

## · 实验研究 ·

## 泪腺作为潜在人免疫缺陷病毒储存库的分子机制研究

刘子扬 刘小伟 叶俊杰 韩扬 霍真

100730 北京,中国医学科学院 北京协和医学院 北京协和医院眼科(刘子扬、刘小伟、叶俊杰),感染科(韩扬、李太生),病理科(霍真)

通信作者:叶俊杰,Email:yejunjie\_xh@163.com;韩扬,Email:hanyang\_pumch@126.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.05.005

**【摘要】** **背景** 获得性免疫缺陷综合征(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)感染引起的以全身免疫系统严重损害为特征的感染性疾病,目前主要的治疗方法是高效抗逆转录病毒疗法(HAART),但不能彻底清除患者体内的免疫缺陷病毒(HIV),目前认为是病毒潜伏于 HIV 储存库所致。研究证实 HAART 治疗后患者血浆中 HIV 载量检测阴性的 AIDS 患者的泪液中发现了 HIV,因此探索其眼部储存库是非常重要的。**目的** 探讨泪腺组织是否具有 HIV 储存库的分子基础以及 HIV 感染泪腺组织的发生机制。**方法** 收集 2013 年 11 月至 2015 年 12 月在北京协和医院因泪腺良性疾病行泪腺手术获得的泪腺组织标本 14 例,其中 13 例来自于 HIV 阴性患者,1 例来自于 HIV 阳性患者。13 例 HIV 阴性患者临床诊断为泪腺脱垂者 9 例和泪腺炎者 4 例,病理诊断为正常泪腺组织者 12 例和泪腺间质淋巴组织增生者 1 例。HIV 阳性患者的临床诊断为泪腺炎,病理诊断为泪腺间质淋巴组织增生。将 12 例 HIV 阴性和 1 例 HIV 阳性患者的泪腺组织标本用石蜡固定切片,采用免疫组织化学法检测泪腺标本中 HIV 受体 CD4 及 CXCR4 趋化因子受体 4(CXCR4)和 CC 趋化因子受体 5(CCR5)分子的表达;1 例 HIV 阴性患者的泪腺组织标本制备成新鲜冰冻切片,采用免疫荧光染色对泪腺标本中 CD4 及 CXCR4 和 CCR5 分子的表达进行验证。**结果** 免疫组织化学染色显示,HIV 阴性患者泪腺组织 CD4 分子染色背景强,为可疑阳性表达;各例标本中多数泪腺上皮细胞可见 CXCR4 表达,定位于细胞质和细胞核,少数泪腺上皮细胞不表达 CXCR4;在各例标本中少数泪腺上皮细胞中 CCR5 呈局灶阳性表达,主要位于细胞质和细胞核,多数泪腺上皮细胞不表达 CCR5。HIV 阳性患者泪腺组织中 CD4 分子染色背景强,为可疑阳性表达;CXCR4 及 CCR5 在泪腺上皮细胞中为阳性表达;间质组织中可见大量散在淋巴细胞,其 CD4、CXCR4 及 CCR5 均为阳性表达。免疫荧光染色显示,HIV 阴性患者泪腺组织中 CD4、CXCR4、CCR5 均呈红色荧光,CD4 呈线状及片状分布,主要定位于泪腺上皮细胞的细胞膜,而 CXCR4 和 CCR5 则呈现散在点状分布,定位于泪腺上皮细胞的细胞质。**结论** HIV 相关分子受体 CD4 及其辅助受体 CXCR4、CCR5 在泪腺上皮细胞均呈阳性表达,泪腺上皮细胞具有受到 HIV 感染和成为 HIV 储存库的分子基础。

**【关键词】** 获得性免疫缺陷综合征/免疫学;艾滋病相关眼病/代谢;人免疫缺陷病毒感染/代谢;病毒潜伏;泪液/病毒学;CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞受体/病毒学;CXCR4 受体/代谢;CCR5 受体/代谢;泪腺上皮细胞

**基金项目:** 国家自然科学基金项目(81371758)

### A pilot molecular mechanism study on lacrimal gland as a potential human immunodeficiency virus reservoir

Liu Ziyang, Liu Xiaowei, Ye Junjie, Han Yang, Li Taisheng, Huo Zhen

Department of Ophthalmology (Liu ZY, Liu XW, Ye JJ), Department of Infection (Han Y, Li TS), Department of Pathology (Huo Z), Peking Union Medical College Hospital, Peking Union Medical College, Chinese Academy of Medical Sciences, Beijing 100730, China

Corresponding author: Ye Junjie, Email: yejunjie\_xh@163.com; Han Yang, Email: hanyang\_pumch@126.com

**[Abstract]** **Background** Acquired immune deficiency syndrome (AIDS) is an infectious disease caused by human immunodeficiency virus (HIV). Highly active antiretroviral therapy (HAART) is an effective treatment for AIDS, but it cannot completely eliminate the viral load in the body for the existence of HIV reservoir. Previous studies demonstrated that HIV could be detected in tears of virus load negative AIDS patients who received effective HAART, suggesting that lacrimal gland is another member of HIV reservoirs. **Objective** The aim of this study was to

explore whether lacrimal gland has a molecular basis of HIV infection and the mechanism of lacrimal gland infection of HIV. **Methods** Fourteen specimens of lacrimal gland were collected during the surgery from 14 patients with lacrimal gland diseases in Peking Union Medical College Hospital from November 2013 to December 2015, including 13 non-HIV-infected patients and 1 HIV-infected patient. In 13 non-HIV infected patients, lacrimal glands prolapse was in 12 patients with the normal pathological tissue structure and dacryoadenitis was in 1 patient with the histopathological diagnosis of interstitial lymphoid tissue hyperplasia. The clinical manifestation of HIV-infected patient was dacryoadenitis with the histopathological diagnosis of interstitial lymphoid tissue hyperplasia. The paraffin sections of 12 non-HIV-infected specimens and 1 HIV-infected specimen were prepared, and the expressions of CD4, C-X-C chemokine receptor 4 (CXCR4) and C-C chemokine receptor type 5 (CCR5) in lacrimal gland specimens were detected by immunohistochemistry and verified in 1 specimen of non-HIV-infected specimen by immunofluorescence technology. **Results** Immunohistochemistry showed that CD4 was suspiciously positive expression in non-HIV-infected specimens with the strong background staining. CXCR4 was positively expressed in cytoplasm and nuclei of most lacrimal epithelial cells of lacrimal gland epithelial cells in each specimen, and CCR5 was focally expressed in few lacrimal gland epithelial cells in each specimen. In addition, CD4, CXCR4 and CCR5 were positively expressed in intercellular scattered lymphocytes on the specimens. Immunofluorescence assay showed that CD4, CXCR4 and CCR5 were expressed in the specimens with the red fluorescence, with the linear- and patchy-like distribution mainly in cellular membrane for CD4 or spot-like distribution for CXCR4 and CCR5 in the cytoplasm. **Conclusions** HIV receptor CD4 and accessory receptor CXCR4, CCR5 are positively expressed in the lacrimal gland epithelial cells, which is the molecular basis of HIV infection and become a potential HIV reservoir preventing HIV eradication.

**[Key words]** Acquired immunodeficiency syndrome/immunology; AIDS-associated ophthalmopathy/metabolism; HIV Infections/metabolism; Virus latency; Tears/virology; Receptors, CD4<sup>+</sup> T-lymphocytes/virology; Receptors, CXCR4/metabolism; Receptors, CCR5/metabolism; Lacrimal gland epithelial cells

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81371758)

获得性免疫缺陷综合征(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染引起的以全身免疫系统严重损害为特征的感染性疾病。HIV通过其表面糖蛋白 gp120 与靶细胞表面蛋白的 CD4 结合并在 CXC 趋化因子受体 4 (C-X-C chemokine receptor 4, CXCR4) 和 CC 趋化因子受体 5 (C-C chemokine receptor type 5, CCR5) 的帮助下进入人体细胞引起感染,造成 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞数量进行性减少和细胞免疫功能损害,最后导致各种机会性感染和肿瘤的发生<sup>[1]</sup>。高效抗逆转录病毒疗法 (high active antiretroviral therapy, HAART),即鸡尾酒疗法,是治疗 AIDS 最有效的方法。HAART 可使患者血浆中 HIV RNA 水平下降乃至无法检出 (<50 拷贝数/ml),但不能彻底清除患者体内的 HIV 病毒,且突然中止 HAART 治疗可导致外周血中病毒载量迅速反跳<sup>[2-4]</sup>,病毒载量反跳主要来自于全身 HIV 储存库中释放的 HIV。静息状态下, HIV 病毒以低转录水平潜伏在 HIV 储存库中,一定刺激下被激活并重新进行病毒复制<sup>[5-7]</sup>,导致疾病复发。因此, HIV 病毒储存库是 HAART 无法将患者体内病毒彻底清除的主要原因。目前, HIV 储存库分为细胞储存库和解剖学储存库<sup>[7-9]</sup>, CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞是 HIV 感染的主要靶细胞,虽

然 HIV 感染 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞后可导致细胞死亡<sup>[10-11]</sup>,仍有一些细胞转变为休眠的记忆细胞, HIV 前病毒可在记忆细胞中整合为完整的基因组<sup>[12]</sup>。中央和迁移的记忆 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞是 HIV 的主要细胞储存库<sup>[8]</sup>,单核细胞和巨噬细胞也是 HIV 的细胞储存库<sup>[7,13]</sup>,其他的细胞储存库包括自然杀伤细胞、星形细胞、肾小管上皮细胞和胸腺细胞<sup>[14-16]</sup>。解剖学储存库主要为淋巴结、脾脏、肠相关淋巴组织、生殖器官、中枢神经系统和肺脏<sup>[17-19]</sup>。我们前期的研究首次报道了在 HAART 治疗有效的 AIDS 患者泪液中发现了 HIV 病毒<sup>[20]</sup>,由于泪液主要来自于泪腺上皮细胞,由此推测泪腺可能为 HIV 的潜在储存库。本研究拟通过分析泪腺上皮细胞中 HIV 感染相关分子 CD4 及其受体 CXCR4 和 CCR5 的表达,从分子水平探讨泪腺组织在 HIV 感染中的作用及其机制。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

**1.1.1 人泪腺组织标本** 于 2013 年 11 月至 2015 年 12 月收集在北京协和医院眼科诊断为泪腺良性相关疾病并接受泪腺部分切除手术患者的 14 例泪腺标本,包括 HIV 阴性患者标本 13 例和 HIV 阳性患者标本 1 例。13 例 HIV 阴性患者中临床诊断为泪腺脱垂 9 例

和泪腺炎 4 例,病理诊断为正常泪腺 12 例和泪腺间质淋巴组织增生 1 例。HIV 阳性患者临床诊断为泪腺炎,病理诊断为泪腺间质淋巴组织增生。

**1.1.2 主要试剂及仪器** CD4 兔多克隆抗体(NBP1-19371, 1:100)、CCR5 鼠单克隆抗体(NBP2-44483, 1:100,美国 Novus Biologicals);CXCR4 兔单克隆抗体(ab124824, 1:50,英国 Abcam 公司);Dylight 649 羊抗鼠抗体(BS10033)、Dylight 649 羊抗兔抗体(BS10034)(中国 Bioworld 公司);Fluoromount G 荧光封片剂(美国 Southern Biotech 公司)。Zeiss LSM 510 system(德国 Zeiss 公司)。

## 1.2 方法

**1.2.1 免疫组织化学染色法检测泪腺标本中 CD4、CXCR4 和 CCR5 的表达** 将组织切片置于 60 °C 恒温烘箱中烤片 1 h 或 68 °C 烤片 20 min,然后将组织切片迅速放入二甲苯中浸泡脱蜡 3 次,每次 3 min,脱蜡后的组织切片依次置于体积分数 100%、85%、75% 的梯度乙醇中浸泡各 3 min,蒸馏水浸泡 3 次水化,每次 3 min,将切片浸入 200 ml 0.01 mol/L 枸橼酸盐缓冲液的烧杯中,用保鲜膜覆盖,微波大火加热至沸腾进行抗原修复,然后调至解冻温度加热 12 min,室温冷却;将切片置于蒸馏水中浸泡 3 次,每次 3 min;置于体积分数 3% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 中浸泡 10 min 以消除内源性过氧化物酶,蒸馏水中浸泡 3 min,1 倍 PBS 浸泡 2 次,每次 3 min;滴加 100 μl 体积分数 10% 羊血清,置于湿盒中室温封闭抗原 10 min。轻轻甩掉羊血清,吸水纸小心吸干残留血清,滴加 100 μl 相应一抗稀释液,置于湿盒中 4 °C 孵育过夜;将切片置于 1 倍 PBS 中浸泡 3 次,每次 3 min;轻轻甩掉 PBS,吸水纸小心吸干残留 PBS,滴加 100 μl 相应二抗稀释液,湿盒中 37 °C 孵育 30 min,将切片置于 1 倍 PBS 中浸泡 3 次,每次 3 min;滴加 100 μl 稀释 DAB 显色液,光学显微镜下观察。染色结束后自来水冲洗,苏木素染色 3 min,自来水冲洗后置于体积分数 1% 盐酸乙醇中浸泡,分化多余的苏木素,自来水冲洗,切片置于淡氨水中浸泡 3 min 返蓝,自来水冲洗;分别置于 75%、85%、100% 的梯度乙醇中浸泡各 3 min 进行脱水,二甲苯中浸泡透明,中性树脂封片,光学显微镜下观察。

**1.2.2 免疫荧光染色法检测泪腺标本中 CD4、CXCR4 和 CCR5 的表达** 泪腺组织冰冻切片于室温环境下晾干,滴加山羊血清抗体(non-specific

IgG)室温下封闭 30 min,PBS 冲洗 3 遍;滴加相应一抗稀释液 4 °C 孵育过夜,PBS 清洗 3 遍;滴加相应二抗稀释液,37 °C 孵育 2 h;PBS 清洗 3 遍;滴加 Fluoromount G 防止荧光淬灭,盖上盖玻片,指甲油封片;荧光显微镜下观察并分析。

## 2 结果

### 2.1 免疫组织化学法检测患者泪腺组织中 CD4、CXCR4 和 CCR5 的表达

**2.1.1 HIV 阴性患者泪腺组织中 CD4、CXCR4 和 CCR5 的表达** 免疫组织化学染色显示 HIV 阴性患者泪腺组织中 CD4 分子染色背景强,均为棕黄色染色,为可疑阳性表达(图 1A);各标本中,多数泪腺上皮细胞中可见 CXCR4 表达,定位于细胞质和细胞核,呈棕黄色染色,少数泪腺上皮细胞未见 CXCR4 表达(图 1B);各例标本的少数泪腺上皮细胞可见 CCR5 局灶表达,定位于细胞质和细胞核,呈棕黄色染色,多数泪腺上皮细胞未见 CCR5 表达(图 1C)。

**2.1.2 HIV 阳性患者泪腺组织中 CD4、CXCR4 及 CCR5 的表达** 免疫组织化学染色显示,HIV 阳性患者泪腺上皮细胞中 CD4 呈阳性表达,定位于细胞膜、细胞质和细胞核,均呈棕黄色染色;CXCR4 表达于泪腺组织上皮细胞的细胞膜;CCR5 在泪腺组织上皮细胞中呈阳性表达,定位于细胞膜及部分细胞核(图 2);同时可见泪腺组织中的间质淋巴细胞呈阳性表达。

### 2.2 患者泪腺组织中 CD4、CXCR4、CCR5 表达的免疫荧光鉴定

免疫荧光染色显示,CD4、CXCR4、CCR5 均呈红色荧光,CD4 在泪腺组织中呈线状及片状分布,多定位于泪腺上皮细胞的细胞膜(图 3A),而 CXCR4 和 CCR5 则呈点状分布,定位于泪腺上皮细胞的细胞质中(图 3B,C)。

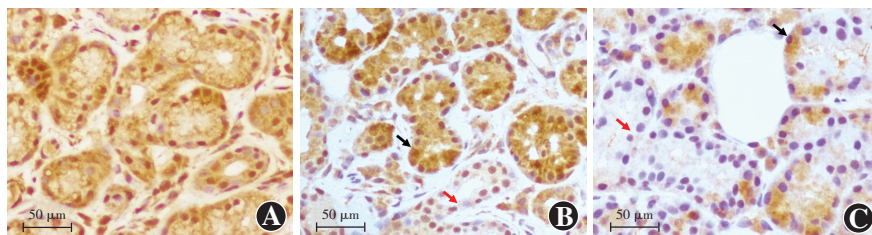


图 1 HIV 阴性患者泪腺组织中 CD4、CXCR4 及 CCR5 的表达(DAB ×400,标尺=50 μm)

A: CD4 在泪腺组织上皮细胞中为可疑阳性表达 B:多数泪腺组织上皮细胞的细胞质及细胞核可见 CXCR4 表达,呈棕黄色染色(黑箭头),少数泪腺组织上皮细胞中未见 CXCR4 表达(红箭头) C:少数泪腺组织上皮细胞的细胞质及细胞核中可见 CCR5 为局灶样表达,为棕黄色染色(黑箭头),多数泪腺上皮细胞中未见 CCR5 表达(红箭头)

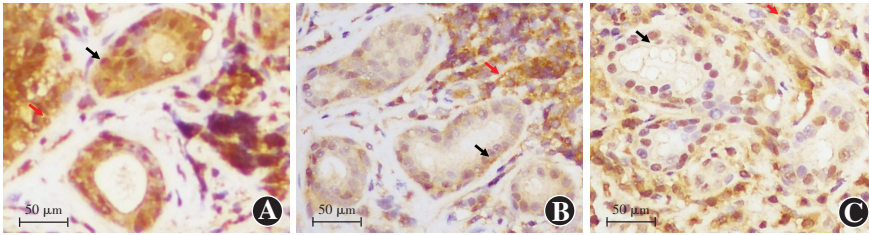


图2 HIV 阳性患者泪腺组织中 CD4、CXCR4 及 CCR5 的表达 (DAB ×400, 标尺 = 50 μm) A: CD4 在泪腺组织上皮细胞的细胞膜、细胞质及细胞核中均为阳性表达, 呈棕黄色染色 (黑箭头), 间质淋巴细胞也可见 CD4 表达 (红箭头) B: CXCR4 表达于泪腺组织上皮细胞 (黑箭头) 和间质淋巴细胞 (红箭头) C: CCR5 表达于泪腺组织上皮细胞的细胞膜及部分细胞核, 呈棕黄色染色 (黑箭头), 间质淋巴细胞中也可见 CCR5 的表达 (红箭头)

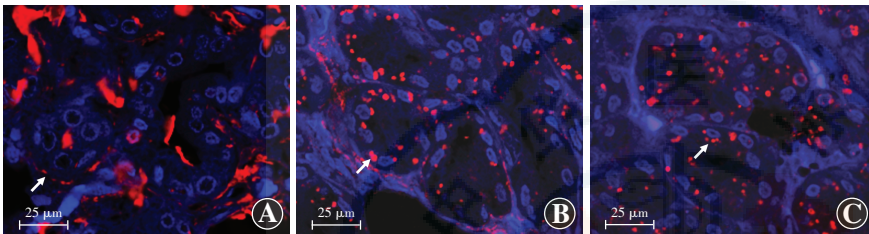


图3 HIV 阴性患者泪腺组织中 CD4、CXCR4 及 CCR5 的表达 (×400, 标尺 = 25 μm) A: CD4 表达于泪腺组织上皮细胞的细胞膜, 呈红色荧光 (Dylight 649) (白箭头), 细胞核呈蓝色荧光 (DAPI) B: CXCR4 主要表达于泪腺组织上皮细胞的细胞质 (Dylight 649) (白箭头), 细胞核呈蓝色荧光 (DAPI) C: CCR5 主要表达于泪腺组织上皮细胞的细胞质 (Dylight 649) (白箭头), 细胞核呈蓝色荧光 (DAPI)

### 3 讨论

病毒储存库特指某些类型的能够潜伏病毒的细胞群, 病毒潜伏后仍具有复制能力和稳定的动力学特性。HAART 治疗 AIDS 体系的建立旨在彻底清除体内病毒, 但目前发现潜伏于病毒储存库的病毒无法得以清除<sup>[21]</sup>, 一旦条件适当, 病毒即可恢复复制能力。接受 HAART 治疗的 AIDS 患者外周血中 HIV 消退的动力学变化受治疗起始时感染状态及分期影响<sup>[7,10,22-23]</sup>。有关慢性感染期患者接受 HAART 治疗的纵向研究表明, 患者体内病毒储存库的半衰期超过 44 个月, 这提示我们即使接受 60 年的 HAART 治疗亦不能完全清除病毒储存库<sup>[24-25]</sup>。非血液性内环境的繁殖或复制可能是长期 HAART 仍无法有效治愈 HIV 的原因, 因而想要完全清除病毒必须清除病毒储存库。

近年来相关研究技术的不断进步使得人体内越来越多的 HIV 储存库被发现。除了静止的记忆 CD4<sup>+</sup>T 淋巴细胞外, 巨噬细胞、单核细胞、树突状细胞、CD8<sup>+</sup>T 淋巴细胞、自然杀伤细胞都可以成为 HIV 的潜伏细胞群<sup>[26]</sup>。解剖学上的 HIV-1 潜伏病毒库主要有淋巴结、中枢神经系统、骨髓、生殖道等<sup>[27]</sup>, 一项关于 HIV 子宫内垂直传播的途径的研究表明, CXCR4 蛋白定位于滋养细胞, 而 CCR5 蛋白定位于绒毛基质中<sup>[28]</sup>。刘蕾等<sup>[29]</sup>应用原位 PCR 法检测了 9 例 AIDS 患者肾脏组

织中 HIV 的表达和定位, 发现 HIV-DNA 主要表达于肾小管上皮细胞的细胞核和细胞质, 提示 HIV 可直接感染肾脏组织而造成肾脏损伤。Jonathan 等<sup>[30]</sup>对 HIV 相关肾病患者的肾脏穿刺组织进行检查, 发现肾脏可能是 HIV 病毒的储存库, 即便是患者得到了 HAART 的有效治疗且血浆 HIV 检测已完全转为阴性结果之后, 肾小管上皮细胞和肾小球足突细胞内仍可发现 HIV mRNA 的阳性表达, 其表达量与治疗前比较无明显变化。但也有些学者认为, 检测到 HIV mRNA 表达并不能确定为有肾脏局部的有效感染, 而 CXCR4、CCR5 等受体的表达才是证明肾脏 HIV 感染的标志<sup>[31]</sup>。有研究证实, CD4 分子不表达于星形胶质细胞, 但表达受体 CXCR4 和 CCR5, 星形胶质细胞是病毒储存库, 但并不参与病毒

复制, 只有当外部条件改变时才诱导病毒的复制<sup>[32]</sup>。近期有研究表明星形胶质细胞可能通过缝隙连接传播 HIV<sup>[33-34]</sup>。

本研究发现, HIV 检测阴性患者的泪腺上皮细胞中 CD4 为可疑阳性表达, CXCR4 可在多数泪腺上皮细胞中表达, 而 CCR5 仅在少数泪腺上皮细胞中呈局灶可疑表达, 泪腺上皮细胞间质组织中散在的淋巴细胞中均可见 CD4、CXCR4 及 CCR5 的阳性表达; 而在 HIV 检测阳性患者的泪腺上皮细胞中 CD4 可疑阳性表达, CXCR4 及 CCR5 均为阳性表达, 泪腺间质组织中可见大量散在的淋巴细胞, 其 CD4、CXCR4 及 CCR5 均为阳性表达。尽管细胞不表达 CD4, 也不能排除 HIV 感染的可能, 且 HIV 阳性患者泪腺上皮细胞 CXCR4 和 CCR5 的表达强于 HIV 阴性患者, 提示 CXCR4 和 CCR5 的表达上调更有利于 HIV 对泪腺上皮细胞的直接感染。此外为了进一步明确 CD4、CXCR4、CCR5 分子在泪腺组织的表达情况, 本研究中采用免疫荧光技术对 HIV 阴性患者泪腺组织中 3 种分子的表达进行鉴定, 发现 CD4、CXCR4、CCR5 均在泪腺组织中表达, 但 CD4 多集中于泪腺上皮细胞膜, 呈线状及片状分布, 而 CXCR4 和 CCR5 存在于泪腺上皮细胞的细胞膜和细胞质, 呈点状分布, 证实泪腺上皮细胞具有受 HIV 感染的客观条件。本研究认为泪腺上皮细胞可通过细胞表面的 CD4 分子及其辅助受体 CXCR4 或 CCR5

感染 HIV, 或直接通过泪腺上皮细胞表面辅助受体 CXCR4 或 CCR5 感染泪腺上皮细胞, 也可以通过泪腺上皮细胞与相邻的 HIV 阳性的淋巴细胞以细胞介导的方式侵入, 并感染 CXCR4 或 CCR5 阳性的泪腺上皮靶细胞。

综上所述, 本研究显示泪腺上皮细胞具有 HIV 感染的分子基础, 其感染方式呈现多样化, 为进一步确定泪腺是 HIV 的储存库提供了可靠的实验室证据, 在 HIV 感染的防治方面具有重要的临床意义。

## 参考文献

- [1] Eisele E, Siliciano RF. Redefining the viral reservoirs that prevent HIV-1 eradication[J]. *Immunity*, 2012, 37(3): 377-388. DOI: 10.1016/j.immuni.2012.08.010.
- [2] Chun TW, Davey RT, Ostrowski M, et al. Relationship between pre-existing viral reservoirs and the re-emergence of plasma viremia after discontinuation of highly active anti-retroviral therapy[J]. *Nat Med*, 2000, 6(7): 757-761.
- [3] Riddler SA, Aga E, Bosch RJ, et al. Continued slow decay of the residual plasma viremia level in HIV-1-infected adults receiving long-term antiretroviral therapy[J]. *J Infect Dis*, 2016, 213(4): 556-560. DOI: 10.1093/infdis/jiv433.
- [4] Harrington PR, Haas DW, Ritola K, et al. Compartmentalized human immunodeficiency virus type 1 present in cerebrospinal fluid is produced by short-lived cells[J]. *J Virol*, 2005, 79(13): 7959-7966.
- [5] Kim M, Siliciano RF. Reservoir expansion by T-cell proliferation may be another barrier to curing HIV infection[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2016, 113(7): 1692-1694. DOI: 10.1073/pnas.1600097113.
- [6] Murray AJ, Kwon KJ, Farber DL, et al. The latent reservoir for HIV-1: how immunologic memory and clonal expansion contribute to HIV-1 persistence[J]. *J Immunol*, 2016, 197(2): 407-417. DOI: 10.4049/jimmunol.1600343.
- [7] Chun TW, Carruth L, Finzi D, et al. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection[J]. *Nature*, 1997, 387(6629): 183-188.
- [8] Moir S, Chun TW, Fauci AS. Pathogenic mechanisms of HIV disease[J]. *Annu Rev Pathol*, 2011, 6: 223-248. DOI: 10.1146/annurev-pathol-011110-130254.
- [9] Chomont N, El-Far M, Ancuta P, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation[J]. *Nat Med*, 2009, 15(8): 893-900. DOI: 10.1038/nm.1972.
- [10] Ho DD, Neumann AU, Perelson AS, et al. Rapid turnover of plasma virions and CD4 lymphocytes in HIV-1 infection[J]. *Nature*, 1995, 373(6510): 123-126.
- [11] Haqqani AA, Marek SL, Kumar J, et al. Central memory CD4<sup>+</sup> T cells are preferential targets of double infection by HIV-1[J]. *Virol J*, 2015, 12: 184. DOI: 10.1186/s12985-015-0415-0.
- [12] Colin L, van Lint C. Molecular control of HIV-1 postintegration latency: implications for the development of new therapeutic strategies[J/OL]. *Retrovirology*, 2009, 6: 111 [2014-01-12]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2797771/>. DOI: 10.1186/1742-4690-6-111.
- [13] McElrath MJ, Steinman RM, Cohn ZA. Latent HIV-1 infection in enriched populations of blood monocytes and T cells from seropositive patients[J]. *J Clin Invest*, 1991, 87(1): 27-30.
- [14] Alexaki A, Liu Y, Wigdahl B. Cellular reservoirs of HIV-1 and their role in viral persistence[J]. *Curr HIV Res*, 2008, 6(5): 388-400.
- [15] Mikulak J, Teichberg S, Faust T, et al. HIV-1 harboring renal tubular epithelial cell interaction with T cells results in T cell trans-infection[J]. *Virology*, 2009, 385(1): 105-114. DOI: 10.1016/j.virol.2008.11.029.
- [16] Evans VA, Lal L, Akkina R, et al. Thymic plasmacytoid dendritic cells are susceptible to productive HIV-1 infection and efficiently transfer R5 HIV-1 to thymocytes *in vitro*[J/OL]. *Retrovirology*, 2011, 8: 43 [2015-10-22]. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3118182/>. DOI: 10.1186/1742-4690-8-43.
- [17] Haggerty CM, Pitt E, Siliciano RF. The latent reservoir for HIV-1 in resting CD4<sup>+</sup> T cells and other viral reservoirs during chronic infection: insights from treatment and treatment-interruption trials[J]. *Curr Opin HIV AIDS*, 2006, 1(1): 62-68.
- [18] Pierson T, McArthur J, Siliciano RF. Reservoirs for HIV-1: mechanisms for viral persistence in the presence of antiviral immune responses and antiretroviral therapy[J]. *Annu Rev Immunol*, 2000, 18: 665-708.
- [19] Costinuk CT, Jenabian MA. HIV reservoir dynamics in the face of highly active antiretroviral therapy[J]. *AIDS Patient Care STDS*, 2015, 29(2): 55-68. DOI: 10.1089/apc.2014.0173.
- [20] Han Y, Wu N, Zhu W, et al. Detection of HIV-1 viruses in tears of patients even under long-term HAART[J]. *AIDS*, 2011, 25(15): 1925-1927. DOI: 10.1097/QAD.0b013e32834b3578.
- [21] Strain MC, Günthard HF, Havlir DV, et al. Heterogeneous clearance rates of long-lived lymphocytes infected with HIV: intrinsic stability predicts lifelong persistence[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2003, 100(8): 4819-4824.
- [22] Perelson AS, Essunger P, Cao Y, et al. Decay characteristics of HIV-1-infected compartments during combination therapy[J]. *Nature*, 1997, 387(6629): 188-191.
- [23] Zhang L, Chung C, Hu BS, et al. Genetic characterization of rebounding HIV-1 after cessation of highly active antiretroviral therapy[J]. *J Clin Invest*, 2000, 106(7): 839-845.
- [24] Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, et al. Latent infection of CD4<sup>+</sup> T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy[J]. *Nat Med*, 1999, 5(5): 512-517.
- [25] Siliciano JD, Kajdas J, Finzi D, et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4<sup>+</sup> T cells[J]. *Nat Med*, 2003, 9(6): 727-728.
- [26] Blankson JN, Persaud D, Siliciano RF. The challenge of viral reservoirs in HIV-1 infection[J]. *Annu Rev Med*, 2002, 53: 557-593.
- [27] Chun TW, Fauci AS. Latent reservoirs of HIV: obstacles to the eradication of virus[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1999, 96(20): 10958-10961.
- [28] 吴霞, 李大金, 袁敏敏, 等. HIV-1 协同受体 CXCR4, CCR5 及相关趋化因子 SDF-1 在胎盘的表达[J]. *中国免疫学杂志*, 2004, 20(9): 622-628.
- [29] 刘蕾, 张黔英, 宫恩聪. 原位 PCR 方法检测国人艾滋病肾组织 HIV DNA[J]. *北京大学学报: 医学版*, 2003, 35(2): 174-175.
- [30] Liu L, Zhang QY, Guan EC. Detection of HIV DNA in Chinese AIDS kidney by *in situ* PCR[J]. *J Peking Univer (Health Science)*, 2003, 35(2): 174-175.
- [31] Jonathan A, Winston MD, Leslie A, et al. Nephropathy and establishment

of a renal reservoir of HIV type 1 during primary infection [J]. N Engl J Med, 2001, 344 (26) : 1979-1984.

[31] Eitner F, Cui Y, Hudkins KL, et al. Chemokine receptor CCR5 and CXCR4 expression in HIV-associated kidney disease [J]. J Am Soc Nephrol, 2000, 11 (5) : 856-867.

[32] González-Scarano F, Martín-García J. The neuropathogenesis of AIDS [J]. Nat Rev Immunol, 2005, 5 (1) : 69-81.

[33] Eugenin EA, Clements JE, Zink MC, et al. 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. DOI:10.1523/JNEUROSCI.1460-11.2011.

[34] Orellana JA, Sáez JC, Bennett MV, et al. HIV increases the release of dickkopf-1 protein from human astrocytes by a Cx43 hemichannel-dependent mechanism [J]. J Neurochem, 2014, 128 (5) : 752-763. DOI:10.1111/jnc.12492.

(收稿日期:2016-11-10)

(本文编辑:尹卫靖)

· 病例报告 ·

## 8 号染色体三体综合征伴斜视一例

袁均 李艳 成拾明 孙荣 张勇

442000 湖北省十堰市, 十堰市太和医院眼科中心(袁均、成拾明、孙荣、张勇), 生殖医学中心(李艳)

通信作者:张勇, Email:564511781@qq.com

DOI:10.3760/cma.j.issn.2095-0160.2017.05.006

患者,女,25岁,因左眼视物偏斜20余年就诊,父母非近亲结婚,家族中无斜视及类似疾病病史。患者体型偏瘦,前额较高,鼻梁宽,下嘴唇厚(图1),耳廓较小,右手手指细长、畸形(图2),胸部平坦,乳房发育不明显,智力正常。眼部检查:双眼裸眼视力均为0.8;屈光状态:右眼+0.37DS,左眼-1.50DC×65°;眼压:右眼18mmHg(1mmHg=0.133KPa),左眼20mmHg;眼位:33cm角膜映光-15°,双眼球向各方向运动不受限(图3),歪头试验阴性。三棱镜检查33cm和6m处均为-30<sup>Δ</sup>,立体视锐度(Titmus)为30";裂隙灯显微镜眼前节检查、直接检眼镜眼底检查均未见明显异常。血常规、尿常规、肝功能、肾功能检查均未见明显异常。染色体核型检查:46,XX(82)/47,XX,+8(18)(图4、5),异常核型占18%。父母染色体检查正常。临床诊断:8号染色体三体综合征伴斜视。因患者无手术意愿,指导患者进行笔尖训练。

**讨论:**8号染色体三体综合征也称为Warkany综合征,在1972年由Caspersson等<sup>[1]</sup>首次报道,是在精卵细胞形成后有丝分裂时姐妹染色单体不分离,形成正常细胞系与异常细胞系共存的嵌合体<sup>[2]</sup>。斜视是眼科常见的疾病,是指任何一眼视轴偏离的临床现象。斜视不仅引起视觉功能障碍而且严重影响外观,降低生活质量,治疗后可以恢复功能,改善患者心理健康<sup>[3-4]</sup>。本例患者主要症状为斜

视,临床上多种病因会引起斜视,本例应与以下因素相鉴别:(1)解剖学异常 某一眼外肌发育过度或发育不全、眼外肌附着点异常,眼眶的发育、眶内筋膜结构的异常等,均可导致肌力不平衡而产生斜视<sup>[5]</sup>,还会出现眼球运动障碍;(2)屈光不正 屈光不正可能引起调节增加或调节/集合比例异常,从而导致斜视的发生<sup>[6]</sup>,多见于屈光性调节性内斜视、与近视相关的内斜视和知觉性外斜视;(3)神经系统发育不全 如果在婴幼儿期因神经系统先天发育异常或后天因素,如颅脑外伤、高烧等干扰了正常的发育,会影响注视反射的建立而发生斜视<sup>[7]</sup>,国外也有研究表明斜视与视神经发育不全相关联<sup>[8]</sup>;(4)遗传因

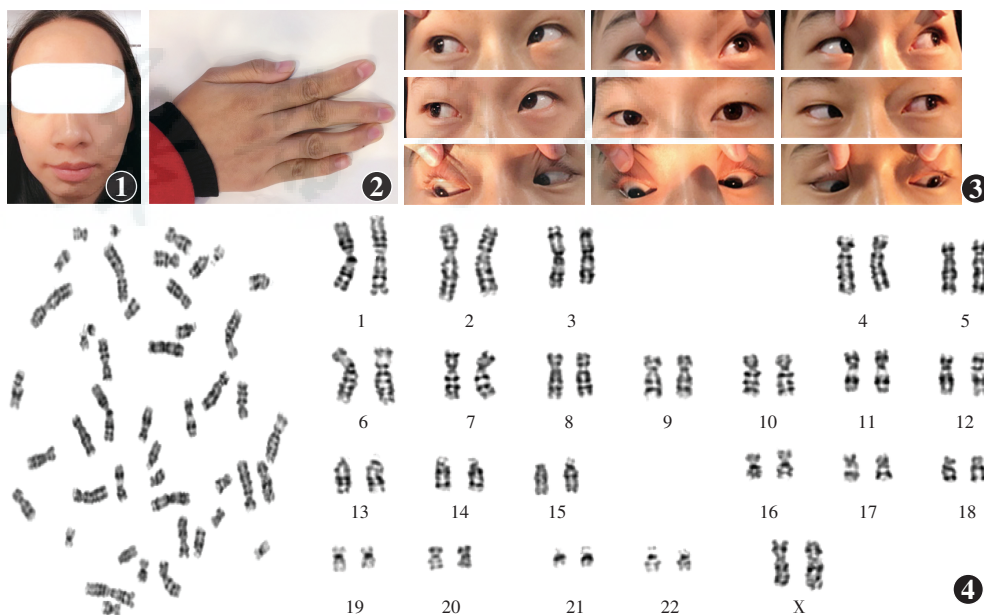


图1 患者面容 前额较高,鼻梁宽,下嘴唇厚 图2 患者右手照相 手指细长、畸形 图3 患者眼位 33 cm角膜映光-15°,双眼球向各方向运动不受限 图4 染色体核型检查 正常的46,XX核型