树突状细胞、CD8⁺ T细胞与单纯疱疹病毒1型的潜伏感染

张小龙, 李琦涵*

中国医学科学院北京协和医学院医学生物学研究所云南省重大传染病疫苗研发重点实验室, 昆明 650118

* 联系人, E-mail: liqihan@imbcams.com.cn

收稿日期: 2017-03-03; 接受日期: 2017-04-17; 网络版发表日期: 2017-06-08

国家自然科学基金(批准号: 31670173)、中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目(批准号: 2016-12M-1-019)、北京协和医学院“协和青年基金”(批准号: 3332016115)和中国医学科学院基本科研业务费(批准号: 2016ZX350072)资助

摘要 单纯疱疹病毒1型(HSV-1)属于疱疹病毒 α 亚科, 是一种在人群中广泛传播的病原体. HSV-1病毒感染机体后可在宿主神经系统中建立起长期的潜伏感染, 并不时地从潜伏状态“重激活”导致临床症状及体液排毒. 病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞具有抑制神经细胞中HSV-1“重激活”, 维持病毒潜伏感染状态的能力. 本文从树突状细胞对病毒抗原的递呈, 病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞的来源、种类、抗原特异性及功能等方面对近年来的研究进展做一综述.

关键词 单纯疱疹病毒1型, 树突状细胞, CD8⁺ T细胞, 潜伏感染

单纯疱疹病毒1型(herpes simplex virus 1, HSV-1)是一种在人群中广泛传播的病毒^[1], HSV-1通常感染人体皮肤及黏膜组织, 在局部复制后进一步感染分布于这些组织中的神经细胞, 并沿着神经细胞逆轴突方向感染三叉神经及中枢神经系统^[2]. 在免疫系统正常的个体中, 入侵机体的感染性病毒颗粒迅速被固有免疫^[3]及随后的特异性免疫反应^[2]所清除, 但HSV-1具有在感觉及中枢神经系统中建立潜伏感染的能力, 即病毒基因组DNA保留在神经元细胞中, 该DNA分子不被免疫反应所清除, 最终形成在宿主神经元细胞中的终身存在^[2]. 潜伏感染状态的病毒不会引发宿主出现临床症状, 但该潜伏状态会不定期地被打破, 此时病毒DNA开始表达功能蛋白并在神经细胞中组装出

具有感染性的病毒颗粒, 成熟的病毒颗粒沿着神经细胞顺轴突方向运输到原初感染部位并大量复制, 使得HSV-1病毒从潜伏状态进入到重激活状态^[2]. HSV-1的急性感染及重激活可以是无临床症状的, 也可以引发口唇疱疹、生殖器疱疹、疱疹性角膜炎以及疱疹性脑膜炎等一系列不同程度的疾病^[4,5]. 通常HSV-1急性感染所引发的症状较轻且为自愈性疾病, 但病毒重激活所引起的疱疹性角膜炎则可导致失明^[6]. HSV-1重激活可以导致宿主泪液、唾液、生殖道黏液中出现大量感染性病毒颗粒^[7,8], 由于这种体液排毒有时并不引发临床症状, 具有隐蔽性, 因此也进一步促进了HSV-1在人群中的传播.

临床研究显示, 当HSV-1在人体感觉及中枢神经

引用格式: 张小龙, 李琦涵. 树突状细胞、CD8⁺ T细胞与单纯疱疹病毒1型的潜伏感染. 中国科学: 生命科学, 2017, 47: 606–615

Zhang X L, Li Q H. Dendritic cells, CD8⁺ T cells and Herpes simplex virus type 1 latency. Sci Sin Vitae, 2017, 47: 606–615, doi: [10.1360/N052017-00041](https://doi.org/10.1360/N052017-00041)

系统中建立起潜伏感染后, 病毒抗原特异性 $CD8^+$ T细胞会浸润这些受感染的神经组织, 并紧紧包围住那些有病毒DNA存在的神经元细胞^[9-12], 而早在20世纪80年代人们就通过动物实验发现, 这些浸润到神经组织中的 $CD8^+$ T细胞具有抑制HSV-1从神经细胞中重激活的功能^[13], 之后的大量研究也进一步确证了这一点^[2]. 事实上, 现有的理论认为, HSV-1在神经细胞中潜伏的维持依赖于“病毒-神经元细胞- $CD8^+$ T细胞”三者间的动态平衡^[14]. HSV-1基因组在潜伏状态下表达潜伏相关转录本(latency-associated transcript, LAT), ICP0, ICP4等病毒产物, 并利用这些产物抑制神经细胞的凋亡, 干扰宿主的免疫监视, 诱导病毒功能基因的表达, 推动病毒的重激活^[2,15,16]. 被病毒感染的细胞则依靠自身的产物抑制病毒的复制及重激活^[17-20], 并利用MHC I类分子将病毒抗原呈递给T细胞^[14,21]. 紧密围绕神经元的 $CD8^+$ T细胞则对病毒的活动形成监视, 当病毒突破神经元细胞的抑制启动重激活时, $CD8^+$ T细胞产生的多种效应物随即阻断病毒的复制, 使病毒维持在潜伏状态^[2]. 任何打破“病毒-神经元细胞- $CD8^+$ T细胞”平衡的内外部因素均可能导致病毒的重激活, 目前人们已经认识到一些可以打破HSV-1潜伏状态的因素, 如激素水平、精神及躯体压力、紫外线照射、免疫抑制剂治疗以及免疫缺陷病毒的感染等^[2,22-25]. 其中的许多因素并非直接作用于潜伏态的病毒, 而是通过影响 $CD8^+$ T细胞的功能来间接促进病毒的复制^[23,24,26], 处于潜伏状态的HSV-1亦利用自身产物削弱 $CD8^+$ T细胞的功能, 导致病毒得以突破免疫系统的限制而实现重激活^[15,16,27], 因此, 深入了解这类T细胞的发生发展及调控规律, 成为认识HSV-1致病机制并研发预防或治疗性疫苗所必不可少的环节. 随着研究的深入, HSV-1抗原特异性 $CD8^+$ T细胞的功能逐渐为人们所认识, 树突状细胞(dendritic cell, DC)递呈病毒抗原并激活这类T细胞的规律也逐渐揭开面纱, 本文就近年来这方面的研究做一综述.

1 DC细胞对HSV-1抗原的递呈

作为一种胞内感染的病原体, HSV-1的重激活过程始终在神经元细胞内进行, 使得控制HSV-1感染的免疫反应极大地依赖于 $CD8^+$ T细胞. 动物实验表明, B细胞的缺乏并不影响机体对潜伏HSV-1的免疫监控,

而神经组织中T细胞的缺乏则导致病毒的重激活^[28]. 当然, 在 $CD8^+$ T细胞进入神经组织之前, 需要抗原递呈细胞(antigen presenting cell, APC)将病毒抗原加工并递呈给外周淋巴组织中的少量抗原特异性初始T细胞, 以刺激这些细胞的增殖. 作为APC细胞, DC细胞、巨噬细胞和B细胞均可向T细胞递呈HSV-1病毒抗原^[29,30], 但DC细胞作为机体最专职的APC细胞, 具有最强的抗原递呈能力. HSV-1感染机体皮肤组织后首先在表皮层中局部复制^[31], 而这里分布着丰富的朗格汉斯细胞(Langerhans cell, LC), 这是一类组织特异性DC细胞, 负责监控入侵皮肤的病原体并将病原体抗原加工递呈给T细胞, 但与其他病原体感染所不同的是, 人们发现当HSV-1感染皮肤组织后, LC细胞并不能将病毒抗原递呈给淋巴结中的T细胞^[32,33], 而真正进入淋巴结中刺激HSV-1特异性T细胞增殖的是另外两类DC细胞: 分布于真皮层中的 $CD103^+$ DC以及分布于淋巴结中的 $CD8\alpha^+$ DC^[31,34]. HSV-1感染皮肤表皮层的最初24h, 病毒感染分布于此的LC细胞并在其中复制, 在随后的48h, 被病毒感染的LC细胞迁移进入真皮层, 由于HSV对LC细胞的感染影响了该细胞调控趋化因子及钙黏蛋白表达的能力, 使其无法响应趋化因子浓度梯度而离开皮肤组织^[35], 并最终在真皮层中凋亡^[34]. 当LC细胞在真皮层中凋亡后, LC细胞碎片以及其中包含的HSV抗原成分被分布于此的 $CD103^+$ DC细胞所摄取, 作为具有迁移能力的一类DC细胞, 摄取了病毒抗原的 $CD103^+$ DC细胞离开感染部位, 迁移进入附近的淋巴结中^[31,34], 此时 $CD103^+$ DC细胞即可刺激位于淋巴结中的HSV-1抗原特异性T细胞的增殖, 但是效率并不高, 而定植于淋巴结中的 $CD8\alpha^+$ DC细胞则可以非常有效地诱导这些T细胞的复制^[31-33]. 由于 $CD8\alpha^+$ DC主要分布于淋巴结中, 不太可能从皮肤组织中直接摄取病毒抗原, 因此推测迁移进入淋巴结中的 $CD103^+$ DC细胞将病毒抗原成分传递给位于淋巴结中的 $CD8\alpha^+$ DC, 后者再将所获得的该外源性病毒抗原以MHC I类分子依赖的途径“交叉递呈”给初始 $CD8^+$ T细胞^[35], 而先前的研究表明, 不同类型的DC细胞间的确可以相互传递抗原^[36]. 也就是说, LC细胞将病毒从原初感染的皮肤表皮层带入到真皮层中, $CD103^+$ DC细胞在真皮层中摄取了病毒抗原后将抗原带入到淋巴结中并传递给 $CD8\alpha^+$ DC细胞, 再由后者将抗原最终呈递给T细胞. DC细胞是体内最专职的抗原递呈细胞,

是开启特异性免疫反应的“钥匙”, DC细胞对HSV-1抗原“接力”递呈的独特途径提示, 我们需要知道, 什么类型的疫苗以及什么样的免疫途径才能够最真实地模拟这一抗原递呈过程, 因为一个有效的HSV-1疫苗也应该能够有效地激活这条抗原递呈通路, 以充分启动特异性抗病毒免疫反应。

2 HSV-1抗原特异性CD8⁺ T细胞来源、分布及种类

当淋巴结中的病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞受到抗原刺激并增殖后, 逐渐进入循环系统并最终进入肺、脾、淋巴结等组织^[37-40], 更多的抗原特异性CD8⁺ T细胞则进入病毒原初感染的皮肤表皮层以及有大量病毒潜伏感染的三叉神经组织(trigeminal ganglion, TG)中^[26,41,42]。最早在HSV-1感染机体皮肤后的第5天, 即有抗原特异性CD8⁺ T细胞浸润到表皮层感染部位及TG组织中, 随后几天数量不断增加, 至感染后第8天达到数量上限^[42-44]。此后, 机体中的感染性病毒颗粒逐渐被强有力的免疫反应所清除, 病毒从急性感染转入潜伏感染, 随着潜伏感染的建立, 组织及循环系统中的效应T细胞迅速凋亡, 机体各个组织中聚集的病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞数量显著下降^[45]。效应T细胞凋亡后, 少量能够长期存活且具有自我更新能力的记忆T细胞则保留下来, 根据趋化因子表达及组织分布特性的不同, 记忆T细胞通常被分为中央型记忆T细胞(T_{CM})和效应型记忆T细胞(T_{EM})^[46], 前者主要分布于外周淋巴器官, 后者则主要在非淋巴组织间循环, 它们是机体免疫记忆功能的主要执行者, 当记忆T细胞再次遇到入侵的病原体时, 可快速分化为效应T细胞并启动强大的特异性免疫反应将病原体迅速清除。HSV-1对人体的感染可诱导病毒抗原特异性的T_{CM}和T_{EM}, 两者均可介导对HSV-1再次感染的保护作用^[40]。然而, 除了外周淋巴器官和非淋巴组织中的T_{CM}和T_{EM}细胞之外, 人们很早就意识到, 在皮肤表皮层原初感染部位及病毒潜伏的TG组织中, 有数量稳定的一群CD8⁺ T细胞存在, 这群CD8⁺ T细胞与T_{CM}和T_{EM}细胞具有显著的差异: 它们稳定的驻留在三叉神经等组织中, 不参与淋巴回流, 其复制也不依赖于淋巴结^[47,48]; 它们具有HSV-1病毒抗原特异性, 且能在局部组织中自我复制而非终末分化细胞^[10,48]; 它们具有钙黏蛋白E结合分子CD103⁺

以及整联蛋白VLA-1⁺的独特表面分子标志^[47,49], 同时高表达活化标志分子CD69和CD44^[45,49]; 它们高表达效应分子颗粒酶B、穿孔素以及IFN- γ ^[37,39,45]; 转录组学分析表明, 这类病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞的基因表达模式与T_{CM}和T_{EM}细胞均不相同^[49]。鉴于这类T细胞在组织分布、自我复制、分子表型、功能及基因表达模式上的独特性, 近年来人们将其定义为一类新的记忆T细胞, 即组织常驻型记忆T细胞(T_{RM})^[46]。目前还不清楚这类记忆T细胞是如何分化而来, 有研究认为, 免疫效应阶段大量存在的效应T细胞, 以及循环于非淋巴组织中的T_{EM}都不太可能是T_{RM}的前体细胞, T_{RM}更有可能是由CD127⁺CD8⁺ T细胞^[39]以及KLRG1⁺ T细胞^[49]分化而来, 预示着T_{RM}细胞较为独立的分化路线。

有意思的是, 作为记忆T细胞, T_{CM}和T_{EM}细胞均依赖于IL-15作为生存信号, 而IL-15的缺乏似乎并不影响TG组织中HSV-1抗原特异性T_{RM}细胞的存活与复制^[39], 即使在感染性病毒颗粒被清除后相当长的时间内, TG组织中的这些CD8⁺ T细胞依然维持着数量上的稳定以及功能上的活化状态^[45], 那么是什么因素维持着T_{RM}细胞在局部组织中的生存? 早前的理论认为, HSV-1基因组潜伏的TG组织是免疫赦免区, 神经元细胞内的病毒DNA分子处于不复制不表达的静息状态, 因此不被免疫系统所监视, 然而, 近年来的大量动物实验及临床观察表明, 潜伏于神经细胞中的病毒DNA分子在持续的表达低水平的一系列病毒产物, 包括ICP0, ICP4, ICP6, ICP8, ICP47, TK甚至是某些晚期基因产物, 如gB, gC, gH等^[10,15,50]。有研究人员认为, 这些病毒抗原被神经元细胞以“抗原-MHC I”复合物的形式递呈给CD8⁺ T细胞^[21], 而正是这种持续存在的病毒抗原的刺激维持着TG组织中CD8⁺ T细胞的生存及自我更新。至少有4个实验观察可以支持这种推论: (i) 复制缺陷型HSV-1潜伏感染的TG组织中, 抗原特异性的CD8⁺ T细胞不能复制^[48]; (ii) 非病毒抗原特异性的CD8⁺ T细胞可以进入TG组织中, 但却无法在其中复制^[48]; (iii) TG中的病毒抗原特异性CD8⁺ T紧密围绕着被潜伏感染的神经元细胞, 且与神经元细胞间形成免疫突触^[45]; (iv) 相比于没有病毒潜伏的肺组织, TG中的CD8⁺ T在相当长的一段时期内保持着更多的数量以及更高的功能活性^[37]。虽然这些HSV-1抗原特异性CD8⁺ T细胞的生存不依赖于淋巴结, 但多项研究表

明, 它们的复制仍然离不开组织中的DC细胞及CD4⁺ T细胞的辅助刺激^[37,48].

上述的CD8⁺ T细胞主要存在于病毒原初感染的皮肤组织及病毒潜伏感染的TG组织中, 目前还不清楚这一组织特异性是如何决定的. 有研究发现, TGF- β 和IL-15扮演着对这些细胞的趋化角色, 且趋化过程部分依赖于这类CD8⁺ T细胞表面的CXCR3分子^[49]. HSV-1感染皮肤后, 有大量的炎性细胞浸润到感染部位中去^[2], 而HSV-1潜伏感染的TG组织中同样有炎性细胞的浸润及炎症细胞因子的表达^[9], 因此有理由相信炎症细胞因子在募集这类CD8⁺ T的过程中也发挥着作用.

3 CD8⁺ T细胞的抗原特异性

HSV-1感染机体后, 病毒抗原被DC细胞带入淋巴结并刺激病毒抗原特异性的CD8⁺ T细胞增殖, 小鼠(*Mus musculus*)模型试验显示, 这个过程很少会导致淋巴结中非病毒抗原特异性的CD8⁺ T细胞增殖, 而这些非特异性的CD8⁺ T细胞也难以浸润到受感染的TG组织中去^[44], 这直接导致TG组织中的大部分(约88%)CD8⁺ T细胞为病毒抗原特异性T细胞^[43]. 在病毒潜伏的TG组织中, 这些HSV-1特异性的CD8⁺ T细胞中的将近50%又是病毒抗原决定簇gB₄₉₈₋₅₀₅特异性的, 而另外50%分别对HSV-1的11个基因中的18个抗原表位具有特异性^[43], 因此, 在小鼠感染模型中, gB₄₉₈₋₅₀₅为CD8⁺ T的主要抗原决定簇, 而其余18个均为次要抗原决定簇. 在病毒感染小鼠后的第7天, TG组织中的次要抗原决定簇特异性CD8⁺ T细胞达到数量上限, 而第8天gB₄₉₈₋₅₀₅特异性的CD8⁺ T达到数量上限, 此时两者均具有完整的功能, 即在相应抗原刺激时可以迅速分裂, 并分泌颗粒酶B以及IFN- γ ^[44], 且两者均可对病毒重激活进行监视和抑制^[43,51]. 在病毒进入潜伏感染期后, TG中两者数量均经历一定程度的收缩, 而后维持在一个稳定水平, 所不同的是, gB₄₉₈₋₅₀₅特异性CD8⁺ T细胞在这个过程中逐渐降低细胞表面抑制性受体PD-1分子的表达, 而非gB₄₉₈₋₅₀₅特异性CD8⁺ T细胞表面则有较高水平的PD-1表达, 由于病毒潜伏感染的神经细胞上调了PD-1配体分子PD-L1的表达, 导致这些非gB₄₉₈₋₅₀₅特异性CD8⁺ T细胞在潜伏感染期表现出相对于gB特异性T细胞更高的凋亡率以及更弱的效应分子分泌

能力^[52].

值得注意的是, TG中的绝大部分(约83%)病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞对HSV-1病毒的 β 和 γ 1基因产物具有特异性^[43], 这些都是可以在病毒基因组复制前表达的基因, 对于这一现象的一种观点是, HSV-1可以感染非成熟的DC细胞, 在细胞中产生完整病毒颗粒, 并导致DC细胞的凋亡^[53], 使其无法有效迁移进入淋巴结中, 而病毒感染成熟DC细胞后无法完成基因组的复制, 仅能表达 α , β 和 γ 1基因产物, 且不会导致这些成熟DC细胞的死亡^[54], 当被感染的成熟DC细胞进入淋巴结后, 则将细胞内合成的病毒产物直接递呈给T细胞, 或是传递给CD8 α ⁺ DC细胞后间接递呈给T细胞, 导致对 β 和 γ 1基因产物具有特异性的T细胞选择性增殖^[43]. 鉴于前文所描述的DC细胞对HSV-1抗原的递呈过程, 该解释未必反映了抗原递呈的真实过程, 因为HSV-1可在LC细胞中完成复制^[34], 当LC细胞凋亡后, 病毒的所有抗原成分应有同等的几率被CD103⁺ DC细胞摄取并带入淋巴结中. 需要强调的是, 潜伏存在的HSV-1虽能在神经细胞中表达某些基因产物, 但由于各方面的限制未必能充分表达晚期基因产物, 这可能导致TG组织中 γ 2基因产物特异性CD8⁺ T细胞因缺乏持续的抗原刺激而逐渐凋亡, 由此可能是导致TG中的绝大部分病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞对HSV-1的 β 和 γ 1基因产物具有特异性的原因.

HSV-1病毒基因组共编码80多种蛋白产物, 完整的病毒包膜上拥有至少10种包膜糖蛋白, 有意思的是, 病毒感染的小鼠TG组织中却有1/2的病毒特异性CD8⁺ T细胞识别gB₄₉₈₋₅₀₅表位. 事实上, 一系列因素都可能影响着T细胞对表位的识别, 如MHC分子对多肽的亲合力, TCR对“MHC-多肽”复合物的亲合力, 多肽在APC中被蛋白酶体加工的效率, 病毒基因的表达, 以及特定T细胞前体的克隆数量及分裂能力等^[43]. 目前尚不清楚具体是哪些因素最终决定了某种特异性CD8⁺ T细胞的数量, 但比较明确的是, 不同物种的CD8⁺ T细胞对同一病原体的表位特异性存在差别. 相比于小鼠体内的情况, 人体中CD8⁺ T细胞的表位特异性则是另一番景象: 人体感染HSV-1后, 一部分人几乎没有任何临床症状, 另一部分人则会因为病毒的重激活而反复出现病理症状, Derville等人^[55]的研究发现, 这两类人群体内的病毒抗原特性CD8⁺ T细胞数量相似, 但无症状人群体内的CD8⁺ T细胞更多的识别gB₃₄₂₋₃₅₀和gB₅₆₁₋₅₆₉

抗原决定簇,而有症状人群的CD8⁺ T细胞更多地识别gB₁₈₃₋₁₉₁和gB₄₄₁₋₄₄₉抗原决定簇,前者主要为T_{EM},在抗原刺激下分裂能力强,可产生高水平的颗粒酶B、穿孔素以及IFN- γ ,表现出更强的抗病毒活性,后者主要为T_{CM},其分化水平更低,只产生低水平的效应物质,抗病毒能力较弱^[40].于是他们将识别病毒不同抗原决定簇的CD8⁺ T细胞分为“保护性”和“非保护性”两类,若体内的CD8⁺ T细胞以“保护性”类群为主,则可以对潜伏的病毒形成有效的监控和抑制,从而不表现临床症状,若体内的CD8⁺ T细胞以“非保护性”类群为主,则病毒可以更为容易的突破T细胞的抑制,导致临床症状的出现.“保护性”抗原决定簇并不局限于gB这样的包膜蛋白,他们还鉴定了皮层蛋白VP11/12, VP13/14上的多个“保护性”抗原决定簇^[56,57].更值得关注的是,当利用“保护性”抗原决定簇制作的多肽疫苗免疫人源化转基因兔后,相比于“非保护性”的多肽疫苗,前者可诱导“保护性”的病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞反应,赋予免疫动物抵抗致死性病毒攻击的能力^[57],且可诱导更多的“保护性”CD8⁺ T细胞浸润到TG组织中去,降低HSV-1病毒重激活的概率^[7].

4 TG组织中CD8⁺ T细胞功能

在HSV-1基因组潜伏的TG组织中有数量稳定的病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞存在,大量的实验观察提示,这些CD8⁺ T细胞可以对细胞内潜伏的病毒进行持续监视,并抑制病毒的重激活^[2],然而人们对于这些T细胞具体以什么样的方式实现这一功能却所知甚少.作为CTL细胞,CD8⁺ T通过TCR识别受感染细胞后,通过分泌裂解性颗粒或通过接触诱导受感染细胞的死亡,以达到清除胞内病原体的目的,然而在TG组织中,虽然CD8⁺ T紧密包围被感染的神经元细胞,但这些神经元细胞却未表现出任何凋亡的迹象^[9,12].这些CD8⁺ T细胞大多都拥有活化表型,也的确产生了正常水平的含有颗粒酶B和穿孔素的裂解性颗粒^[10],但这些裂解性物质似乎在以一种“非裂解性”的方式作用于受感染的神经元细胞,并抑制其中的病毒复制,尚不清楚颗粒酶B和穿孔素如何实现这种“非裂解性”的抑制,但有研究表明,颗粒酶B可以降解病毒的即刻早期基因产物ICP4^[58],而ICP4对于HSV-1病毒后续基因的表达至关重要.CD8⁺ T细胞分泌的IFN- γ 似乎也参与到

抑制病毒重激活的过程中来^[50,59],研究发现,IFN- γ 可以抑制病毒即刻早期基因ICP0的转录^[50],与ICP4相似,ICP0对于启动病毒后续基因的表达同样至关重要.当然,CD8⁺ T对于病毒重激活的抑制作用并非只局限在重激活的早期阶段,Decman等人^[50]发现,即使神经细胞中的一些病毒晚期基因,如gC和gH得以表达,IFN- γ 同样可以抑制病毒形成感染性颗粒,也就是说CD8⁺ T细胞所产生的效应物质可在HSV-1复制的多个阶段阻断病毒的重激活,但具体是哪些效应物质?又靶向于哪些分子?这些问题都还有待于深入的探索.如前面所提到的,处于潜伏感染状态的病毒基因组可在神经细胞内表达一系列产物^[11,50,60],研究发现,CD8⁺ T细胞对病毒重激活的抑制作用依赖于神经元细胞对这些病毒抗原的递呈^[21],递呈作用由神经元细胞表达的少量MHC I类分子完成,由于HSV病毒所表达的ICP47蛋白在人类细胞中可以有效地抑制细胞MHC I类分子对病毒抗原的装载^[61],目前还不清楚神经细胞是否受此影响,也不清楚TG中的CD8⁺ T细胞是否干扰了病毒的这一免疫逃逸机制.

5 TG组织中CD8⁺ T细胞的功能衰竭

早在21世纪初,Hendricks等人^[62]在做小鼠TG离体培养诱导HSV-1病毒重激活实验时就发现,病毒感染后14天小鼠TG组织中的CD8⁺ T细胞可以完全抑制病毒在体外的重激活,而感染后34天的这些CD8⁺ T细胞却无法抑制病毒在培养体系中的重激活,当时就提出了TG组织中病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞随着时间推移逐渐出现功能衰竭的猜想.随后,Mott等人^[63]发现,当用高剂量HSV-1病毒攻击BALB/c小鼠30天后,存活的部分小鼠会因为潜伏病毒的抗原表达而产生角膜炎,另一部分小鼠则没有出现这种临床症状,相比后者,出现角膜炎症状的小鼠TG组织中的CD8⁺ T细胞表面表达更多的PD-1分子.而在Khan等人^[7]关于“保护性”抗原决定簇多肽疫苗的动物实验中发现,部分多肽疫苗免疫后的人源化转基因兔没有表现出对于病毒重激活的抑制能力,这些兔的TG组织中病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞表达更高水平的抑制性受体PD-1和TIM-3分子.越来越多的研究显示,随着HSV-1病毒在TG组织中潜伏时间的推移,聚集在TG组织中的部分病毒抗原特异性CD8⁺ T细胞会表现出功能性的衰竭,

出现功能衰竭的既可以是主要抗原决定簇(gB₄₉₈₋₅₀₅)特异性CD8⁺T细胞群体^[27],也可以是次要抗原决定簇特异性CD8⁺T细胞群体^[52,64],但后者更为明显^[52].这些细胞逐渐上调抑制性受体分子PD-1, TIM-3以及CTLA-4的表达量^[7,16,63],分泌颗粒酶B, IFN- γ 以及TNF- α 的能力则逐渐下降^[16,64].目前还不十分清楚是什么因素导致了这一现象,由于很多持续性的病毒感染均可导致T细胞的功能衰竭^[65,66],人们推测神经元细胞中HSV-1病毒某些基因的表达使TG中CD8⁺T细胞持续暴露于病毒抗原,并最终导致T细胞功能衰竭,毕竟有研究显示,当病毒潜伏感染的TG中CD8⁺T细胞出现功能性衰竭时,脾脏中相应的记忆CD8⁺T细胞却未出现相同的情况^[64].除此之外,浸润到TG组织中的其他类型的T细胞可能也参与了CD8⁺T的功能调控, Frank等人^[37]的研究表明, TG中的记忆T细胞在分化阶段缺乏CD4⁺T细胞的辅助可能导致其出现功能衰竭,而另一项研究指出, TG中CD4⁺T所分泌的IL-10可能导致了次要抗原决定簇特异性CD8⁺T的复制被抑制^[64],作为免疫调控者的Treg细胞也被发现浸润到病毒潜伏的TG组织中^[67],但不清楚其是否导致了CD8⁺T细胞的功能衰竭.近年来的多项研究指出, HSV-1在潜伏感染过程中所表达的LAT也直接或间接地导致了TG中CD8⁺T的功能衰竭^[15,27], Srivastava等人^[16]发现, LAT可以上调神经元细胞MHC I类分子的表达,这可能导致更多的病毒抗原被递呈给CD8⁺T细胞,同时LAT还上调了TG组织中PD-1配体分子PD-L1的表达,并通过PD-1分子介导了CD8⁺T细胞的功能衰竭.前文提到, CD8 α ⁺DC细胞可以在淋巴结中刺激抗原特异性CD8⁺T细胞扩增,而 Ghiasi研究组^[68-71]发现, CD8 α ⁺DC细胞的存在显著增加了HSV-1病毒DNA在TG组织中的拷贝数,且促进了病毒的重激活,导致这一现象的具体原因还不清楚,但

有可能是和病毒LAT一起共同介导了TG中CD8⁺T细胞的功能衰竭^[72].此外,有学者认为精神压力也削弱了TG中CD8⁺T细胞产生IFN- γ 的能力^[23].关于HSV-1感染后病毒抗原特异性CD8⁺T细胞功能衰竭的研究还在继续,但值得注意的是,目前这方面的实验观察主要来自小鼠和转基因兔实验, CD8⁺T细胞的功能衰竭在多大程度上促进了病毒的重激活?人体中是否存在相似的情况?这种情况对病毒感染后的临床表现又有什么影响?对于这些问题的研究仍然是一片空白.

6 结论与展望

作为在人群中广泛传播的一种疱疹病毒, HSV-1的感染有其“感染-潜伏-重激活”的独特规律,在免疫力正常的个体中, HSV-1的急性感染常在短时间内被固有免疫及特异性免疫反应所控制,而一旦进入神经系统,潜伏状态的病毒却始终不能被机体清除,如何研制一种可以防止病毒在神经系统中建立潜伏感染或防止其重激活的疫苗,成为人们关心的问题.神经组织中病毒抗原特异性CD8⁺T细胞对病毒重激活的抑制作用正逐步受到关注,人们也开始探索基于CD8⁺T细胞的新型HSV-1疫苗,有效地利用DC细胞刺激病毒抗原特异性CD8⁺T细胞增值,并且积极调动这些CD8⁺T细胞进入病毒潜伏的神经组织将成为这类疫苗成功的关键.另外,从以上的研究中可以看出,识别HSV-1抗原的CD8⁺T细胞的种类、功能及数量在不同物种中都不尽相同,因此动物模型的研究结果是否能较好地反映人体中的情况是一个值得关注的问题,鉴于临床试验的局限性,寻找与人类进化程度更接近,病毒感染动力学、免疫特征以及临床症状都更相似的动物模型将极大地推进HSV-1的感染与免疫研究,这将是未来HSV-1致病机制研究的新方向.

参考文献

- 1 Farooq A V, Shukla D. Herpes simplex epithelial and stromal keratitis: an epidemiologic update. *Surv Ophthalmol*, 2012, 57: 448–462
- 2 Egan K P, Wu S, Wigdahl B, et al. Immunological control of herpes simplex virus infections. *J Neurovirol*, 2013, 19: 328–345
- 3 Frank G M, Buela K A G, Maker D M, et al. Early responding dendritic cells direct the local NK response to control herpes simplex virus 1 infection within the cornea. *J Immunol*, 2012, 188: 1350–1359
- 4 Langenberg A G M, Corey L, Ashley R L, et al. A prospective study of new infections with herpes simplex virus type 1 and type 2. *N Engl J Med*, 1999, 341: 1432–1438
- 5 Kimberlin D W, Lin C Y, Jacobs R F, et al. Natural history of neonatal herpes simplex virus infections in the acyclovir era. *Pediatrics*, 2001, 108: 223–229

- 6 Kaye S, Choudhary A. Herpes simplex keratitis. *Prog Retin Eye Res*, 2006, 25: 355–380
- 7 Khan A A, Srivastava R, Chentoufi A A, et al. Therapeutic immunization with a mixture of herpes simplex virus 1 glycoprotein D-derived “asymptomatic” human CD8⁺T-cell epitopes decreases spontaneous ocular shedding in latently infected HLA transgenic rabbits: association with low frequency of local PD-1⁺TIM-3⁺CD8⁺ exhausted T cells. *J Virol*, 2015, 89: 6619–6632
- 8 Mark K E, Wald A, Magaret A S, et al. Rapidly cleared episodes of oral and anogenital herpes simplex virus shedding in HIV-infected adults. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2010, 54: 482–488
- 9 Theil D, Derfuss T, Paripovic I, et al. Latent herpesvirus infection in human trigeminal ganglia causes chronic immune response. *Am J Pathol*, 2003, 163: 2179–2184
- 10 Derfuss T, Segerer S, Herberger S, et al. Presence of HSV-1 immediate early genes and clonally expanded T-cells with a memory effector phenotype in human trigeminal ganglia. *Brain Pathol*, 2007, 17: 389–398
- 11 Held K, Junker A, Dornmair K, et al. Expression of herpes simplex virus 1-encoded microRNAs in human trigeminal ganglia and their relation to local T-cell infiltrates. *J Virol*, 2011, 85: 9680–9685
- 12 Himmelein S, Lindemann A, Sinicina I, et al. Latent herpes simplex virus 1 infection does not induce apoptosis in human trigeminal ganglia. *J Virol*, 2015, 89: 5747–5750
- 13 Bonneau R H, Jennings S R. Modulation of acute and latent herpes simplex virus infection in C57BL/6 mice by adoptive transfer of immune lymphocytes with cytolytic activity. *J Virol*, 1989, 63: 1480–1484
- 14 Divito S, Cherpes T L, Hendricks R L. A triple entente: virus, neurons, and CD8⁺ T cells maintain HSV-1 latency. *Immunol Res*, 2006, 36: 119–126
- 15 Allen S J, Hamrah P, Gate D, et al. The role of LAT in increased CD8⁺ T cell exhaustion in trigeminal ganglia of mice latently infected with herpes simplex virus 1. *J Virol*, 2011, 85: 4184–4197
- 16 Srivastava R, Dervillez X, Khan A A, et al. The herpes simplex virus latency-associated transcript gene is associated with a broader repertoire of virus-specific exhausted CD8⁺ T cells retained within the trigeminal ganglia of latently infected HLA transgenic rabbits. *J Virol*, 2016, 90: 3913–3928
- 17 Lafaille F G, Pessach I M, Zhang S Y, et al. Impaired intrinsic immunity to HSV-1 in human iPSC-derived TLR3-deficient CNS cells. *Nature*, 2012, 314: 769–773
- 18 Wilcox D R, Folmsbee S S, Muller W J, et al. The type I interferon response determines differences in choroid plexus susceptibility between newborns and adults in herpes simplex virus encephalitis. *MBio*, 2016, 7: e00437-16
- 19 West A P, Khoury-Hanold W, Staron M, et al. Mitochondrial DNA stress primes the antiviral innate immune response. *Nature*, 2015, 520: 553–557
- 20 吴文娟, 余娴, 李卫中, 等. HSV-1病毒感染细胞诱导蛋白HSRG1影响病毒基因转录的延伸. *中国科学: 生命科学*, 2010, 40: 210–217
- 21 Orr M T, Mathis M A, Lagunoff M, et al. CD8 T cell control of HSV reactivation from latency is abrogated by viral inhibition of MHC class I. *Cell Host Microbe*, 2007, 2: 172–180
- 22 Vicetti Miguel R D, Sheridan B S, Harvey S A K, et al. 17-beta estradiol promotion of herpes simplex virus type 1 reactivation is estrogen receptor dependent. *J Virol*, 2010, 84: 565–572
- 23 Freeman M L, Sheridan B S, Bonneau R H, et al. Psychological stress compromises CD8⁺ T cell control of latent herpes simplex virus type 1 infections. *J Immunol*, 2007, 179: 322–328
- 24 Cherpes T L, Busch J L, Sheridan B S, et al. Medroxyprogesterone acetate inhibits CD8⁺ T cell viral-specific effector function and induces herpes simplex virus type 1 reactivation. *J Immunol*, 2008, 181: 969–975
- 25 Elftman M D, Hunzeker J T, Mellinger J C, et al. Stress-induced glucocorticoids at the earliest stages of herpes simplex virus-1 infection suppress subsequent antiviral immunity, implicating impaired dendritic cell function. *J Immunol*, 2010, 184: 1867–1875
- 26 Himmelein S, St Leger A J, Knickelbein J E, et al. Circulating herpes simplex type 1 (HSV-1)-specific CD8⁺ T cells do not access HSV-1 latently infected trigeminal ganglia. *Herpesviridae*, 2011, 2: 5
- 27 Chentoufi A A, Kritzer E, Tran M V, et al. The herpes simplex virus 1 latency-associated transcript promotes functional exhaustion of virus-specific CD8⁺ T cells in latently infected trigeminal ganglia: a novel immune evasion mechanism. *J Virol*, 2011, 85: 9127–9138
- 28 Ramakrishna C, Ferraioli A, Calle A, et al. Establishment of HSV1 latency in immunodeficient mice facilitates efficient *in vivo* reactivation. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004730
- 29 Cheng H, Tumpey T M, Staats H F, et al. Role of macrophages in restricting herpes simplex virus type 1 growth after ocular infection. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2000, 41: 1402–1409
- 30 Deshpande S P, Kumaraguru U, Rouse B T. Dual role of B cells in mediating innate and acquired immunity to herpes simplex virus infections.

Cell Immunol, 2000, 202: 79–87

- 31 Bedoui S, Whitney P G, Waithman J, et al. Cross-presentation of viral and self antigens by skin-derived CD103⁺ dendritic cells. *Nat Immunol*, 2009, 10: 488–495
- 32 Allan R S, Smith C M, Belz G T, et al. Epidermal viral immunity induced by CD8 α ⁺ dendritic cells but not by Langerhans cells. *Science*, 2003, 301: 1925–1928
- 33 Allan R S, Waithman J, Bedoui S, et al. Migratory dendritic cells transfer antigen to a lymph node-resident dendritic cell population for efficient CTL priming. *Immunity*, 2006, 25: 153–162
- 34 Kim M, Truong N R, James V, et al. Relay of herpes simplex virus between langerhans cells and dermal dendritic cells in human skin. *PLoS Pathog*, 2015, 11: e1004812
- 35 Bedoui S, Greyer M. The role of dendritic cells in immunity against primary herpes simplex virus infections. *Front Microbiol*, 2014, 5: 533
- 36 Carbone F R, Belz G T, Heath W R. Transfer of antigen between migrating and lymph node-resident DCs in peripheral T-cell tolerance and immunity. *Trends Immunol*, 2004, 25: 655–658
- 37 Frank G M, Lepisto A J, Freeman M L, et al. Early CD4⁺T cell help prevents partial CD8⁺T cell exhaustion and promotes maintenance of herpes simplex virus 1 latency. *J Immunol*, 2010, 184: 277–286
- 38 Sun L, St.-Leger A J, Yu C R, et al. Interferon regulator factor 8 (IRF8) limits ocular pathology during HSV-1 infection by restraining the activation and expansion of CD8⁺T cells. *PLoS ONE*, 2016, 11: e0155420
- 39 Sheridan B S, Khanna K M, Frank G M, et al. Latent virus influences the generation and maintenance of CD8⁺T cell memory. *J Immunol*, 2006, 177: 8356–8364
- 40 Khan A A, Srivastava R, Spencer D, et al. Phenotypic and functional characterization of herpes simplex virus glycoprotein B epitope-specific effector and memory CD8⁺T cells from symptomatic and asymptomatic individuals with ocular herpes. *J Virol*, 2015, 89: 3776–3792
- 41 Gebhardt T, Whitney P G, Zaid A, et al. Different patterns of peripheral migration by memory CD4⁺ and CD8⁺T cells. *Nature*, 2011, 477: 216–219
- 42 Macleod B L, Bedoui S, Hor J L, et al. Distinct APC subtypes drive spatially segregated CD4⁺ and CD8⁺T-cell effector activity during skin infection with HSV-1. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004303
- 43 St Leger A J, Peters B, Sidney J, et al. Defining the herpes simplex virus-specific CD8⁺T cell repertoire in C57BL/6 mice. *J Immunol*, 2011, 186: 3927–3933
- 44 Sheridan B S, Cherpes T L, Urban J, et al. Reevaluating the CD8 T-cell response to herpes simplex virus type 1: involvement of CD8 T cells reactive to subdominant epitopes. *J Virol*, 2009, 83: 2237–2245
- 45 Khanna K M, Bonneau R H, Kinchington P R, et al. Herpes simplex virus-specific memory CD8⁺T cells are selectively activated and retained in latently infected sensory ganglia. *Immunity*, 2003, 18: 593–603
- 46 Shin H, Iwasaki A. Tissue-resident memory T cells. *Immunol Rev*, 2013, 255: 165–181
- 47 Gebhardt T, Wakim L M, Eidsmo L, et al. Memory T cells in nonlymphoid tissue that provide enhanced local immunity during infection with herpes simplex virus. *Nat Immunol*, 2009, 10: 524–530
- 48 Wakim L M, Waithman J, van Rooijen N, et al. Dendritic cell-induced memory T cell activation in nonlymphoid tissues. *Science*, 2008, 319: 198–202
- 49 Mackay L K, Rahimpour A, Ma J Z, et al. The developmental pathway for CD103⁺CD8⁺ tissue-resident memory T cells of skin. *Nat Immunol*, 2013, 14: 1294–1301
- 50 Decman V, Kinchington P R, Harvey S A K, et al. Gamma interferon can block herpes simplex virus type 1 reactivation from latency, even in the presence of late gene expression. *J Virol*, 2005, 79: 10339–10347
- 51 Stock A T, Jones C M, Heath W R, et al. CTL response compensation for the loss of an immunodominant class I-restricted HSV-1 determinant. *Immunol Cell Biol*, 2006, 84: 543–550
- 52 Jeon S, St. Leger A J, Cherpes T L, et al. PD-L1/B7-H1 regulates the survival but not the function of CD8⁺T cells in herpes simplex virus type 1 latently infected trigeminal ganglia. *J Immunol*, 2013, 190: 6277–6286
- 53 Mikloska Z, Bosnjak L, Cunningham A L. Immature monocyte-derived dendritic cells are productively infected with herpes simplex virus type 1. *J Virol*, 2001, 75: 5958–5964
- 54 Kruse M, Rosorius O, Kratzer F, et al. Mature dendritic cells infected with herpes simplex virus type 1 exhibit inhibited T-cell stimulatory capacity. *J Virol*, 2000, 74: 7127–7136
- 55 Dervillez X, Qureshi H, Chentoufi A A, et al. Asymptomatic HLA-A*02:01-restricted epitopes from herpes simplex virus glycoprotein b preferentially recall polyfunctional CD8⁺T cells from seropositive asymptomatic individuals and protect HLA transgenic mice against ocular herpes.

- [J Immunol](#), 2013, 191: 5124–5138
- 56 Srivastava R, Khan A A, Spencer D, et al. HLA-A02:01-restricted epitopes identified from the herpes simplex virus tegument protein VP11/12 preferentially recall polyfunctional effector memory CD8⁺ T cells from seropositive asymptomatic individuals and protect humanized HLA-A*02:01 transgenic mice against ocular herpes. [J Immunol](#), 2015, 194: 2232–2248
- 57 Srivastava R, Khan A A, Huang J, et al. A herpes simplex virus type 1 human asymptomatic CD8⁺ T-cell epitopes-based vaccine protects against ocular herpes in a “humanized” HLA transgenic rabbit model. [Invest Ophthalmol Vis Sci](#), 2015, 56: 4013
- 58 Knickelbein J E, Khanna K M, Yee M B, et al. Noncytotoxic lytic granule-mediated CD8⁺ T cell inhibition of HSV-1 reactivation from neuronal latency. [Science](#), 2008, 322: 268–271
- 59 Liu T, Khanna K M, Carriere B N, et al. Gamma interferon can prevent herpes simplex virus type 1 reactivation from latency in sensory neurons. [J Virol](#), 2001, 75: 11178–11184
- 60 Russell T A, Tschärke D C. Lytic promoters express protein during herpes simplex virus latency. [PLoS Pathog](#), 2016, 12: e1005729
- 61 Oldham M L, Hite R K, Steffen A M, et al. A mechanism of viral immune evasion revealed by cryo-EM analysis of the TAP transporter. [Nature](#), 2016, 529: 537–540
- 62 Liu T, Khanna K M, Chen X, et al. Cd8⁺ T cells can block herpes simplex virus type 1 (HSV-1) reactivation from latency in sensory neurons. [J Exp Med](#), 2000, 191: 1459–1466
- 63 Mott K R, Bresee C J, Allen S J, et al. Level of herpes simplex virus type 1 latency correlates with severity of corneal scarring and exhaustion of CD8⁺ T cells in trigeminal ganglia of latently infected mice. [J Virol](#), 2009, 83: 2246–2254
- 64 St Leger A J, Jeon S, Hendricks R L. Broadening the repertoire of functional herpes simplex virus type 1-specific CD8⁺ T cells reduces viral reactivation from latency in sensory ganglia. [J Immunol](#), 2013, 191: 2258–2265
- 65 Mueller S N, Ahmed R. High antigen levels are the cause of T cell exhaustion during chronic viral infection. [Proc Natl Acad Sci USA](#), 2009, 106: 8623–8628
- 66 Blackburn S D, Shin H, Haining W N, et al. Coregulation of CD8⁺ T cell exhaustion by multiple inhibitory receptors during chronic viral infection. [Nat Immunol](#), 2009, 10: 29–37
- 67 Reddy P B J, Sehrawat S, Suryawanshi A, et al. Influence of galectin-9/tim-3 interaction on herpes simplex virus-1 latency. [J Immunol](#), 2011, 187: 5745–5755
- 68 Mott K R, Ghiasi H. Role of dendritic cells in enhancement of herpes simplex virus type 1 latency and reactivation in vaccinated mice. [Clin Vaccine Immunol](#), 2008, 15: 1859–1867
- 69 Mott K R, Gate D, Matundan H H, et al. CD8⁺ T cells play a bystander role in mice latently infected with herpes simplex virus 1. [J Virol](#), 2016, 90: 5059–5067
- 70 Mott K R, Gate D, Matundan H H, et al. CD8 α dendritic cells drive establishment of HSV-1 latency. [PLoS ONE](#), 2014, 9: e93444
- 71 Mott K R, Underhill D, Wechsler S L, et al. Lymphoid-related CD11c⁺ CD8 α ⁺ dendritic cells are involved in enhancing herpes simplex virus type 1 latency. [J Virol](#), 2008, 82: 9870–9879
- 72 Mott K R, Allen S J, Zandian M, et al. Coregulatory interactions among CD8 α dendritic cells, the latency-associated transcript, and programmed death 1 contribute to higher levels of herpes simplex virus 1 latency. [J Virol](#), 2014, 88: 6599–6610

Dendritic cells, CD8⁺ T cells and Herpes simplex virus type I latency

ZHANG XiaoLong & LI QiHan

Yunnan Key Laboratory of Vaccine Research and Development on Severe Infectious Disease, Institute of Medical Biology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Kunming 650118, China

Herpes simplex virus type I (HSV-1) belongs to human α -herpesviruses, and is a ubiquitous human pathogen. HSV-1 is capable of establishing a long-term latent infection in host neural system, and can reactivate from latency, which may lead to clinic symptoms and viral shedding in body fluids. HSV-1 specific CD8⁺ T cells are found to suppress reactivation and maintain latent status of HSV-1 in neural cells. This review focuses on virus antigen presentation by dendritic cells, and origin, category, antigen specificity and function of HSV-1 specific CD8⁺ T cells.

herpes simplex virus type I, dendritic cell, CD8⁺ T cell, latent infection

doi: [10.1360/N052017-00041](https://engine.scichina.com/doi/10.1360/N052017-00041)