凋亡及 CD127 记忆性 CD4<sup>+</sup> T 细胞因感染 HIV 而死亡,是 HIV 感染中

CD4<sup>+</sup> T 细胞缺失的重要原因之一<sup>[30]</sup>。探究 CD127 与 HIV 的关系,为 HIV 的防治提供了新途径。

## 4 Transwell 技术在 HIV 穿透机体其他屏障系统中的应用

### 4.1 血-脑屏障

血-脑屏障是维持脑内环境稳定和避免有害物质入侵的必需结构,是机体参与天然免疫的内部屏障之一,可保护大脑不被血液中的微生物和毒素伤害<sup>[31]</sup>。研究表明,20% 的 AIDS 患者感染 HIV-1 后,HIV-1 包膜蛋白 gp120 可改变血-脑屏障的完整性<sup>[32]</sup>,病毒会透过血-脑屏障进入大脑,在脑内繁殖并破坏大脑组织,从而产生 HIV 痴呆症或其他认知障碍。对 HIV 穿透血-脑屏障导致功能障碍的机制,目前尚无定论。建立体外血-脑屏障模型对该问题的解决具有重要意义。

Chaudhuri 等<sup>[33]</sup>将感染 HIV-1 的单核-巨噬细胞和脑微血管内皮细胞在 Transwell 小室中共培养,观察 HIV 基因变化。结果发现,HIV-1 损坏血-脑屏障的机制与脑微血管内皮细胞中的炎症、细胞因子及干扰素信号有关。Eugenin 等<sup>[34]</sup>研究表明,少数感染 HIV 的星状胶质细胞在中枢神经损伤中起重要作用,该毒性机制对研究中枢神经损伤和控制 HIV 导致的认知障碍有较大贡献。另有研究发现,来源于肠道细菌细胞壁的化学成分脂多糖 (lipopolysaccharide, LPS) 可协助 HIV 透过血-脑屏障进入大脑,而 HIV 感染者血液中 LPS 含量极高。此外,CD40 和 CD40 配体在 HIV 透过血-脑屏障过程中也有促进作用<sup>[35]</sup>,该研究成果为防御 HIV 侵入大脑提供了实验依据。

### 4.2 血-视网膜屏障

HIV-1 Tat 蛋白是 HIV 基因组编码的重要调控蛋白之一,为 HIV 转录和复制所必需;且其中蛋白转导结构域 (protein transduction domain, PTD) 具有信号肽作用,能有效引导多肽片段或蛋白进入细胞,具有蛋白传送功能,是目前生物制品中加在蛋白或多肽前促进多肽跨膜转运的主要序列之一。Bai 等<sup>[9]</sup>选用人 D407 视网膜色素上皮细胞系建立血-视网膜屏障 Transwell 模型,用以研究 HIV-1 Tat 蛋白对其的影响。结果显示,HIV-1 Tat 蛋白能显著提高视网膜色素上皮细胞膜的通透性,改变某些与致密连接相关蛋白的表达,这一效应可能与某些炎症因子的激活有关。2011 年,李太生等研究发现<sup>[36]</sup>,长期接受抗 HIV 药物治疗的 AIDS 患者

虽然血液中病毒检测已呈阴性,但其泪液中仍有较高病毒载量,泪腺、泪液及相关组织和器官很可能是 HIV 的新“据点”,这也为 HIV 与血-视网膜屏障的相互作用提供了新的研究方向。

## 5 结语

随着全球 HIV/AIDS 感染人群持续增长,对 HIV 感染的防治日益引起人们的重视。目前,性传播尤其是异性间无保护的性传播已成为 HIV 传播的最主要方式。人体自身存在着一些生理屏障系统,能天然抵抗外来病毒的入侵,如人生殖道及直肠黏膜,这些屏障系统的存在也大大降低了 HIV 及其他性传播疾病病原体的感染性。据报道,天然黏膜屏障系统损伤或炎症感染患者中,HIV 感染率很高。迄今为止,科学家一直致力研究 HIV 黏膜感染及病毒穿透机体屏障系统的具体机制,但尚未阐释清楚。HIV 直接感染人黏膜及其他屏障系统的相关研究很难操作,其模拟性实验也存在很多问题。理论上,预防 HIV 感染的最好手段是开发成功的 HIV 疫苗。在目前缺乏有效疫苗且研发成功的疫苗尚需很长一段时间的条件下,开发能有效抑制 HIV 传播的杀微生物制剂也是有效途径之一,但灵长类动物模型的缺陷部分限制了疫苗及药物的研发。采用 Transwell 技术在一定程度上为解决这些难题提供了一种方案,可在体外模拟 HIV 感染机体的黏膜及屏障系统,从而使 HIV 感染机制及疫苗和抗病毒药物的研究能深入展开。目前 Transwell 技术也的确推进了 HIV 感染机制的研究,如 HIV-1 对黏膜屏障的损伤作用、FDC 对 HIV 复制的促进作用等。此外,研究人员还发现,阴道而非肠道巨噬细胞允许 HIV 复制<sup>[37]</sup>和包皮环切术能降低 HIV 感染率<sup>[38]</sup>等,这些均是 Transwell 技术研究成果的体现,为深入研究 HIV 感染机制、HIV 黏膜保护疫苗的开发以及新药物作用靶点的寻找和确认提供了良好的技术平台。

## 参考文献

- [1] UNAIDS. 2010 Report on the global AIDS epidemic [R]. [http://www.unaids.org/globalreport/Global\\_report.htm](http://www.unaids.org/globalreport/Global_report.htm).
- [2] Miller CJ, Li Q, Abel K, Kim EY, Ma ZM, Wietgreffe S, La Franco-Scheuch L, Compton L, Duan L, Shore MD, Zupancic M, Busch M, Carlis J, Wolinsky S, Haase AT. Propagation and dissemination of infection after vaginal transmission of simian immunodeficiency virus [J]. *J Virol*, 2005, 79(14): 9217-9227.

- [3] 杨瑜, 张晓燕. 人体黏膜活组织模型在 HIV-1 性传播途径感染中的应用[J]. 生物工程学报, 2011, 27(2): 172-179.
- [4] Shattock RJ, Griffin GE, Gorodeski GI. In vitro models of mucosal HIV transmission [J]. *Nat Med*, 2000, 6(6): 607-608.
- [5] Gupta P, Collins K, Patterson B, Naus G, Landers D. Reply to 'In vitro models of mucosal HIV transmission' [J]. *Nat Med*, 2000, 6(6): 607-608.
- [6] Collins KB, Patterson BK, Naus GJ, Landers DV, Gupta P. Development of an in vitro organ culture model to study transmission of HIV-1 in the female genital tract [J]. *Nat Med*, 2000, 6(4):475-479.
- [7] Shen R, Drelichman ER, Bimczok D, Oehsenbauer C, Kappes JC, Cannon JA, Tudor D, Bomsel M, Smythies LE, Smith PD. GP41-specific antibody blocks cell-free HIV type 1 transecytosis through human rectal mucosa and model colonic epithelium [J]. *J Immunol*, 2010, 184(7): 3648-3655.
- [8] Nazli A, Chan O, Dobson-Belaire WN, Ouellet M, Tremblay MJ, Gray-Owen SD, Arsenault AL, Kaushic C. Exposure to HIV-1 directly impairs mucosal epithelial barrier integrity allowing microbial translocation [J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6(4): e1000852.
- [9] Bai L, Zhang Z, Zhang H, Li X, Yu Q, Lin H, Yang W. HIV-1 Tat protein alter the tight junction integrity and function of retinal pigment epithelium: an in vitro study [J]. *BMC Infect Dis*, 2008, 8: 77.
- [10] Sivard P, Berlier W, Picard B, Sabido O, Genin C, Misery L. HIV-1 infection of Langerhans cells in a reconstructed vaginal mucosa [J]. *J Infect Dis*, 2004, 190(2): 227-235.
- [11] Amerongen HM, Weltzin R, Farnet CM, Michetti P, Haseltine WA, Neutra MR. Transepithelial transport of HIV-1 by intestinal M cells: a mechanism for transmission of AIDS [J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 1991, 4(8): 760-765.
- [12] Hanley TM, Blay Puryear W, Gummuluru S, Viglianti GA. PPARgamma and LXR signaling inhibit dendritic cell-mediated HIV-1 capture and trans-infection [J]. *PLoS Pathog*, 2010, 6: e1000981.
- [13] Muñoz-Fernández R, Blanco FJ, Frecha C, Martín F, Kimatrai M, Abadía-Molina AC, García-Pacheco JM, Olivares EG. Follicular dendritic cells are related to bone marrow stromal cell progenitors and to myofibroblasts [J]. *J Immunol*, 2006, 177(1): 280-289.
- [14] Sukumar S, Conrad DH, Szakal AK, Tew JG. Differential T cell-mediated regulation of CD23 (Fc epsilonRII) in B cells and follicular dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2006, 176(8): 4811-4817.
- [15] El Shikh ME, El Sayed R, Szakal AK, Tew JG. Follicular dendritic cell (FDC)-Fc gammaRIIB engagement via immune complexes induces the activated FDC phenotype associated with secondary follicle development [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(10): 2715-2724.
- [16] Lekkerkerker AN, van Kooyk Y, Geijtenbeek TB. Viral piracy: HIV-1 targets dendritic cells for transmission [J]. *Curr HIV Res*, 2006, 4(2): 169-176.
- [17] Tew JG, Wu J, Fakher M, Szakal AK, Qin D. Follicular dendritic cells: beyond the necessity of T-cell help [J]. *Trends Immunol*, 2001, 22(7): 361-367.
- [18] Mellman I, Steinman RM. Dendritic cells: specialized and regulated antigen processing machines [J]. *Cell*, 2001, 106(3): 255-258.
- [19] Smith-Franklin BA, Keele BF, Tew JG, Gartner S, Szakal AK, Estes JD, Thacker TC, Burton GF. Follicular dendritic cells and the persistence of HIV infectivity: the role of antibodies and Fc gamma receptors [J]. *J Immunol*, 2002, 168(5): 2408-2414.
- [20] Schacker T, Little S, Connick E, Gebhard-Mitchell K, Zhang ZQ, Krieger J, Pryor J, Havlir D, Wong JK, Richman D, Corey L, Haase AT. Rapid accumulation of human immunodeficiency virus (HIV) in lymphatic tissue reservoirs during acute and early HIV infection: implications for timing of antiretroviral therapy [J]. *J Infect Dis*, 2000, 181(1): 354-357.
- [21] Burton GF, Masuda A, Heath SL, Smith BA, Tew JG, Szakal AK. Follicular dendritic cells (FDC) in retroviral infection: host/pathogen perspectives [J]. *Immunol Rev*, 1997, 156:185-197.
- [22] 潘莹, 陈欢, 崔华露, 姜拥军. 滤泡树突状细胞增强 HIV 感染机制的体外研究[J]. 中国医科大学学报, 2007, 36(4): 377-379.
- [23] 姜拥军, 尚红, 王亚男. 人类滤泡树突状细胞增强 HIV 的感染[J]. 中国免疫学杂志, 2001, 17(8): 438-441.
- [24] Taruishi M, Terashima K, Dewan Z, Yamamoto N, Ikeda S, Kobayashi D, Eishi Y, Yamazaki M, Furusaka T, Sugimoto M, Ishii M, Kitamura K, Yamamoto N. Role of follicular dendritic cells in the early HIV-1 infection: in vitro model without specific antibody [J]. *Microbiol Immunol*, 2004, 48(9): 693-702.
- [25] Smith BA, Gartner S, Liu Y, Perelson AS, Stilianakis NI, Keele BF, Kerkering TM, Ferreira-Gonzalez A, Szakal AK, Tew JG, Burton GF. Persistence of infectious HIV on follicular dendritic cells [J]. *J Immunol*, 2001, 166(1): 690-696.
- [26] Kondrack RM, Harbertson J, Tan JT, Mcbreen ME, Surh CD, Bradley LM. Interleukin 7 regulates the survival and generation of memory CD4 cells [J]. *J Exp Med*, 2003, 198(12): 1797-1806.
- [27] Vranjkovic A, Crawley AM, Angel JB. In vitro HIV type 1 infection indirectly alters CD127 expression on CD8<sup>+</sup> T cells [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2012, 28(3):295-298.
- [28] Lang KS, Recher M, Navarini AA, Harris NL, Löhning M, Junt T, Probst HC, Hengartner H, Zinkernagel RM. Inverse correlation between IL-7 receptor expression and

- CD8 T cell exhaustion during persistent antigen stimulation [J]. *Eur J Immunol*, 2005, 35(3): 738-745.
- [29] Koesters SA, Alimonti JB, Wachihi C, Matu L, Anzala O, Kimani J, Embree JE, Plummer FA, Fowke KR. IL-7-R $\alpha$  expression on CD4<sup>+</sup> T lymphocytes decreases with HIV disease progression and inversely correlates with immune activation [J]. *Eur J Immunol*, 2006, 36(2): 336-344.
- [30] Zaunders JJ, Ip S, Munier ML, Kaufmann DE, Suzuki K, Brereton C, Sasson SC, Seddiki N, Koelsch K, Landay A, Grey P, Finlayson R, Kaldor J, Rosenberg ES, Walker BD, Fazekas de St Groth B, Cooper DA, Kelleher AD. Infection of CD127<sup>+</sup> (interleukin-7 receptor +) CD4<sup>+</sup> cells and overexpression of CTLA-4 are linked to loss of antigen-specific CD4 T cells during primary human immunodeficiency virus type 1 infection [J]. *J Virol*, 2006, 80(20): 10162-10172.
- [31] Kim KS. Microbial translocation of the blood-brain barrier [J]. *Int J Parasitol*, 2006, 36(5): 607-614.
- [32] Louboutin JP, Agrawal L, Reyes BA, Van Bockstaele EJ, Strayer DS. HIV-1 gp120-induced injury to the blood-brain barrier: role of metalloproteinases 2 and 9 and relationship to oxidative stress [J]. *J Neuropathol Exp Neurol*, 2010, 69(8): 801-816.
- [33] Chaudhuri A, Duan F, Morse B, Persidsky Y, Kanmogne GD. HIV-1 activates proinflammatory and interferon-inducible genes in human brain microvascular endothelial cells: putative mechanisms of blood-brain barrier dysfunction [J]. *J Cereb Blood Flow Metab*, 2008, 28(4): 697-711.
- [34] Eugenin EA, Clements JE, Zink MC, Berman JW. Human immunodeficiency virus infection of human astrocytes disrupts blood-brain barrier integrity by a gap junction-dependent mechanism [J]. *J Neurosci*, 2011, 31(26): 9456-9465.
- [35] Ramirez SH, Fan S, Dykstra H, Reichenbach N, Del Valle L, Potula R, Phipps RP, Maggirwar SB, Persidsky Y. Dyad of CD40/CD40 ligand fosters neuroinflammation at the blood-brain barrier and is regulated via JNK signaling: implications for HIV-1 encephalitis [J]. *J Neurosci*, 2010, 30(28): 9454-9464.
- [36] Han Y, Wu N, Zhu W, Li Y, Zuo L, Ye J, Qiu Z, Xie J, Li T. Detection of HIV-1 viruses in tears of patients even under long-term HAART [J]. *AIDS*, 2011, 25(15): 1925-1927.
- [37] Shen R, Richter HE, Clements RH, Novak L, Huff K, Bimczok D, Sankaran-Walters S, Dandekar S, Clapham PR, Smythies LE, Smith PD. Macrophages in vaginal but not intestinal mucosa are monocyte-like and permissive to human immunodeficiency virus type 1 infection [J]. *J Virol*, 2009, 83(7): 3258-3267.
- [38] Bailey RC, Moses S, Parker CB, Agot K, Maclean I, Krieger JN, Williams CF, Campbell RT, Ndinya-Achola JO. Male circumcision for HIV prevention in young men in Kisumu, Kenya: a randomised controlled trial [J]. *Lancet*, 2007, 369(9562): 643-656.

(收稿日期:2011-10-20)