

DOI:10. 12138/j. issn. 1671—9638. 20205846

· 综述 ·

哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂降低肾移植受者人巨细胞病毒感染的研究进展

张帆, 邢益平

(南京医科大学, 江苏 南京 210029)

[摘要] 人巨细胞病毒(HCMV)是感染人类的八大疱疹病毒之一,常感染免疫力低下者,尤其是移植术后患者、晚期艾滋病患者以及新生儿。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mTOR)是酸肌醇-3-激酶(PI3K)家族下游的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT),该激酶可影响 HCMV 感染的所有阶段。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂(mTORi)作为免疫抑制剂用于肾移植术后患者,可降低 HCMV 感染事件。本文就 mTORi 降低肾移植受者 HCMV 感染的研究进展进行综述。

[关键词] 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂; 肾移植; 人巨细胞病毒感染; 免疫抑制剂

[中图分类号] R699.2 R373.1⁺1

Advances of mammalian mechanistic target of rapamycin inhibitors in reducing human cytomegalovirus infection in renal transplantation recipients

ZHANG Fan, XING Yi-ping (Nanjing Medical University, Nanjing 210029, China)

[Abstract] Human cytomegalovirus(HCMV) is one of the eight herpes viruses that can infect human, it often infects people with low immunity, especially in patients after renal transplantation, patients with advanced acquired immunodeficiency syndrome, and newborns. Mammalian mechanistic target of rapamycin (mTOR) is a serine/threonine protein kinase(AKT) of the downstream of acid-inositol-3-kinase (PI3K) family, which can affect all stages of HCMV infection. mTOR inhibitor(mTORi) can be used as immunosuppressant in patients after renal transplantation, it can reduce incidence of HCMV infection. This paper reviews the advance of mTORi in reducing HCMV infection in renal transplantation recipients.

[Key words] mechanistic target of rapamycin (mTOR); renal transplantation; human cytomegalovirus; immunosuppressant

人巨细胞病毒(human cytomegalovirus, HCMV)是β疱疹病毒家族成员之一,该家族中还包含人疱疹病毒6、7,以及许多动物巨细胞病毒。HCMV DNA基因组大小约为230 kb,是目前人类病毒中最大的^[1]。HCMV DNA基因组由其独特的长序列(UL)和短序列(US)两部分组成,每一部分都是反向重复序列^[2]。HCMV是感染人类的八大疱疹病毒之一,常感染免疫力低下者,尤其是移植术

后患者、晚期艾滋病患者以及新生儿^[1]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白(mechanistic target of rapamycin, mTOR)是酸肌醇-3-激酶(PI3K)家族下游的丝氨酸/苏氨酸蛋白激酶(AKT),该激酶可影响HCMV感染的所有阶段^[3]。哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂(mTORi)作为免疫抑制剂用于肾移植术后患者,可降低HCMV感染事件^[4-8]。本文就mTORi降低肾移植受者HCMV感染的研究进展进行综述。

[收稿日期] 2019-09-29

[基金项目] 江苏省卫健委医学研究课题(H201403)

[作者简介] 张帆(1993-),女(汉族),江苏省南京市人,硕士研究生,主要从事巨细胞病毒感染研究。

[通信作者] 邢益平 E-mail: xingyiping2010@vip.sina.com

1 HCMV 感染

HCMV 一个重要的生物学特性是导致宿主终身潜伏感染,一旦 HCMV 被激活,可以再次发病^[1]。HCMV 潜伏感染的机制可能与主要早期即刻蛋白(major immediate-early protein, MIEP)的表达相关。MIEP 可反作用于宿主细胞基因,通过调控宿主细胞基因表达水平,进而改变宿主细胞的生理状态,从而促进病毒的增殖。HCMV 感染的三个阶段皆调控磷脂酰肌醇-3-激酶(acid-inositol-3-kinase, PI3K)/蛋白激酶 B (serine/threonine protein kinase, AKT/PKB)/mTOR 通路^[2],如在感染成纤维细胞早期,PI3K/AKT/mTOR 通路在血小板衍生生长因子受体(platelet-derived growth factor receptor, PDGFR)、表皮生长因子受体(epidermal growth factor receptor, EGFR)和整合素参与介导下早期瞬时激活,而持续性激活则依赖于病毒的 MIEP IE72 和 IE86^[9]。PI3K 的早期激活是病毒进入宿主所必需的,而后期的持续性激活则是病毒基因表达和复制的重要保障。

2 肾移植术后 HCMV 感染现状

尽管已有许多预防和治疗策略,免疫抑制状态下器官移植者 HCMV 感染仍然是一个严重的问题。除了费用增加,发病率和病死率增高外, HCMV 感染也可能与急性排斥反应,减弱移植体功能和降低长期生存率有关。在未预防性使用抗病毒药物的情况下,10%~20%的肾移植术后患者会出现症状性 HCMV 感染,高达 50%的患者表现为无明显症状的病毒激活状态。尽管使用缙更昔洛韦或更昔洛韦可有效预防 HCMV 感染,但迟发性 HCMV 感染还是会发生在预防性抗病毒之后^[10-11]。Helanterä 等^[10]报道,预防性使用抗病毒药物 3 个月,停药后 18%~31%的肾移植患者出现迟发性 HCMV 感染。有证据表明移植术后抗病毒达 6 个月可降低迟发性 HCMV 感染发生率,但 Helanterä 等^[10]研究发现,预防性使用缙更昔洛韦长达 6 个月,仍有 48%的患者出现迟发性 HCMV 感染;Arthurs 等^[11]研究也提及,预防性使用抗病毒药物 92 d 后仍有迟发性 HCMV 感染的可能。因此,目前的抗病毒药物不足以满足人们的需求,鉴于 HCMV 独特的生命周期,必须考虑新的抗病毒方案。

3 mTOR

mTOR 是 PI3K 家族下游 AKT,是参与细胞内多个信号通路的重要物质,影响细胞的生长、增殖、代谢、自噬、血管生成等诸多重要过程^[9]。mTORi 进入细胞后,在胞浆内与 FK 结合蛋白 12(FK binding protein-12,FKBP-12)结合形成复合物,进而与 mTOR 结合,抑制 mTOR 活性,使 p70S6 激酶磷酸化而失活,从而抑制蛋白质的合成及细胞周期循环^[12]。因此,mTORi 可抑制 T 淋巴细胞、B 淋巴细胞的增殖、分化及抗体的形成,同时也可抑制非免疫细胞(成纤维细胞、内皮细胞、肝细胞和平滑肌细胞)的增殖^[13]。mTOR 的组成和功能如下。

3.1 mTORC1 mTORC1 的主要功能是通过调节蛋白质翻译,以控制蛋白质合成。在胞内营养不足时,mTORC1 被腺苷酸活化蛋白激酶(adenosine monophosphate-activated protein kinase, AMPK)以结节性硬化复合物(tuberous sclerosis complex, TSC)相关抑癌基因抑制^[14]。当营养充足时,AMPK 不被激活,AKT 磷酸化并抑制 TSC,导致 mTORC1 活化并提高蛋白翻译^[15]。mTORC1 通过使 eIF4F 复合物和 S6 激酶磷酸化调节起始翻译。eIF4E 通常以低磷酸化状态与 eIF4E 结合蛋白 1(4E-BP1)结合,从而阻止翻译起始复合物形成^[16]。mTORC1 磷酸化 4E-BP1,降低其与 eIF4E 的亲和力,允许 eIF4F 复合物的形成,并通过促进核糖体向 5' 端移动以增加翻译量。eIF4F 水平与细胞内蛋白质合成水平直接相关。S6K 磷酸化会激活其他翻译因子,从而增加翻译扫描,抑制蛋白翻译抑制剂,并刺激氨基酸添加到新生肽链中^[16]。总之,在生长因子或营养充足情况下,mTORC1 是蛋白翻译的主要调控因子。

3.2 mTORC2 关于 mTORC2 的研究资料较少,推测 mTORC2 主要在磷酸化和激活 AKT 中起重要作用。

4 mTOR 通路在 HCMV 感染中作用

mTOR 通路在 HCMV 感染中起重要作用。通常,在细胞应激阶段,如在 HCMV 感染时 mTOR 活性降低。AMPK 作为 mTOR 抑制剂,在 HCMV 感染时上调,但在被感染细胞中,这种关系似乎并不相关^[17]。HCMV 多功能蛋白 UL38 (protein

UL38)与 TSC1/2 结合,通过破坏 AMPK 的负调节作用激活 mTORC1。因此,在 HCMV 感染后通过提高磷酸化水平和增加 eIF4E 蛋白量来促进相关病毒复制蛋白质的翻译^[18]。阻断 eIF4F 复合物形成,可减少病毒复制,支持 mTOR 激活在 HCMV 感染复制阶段具有重要作用。

mTOR 在 HCMV 感染潜伏期的作用目前知之甚少。既往发现 mTOR 可以使一种转录辅助抑制因子(KRAB-associated protein 1, KAP-1)磷酸化, KAP-1 磷酸化的药理作用可以激活处于潜伏期的 HCMV,表明为维持 HCMV 感染潜伏期,可能需要抑制 mTOR^[19]。在单核细胞感染静止期间, HCMV 以一种 PI3K/AKT 依赖的方式激活 mTOR。尽管 mTOR 活性增加,但 HCMV 的裂解复制并未启动,推测可能需要一个阈值水平驱动复制,或者需要能与 mTOR 信号通路结合的其他因素驱动复制。

在细胞应激阶段,热休克转录因子 1(heat shock transcription factor-1, HSF1)^[20]负责表达应激相关蛋白,此通常与帽结构介导的翻译无关。在 HCMV 感染的单核细胞中,存在从 HSF1 到 mTOR 的正反馈环,其中抑制 HSF1 活性可降低 mTOR 活性。

在 HCMV 感染单核细胞期间, mTOR 和 HSF1 之间独特的相互作用刺激产生抗凋亡 mRNA 的蛋白合成,如髓细胞白血病-1(myeloid leukemia cell-1, Mcl-1)蛋白、X 染色体连锁凋亡抑制基因(XIAP)、热休克转录蛋白 27(heat shock transcription protein 27, HSP27),上述蛋白在生长因子处理后的细胞中不产生或微量产生,因此,可解释在细胞应激时 HCMV 感染能激活 mTOR^[19]的原因。与之前研究^[20]一致,发现 C10(一种选择性的 Mcl-1 小分子抑制剂)抑制 Mcl-1 可显著诱导感染单核细胞的凋亡和死亡。但是现在发现,失去 Mcl-1 对加速未感染单核细胞的凋亡影响很小。表明未感染的单核细胞在维持正常免疫监视功能的同时,可能选择性地清除感染 HCMV 的单核细胞。小分子抑制剂对 XIAP 的抑制也会导致感染单核细胞的死亡,但对未感染细胞的影响很小。因此,这组上调的蛋白代表了一种新的细胞抗病毒靶点,旨在选择性地清除 HCMV 感染的单核细胞,同时允许未感染的单核细胞维持其正常功能。潜伏感染的 CD34⁺ 干细胞活性也高度依赖于 Mcl-1,因此, Mcl-1 抑制剂有可能消除静止和潜伏状态下的感染细胞。

总而言之, PI3K/AKT/mTOR 通路在 HCMV

感染的三个阶段都具有重要作用^[2]: (1) 确保在裂解感染过程中满足病毒生产代谢的需求; (2) 促进细胞向潜伏期感染的转录; (3) 维持被感染单核细胞的生存。因此, PI3K/AKT 信号通路的抑制在抑制 HCMV 复制以及清除感染细胞的宿主方面具有双重作用,这一作用对移植患者的长期预后十分重要。

5 mTORi 对 HCMV 感染的影响

依维莫司(EVR)、西罗莫司(SRL)是哺乳动物 mTORi,具有免疫抑制和抗增殖作用。EVR 已被证明可有效预防急性同种异体移植排斥反应。联合使用 EVR,可以使钙调神经磷酸酶抑制剂(CNI)的副作用最小化,同时保持 CNI 药物效果和保护肾功能。临床数据还表明,与霉酚酸酯(MMF)相比, EVR 与降低 CMV 疾病发生有关^[21]。HCMV 复制依赖于宿主细胞中 2 种 mTOR 途径中的 1 种,并且体外研究支持 mTORi 能够降低 HCMV 感染^[22-23]。在心脏移植术后,与使用 MPA 相比,使用 EVR 可降低 HCMV 事件(病毒血症,临床症状和感染)的发生率^[24]。

多项研究^[24-25]结果显示,与 MPA 以及标准剂量 TAC 组患者相比,接受 EVR 和减少剂量 TAC 组患者中 HCMV 感染的发生率显著降低,接受 EVR 的肾移植受者可能不需要进行 HCMV 感染的预防,只有接受急性排斥治疗的患者或早期停用 EVR 的患者应进行常规的 HCMV 感染预防,此为一种显著节约成本的替代策略。

Höcker 等^[25]研究显示, HCMV 高危(D+/R-)患者中采用 EVR 和低剂量 CSA 方案与接受标准 CNI 方案的患者相比, HCMV 感染率和病毒复制水平平均明显降低;基于 EVR 的免疫抑制方案使 HCMV 复制发生风险比标准的 CNI 方案低 83%;在 HCMV 复制高风险的儿童肾同种异体移植受者中,与标准剂量 CNI 方案相比,由 EVR 和低剂量糖皮质激素(cyclosporin, CSA)组成的免疫抑制治疗可使 HCMV 感染率和复制水平明显降低。

6 mTORi 未来应用展望

尽管有大量临床研究证实, mTORi 能降低肾移植受者 HCMV 感染事件,但 Cristelli 等^[26]研究发现,在 HCMV 高危(D+/R-)且接受了兔源抗胸腺球蛋白诱导和他克莫司治疗的肾移植受者队列

中,接受 mTORi 的患者 HCMV 感染/HCMV 病的发生率未显著下降。mTORi 对 HCMV 感染发生率的影响在 HCMV 高危(D+/R-)且未接受预防性抗病毒治疗的肾移植患者中没有在 D-/R+ 肾移植受者中明显。

mTORi 相较于其他免疫抑制,对肾、神经的毒性非常小,但也有其相关不良反应,如高脂血症、口腔溃疡、贫血等^[13],故在使用 mTORi 时需警惕药物不良反应的发生,同时当 mTORi 与其他免疫抑制相互组合时产生的不良反应需进一步研究探讨。此外 Cristelli 等^[26]考虑 mTORi 效应的大小可能与 HCMV 相关特异性记忆细胞的存在有关。但有关 mTOR 信号通路对浆细胞的分化和功能影响知之甚少。动物试验研究显示,mTOR 信号通路在抗体反应和浆细胞分化的早晚期皆发挥着重要的作用。

Bak 等^[27]通过 CD3/CD28 交联反应测定 SRL 对幼稚 T 细胞和 HCMV 特异性 T 细胞的影响,发现 SRL 对幼稚 T 细胞和 HCMV 特异性 CD8⁺ T 细胞有超出免疫抑制剂应用范围的选择性作用,可显著改善 HCMV 特异性效应记忆 T 细胞功能,对幼稚 T 细胞产生一定负性影响。

综上所述,有关 HCMV 感染对 CD4⁺ T 细胞以及 CD8⁺ T 细胞的 mTOR 信号通路的影响值得更加深入地研究。

[参考文献]

- Griffiths PI, Baraniak, Reeves M. The pathogenesis of human cytomegalovirus[J]. *J Pathol*, 2015, (2): 288 - 297.
- Boeckh M, Geballe AP. Cytomegalovirus: pathogen, paradigm, and puzzle[J]. *J Clin Invest*, 2011, 121(5): 1673 - 1680.
- Altman AM, Mahmud J, Nikolovska-Coleska Z, et al. HCMV modulation of cellular PI3K/AKT/mTOR signaling: New opportunities for therapeutic intervention? [J]. *Antiviral Res*, 2019, 163: 82 - 90.
- Malvezzi P, Jouve T, Rostaing L. Use of everolimus-based immunosuppression to decrease cytomegalovirus infection after kidney transplant[J]. *Exp Clin Transplant*, 2016, 14(4): 361 - 366.
- Mathis AS, Eglhoff G, Ghin HL. Calcineurin inhibitor sparing strategies in renal transplantation, part one: Late sparing strategies[J]. *World J Transplant*, 2014, 4(2): 57 - 80.
- Gardiner BJ, Nierenberg NE, Chow JK, et al. Absolute lymphocyte count: a predictor of recurrent cytomegalovirus disease in solid organ transplant recipients[J]. *Clin Infect Dis*, 2018, 67(9): 1395 - 1402.
- Fernández-Ruiz M, Giménez E, Vinuesa V, et al. Regular monitoring of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity in intermediate-risk kidney transplant recipients: predictive value of the immediate post-transplant assessment[J]. *Clin Microbiol Infect*, 2019, 25(3): 381.e1 - 381.e10.
- Pascual J, Royuela A, Fernández AM, et al. Role of mTOR inhibitors for the control of viral infection in solid organ transplant recipients[J]. *Transpl Infect Dis*, 2016, 18(6): 819 - 831.
- Cojohari O, Peppenelli MA, Chan GC. Human cytomegalovirus induces an atypical activation of AKT to stimulate the survival of short-lived monocytes [J]. *J Virol*, 2016, 90(14): 6443 - 6452.
- Helanterä I, Lautenschlager I, Koskinen P. The risk of cytomegalovirus recurrence after kidney transplantation [J]. *Transpl Int*, 2011, 24(12): 1170 - 1178.
- Arthurs SK, Eid AJ, Pedersen RA, et al. Delayed-onset primary cytomegalovirus disease and the risk of allograft failure and mortality after kidney transplantation[J]. *Clin Infect Dis*, 2008, 46(6): 840 - 846.
- 中华医学会器官移植学分会. 中国肾移植受者哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂临床应用专家共识[J]. *实用器官移植电子杂志*, 2018,6(2):83 - 89.
- Thoreen CC. Many roads from mTOR to eIF4F[J]. *Biochem Soc Trans*, 2013, 41(4): 913 - 916.
- Hardie DG, Schaffer BE, Brunet A. AMPK: An energy-sensing pathway with multiple inputs and outputs[J]. *Trends Cell Biol*, 2016, 26(3): 190 - 201.
- Faller WJ, Jackson TJ, Knight JR, et al. mTORC1-mediated translational elongation limits intestinal tumour initiation and growth[J]. *Nature*, 2015, 517(7535): 497 - 500.
- Terry LJ, Vastag L, Rabinowitz JD, et al. Human kinome profiling identifies a requirement for AMP-activated protein kinase during human cytomegalovirus infection[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(8): 3071 - 3076.
- Vincent HA, Ziehr B, Moorman NJ. Human cytomegalovirus strategies to maintain and promote mRNA translation[J]. *Viruses*, 2016, 8(4): 97.
- Rauwel B, Jang SM, Cassano M, et al. Release of human cytomegalovirus from latency by a KAP1/TRIM28 phosphorylation switch[J]. *Elife*, 2015, 4: e06068.
- Peppenelli MA, Miller MJ, Altman AM, et al. Aberrant regulation of the AKT signaling network by human cytomegalovirus allows for targeting of infected monocytes[J]. *Antiviral Res*, 2018, 158: 13 - 24.
- Collins-McMillen D, Kim JH, Nogalski MT, et al. Human cytomegalovirus promotes survival of infected monocytes via a distinct temporal regulation of cellular Bcl-2 family proteins [J]. *J Virol*, 2015, 90(5): 2356 - 2371.
- Clippinger AJ, Maguire TG, Alwine JC. The changing role of mTOR kinase in the maintenance of protein synthesis during human cytomegalovirus infection[J]. *J Virol*, 2011, 85(8):

3930 - 3939.

- [22] Moorman NJ, Shenk T. Rapamycin-resistant mTORC1 kinase activity is required for herpesvirus replication[J]. J Virol, 2010, 84(10): 5260 - 5269.
- [23] Brennan DC, Legendre C, Patel D, et al. Cytomegalovirus incidence between everolimus versus mycophenolate in de novo renal transplants: pooled analysis of three clinical trials[J]. Am J Transplant, 2011, 11(11): 2453 - 2462.
- [24] Krämer BK, Charpentier B, Bäckman L, et al. Tacrolimus once daily (ADVAGRAF) versus twice daily (PROGRAF) in de novo renal transplantation: a randomized phase III study [J]. Am J Transplant, 2010, 10(12): 2632 - 2643.
- [25] Höcker B, Zencke S, Pape L, et al. Impact of everolimus and low-dose cyclosporin on cytomegalovirus replication and disease in pediatric renal transplantation[J]. Am J Transplant, 2016, 16(3): 921 - 929.
- [26] Cristelli MP, Esmeraldo RM, Pinto CM, et al. The influence of mTOR inhibitors on the incidence of CMV infection in high-risk donor positive-recipient negative (D+ /R-) kidney trans-

plant recipients[J]. Transpl Infect Dis, 2018, 20(4): e12907.

- [27] Bak S, Tischer S, Dragon A, et al. Selective effects of mtor inhibitor sirolimus on naive and CMV-specific T cells extending its applicable range beyond immunosuppression[J]. Front Immunol, 2018, 9: 2953.

(本文编辑:文细毛)

本文引用格式:张帆,邢益平. 哺乳动物雷帕霉素靶蛋白抑制剂降低肾移植受者人巨细胞病毒感染的研究进展[J]. 中国感染控制杂志, 2020, 19(7): 666 - 670. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20205846.

Cite this article as: ZHANG Fan, XING Yi-ping. Advances of mammalian mechanistic target of rapamycin inhibitors in reducing human cytomegalovirus infection in renal transplantation recipients [J]. Chin J Infect Control, 2020, 19(7): 666 - 670. DOI: 10. 12138/j. issn. 1671 - 9638. 20205846.