

HIV OCH KEMOKINRECEPTORERNA

Nya förklaringar till virusets biologi och virulens

En tidigare okänd molekyl som fungerar som accessorisk receptor till CD4 har identifierats. Detta är ett viktigt fynd inom HIV-forskningen och ökar förståelsen av sjukdomsutveckling och smittspridning. Dessutom siktas nu nya terapimöjligheter då det är tänkbart att begränsa HIV-spridning i kroppen utan att störa de normala inflammatoriska reaktionerna.

För tio år sedan publicerades den första beskrivningen av biologiska egenskaper hos humant immunbristvirus [1]. Karakterisering av 31 HIV-1-isolat visade att det finns ett samband mellan virus replikeringsförmåga och HIV-1-infektionens svårighetsgrad. Långsam replikation i perifera blodlymfocyter (PBL) och genomgående låga virusmängder karakteriserade virus isolerade från asymtomatiska HIV-1-bärare eller individer med lindriga, kliniska symtom. Däremot kunde snabbreplikerande virus isoleras från ungefär hälften av patienterna med immunbrist.

Initialt har virusisolat karakteriserats i PBL, där både replikationshastigheten och den syncytiuminducerande förmågan har legat till grund för benämningarna »slow/low» och »rapid/high» [1, 2] respektive syncytiuminducerande (SI) och icke-syncytiuminducerande (NSI) [3]. In situ-hybridisering visade att celler infekterade med snabbreplikerande virus hade fler virus-RNA-molekyler än celler infekterade med långsamt replikerande virus [4].

En ytterligare egenskap som också sammanföll med dessa replikations-

mönster var förmågan att replikera i etablerade lymfoida och monocytoida celllinjer. Snabbreplikerande virus kunde infektera cellinjer medan långsam replikation i PBL var förknippad med en oförmåga att infektera cellinjer. HIVs biologiska egenskaper i relation till sjukdomsutvecklingen sammanfattas i Tabell I.

Biologiska förändringar vid progressiv infektion

Redan tidigt kunde man konstatera att även om virusisolat uppvisar långsam replikation i början av en HIV-1-infektion, kan virusets replikationsförmåga öka, stegvis eller till synes språngvis, senare under infektionen. Detta sker särskilt i samband med sjukdomsutveckling samtidigt med en ökande förlust av CD4⁺-T-lymfocyter tätt följd av klinisk försämring [5, 6].

Sekventiella virusisolat från patienter med sjunkande CD4-tal uppvisade olika egenskaper; från att i början vara långsamt replikerande i PBL-kulturer och inte alls i cellinjer, icke-syncytiuminducerande, ändrade sig virus till att bli snabbreplikerande i PBL och cellinjer, samt inducerade syncytier. Man har därför föreslagit att de in vitro-iakttagna biologiska egenskaperna är markö-

rer för HIV-1:s virulensgrad [7, 8]. Följaktligen skulle smitta med snabbreplikerande HIV-1 leda till en snabbare utveckling av immunbristsjukdomen aids. Denna hypotes kunde konfirmeras i en studie av en grupp patienter som följdes under en 18-månadersperiod med sekventiella virusisolat från början av HIV-1-infektionen [9]. Smitta med snabbreplikerande HIV ledde till en snabbare förlust av CD4⁺-lymfocyter än smitta med långsamt replikerande virus.

Snabbreplikerande HIV-1 ökar risken för smittöverföring

Risken för överföring av HIV-smitta från en individ till en annan – från mor till barn eller sexuellt – är till stor del beroende av virusegenskaper [10, 11]. Individer från vilka snabbreplikerande HIV-1 isoleras löper större risk att överföra smittan (Tabell II). Sex av sju HIV-1-positiva mödrar med snabbreplikerande virusisolat överförde smittan till sina barn, medan endast nio av 28 mödrar med långsamt replikerande virus smittade sina barn.

Sexuell överföring visade liknande tendens, såtillvida att fyra av fem HIV-1-positiva män med snabbreplikerande virusisolat smittade sina kvinnliga part-

Tabell I. HIVs biologiska egenskaper och HIV-infektionens svårighetsgrad.

	HIV-infektion	
	asymtomatisk/lindriga symtom CD4 >250 × 10 ⁶ celler/l	immunbrist ¹ CD4 <250 × 10 ⁶ celler/l
<i>HIV-replikation i patientlymfocyter</i>	långsam	snabb
ursprunglig beteckning	slow/low	rapid/high
synonym	NSI	SI
blodgivarlymfocyter		
infektiöst virus, titer	låg	hög
intracellulärt, viralt RNA	låg	hög
cytopatisk effekt	ingen celldöd små syncytier blandad	syncytier
etablerade cellinjer	nej transient ²	ja

¹ Virusisolat från ett betydande antal patienter visar nedanstående egenskaper

² Fätal virusisolat

Författare

EVA MARIA FENYÖ
biträdande professor

ASTRID SAMUELSSON

läkare, doktorand; båda vid Mikrobiologiskt och tumörbiologiskt centrum, Karolinska institutet, Stockholm.

ner, medan endast tre av nio män med långsamt replikerande virus överförde smittan. Detta visar att HIV-1-fenotyp spelar en viktig roll vid smittöverföringen, troligen genom att i samspel med det HIV-specifika immunsvaret bestämma den aktuella virusmängden hos patienten. Snabbreplikerande virus ger med större sannolikhet större virusmängder, som återspeglas av högre virus-RNA-halter i plasma. I enlighet med denna hypotes har man nyligen visat en direkt korrelation mellan virushalter i plasma och smittöverföring av HIV-1 [12]. Således har mödrar med HIV-positiva barn större antal HIV-RNA-molekyler i plasma än mödrar med HIV-negativa barn.

Det är också av intresse vilka varianter som överförs. Selektiv överföring av HIV-1 med viss genotyp och fenotyp har hävdats i flera olika sammanhang [13, 14]. Egna studier har dock visat att snabbreplikerande såväl som långsamt replikerande virus överförs från mor till barn och sexuellt [11, 15]. Frågan om selektiv överföring är för närvarande öppen, och de nya kunskaperna om HIVs receptoranvändning kan komma att öka vår förståelse av smittöverföringen.

Fenotyp markör för antiviral behandlingseffekt

Egna [16] och andras [17] resultat har visat att beroende på det isolerade virusets fenotyp, snabbt eller långsamt replikerande, kan effekten av behandling med zidovudin eller didanosin variera. Klar ökning i antal CD4-lymfocyter följer behandlingen hos patienter med långsamt replikerande virus, och ökningen består i flera månader. Liknande förbättring i CD4-tal kunde inte iaktas hos patienter med snabbreplikerande virus. Möjligen bromsas förlusten av CD4⁺-lymfocyter något hos denna grupp. De resultat vi hittills erhållit gäller monoterapi, dvs behandling med ett antiviralt medel i taget. Framtida studier får utvisa om kombinationsterapi kan vara effektiv oberoende av virusets biologiska fenotyp.

HIV-1-infektion och långtidsöverlevnad

En av de mest intressanta frågorna är varför olika individer visar stora skillnader i HIV-1-infektionens svårighetsgrad, dvs i förlust av CD4⁺-lymfocyter, i immunbrist och sjukdom. Från smittillfället till aidsutveckling kan tiden variera från ett par till 17 år (vad vi vet idag). Över tio år utan sjukdomssymtom och bibehållet normalt CD4-tal klassificeras som icke-progression [18].

Vad är det som gör att somliga individer till synes är oberörda av sin HIV-

Tabell II. HIV-1: biologisk fenotyp och risk för smittöverföring. Fjorton par bestående av HIV-1-seropositiva män med HIV-1-seronegativa partner följdes med HIV-test var 6:e månad. Dokumenterad serokonversion under uppföljningstiden hos den HIV-1-negativa partnern visade att smittöverföring hade skett.

Biologisk fenotyp	Mor → barn Mödrar med barn		Sexuell HIV-1-positiv med partner	
	HIV-1+ (smittat)	HIV-1- (smittat)	HIV-1+ (smittat)	HIV-1- (smittat)
långsam »slow/low»	9	19	3	6
snabb »rapid/high»	6	1	4	1

1-infektion? För att kunna fånga upp dagens kunskap om detta anordnades ett möte av EU i samarbete med NIAID, USA, i London i november 1995.

Svårigheterna började redan vid definitionen av icke-progression. Är progression endast en tidsfråga? Är vårt tidsperspektiv – 17 år – för kort för att uttala sig om detta? Då det är svårt att definiera de jämförda patientgrupperna kunde inte heller någon samstämmighet uppnås avseende de undersökta parametrarna. Icke-progression var i vissa grupper förknippad med en stark virus-specifik, cellulär immunitet; i andra grupper med höga halter av neutraliserande antikroppar. Virusisolering var möjlig i vissa fall, omöjlig i andra. Det isolerade viruset var i varje fall långsamt replikerande, icke syncytiuminducerande.

Hos en grupp individer som alla var resistent mot sjukdomsutveckling och dessutom smittats av en och samma blodgivare iakttog man deletion i en av virus regulatoriska gener (nef) [19]. Kan avsaknad av nef göra viruset mindre dugligt, och mindre lämpat för replikation, och därmed sänka virushalten i blod och vävnader med långtidsöverlevnad som följd?

Ett apvaccin som tidigare framställdes genom att klyva ut nef från SIV (apans immunbristvirus) talar för att detta är en tänkbar möjlighet [20]. Där emot är det långtifrån alla långtidsöverlevande människor som har defekt HIV. Virushalten i blod, som numera kan bestämmas med stor exakthet och har visats ha prognostiskt värde hos HIV-1-smittade i allmänhet [21], är oftast mycket låg hos långtidsöverlevande. Intressant nog visade immunogenetiska studier att vissa kombinationer av HLA-markörer oftare förekommer hos icke-progressierande HIV-1-infekterade individer.

Sammanfattningsvis ansåg man att icke-progression kan uppstå på flera olika sätt, antingen som ett resultat av smitta med »svagt» virus eller genom att värdens immunsystem håller virus i schack med starka cellulära eller humoral immunreaktioner. Genetiska skill-

nader tycks ha inflytande på denna process, men hur och till vilken grad har ingen kunnat säga. Det är just vid den punkten som våra kunskaper har ökat de senaste sex månaderna (se nedan).

De sekundära receptorerna för HIV

HIV infekterar celler via CD4-receptorn som förekommer på T-hjälparceller och celler av makrofag/monocytlinjen. Redan tidigt kunde man emellertid visa att denna receptor inte var tillräcklig. En okänd andra faktor som bara fanns på humana celler var också nödvändig för att fusion mellan HIVs gp120 och cellens CD4, och därmed infektion, skulle kunna ske (Figur 1).

Under ett helt decennium har man sökt efter denna okända molekyl, men först för några månader sedan kunde en grupp på National Institutes of Health, NIH, ledd av Edward Berger, identifiera en molekyl som fungerade som accessorisk receptor till CD4 [22].

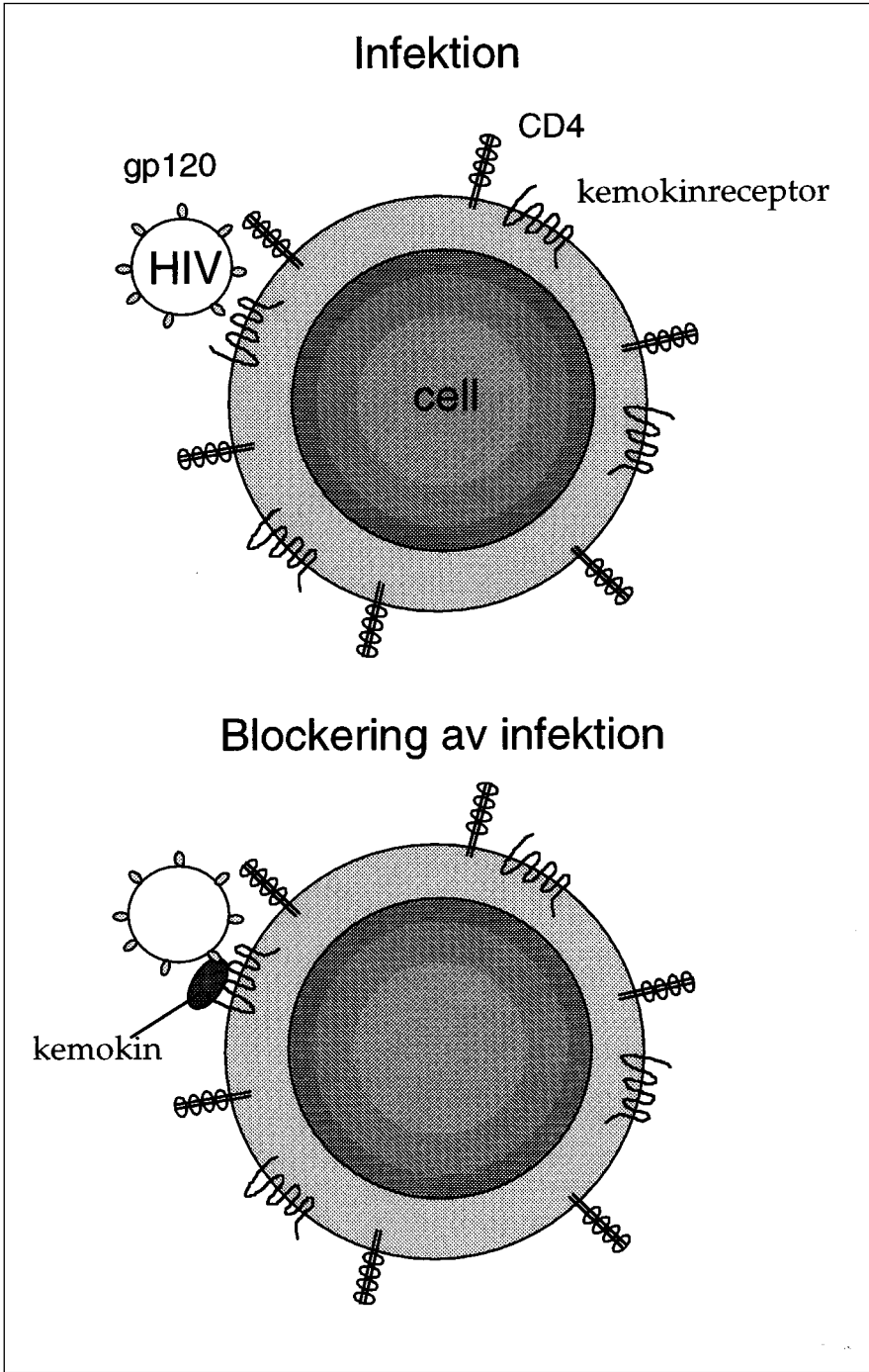
Hur kunde Berger lyckas när ingen annan hittat rätt? Genom ett elegant screeningförfarande med ett bibliotek av cDNA från humana celler kunde man identifiera det cDNA som kodade för ett protein som möjliggjorde membranfusion via HIVs höljeprotein gp120 och CD4.

Efter denna egenskap att mediera fusion döptes proteinet till fusin. Sekvensen och proteinet var känt sedan tidigare under benämningen LESTR och tillhör en stor familj av receptorproteiner, s k G-proteinkopplade receptorer med sju transmembranspannande domäner (Tabell III).

Ytterligare nödvändiga receptorer

Varför är detta nya fynd så viktigt inom HIV-forskningen? Redan tidigt kunde man ana att en mängd fenomen inom HIV-biologin kunde ges en möjlig förklaring genom ökade kunskaper om en sekundär receptor för HIV. Utvecklingen de senaste månaderna har gått i ett rasande tempo och gett ytterligare stöd för detta. Exempelvis har det visats varför olika HIV-stammar företrädesvis

ANNONS



Figur 1. HIV-1 infekterar värdcellen via interaktion med CD4 och en kemokinreceptor. Infektionen kan blockeras med kemokiner, den naturliga liganden för receptorn.

infekterar olika celltyper, hur virus-hämmande faktorer producerade bl a från CD8⁺-T-celler kan verka (s k kemokiner) samt varför vissa individer förefaller resistenta mot HIV-infektion trots att de vid upprepade tillfällen blivit exponerade för virus.

Det visade sig när man uttryckte CD4 och fusin (numera kallat CXCR4) på samma cell att man nu visserligen kunde infektera den med HIV men enbart om man använde vissa stammar av virus, de med tropism för lymfoida cellinjer, motsvarande s k rapid/high eller syncytiuminducerande virus (=snabb-replikerande virus). Däremot kunde man ej infektera med virus av »slow/low» eller icke syncytiumindu-

cerande typ (=långsamt replikerande) [22].

Det var uppenbart att det fanns ytterligare receptorer för HIV som var nödvändiga för infektion med dessa virus. Det dröjde inte mer än en månad efter den ursprungliga fusinpublikationen förrän fem oberoende forskargrupper rapporterade att man funnit ytterligare en receptor. Även den visade sig tillhöra samma familj av receptorer [23-27].

Undergrupp binder kemokiner

Både CXCR4 och den nya receptorn

CCR5 hör till undergruppen av receptorer som binder s k kemokiner, proteiner som medierar signaler för aktivering och rekrytering av leukocyter under det inflammatoriska svaret. Endast några månader före upptäckten av CXCR4 hade en forskargrupp i Robert Gallos laboratorium föreslagit att de svårfångade HIV-hämmande faktorerna från CD8⁺-T-celler var just sådana kemokiner, RANTES, MIP1 α och MIP1 β (Tabell III) [28].

Dessa tre kemokiner binder till CCR5-receptorn. De HIV-hämmande kemokinerna kan alltså verka genom att på något sätt blockera den för HIV nödvändiga, sekundära receptorn (receptorerna) (Figur 1).

Liganden för CXCR4 har till helt nyligen varit okänd men identifierades 1996 som SDF-1 [29, 30]. Liksom RANTES, MIP1 α och MIP1 β kunde denna molekyler hämma virusinfektion, men endast för HIV av snabbreplikerande fenotyp.

Kan dessa molekyler också ha betydelse för aids patogenes? Man har observerat att vissa individer ej blir infekterade med HIV trots att de vid upprepade tillfällen exponerats för virus [31]. Vid närmare undersökning av dem har man kunnat visa dels att celler från vissa individer förefaller vara resistenta mot HIV-infektion, dels att vissa bär på en deletion i genen som kodar för CCR5 [32]. Dessa »resistenta» individer var homozygota för deletionen.

Parallella studier har visat att inte mindre än 16–23 procent av en europeisk population är heterozygota för samma deletion [32, 33]. Däremot återfanns inte deletionen hos afrikaner och japaner. Det är ännu för tidigt att säga i vilken mån denna deletion ger resistens mot HIV, men upptäckten öppnar nya dörrar i förståelsen av aids patogenes och även nya möjligheter till behandling av HIV-infektion via blockering av kemokinreceptorerna.

Individer som inte utvecklar symtom trots många års HIV-infektion kan tänkas ha en genetisk förutsättning att stå emot virusets sjukdomsframkallande effekter. Vidare kan individer som är heterozygota vid CCR5-lokus tänkas ha ett relativt skydd mot sjukdomsutveckling efter HIV-1-infektion. Studier om HIVs receptoranvändning och förändringar under infektionens gång kan ge ytterligare förklaringar till sjukdomsutvecklingen.

Nya djurmodeller

Den nya insikten om att HIV – utöver CD4 – använder en rad andra receptorer som har huvudrollen vid inflammatoriska reaktioner öppnar möjligheter till bättre förståelse av sjukdomsutvecklingen och smittspridning-

Tabell III. Kemokiner och receptorer av betydelse för HIV-1-infektion. Kemokiner består av 68–76 aminosyror, med fyra cysteiner som bildar disulfidbryggor och bestämmer molekylens struktur. Om de första två cysteinerorna åtskiljs av en aminosyra talar vi om CXC-kemokiner, om de är placerade bredvid varandra kallas de CC-kemokiner.

Kemokiner		Receptorer	
<i>CXC-typ</i> SDF-1	stromal cell derived factor 1	CXCR4 (även kallad fusin eller LESTR)	CXC-receptor 4
<i>CC-typ</i> RANTES	regulated on activation normal T-cell expressed and secreted	CCR-serien	CC-receptor
MIP-1 α/β	macrophage inflammatory protein 1 α/β		

en. Vägen till nya djurmodeller öppnas. Exempelvis pågår arbete med att ta fram transgena möss som bär på arvsanlag för HIV-receptorerna och följaktligen skulle kunna infekteras med HIV. Nya terapimöjligheter är dessutom i sikte: genom blockering av de accessoriska receptorerna är det tänkbart att begränsa HIV-spridning i kroppen utan att störa de normala inflammatoriska reaktionerna.

Referenser

1. Åsjö B, Morfeldt-Månson L, Albert J, Biberfeldt G, Karlsson A, Lidman K et al. Replicative capacity of human immunodeficiency virus from patients with varying severity of HIV infection. *Lancet* 1986; 2: 660-2.
2. Fenyö EM, Morfeldt-Månson L, Chiodi F, Lind A, von Gegerfelt A, Albert J et al. Distinct replicative and cytopathic characteristics of human immunodeficiency virus isolates. *J Virol* 1988; 62: 4414-9.
3. Tersmette M, De Goede REY, Al BJ, Winkel I, Gruters B, Cuypers HT et al. Differential syncytium-inducing capacity of human immunodeficiency virus isolates: frequent detection of syncytium-inducing isolates in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) and AIDS-related complex. *J Virol* 1988; 62: 2026-32.
4. Åsjö B, Sharma UK, Morfeldt-Månson L. Naturally occurring HIV-1 isolates with differences in replicative capacity are distinguished by in situ hybridization of infected cells. *AIDS Res Human Retroviruses* 1990; 6: 1177-82.
5. Karlsson A, Parsmyr K, Sandström E, Fenyö EM, Albert J. MT-2 cell tropism as prognostic marker for disease progression in human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Clin Microbiol* 1994; 32: 364-70.
6. Fenyö EM, Albert J, Åsjö B. Replicative capacity, cytopathic effect and cell tropism of HIV. *AIDS* 1989; 3: 5-12.
7. Tersmette M, Gruters BA, de Wolf F, de Goede REY, Lange JMA, Schellekens PTA et al. Evidence for a role of virulent human immunodeficiency virus (HIV) variants in the pathogenesis of acquired immunodeficiency syndrome: studies on sequential isolates. *J Virol* 1989; 63: 2118-25.
8. Cheng-Mayer C, Seto D, Tateno M, Levy JA. Biological features of HIV-1 that correlate with virulence in the host. *Science* 1988; 240: 80-2.
9. Fiore JR, Björndal Å, Aperia-Peipke K, Di Stefano M, Angarano G, Pastore G et al. The biological phenotype of HIV-1 is usually retained during and after sexual transmission. *Virology* 1994; 204: 297-303.
11. Scarlatti G, Hodara V, Rossi P, Muggiasca L, Buccheri A, Albert J et al. Transmission of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) from mother-to-child correlates with viral phenotype. *Virology* 1993; 197: 624-9.
16. Karlsson A, Parsmyr K, Aperia K, Sandström E, Fenyö EM, Albert J. MT-2 cell tropism of human immunodeficiency virus type 1 isolates as a marker for response to treatment and development of drug resistance. *J Infect Dis* 1994; 170: 1367-75.
19. Deacon NJ, Tsykin A, Solomon A, Smith K, Ludford-Menting M, Hooker DJ et al. Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 1995; 270: 988-91.
20. Kestler HW, Jeang KT. Attenuated retrovirus vaccines and AIDS. *Science* 1995; 270: 1220-2.
21. Mellors JW, Rinaldo C Jr, Gupta P, White RM, Todd JA, Kingsley LA. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma. *Science* 1996; 272: 1167-70.
22. Feng Y, Broder CC, Kennedy PE, Berger EA. HIV-1 entry cofactor – functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-coupled receptor. *Science* 1996; 272: 872-7.
27. Deng HK, Liu R, Ellmeier W, Choe S, Unutmaz D, Burkhart M et al. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996; 381: 661-6.
28. Cocchi F, DeVico AL, Garzino-Demo A, Arya SK, Gallo RC, Lusso P. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8⁺ T cells. *Science* 1995; 270: 1811-5.
30. Oberlin E, Amara A, Bachelier F, Bessia C, Virelizier JL, Arenzana-Seisdedos F et al. The CXC chemokine SDF-1 is the ligand for LESTR/fusin and prevents infection by T-cell-line-adapted HIV-1. *Nature* 1996; 382: 833-5.
31. Clerici M, Giorgi JV, Chou CC, Gudeman VK, Zack JA, Gupta P et al. Cell-mediated immune response to human immunodeficiency virus (HIV) type 1 in seronegative homosexual men with recent sexual exposure to HIV-1. *J Infect Dis* 1992; 165: 1012-9.
33. Samson M, Libert F, Doranz BJ, Rucker J, Liesnard C, Farber CM et al. Resistance to HIV-1 infection in caucasian individuals bearing mutant alleles of the CCR-5 chemokine receptor gene. *Nature* 1996; 382: 722-5.

Fullständig referenslista kan erhållas från biträdande professor Eva Maria Fenyö, Mikrobiologiskt och tumörbiologiskt centrum, Karolinska institutet, Box 280, 171 77 Stockholm.



MISSÖDEN MISSTAG MISSBRUK

i sjukvården

Vad händer i slutna rum då läkare blir problem? Hur löser man konflikter vid missöden i vården? Vem kan ge ett bra stöd till anmälda läkare?

Under 1994–95 publicerade Läkartidningen 21 artiklar om problemläkare, läkarproblem, ansvarsfrågor och patientförsäkring. De har nu samlats i ett 80-sidigt häfte, som kan beställas med kupongen nedan.

Pris 75 kronor. Vid 11–50 ex 67 kronor, vid högre upplagor 63 kronor/exemplar.

Beställer härmed

..... ex Missöden, Misstag,
Missbruk

.....
Namn

.....
Adress

.....
Postnummer/Postadress

Insändes till Läkartidningen,
Box 5603, 114 86 Stockholm

Märk kuvertet »Missöden»
Telefax 08-20 76 19