

HIV 感染基因治疗新思路

栗 斌, 吴昊泉, 吴 昊, 张 彤

[摘要] 获得性免疫缺陷综合征, 即 AIDS 是由 HIV 感染引起的一种严重危害人类健康的全球性传染病。目前随着抗病毒疗法的应用, HIV 复制得到有效阻断, AIDS 成为一种慢性可控的疾病, 但该治疗方式无法彻底清除 HIV, 因此 AIDS 无法得到根治。随着对 HIV 感染机制研究的不断深入以及基因治疗技术的迅猛发展, 诸如 RNA 沉默、DNA 编辑等基因疗法为根治 AIDS 提供一种新的思路, 上述这些新技术具有抑制或彻底清除宿主体内 HIV 的可能, 且可以避免传统治疗手段带来的不良反应。本研究就这些相关基因治疗在应对 HIV 感染方面的最新研究进展加以总结和探讨。

[关键词] HIV 感染; 基因治疗; RNA 干扰; 基因编辑

[中国图书资料分类号] R512.91

[文献标志码] A

[文章编号] 1007-8134(2019)06-0501-05

DOI: 10.3969/j.issn.1007-8134.2019.06.004

New thought for gene therapy against HIV infection

SU Bin, WU Hao-quan, WU Hao, ZHANG Tong

Center for Infectious Diseases, Beijing Youan Hospital, Capital Medical University, Beijing Key Laboratory for HIV/AIDS Research, 100069, China

*Corresponding author, E-mail: binsu@ccmu.edu.cn

[Abstract] Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) is a global epidemic infectious disease caused by HIV infection, which is severely harmful to human health. With the application of antiretroviral therapy, HIV replication has been effectively suppressed. AIDS becomes chronic and manageable, but this therapy fails to eliminate viruses. Therefore, there is no radical solution to AIDS. With a deeper understanding of the mechanism of HIV infection and the advanced development of gene therapy technology, gene therapy such as RNA silencing and DNA editing provides novel approaches for radical treatment of AIDS. These new technologies may inhibit or eradicate thoroughly HIV and avoid adverse effects caused by conventional therapies. In this paper, the advanced progress in gene therapy against HIV infection is summarized and explored.

[Key words] HIV infection; gene therapy; RNA interference; gene editing

AIDS 严重威胁着人类的健康, 目前全球 AIDS 患者约 3790 万人, 每年约 170 万新增病例, 引起全世界广泛关注^[1]。随着 HIV 的抗反转录病毒治疗 (antiretroviral therapy, ART) 的广泛使用, AIDS 患者得到有效救治^[2-3], 但上述传统治疗技术存在诸多问题, 例如经常性给药、产生不良反应与耐药病毒株等。此外, 由于 HIV 感染人体细胞后, 其病毒基因组在细胞内整合, 导致 ART 无法根除潜伏感染和持续性感染的 HIV, AIDS 进而无法痊愈^[4-5]。近年来, 基因定向改造技术发展迅速, 诸如锌指核酸酶 (zinc finger nucleases, ZFN)、转录激活样效应因子 (transcription activator-like effector nucleases, TALEN)、成簇规律间隔短回文重复序列及相关核酸酶联用 [clustered regularly interspaced short palindromic repeats (CRISPR) / CRISPR-associated nuclease (Cas), CRISPR/Cas] 系统及嵌合抗原受体 T 细胞 (chimeric antigen

receptor T-Cell, CAR-T) 免疫疗法等为 AIDS 患者提供了新的选择^[6-9]。本文重点围绕上述基因治疗技术在抗 HIV 感染的治疗策略及最新进展进行综述。

1 基于基因编辑技术的基因治疗

ART 不能完全清除 HIV 的一个重要原因在于病毒基因序列可以整合到感染细胞宿主基因组上并潜伏下来, 导致 ART 无法发挥作用^[5]。潜伏的 HIV 在停止抗病毒治疗之后, 又会重启病毒复制, 造成 HIV 感染无法根治^[4-5]。随着基因编辑等分子生物学技术的出现和发展, 基于基因编辑的治疗方法可以阻止病毒入侵, 阻断病毒核酸复制、基因转录、表达及翻译后修饰等, 为 HIV 基础研究和临床应用提供了便捷高效的技术手段^[10-12]。因此, 目前大多 AIDS 治愈策略是靶向 HIV 储存库, 通过基因编辑手段将插入宿主基因组的 HIV 前病毒剪切掉, 迫使其失去活性或从宿主基因组上清除。

1.1 CRISPR/Cas9 技术 CRISPR/Cas 技术是 (古) 细菌中的一种防御病毒入侵的适应性免疫机制^[10, 13]。目前已经发现 3 种不同类型的技术^[14], 其中第 2 类 CRISPR/Cas9 技术由单个 DNA 核酸酶蛋白 Cas9 和单个向导 RNA (single guide RNA,

[基金项目] “十三五”国家“艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治”科技重大专项 (2017ZX10202102-005-003, 2017ZX10202102-005-001, 2017ZX10202101-004-001); 艾滋病研究北京市重点实验室 (BZ0089)

[作者单位] 100069, 首都医科大学附属北京佑安医院感染中心 艾滋病研究北京市重点实验室 (栗斌、吴昊、张彤); 310018, 康霖生物科技 (杭州) 有限公司 (吴昊泉)

[通信作者] 栗斌, E-mail: binsu@ccmu.edu.cn

sgRNA) 复合物组成, 是应用最广泛的一种基因编辑技术。通过改变向导 RNA 序列, Cas9 可以容易地对其互补结合的靶位点 DNA 序列进行剪切编辑, 并通过非同源末端链接 (non-homologous end joining, NHEJ) 或同源重组修复 (homology-directed repair, HDR) 机制进行双链缺口修复^[10, 15-16]。正是如此, CRISPR/Cas9 技术现成为一种可以改造包括人、小鼠及其他各物种基因组的有力工具, 并且用于基因敲除、引入或纠正基因突变等基础研究及探索治疗遗传性疾病^[11-12, 17]。

据国内外报道, 在探索治疗 HIV 感染领域, 将针对病毒基因组如长末端重复序列等核心序列的 sgRNA 和 Cas9 导入感染细胞, 可以使病毒基因组失活或清除, 保护宿主细胞免受 HIV 感染^[18-20]。Dash 等^[21]最近应用 CRISPR/Cas9 技术首次成功尝试在小鼠模型中去除感染细胞中 HIV DNA 大片段, 并配合使用长效缓释 ART 法, 约 1/3 的小鼠彻底清除了病毒。须要注意的是, 该方法在人体试验中未产生同样的效果^[22], 其中原因可能是由于 HIV 能快速对 CRISPR/Cas9 技术产生耐受。尽管可以设计出多个针对 HIV 靶序列的向导 RNA 序列, 但实际临床应用时, 存在如何有效将其靶向所有感染 HIV 的细胞和组织的病毒储存库, 以及技术本身存在的脱靶效应和伦理的问题。因此, 在今后的研究中仍然须要不断优化 Cas9 蛋白, 降低脱靶率, 并提高 CRISPR/Cas9 技术靶向编辑效率以及组织表达特异性。

HIV 感染 T 细胞要借助其表面辅助受体 CCR5 的帮助, 随着病程进一步发展, HIV 变得更加嗜 T 细胞性, 并开始以趋化因子受体 CXCR4 作为进入细胞的共受体。以 CXCR4 为辅助受体进入细胞的病毒株则可以不依赖于 CCR5, 并在患者体内大量复制, 导致病情快速恶化^[23]。因此, 通过基因编辑手段操作宿主细胞的表面受体, 使其具有对病毒的抵抗性, 可以一定程度抑制病毒在体内复制和感染新的细胞。近期, 北京佑安医院吴昊带领团队联合解放军总医院第五医学中心陈虎课题组及北京大学邓宏魁课题组在国际上首次将 CRISPR/Cas9 技术用于 1 位患有白血病合并 AIDS 的人体临床试验, 建立了基于 CRISPR 在人成体造血干细胞上进行 CCR5 基因敲除的编辑技术体系, 实现了经基因编辑后的成体造血干细胞在人体内长期稳定的造血系统重建^[18]。经过 2 年的随访发现, 患者白血病处于持续完全缓解状态, 并在骨髓细胞中能够持续检测到 CCR5 基因。尽管患者短暂停止 ART 之后, 病毒载量反弹, 但是在

短暂的停药期间, CCR5 基因编辑的 T 细胞表现出一定程度抵御 HIV 感染的能力。特别值得一提的是, 在 19 个月的随访观察中并未发现基因编辑造成的脱靶及其他不良反应^[18]。因此, 通过基因编辑成体造血干细胞上 CCR5 基因, 再将编辑后的成体造血干细胞移植到 HIV 感染者体内, 这一方法将可能成为 AIDS 治愈的新策略, 具有重要的参考价值 and 临床意义。

1.2 基因编辑的其他方式 类似的针对 HIV 共受体 CCR5 等靶标分子, 还可以通过 CRISPR/Cas9^[24-25]、TALEN^[26-27] 以及 ZFN^[28-29] 等技术对这些分子基因进行编辑, 可以帮助细胞获得抵抗 HIV 感染的能力。其中 ZFN 基因编辑技术最早于 1991 年报道, 该技术结合了识别特定 DNA 锌指结构域及 FokI 核酸酶切割 DNA 双链的特点, 可以引起序列位点特异的双链断开, 类似 CRISPR/Cas9 和 TALEN 技术, 也由宿主自身 DNA 修复系统采用 NHEJ 和 HDR 方式修复缺口。ZFN 用于敲除 CD4⁺ T 细胞和 CD34⁺ 造血干细胞的 CCR5 基因, 可以阻止 HIV-1 感染 CD4⁺ T 细胞及其他髓系细胞。虽然 ZFN 技术编辑基因 CCR5 进入临床试验^[30], 但其效率较 TALEN 和 CRISPR/Cas9 技术要低, 并可能被后两者取代^[27-28]。TALEN 技术与 ZFN 技术类似, 也可结合 DNA 进行核酸酶剪切修饰, 区别在于 TALEN 技术单体识别的是靶序列单个碱基对^[31]。然而, Ye 等^[25]研究比较了 CRISPR/Cas9 与 TALEN 两种技术应用于 CCR5 基因编辑的效率, 发现 CRISPR/Cas9 技术要明显高于 TALEN 技术。

目前, 基因编辑技术的治疗方案尚处于临床研究的初期阶段, HIV 潜伏感染机制极其复杂, 如何发现潜伏感染细胞所在的组织等尚缺乏技术上的突破。因此, 希望通过基因编辑手段彻底清除 HIV 感染尚须进行长时间的深入研究。

2 基于 CAR-T 的免疫治疗

HIV 感染后的早期阶段, 宿主免疫应答出现一个病毒血症降低的过程, 这主要是由于 CD8⁺ T 细胞通过分泌穿孔素和颗粒酶等直接细胞毒性作用和非细胞毒性作用来进行抑制^[6, 32]。在慢性感染阶段, CD8⁺ T 细胞虽然有部分耗竭, 但显示具有一定程度抑制 HIV 复制的作用。“激活并杀伤”疗法是基于通过潜伏反转类药物诱导病毒转录和激活, 在 ART 时, HIV 特异的 CD8⁺ T 细胞可以识别并消除受病毒感染的 CD4⁺ T 细胞。尽管如此, HIV 持续逃逸突变会导致 CD8⁺ T 细胞识别这些已突变表位及分化增殖能力下降^[32]。

CAR-T 免疫治疗是结合了基因治疗与细胞治疗的新技术, 是一种改造 T 细胞表面受体的策略, 通过设计表达嵌合抗原受体 (chimeric antigen receptor, CAR) 来提高 T 细胞识别精确性和杀伤效果, 应用于急性淋巴细胞白血病等部分癌症的治疗取得了成功^[33]。CAR-T 可以通过改造自体 CD8⁺ T 细胞表达 T 细胞受体 (T cell receptor, TCR) 来干扰 HIV 的复制, 比如设计 CAR 包含 HIV 受体 CD4⁺ 分子, 或者设计包含中和抗体单链可变片段来直接识别 HIV 颗粒。但早期的临床试验发现 CAR-T 细胞并不能降低 HIV 水平, 并且 CAR 本身也会被患者细胞毒性淋巴细胞消灭, 说明其中的复杂性, 给实际临床转化带来了较大的挑战, 须要进一步优化^[34-35]。近期, CAR-T 靶向清除 HIV 储存库研究方面取得了令人振奋的结果。其中一种新型 duoCAR-T 细胞, 在人源化小鼠模型中, 可以清除 97% 的受 HIV 感染的细胞^[36]。另一项来自 Gladstone 研究所和 Xyphos Biosciences 生物科技公司合作的研究表明, 基于新型 convertible CAR-T 细胞疗法可以减少接受 ART 的患者体内持续存在的病毒储存库^[37]。尽管目前基于 CAR-T 免疫疗法来治愈 AIDS 还处于早期临床研究阶段, 存在许多障碍, 但前期研究成果为这项技术提供了非凡的验证, 并揭示了可能改变当今疾病治疗方式的巨大潜力。

3 基于核酸的基因治疗策略

RNA 干扰是一种通过反义序列与靶标 mRNA 序列结合形成双链 RNA 诱发基因沉默, 阻碍特定基因的转录或翻译来抑制基因表达的现象。已知发现 2 种小 RNA 分子: 小干扰 RNA (small interfering RNA, siRNA) 和小分子 RNA (micro RNA, miRNA) 可以引发 RNA 干扰。siRNA 是长双链 RNA 经过加工形成长度约 21 个核苷酸的 RNA 片段, 解链后得到反义 RNA 链掺入 RNA 诱导沉默复合物 (RNA-induced silencing complex, RISC) 中进而与靶标 mRNA 结合, 阻碍其翻译。与 siRNA 类似, miRNA 也是由长 RNA 加工得到约 22 个核苷酸片段, 其前体具有类似发夹茎环结构, 不同的是含有 miRNA 的 RISC 结合靶标 mRNA 分子的 3'UTR 区域发挥阻碍其翻译或促使 RNA 降解等作用^[38-39]。

RNA 干扰在抵御病毒核酸入侵宿主细胞中发挥着重要作用^[40-41]。RNA 干扰是最早提出应用于抗病毒治疗的基因疗法, 主要有 2 种形式。一种是针对病毒 RNA 本身, 比如针对 HIV 重要蛋白基

因的表达抑制^[42]。另一种是针对宿主细胞的基因。例如针对 HIV 感染进入宿主细胞时需要借助的细胞表面辅助受体 CXCR4 和 CCR5 设计 RNA 干扰序列, 通过降低这些辅助受体的表达水平, 阻止 HIV 进入宿主细胞^[43]。最近, Choi 等^[44]成功构建了能够在同一细胞内长期稳定高效表达针对宿主 CCR5 基因和 HIV 6 个重要病毒基因的七重小发夹核糖核酸 (7shRNA) 分子, 该分子可阻断 HIV 与靶细胞结合、反转录、整合、包装等过程, 构筑了抵抗 HIV 感染、复制、形成新病毒的七重防御体系。因此, 新型的 RNA 干扰治疗技术将为今后的 HIV/AIDS 治愈研究提供新策略。

4 结 语

ART 虽然可以将 HIV 复制控制到很低甚至几乎检不出的水平, 让 HIV 感染转化成一种慢性可控的疾病, 但终究不能完全清除病毒。而且, 长期服药带来的不良反应也大大降低了患者的生活质量, 这些药物不良反应包括心血管疾病、肝肾衰竭、神经认知功能障碍及 HIV 相关的恶性肿瘤等^[45-46]。2016 年以来, 欧盟药局和美国食品药品监督管理局批准了几种基因治疗方案^[11], 包括 CAR-T 细胞治疗靶向 B 细胞淋巴瘤方案, 及采用慢病毒载体过表达特定基因或者通过 CRISPR/Cas9 技术改造异常基因用于治疗诸如地中海贫血^[11, 47]、罕见视力丧失^[48]、脊髓性肌肉萎缩症^[49]及罕见原发性免疫缺陷症^[50-51]等遗传基因突变引起的疾病。尽管这些基因治疗手段应用范围还相当有限, 但给治疗 HIV 感染等疑难杂症提供了新的治疗思路。

事实上, 尽管上述各种基因治疗技术在应对 HIV 感染中取得了不少成果, 但这些技术目前还面临安全性、疗效及伦理等方面的挑战。例如, 通过慢病毒载体运送修饰的外源基因可能因整合到宿主细胞的随机性而引入插入突变, 且病毒载体本身也可能引起宿主免疫反应。其次, 不同载体递送外源基因也存在效率问题。RNA 干扰、TALEN 及 CRISPR/Cas9 等各种基因技术因为靶向性、编辑效率、精确性等引起的脱靶效应, 均会影响到疗效, 有待进一步改进。另外, 基因治疗用于人体试验面临伦理挑战, 科学界一直反对在人的生殖细胞和胚胎中进行基因编辑。特别是在缺乏基础研究数据充分证据下进行基因编辑, 会将潜在附加疾病风险遗传给下一代, 甚至影响种群基因。我国前不久一名研究者因为基因编辑胚胎 CCR5 以期预防 HIV-1 感染的事件而受到学术界广泛谴责^[52-54]。

21 世纪以来, 生物医学已然成为各国重点发展领域。因此, 我们相信随着基础研究和临床试验大力推进, 未来将对 HIV 致病机制有更深刻全面的认识。届时, 基因治疗的方法也会相应不断改进、优化并广泛应用于临床, 为控制感染性疾病、维护人类健康发挥革命性的作用。

【参考文献】

- [1] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS. The global HIV/AIDS epidemic[EB/OL]. [2019-07-02]. <https://www.unaids.org/en/resources/fact-sheet> 2019.
- [2] 吴雪韵, 沈银忠. 艾滋病抗病毒治疗新进展 [J]. 传染病信息, 2019, 32(1):81-87.
- [3] 中华医学会感染病学分会艾滋病丙型肝炎学组, 中国疾病预防控制中心. 中国艾滋病诊疗指南 (2018 版) [J]. 传染病信息, 2018, 31(6):481-499, 504.
- [4] Delannoy A, Poirier M, Bell B. Cat and mouse: HIV transcription in latency, immune evasion and cure/remission strategies [J]. Viruses, 2019,11(3):1-36.
- [5] Sengupta S, Siliciano RF. Targeting the latent reservoir for HIV-1 [J]. Immunity, 2018, 48(5):872-895.
- [6] Mylvaganam G, Yanez AG, Maus M, *et al.* Toward T cell-mediated control or elimination of HIV reservoirs: lessons from cancer immunology [J]. Front Immunol, 2019,10:2109.
- [7] Gavegnano C, Savarino A, Owanikoko T, *et al.* Crossroads of cancer and HIV-1: pathways to a cure for HIV [J]. Front Immunol, 2019, 10:2267.
- [8] 周明菊, 李静, 张和倩, 等. HIV 病毒库清除策略中潜伏逆转剂的应用及挑战 [J]. 传染病信息, 2018, 31(6):511-515.
- [9] 张和倩, 常文仙, 焦艳梅, 等. HIV 病毒库清除策略研究进展[J]. 传染病信息, 2017, 30(6):321-326.
- [10] Porteus MH. A new class of medicines through DNA editing [J]. N Engl J Med, 2019, 380(10):947-959.
- [11] High KA, Roncarolo MG. Gene Therapy [J]. N Engl J Med, 2019, 381(5):455-464.
- [12] Anguela XM, High KA. Entering the modern era of gene therapy[J]. Annu Rev Med, 2019, 70:273-288.
- [13] Horvath P, Barrangou R. CRISPR/Cas, the immune system of bacteria and archaea [J]. Science, 2010, 327(5962):167-170.
- [14] Makarova KS, Haft DH, Barrangou R, *et al.* Evolution and classification of the CRISPR-Cas systems [J]. Nat Rev Microbiol, 2011, 9(6):467-477.
- [15] Wang H, La Russa M, Qi LS. CRISPR/Cas9 in genome editing and beyond [J]. Annu Rev Biochem, 2016, 85(1):227-264.
- [16] Jinek M, Chylinski K, Fonfara I, *et al.* A programmable dual-RNA-guided DNA endonuclease in adaptive bacterial immunity [J]. Science, 2012, 337(6096):816-821.
- [17] Cong L, Ran FA, Cox D, *et al.* Multiplex genome engineering using CRISPR/Cas systems [J]. Science, 2013, 339(6121):819-823.
- [18] Xu L, Wang J, Liu Y, *et al.* CRISPR-Edited stem cells in a patient with HIV and acute lymphocytic leukemia [J]. N Engl J Med, 2019, 381(13):1240-1247.
- [19] Hu W, Kaminski R, Yang F, *et al.* RNA-directed gene editing specifically eradicates latent and prevents new HIV-1 infection[J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014,111(31):11461-11466.
- [20] Ebina H, Misawa N, Kanemura Y, *et al.* Harnessing the CRISPR/Cas9 system to disrupt latent HIV-1 provirus [J]. Sci Rep, 2013, 3:2510.
- [21] Dash PK, Kaminski R, Bella R, *et al.* Sequential LASER ART and CRISPR treatments eliminate HIV-1 in a subset of infected humanized mice [J]. Nat Commun, 2019, 10(1):2753.
- [22] Kaminski R, Chen Y, Fischer T, *et al.* Elimination of HIV-1 genomes from human T-lymphoid cells by CRISPR/Cas9 gene editing [J]. Sci Rep, 2016, 6:22555.
- [23] Shepherd JC, Jacobson LP, Qiao W, *et al.* Emergence and persistence of CXCR4-tropic HIV-1 in a population of men from the multicenter AIDS cohort study [J]. J Infect Dis, 2008, 198(8):1104-1112.
- [24] Li C, Guan X, Du T, *et al.* Inhibition of HIV-1 infection of primary CD4⁺ T-cells by gene editing of CCR5 using adenovirus-delivered CRISPR/Cas9 [J]. J Gen Virol, 2015, 96(8):2381-2393.
- [25] Ye L, Wang J, Beyer AI, *et al.* Seamless modification of wild-type induced pluripotent stem cells to the natural CCR5 $\Delta 32$ mutation confers resistance to HIV infection [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 2014, 111(26):9591-9596.
- [26] Nerys-Junior A, Braga-Dias LP, Pezzuto P, *et al.* Comparison of the editing patterns and editing efficiencies of TALEN and CRISPR-Cas9 when targeting the human CCR5 gene [J]. Genet Mol Biol, 2018, 41(1):167-179.
- [27] Shi B, Li J, Shi X, *et al.* TALEN-Mediated knockout of CCR5 confers protection against infection of human immunodeficiency virus [J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2017, 74(2):229-241.
- [28] Huyghe J, Magdalena S, Vandekerckhove L. Fight fire with fire: gene therapy strategies to cure HIV [J]. Expert Rev Anti Infect Ther, 2017, 15(8):747-758.
- [29] Tebas P, Stein D, Tang WW, *et al.* Gene editing of CCR5 in autologous CD4 T cells of persons infected with HIV [J]. N Engl J Med, 2014, 370(10):901-910.
- [30] Hofer U, Henley JE, Exline CM, *et al.* Pre-clinical modeling of CCR5 knockout in human hematopoietic stem cells by zinc finger nucleases using humanized mice [J]. J Infect Dis, 2013, 208(Suppl 2):S160-S164.
- [31] Joung JK, Sander JD. TALENs: a widely applicable technology for targeted genome editing [J]. Nat Rev Mol Cell Biol, 2013, 14(1):49-55.
- [32] McBrien JB, Kumar NA, Silvestri G. Mechanisms of CD8⁺ T cell-mediated suppression of HIV/SIV replication [J]. Eur J Immunol, 2018, 48(6):898-914.
- [33] Miliotou AN, Papadopoulou LC. CAR T-cell therapy: a new era in cancer immunotherapy [J]. Curr Pharm Biotechnol, 2018, 19(1):5-18.
- [34] Wagner TA. Quarter century of anti-HIV CAR T cells [J]. Curr HIV/AIDS Rep, 2018, 15(2):147-154.
- [35] Kuhlmann AS, Peterson CW, Kiem HP. Chimeric antigen receptor T-cell approaches to HIV cure [J]. Curr Opin HIV AIDS, 2018, 13(5):446-453.
- [36] Anthony-Gonda K, Bardhi A, Ray A, *et al.* Multispecific anti-HIV duoCAR-T cells display broad *in vitro* antiviral activity and potent *in vivo* elimination of HIV-infected cells in a humanized mouse model [J]. Sci Transl Med, 2019,11(504):pii:eaav5685.
- [37] Herzig E, Kim KC, Packard TA, *et al.* Attacking latent HIV with convertible CAR-T Cells, a highly adaptable killing platform [J]. Cell, 2019, 179(4):880-894.
- [38] Mohr AM, Mott JL. Overview of microRNA biology [J]. Semin Liver Dis, 2015, 35(1):3-11.
- [39] Bartel DP. MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function [J]. Cell, 2004, 116(2):281-297.
- [40] Su B, Fu Y, Liu Y, *et al.* Potential application of microRNA profiling to the diagnosis and prognosis of HIV-1 infection [J]. Front Microbiol, 2018, 9:3185.
- [41] Drury RE, O'Connor D, Pollard AJ. The clinical application of microRNAs in infectious disease[J]. Front Immunol, 2017, 8:1182.
- [42] Berkhout B. RNA interference as an antiviral approach: targeting HIV-1 [J]. Curr Opin Mol Ther, 2004, 6(2):141-145.

(下转第 508 页)

- 11(10):pii:e1534.
- [14] Sansevierio E. NK cell-fc receptors advance tumor immunotherapy [J]. J Clin Med, 2019, 8(10):pii:e1667.
- [15] Ram DR, Manickam C, Lucar O, *et al.* Adaptive NK cell responses in HIV/SIV infections: a roadmap to cell-based therapeutics? [J]. J Leukoc Biol, 2019, 105(6):1253–1259.
- [16] Ni Z, Knorr DA, Bendzick L, *et al.* Expression of chimeric receptor CD4 ζ by natural killer cells derived from human pluripotent stem cells improves *in vitro* activity but does not enhance suppression of HIV infection *in vivo* [J]. Stem Cells, 2014, 32(4):1021–1031.
- [17] Wrangle JM, Velcheti V, Patel MR, *et al.* ALT-803, an IL-15 superagonist, in combination with nivolumab in patients with metastatic non-small cell lung cancer: a non-randomised, open-label, phase 1b trial [J]. Lancet Oncol, 2018, 19(5):694–704.
- [18] Garrido C, Abad-Fernandez M, Tuyishime M, *et al.* Interleukin-15-stimulated natural killer cells clear HIV-1-infected cells following latency reversal *ex vivo* [J]. J Virol, 2018, 92(12):pii:e00235–18.
- [19] Hu W, Wang G, Huang D, *et al.* Cancer immunotherapy based on natural killer cells: current progress and new opportunities [J]. Front Immunol, 2019, 10:1205.
- [20] Mori M, Leitman E, Walker B, *et al.* Impact of HLA allele-KIR pairs on HIV clinical outcome in South Africa [J]. J Infect Dis, 2019, 219(9):1456–1463.
- [21] Lisovsky I, Kant S, Tremblay-McLean A, *et al.* Differential contribution of education through KIR2DL1, KIR2DL3, and KIR3DL1 to antibody-dependent (AD) NK cell activation and ADCC [J]. J Leukoc Biol, 2019, 105:551–563.
- [22] Hens J, Jennes W, Kestens L. The role of NK cells in HIV-1 protection: autologous, allogeneic or both? [J]. AIDS Res Ther, 2016, 13:15.
- [23] Zhang X, Huang X, Xia W, *et al.* HLA-B star 44 is associated with a lower viral set point and slow CD4 decline in a cohort of Chinese homosexual men acutely infected with HIV-1 [J]. Clin and Vaccine Immunol, 2013, 20(7):1048–1054.
- [24] Zhang X, Lu X, Moog C, *et al.* KIR3DL1-negative CD8 T cells and KIR3DL1-negative natural killer cells contribute to the advantageous control of early human immunodeficiency virus type 1 infection in HLA-B Bw4 homozygous individuals [J]. Front Immunol, 2018, 9:1855.
- [25] Wrangle JM, Patterson A, Johnson CB, *et al.* IL-2 and beyond in cancer immunotherapy [J]. J Interferon Cytokine Res, 2018, 38(2):45–68.
- [26] Chen Z, Yang Y, Liu LL, *et al.* Strategies to augment natural killer (NK) cell activity against solid tumors [J]. Cancers (Basel), 2019, 11(7):pii:e1040.
- [27] Wu Y, Tian Z, Wei H. Developmental and functional control of natural killer cells by cytokines [J]. Front Immunol, 2017, 8:930.
- [28] Lemoli RM, Parisi S, Curti A. Novel strategies of adoptive immunotherapy: how natural killer cells may change the treatment of elderly patients with acute myeloblastic leukemia [J]. Exp Hematol, 2017, 45:10–16.
- [29] Romee R, Rosario M, Berrien-Elliott MM, *et al.* Cytokine-induced memory-like natural killer cells exhibit enhanced responses against myeloid leukemia [J]. Sci Transl Med, 2016, 8(357):357ra123.
- [30] Lee J, Thall PF, Rezvani K. Optimizing natural killer cell doses for heterogeneous cancer patients on the basis of multiple event times [J]. J R Stat Ser C Appl Stat, 2019, 68(2):461–474.

(2019-11-14 收稿 2019-12-10 修回)

(本文编辑 揣征然)

(上接第 504 页)

- [43] Crowe S. Suppression of chemokine receptor expression by RNA interference allows for inhibition of HIV-1 replication, by Martinez *et al* [J]. AIDS, 2003, 17(Suppl 4):S103–S105.
- [44] Choi JG, Bharaj P, Abraham S, *et al.* Multiplexing seven miRNA-based shRNAs to suppress HIV replication [J]. Mol Ther, 2015, 23(2):310–320.
- [45] Silva BF, Peixoto G, da Luz SR, *et al.* Adverse effects of chronic treatment with the main subclasses of highly active antiretroviral therapy: a systematic review [J]. HIV Med, 2019, 20(7):429–438.
- [46] Katz IT, Maughan-Brown B. Improved life expectancy of people living with HIV: who is left behind? [J]. Lancet HIV, 2017, 4(8):e324–e326.
- [47] Thompson AA, Walters MC, Kwiatkowski J, *et al.* Gene therapy in patients with transfusion-dependent beta-thalassemia [J]. N Engl J Med, 2018, 378(16):1479–1493.
- [48] Russell S, Bennett J, Wellman JA, *et al.* Efficacy and safety of voretigene neparvovec (AAV2-hRPE65v2) in patients with RPE65-mediated inherited retinal dystrophy: a randomised, controlled, open-label, phase 3 trial [J]. Lancet, 2017, 390(10097):849–860.
- [49] Mendell JR, Al-Zaidy S, Shell R, *et al.* Single-dose gene-replacement therapy for spinal muscular atrophy [J]. N Engl J Med, 2017, 377(18):1713–1722.
- [50] Pavel-Dinu M, Wiebking V, Dejene BT, *et al.* Gene correction for SCID-X1 in long-term hematopoietic stem cells [J]. Nat Commun, 2019, 10(1):1634.
- [51] Booth C, Romano R, Roncarolo MG, *et al.* Gene therapy for primary immunodeficiency [J]. Hum Mol Genet, 2019, 28(R1):R15–R23.
- [52] Zhang L, Zhong P, Zhai X, *et al.* Open letter from Chinese HIV professionals on human genome editing [J]. Lancet, 2019, 393(10166):26–27.
- [53] Wang C, Zhai X, Zhang X, *et al.* Gene-edited babies: Chinese academy of medical sciences' response and action [J]. Lancet, 2019, 393(10166):25–26.
- [54] Reardon S. Gene edits to 'CRISPR babies' might have shortened their life expectancy [J]. Nature, 2019, 570(7759):16–17.

(2019-11-13 收稿 2019-12-19 修回)

(本文编辑 揣征然)