



HIV-1潜伏感染的细胞模型

彭雯, 邓凯*

中山大学中山医学院, 热带病防治研究教育部重点实验室, 人类病毒学研究所, 广州 510080

* 联系人, E-mail: dengkai6@mail.sysu.edu.cn

收稿日期: 2020-07-07; 接受日期: 2020-07-26; 网络版发表日期: 2020-09-22

国家自然科学基金(批准号: 81672024)和广东省自然科学基金(批准号: 2017A030306005)资助

摘要 人类免疫缺陷病毒1型(human immunodeficiency virus type 1, HIV-1)感染导致艾滋病(acquired immunodeficiency syndrome, AIDS), 严重危害人类健康. 抗逆转录病毒疗法(antiretroviral therapy, ART)可高效抑制HIV-1复制, 但无法治愈艾滋病, 主要原因是HIV-1可在机体建立潜伏感染, 形成稳定的病毒储存库. 这些含有沉默的整合病毒的储存库细胞在ART治疗的个体中频率极低, 人们难以对其直接分离而进行研究. 因此, 为研究HIV-1潜伏感染的机制及靶向治疗病毒储存库的方法, 建立HIV-1潜伏感染的细胞模型非常重要. 本文总结概述了多种常用的HIV-1潜伏感染的细胞模型及其应用, 并分析了这些模型各自的优点和局限性, 可为进一步深入研究HIV-1潜伏感染和艾滋病功能性治愈提供有效的工具参考和理论依据.

关键词 HIV-1, 潜伏感染, 病毒储存库, 细胞模型

虽然抗逆转录病毒疗法(antiretroviral therapy, ART)能有效地将血浆HIV-1(human immunodeficiency virus type 1)水平降至低于临床检测下限, 但不能根除病毒. 主要存在于静息记忆型CD4⁺ T细胞中的极其稳定的病毒储存库是彻底清除HIV-1的最大障碍^[1,2]. 这些病毒潜伏感染的细胞含有稳定整合的病毒基因组, 但病毒处于转录沉默和复制停滞状态, 这有助于潜伏感染的细胞逃避宿主的免疫监视及抗病毒药物的抑制. 一旦停止治疗, 病毒血症在2~4周内就会迅速重现. 因此, ART不能治愈HIV-1感染, 患者必须终生服药^[3~5]. 同时, 长期接受ART会导致药物毒性副作用、病毒耐药性并造成沉重的经济负担^[6], 这给患者带来了诸多困扰. 因而近年来, 靶向清除HIV-1潜伏储存库以达到艾滋病治愈的研究受到极大关注, “柏林病

人”^[7]和“伦敦病人”^[8]成功治愈的案例更是提升了大众对实现艾滋病最终治愈的期待.

如何清除病毒储存库是艾滋病治愈的关键核心问题. 然而研究该问题的主要瓶颈是, 接受ART治疗的感染者体内潜伏感染的细胞频率极低, 每百万个CD4⁺ T细胞中只有约一个细胞含有具复制能力的HIV前病毒^[3,5], 使得人们难以对储存库细胞进行直接分离研究. 另外, 由于限制因素过多, 猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)感染模型^[9]或HIV-1人源化小鼠模型^[10]等研究难以在实验室广泛开展. 因此, 建立合理的HIV-1潜伏感染的细胞模型非常重要, 是研究潜伏感染建立和维持机制, 及寻找潜伏病毒清除策略的关键手段. 本文系统梳理了至今已报道的HIV-1潜伏感染的细胞模型, 旨在为艾滋病功能性治愈的研

引用格式: 彭雯, 邓凯. HIV-1潜伏感染的细胞模型. 中国科学: 生命科学, 2020, 50: 1025–1031

Peng W, Deng K. Cell models of HIV-1 latency (in Chinese). Sci Sin Vitae, 2020, 50: 1025–1031, doi: 10.1360/SSV-2020-0030

究提供有效的工具参考和理论依据。

1 细胞系模型

1.1 U1和ACH2模型

HIV-1病毒蛋白Tat与TAR RNA结合后,反式激活HIV-1 LTR转录。在此模型中,将HIV-1 Tat或Tat的反式作用结构域TAR突变,可构建重组病毒。使用该病毒分别感染单核细胞系U937或T细胞系A3.01后,衍生出U1、ACH2细胞系^[11~13]。首次发表HIV-1潜伏感染的研究工作也是基于这种体外感染的永生细胞系^[14,15]。当受到外源刺激时,HIV-1表达上调,可通过酶联免疫吸附测定(enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA)检测HIV p24评估激活效果。这两种细胞系都是通过削弱Tat蛋白反式激活HIV-1以促进潜伏感染的建立,后续研究也证实转录抑制的确是建立和维持HIV-1潜伏感染的重要机制^[16],但这些细胞系中也许并不是真正的潜伏,甚至会导致再激活的能力变差。并且有研究发现,ACH2可进行持续的低水平病毒复制^[17]。

1.2 J-Lat模型

Verdin团队^[18]使用表达绿色荧光蛋白(green fluorescent protein, GFP)而非Nef的HIV-1假病毒感染Jurkat细胞4天,流式分选GFP阴性细胞,TNF- α 激活后再分选小部分转为GFP阳性的细胞,放置静息后获得了潜伏感染细胞。这些细胞在单一位点整合了HIV-1,且病毒的Tat和TAR没有缺陷。J-Lat的潜伏机制可能是由于病毒整合在异染色质区域附近,而阻碍了病毒的转录起始^[18],这也说明病毒的整合位点会影响病毒基因的表达。根据病毒整合位置的不同,J-Lat模型衍生出了多种亚细胞克隆。Verdin团队^[18]建立了J-Lat 6.3, 8.4, 9.2, 10.6, 15.4等一系列克隆,并使用TNF- α 再激活这些细胞系,其中,J-Lat 10.6的GFP阳性细胞数达96%,平均荧光强度以及p24的表达都是最高的。Greene团队^[19]筛选了抵抗CD3/CD28共刺激更敏感的J-Lat 5A8细胞。通过流式检测GFP的表达可以快速观察HIV-1再激活水平,因此报告细胞系比U1和ACH2细胞系在高通量药物筛选具有显著的优势^[20]。

在单报告基因细胞系的基础上,Sadowski团队^[21~24]利用该方法使用双荧光报告病毒研究了HIV的LTR区对潜伏的影响。Verdin的设计思路是构建表达两

种不同荧光标记的HIV-1假病毒:一种依赖HIV-1启动子表达的荧光标记,用于指示HIV-1复制;而另一种荧光标记则受独立于HIV-1启动子之外的组成型启动子控制^[21]。用这些病毒感染细胞可以将潜伏感染的细胞、未感染及活跃感染的细胞进行鉴别和分离^[21]。HIV-1报告基因实现了细胞感染状态的直接可视化,但这种模型中“潜伏细胞”的比例往往是过高的,因此双荧光报告病毒系统的准确性和可靠性仍待商榷。

影响HIV-1感染细胞建立潜伏感染的因素有病毒本身、病毒整合位点、表观遗传和宿主细胞等^[25,26]。利用细胞系潜伏期模型在前两个方面的研究已有一些成果^[12,18]。持续分裂的永生细胞系的优势是,可以提供充足的细胞以供研究,但这些细胞系可能存在低水平的病毒复制,并非完全静息的状态^[17]。此外,这些高度活化的细胞系的功能状态与感染者体内CD4⁺ T细胞仍有较大差异,从而导致在细胞系模型中被证实有效的潜伏感染激活剂(latency reversing agents, LRAs)在临床试验中往往不能真正有效地激活HIV-1感染者CD4⁺ T细胞中的潜伏病毒^[27,28]。宿主细胞的活化状态会影响感染的建立和维持,因此使用原代细胞模型(图1)能更好地反映病人体内生理条件下的病毒潜伏状态。

2 原代细胞模型

2.1 静息CD4⁺ T细胞潜伏感染模型

(1) O'Doherty模型。HIV-1可以在体外静息的原代CD4⁺ T细胞中直接建立感染^[29,30],但是相对于活化的CD4⁺ T细胞,静息细胞中低效率的病毒入核、逆转录和整合,限制了HIV-1的感染^[31,32],Swiggard等人^[33]分离出静息状态CD4⁺ T细胞,与具有复制能力的HIV-1混合后,通过离心感染(spinoculation)提高病毒附着细胞的水平,建立了HIV-1的潜伏感染。通过RT-qPCR检测Tat mRNA可反映病毒复制的水平。该策略增加了病毒和细胞的接触,但感染率仍然较低。Greene团队^[34]对上述模型进行改进,利用表达mCherry和荧光素酶(Luciferase)双重报告基因的NL4-3毒株,离心感染静息的CD4⁺ T细胞。由于mCherry没有包装在病毒基因中,该mCherry荧光蛋白的表达体现了病毒感染率,而荧光素酶报道基因指示病毒的平均表达量。使用该模型可观察到不同细胞亚群对不同LRA的敏感

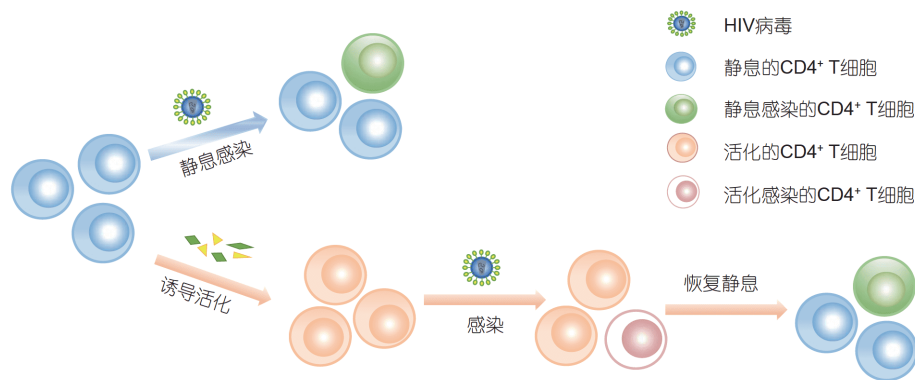


图 1 HIV-1潜伏感染的原代CD4⁺ T细胞模型建立. HIV-1可在体外静息的原代CD4⁺ T细胞中直接建立潜伏感染, 也可以先感染活化后的原代CD4⁺ T细胞, 在细胞逐步恢复静息状态后建立潜伏感染

Figure 1 The establishment of HIV-1 latency models in primary CD4⁺ T cells. HIV-1 can directly infect primary resting CD4⁺ T cells and establish latent infection right away, or infect activated primary CD4⁺ T cells, and establish latent infection when infected cells gradually return to resting status

程度, 同时还证明了固有免疫应答可促进再激活细胞的清除^[35].

(2) Saleh和Lewin模型. 由于静息CD4⁺ T细胞在淋巴组织培养基中更易被感染, Saleh等人^[36]用CCR7的配体CCL19或CCL21刺激分选的静息CD4⁺ T细胞. 这些趋化因子诱导的静息细胞肌动蛋白细胞骨架的变化, 即可在不引起细胞活化的同时, 促进HIV-1感染及潜伏. 随后研究者采用介导类似效应的CXCL9, CXCL10和CCL20等趋化因子处理静息CD4⁺ T细胞^[37].

直接利用静息CD4⁺ T细胞构建的潜伏感染模型避免了细胞的激活, 使细胞更接近体内状态, 然而利用该模型得到的潜伏感染细胞数量有限. HIV-1潜伏感染的建立处于CD4⁺ T细胞从活化的效应状态向记忆状态转换的过渡期^[38], 静息的CD4⁺ T细胞直接建立潜伏感染可能不具代表性. 因而体外活化CD4⁺ T细胞构建的潜伏感染模型或许能更准确和全面地反映体内HIV-1潜伏感染的过程. 由于病毒感染引起的细胞病变和其他非病毒因素会引起绝大部分细胞死亡^[39,40], 只有少数被HIV-1感染的活化CD4⁺ T细胞能进入静息状态. 目前已有许多模型能使大量潜伏感染的静息CD4⁺ T细胞得以长期稳定存在.

2.2 活化CD4⁺ T细胞潜伏感染模型

(1) Sahu模型. 分离纯化后的CD4⁺ T细胞用抗CD3抗体和IL-2刺激活化后, 再感染复制能力强的

HIV-1毒株. 活化的CD4⁺ T细胞在脑肿瘤衍生的贴壁细胞系(H80)上的共培养有助于其进入静息状态, 在不存在任何细胞因子的情况下细胞可存活数月^[41]. H80培养细胞系的机制仍是未知的. 该模型以中央记忆CD4⁺ T细胞为主, 与静息细胞在表型上相似, 但这种方式培养的一部分HIV-1感染细胞表现出持续低水平地表达p24. 使用蛋白激酶C激活后, p24阳性的细胞增加约两倍, 说明该模型是存在潜伏感染的细胞. 该模型主要用于LRA药效评价.

(2) Siliciano模型. Siliciano团队^[42,43]使用两步法建立模型, 首先转导抗凋亡基因*Bcl-2*以提高CD4⁺ T细胞的存活能力, 再使用IL-2扩增这部分细胞. 用抗CD3/28抗体激活细胞后, 感染假病毒NL4-3-Δ6-ΔGFP, 通过静息培养4~6周, 使感染细胞建立稳定的潜伏状态, 最后流式分选GFP阴性细胞, 再激活后约1%~3%的潜伏感染细胞可重新表达GFP. 该模型已被广泛用于LRA的筛选及评估^[20,44~46], 也被用于评估潜伏感染细胞在不同免疫应答下的体外死亡情况^[47]. 但该模型主要产生的效应记忆细胞可能只占患者体内的潜伏储存库的一小部分^[48].

(3) Karn模型. Karn模型结合了Sahu模型和Yang/Siliciano模型, 使用荧光报告基因(GFP或mCherry)取代HIV-1 Nef. 在处于激活状态时, 可通过流式细胞仪对表达报告基因的细胞进行分选, 以富集被感染的细胞. 用抗CD3/28抗体将这些细胞扩增4~6周, 然后加入IL-2与H80共培养6周, 细胞进入静息状态^[49]. 即使这

些细胞与H80细胞共培养6个月以上,病毒被再激活的能力并没有明显下降,并且该模型细胞维持静息中央记忆表型,与体内HIV-1潜伏储存库的主要细胞表型一致^[48]。基于该模型,研究者认为,表观遗传沉默和低p-TEFb水平是导致HIV-1潜伏的主要机制^[49]。

(4) Bosque/Planelles 模型。初始CD4⁺ T细胞在抗CD3/28抗体刺激下形成Th1, Th2或非极化的中央记忆细胞,然后被Env缺陷的HIV-1假病毒感染,并在含有IL-2的培养基中继续培养^[50]。该模型可产生大量潜伏感染的细胞,在筛药方面有优势^[51,52]。此模型被进一步改进后形成了QUECEL(静息效应细胞潜伏期)模型,即初始CD4⁺ T细胞被极化为4个主要的T细胞亚群(Th1, Th2, Th17和Treg),随后用GFP/CD8a-HIV-1单轮报告病毒感染细胞。使用抗CD8磁珠纯化感染的细胞后,再用细胞因子(包括肿瘤生长因子β, IL-10和IL-8)迫使其进入静息状态,从而产生潜伏感染细胞的同质群体。该模型建立的潜伏感染细胞也主要处于中央记忆型状态,可有效地模拟HIV-1感染激活的效应CD4⁺ T细胞,该细胞过渡到记忆表型这一过程,可以产生大量潜伏感染的CD4⁺ T细胞^[53]。使用潜伏激动剂刺激该模型的细胞和服药后病毒抑制的HIV-1感染病人样本的RNA转录谱非常相似。

3 总结

HIV-1潜伏感染的细胞模型对旨在清除病毒储存库的艾滋病功能性治愈研究至关重要。总之,至今已报道的模型各有利弊(表1)。一些模型已经被证明是进行药物筛选的有效工具^[41,50]。通过平行比较上述模型及HIV-1感染者的CD4⁺ T细胞中的LRA活性^[54],潜伏激活剂的效果在不同模型中存在差异,充分说明在多个潜伏模型中进行对比研究是有价值的,且结论更具说服力。研究不同模型中潜伏激动剂差异的原因也许可以解释潜伏感染的多重分子机制。通过一些特定的模型也可以反映感染细胞的状态和潜伏建立的过程^[33,36],并找到影响潜伏的关键宿主因子。相较于细胞系模型,原代细胞模型更能模拟感染者机体内的真实情况,但模型建立通常更为繁琐,细胞来源数量也受到限制,不利于机制研究。细胞系模型操作更简单便利,细胞数量也更有保证,但存在整合位点单一,与生理感染差异较大等缺点。研究者应根据问题需求,合理选择恰当的细胞模型展开研究。

本文认为, HIV-1潜伏感染细胞模型的发展趋势主要有以下两方面: (i) 在非激活情况下可直接标记潜伏感染细胞,从而提供一种在不改变细胞状态

表 1 HIV-1潜伏感染的细胞模型比较

Table 1 The comparison of *in vitro* cell models of HIV-1 latency

模型	细胞来源	HIV毒株	潜伏感染细胞比例	潜伏细胞表型	再激活检测	参考文献
细胞系模型	U1/ACH2模型	U937/A3.01	HIV-1 ΔTat/HIV-1 ΔTAR	90% ~98%	N/A	HIV p24 [11~13]
	J-Lat模型	Jurkat细胞	HIV-R7/E ⁻ /GFP	~100%	N/A	GFP [18]
静息CD4 ⁺ T细胞模型	O'Doherty模型	原代CD4 ⁺ T细胞	NL4-3(WT)	4.5%	Naïve/T _{CM} /T _{EM}	GFP/mCherry [33]
	Saleh和Lewin模型	原代静息CD4 ⁺ T细胞	NL4-3(WT)	N/A	CCR7 ⁺ CD45RO ⁺ HLA-DR-CD25-CD69-	Luciferase [36]
原代细胞模型	Sahu模型	原代CD4 ⁺ T细胞	JRCSF(5-tropic HIV stain)	>5%	CD69-CD25-HLA-DR-	HIV p24 [41]
	Siliciano模型	原代CD4 ⁺ T细胞	NL4-3-Δ6-GFP	1%~3%	CD45RO ⁺ CD62L ⁺ CCR7-	GFP [41]
	Karn模型	原代CD4 ⁺ T细胞	HIV-1Δnef GFP/mCherry	20%	CD45RA-CD54RO ⁺ CD27 ^{LOW} CCR7 ⁺	GFP/mCherry [49]
	Bosque/Planelles模型	初始CD4 ⁺ T细胞	HIV-1 Δenv/HIV-1 ΔenvΔnef GFP	45%NP/11%Th1/45%Th2	CCR7 ⁺ CD27 ⁺ CD45RO ⁺ CD25 ^{LOW} CD69-	GFP/HIV gag [50]

的情况下研究潜伏机制的平台; (ii) 可同时兼顾细胞系和原代细胞优点的潜伏感染模型, 既能确保细胞数量来源, 又能最大限度模拟生理条件下的潜伏感染. 若能在现有模型的基础上进一步优化和改造,

获得更具代表性和实际操作意义的细胞模型, 将极大推进 HIV-1 潜伏感染和病毒储存库的研究, 为艾滋病功能性治愈的探索提供更有力的工具和理论参考.

参考文献

- 1 Chun T W, Finzi D, Margolick J, et al. *In vivo* fate of HIV-1-infected T cells: quantitative analysis of the transition to stable latency. *Nat Med*, 1995, 1: 1284–1290
- 2 Chun T W, Carruth L, Finzi D, et al. Quantification of latent tissue reservoirs and total body viral load in HIV-1 infection. *Nature*, 1997, 387: 183–188
- 3 Siliciano J D, Kajdas J, Finzi D, et al. Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4⁺ T cells. *Nat Med*, 2003, 9: 727–728
- 4 Strain M C, Günthard H F, Havlir D V, et al. Heterogeneous clearance rates of long-lived lymphocytes infected with HIV: intrinsic stability predicts lifelong persistence. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100: 4819–4824
- 5 Crooks A M, Bateson R, Cope A B, et al. Precise quantitation of the latent HIV-1 reservoir: Implications for eradication strategies. *J Infect Dis*, 2015, 212: 1361–1365
- 6 Xing S, Siliciano R F. Targeting HIV latency: pharmacologic strategies toward eradication. *Drug Discov Today*, 2013, 18: 541–551
- 7 Hütter G, Nowak D, Mossner M, et al. Long-term control of HIV by CCR5 delta32/delta32 stem-cell transplantation. *N Engl J Med*, 2009, 360: 692–698
- 8 Gupta R K, Abdul-Jawad S, McCoy L E, et al. HIV-1 remission following CCR5Δ32/Δ32 haematopoietic stem-cell transplantation. *Nature*, 2019, 568: 244–248
- 9 Deere J D, Schinazi R F, North T W. Simian immunodeficiency virus macaque models of HIV latency. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011, 6: 57–61
- 10 Marsden M D, Kovachich M, Suree N, et al. HIV latency in the humanized BLT mouse. *J Virol*, 2012, 86: 339–347
- 11 Cannon P, Kim S H, Ulich C, et al. Analysis of Tat function in human immunodeficiency virus type 1-infected low-level-expression cell lines U1 and ACH-2. *J Virol*, 1994, 68: 1993–1997
- 12 Emiliani S, Fischle W, Ott M, et al. Mutations in the tat gene are responsible for human immunodeficiency virus type 1 postintegration latency in the U1 cell line. *J Virol*, 1998, 72: 1666–1670
- 13 Emiliani S, Van Lint C, Fischle W, et al. A point mutation in the HIV-1 Tat responsive element is associated with postintegration latency. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1996, 93: 6377–6381
- 14 Folks T M, Powell D, Lightfoote M, et al. Biological and biochemical characterization of a cloned Leu-3- cell surviving infection with the acquired immune deficiency syndrome retrovirus. *J Exp Med*, 1986, 164: 280–290
- 15 Folks T M, Justement J, Kinter A, et al. Cytokine-induced expression of HIV-1 in a chronically infected promonocyte cell line. *Science*, 1987, 238: 800–802
- 16 Bannwarth S, Gagnon A. HIV-1 TAR RNA: the target of molecular interactions between the virus and its host. *Curr HIV Res*, 2005, 3: 61–71
- 17 Symons J, Chopra A, Malatinkova E, et al. HIV integration sites in latently infected cell lines: evidence of ongoing replication. *Retrovirology*, 2017, 14: 2
- 18 Jordan A, Bisgrove D, Verdin E. HIV reproducibly establishes a latent infection after acute infection of T cells *in vitro*. *EMBO J*, 2003, 22: 1868–1877
- 19 Chan J K, Bhattacharyya D, Lassen K G, et al. Calcium/calceineurin synergizes with prostratin to promote NF-κB dependent activation of latent HIV. *PLoS ONE*, 2013, 8: e77749
- 20 Planelles V, Wolschendorf F, Kutsch O. Facts and fiction: cellular models for high throughput screening for HIV-1 reactivating drugs. *Curr HIV Res*, 2011, 9: 568–578
- 21 Dahabieh M S, Ooms M, Simon V, et al. A doubly fluorescent HIV-1 reporter shows that the majority of integrated HIV-1 is latent shortly after infection. *J Virol*, 2013, 87: 4716–4727

- 22 Matsuda Y, Kobayashi-Ishihara M, Fujikawa D, et al. Epigenetic heterogeneity in HIV-1 latency establishment. *Sci Rep*, 2015, 5: 7701
- 23 Hashemi F B, Barreto K, Bernhard W, et al. HIV provirus stably reproduces parental latent and induced transcription phenotypes regardless of the chromosomal integration site. *J Virol*, 2016, 90: 5302–5314
- 24 Dahabieh M S, Ooms M, Brumme C, et al. Direct non-productive HIV-1 infection in a T-cell line is driven by cellular activation state and NFκB. *Retrovirology*, 2014, 11: 17
- 25 Dahabieh M S, Battivelli E, Verdin E. Understanding HIV latency: the road to an HIV cure. *Annu Rev Med*, 2015, 66: 407–421
- 26 Lai M, Jiao Y M, Wu H. HIV-1 latency infection and the establishment of its *in vitro* model (in Chinese). *Chin J AIDS STD*, 2015, 21: 97–99 [赖曼, 焦艳梅, 吴昊. HIV-1潜伏感染与体外模型的建立. 中国艾滋病性病, 2015, 21: 97–99]
- 27 Whitney J B, Brad Jones R. *In vitro* and *in vivo* models of HIV latency. *Adv Exp Med Biol*, 2018, 1075: 241–263
- 28 Zhou M J, Li J, Zhang H Q, et al. Application and challenges of latent reversal agent in elimination strategy of latent HIV reservoir (in Chinese). *Infect Dis info*, 2018, 31: 37–41 [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. 传染病信息, 2018, 31: 37–41]
- 29 Spina C A, Guatelli J C, Richman D D. Establishment of a stable, inducible form of human immunodeficiency virus type 1 DNA in quiescent CD4 lymphocytes *in vitro*. *J Virol*, 1995, 69: 2977–2988
- 30 Spina C A, Prince H E, Richman D D. Preferential replication of HIV-1 in the CD45RO memory cell subset of primary CD4 lymphocytes *in vitro*. *J Clin Invest*, 1997, 99: 1774–1785
- 31 Zack J A, Arrigo S J, Weitsman S R, et al. HIV-1 entry into quiescent primary lymphocytes: molecular analysis reveals a labile, latent viral structure. *Cell*, 1990, 61: 213–222
- 32 Zack J A, Haislip A M, Krogstad P, et al. Incompletely reverse-transcribed human immunodeficiency virus type 1 genomes in quiescent cells can function as intermediates in the retroviral life cycle. *J Virol*, 1992, 66: 1717–1725
- 33 Swiggard W J, Baytop C, Yu J J, et al. Human immunodeficiency virus type 1 can establish latent infection in resting CD4⁺ T cells in the absence of activating stimuli. *J Virol*, 2005, 79: 14179–14188
- 34 Lassen K G, Hebbeler A M, Bhattacharyya D, et al. A flexible model of HIV-1 latency permitting evaluation of many primary CD4 T-cell reservoirs. *PLoS ONE*, 2012, 7: e30176
- 35 Li P, Kaiser P, Lampiris H W, et al. Stimulating the RIG-I pathway to kill cells in the latent HIV reservoir following viral reactivation. *Nat Med*, 2016, 22: 807–811
- 36 Saleh S, Solomon A, Wightman F, et al. CCR7 ligands CCL19 and CCL21 increase permissiveness of resting memory CD4⁺ T cells to HIV-1 infection: a novel model of HIV-1 latency. *Blood*, 2007, 110: 4161–4164
- 37 Cameron P U, Saleh S, Sallmann G, et al. Establishment of HIV-1 latency in resting CD4⁺ T cells depends on chemokine-induced changes in the actin cytoskeleton. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2010, 107: 16934–16939
- 38 Shan L, Deng K, Gao H, et al. Transcriptional reprogramming during effector-to-memory transition renders CD4⁺ T cells permissive for latent HIV-1 infection. *Immunity*, 2017, 47: 766–775.e3
- 39 Green D R, Droin N, Pinkoski M. Activation-induced cell death in T cells. *Immunol Rev*, 2003, 193: 70–81
- 40 Sprent J, Surh C D. Cytokines and T cell homeostasis. *Immunol Lett*, 2003, 85: 145–149
- 41 Sahu G K, Lee K, Ji J, et al. A novel *in vitro* system to generate and study latently HIV-infected long-lived normal CD4⁺ T-lymphocytes. *Virology*, 2006, 355: 127–137
- 42 Yang H C, Xing S, Shan L, et al. Small-molecule screening using a human primary cell model of HIV latency identifies compounds that reverse latency without cellular activation. *J Clin Invest*, 2009, 119: 3473–3486
- 43 Kim M, Hosmane N N, Bullen C K, et al. A primary CD4⁺ T cell model of HIV-1 latency established after activation through the T cell receptor and subsequent return to quiescence. *Nat Protoc*, 2014, 9: 2755–2770
- 44 Shan L, Xing S, Yang H C, et al. Unique characteristics of histone deacetylase inhibitors in reactivation of latent HIV-1 in Bcl-2-transduced primary resting CD4⁺ T cells. *J Antimicrob Chemother*, 2014, 69: 28–33
- 45 Spivak A M, Andrade A, Eisele E, et al. A pilot study assessing the safety and latency-reversing activity of disulfiram in HIV-1-infected adults on antiretroviral therapy. *Clin Infect Dis*, 2014, 58: 883–890
- 46 Huang Z Q, Zhao L, Deng K, et al. Reactivation efficacies of HIV-1 latency reversing agents *in vitro* (in Chinese). *J Trop Med*, 2019, 19: 1191–1196 [黄卓琼, 赵露, 邓凯, 等. HIV-1储存库激活剂体外激活效应研究. 热带医学杂志, 2019, 19: 1191–1196]
- 47 Shan L, Deng K, Shroff N S, et al. Stimulation of HIV-1-specific cytolytic T lymphocytes facilitates elimination of latent viral reservoir after

- virus reactivation. *Immunity*, 2012, 36: 491–501
- 48 Chomont N, El-Far M, Ancuta P, et al. HIV reservoir size and persistence are driven by T cell survival and homeostatic proliferation. *Nat Med*, 2009, 15: 893–900
- 49 Tyagi M, Pearson R J, Karn J. Establishment of HIV latency in primary CD4⁺ cells is due to epigenetic transcriptional silencing and P-TEFb restriction. *J Virol*, 2010, 84: 6425–6437
- 50 Bosque A, Planelles V. Induction of HIV-1 latency and reactivation in primary memory CD4⁺ T cells. *Blood*, 2009, 113: 58–65
- 51 Mejia E J, Loveridge S T, Stepan G, et al. Study of marine natural products including resorcyclic acid lactones from *Humicola fuscoatra* that reactivate latent HIV-1 expression in an *in vitro* model of central memory CD4⁺ T cells. *J Nat Prod*, 2014, 77: 618–624
- 52 Wei D G, Chiang V, Fyne E, et al. Histone deacetylase inhibitor romidepsin induces HIV expression in CD4 T cells from patients on suppressive antiretroviral therapy at concentrations achieved by clinical dosing. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004071
- 53 Dobrowolski C, Valadkhan S, Graham A C, et al. Entry of polarized effector cells into quiescence forces HIV latency. *mBio*, 2019, 10
- 54 Spina C A, Anderson J, Archin N M, et al. An in-depth comparison of latent HIV-1 reactivation in multiple cell model systems and resting CD4⁺ T cells from aviremic patients. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003834

Cell models of HIV-1 latency

PENG Wen & DENG Kai

Institute of Human Virology, Key Laboratory of Tropical Disease Control of Ministry of Education, Zhongshan School of Medicine, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510080, China

Human immunodeficiency virus type 1, (HIV-1) infection leads to acquired immunodeficiency syndrome (AIDS), which seriously harms human health. Antiretroviral therapy (ART) can effectively suppress HIV-1 replication but cannot cure AIDS, mainly because HIV-1 establishes latent infection and forms a stable viral latent reservoir in HIV-1-infected individuals. These latently infected cells with silent integrated proviruses are extremely rare in ART-treated individuals; therefore it is difficult to isolate them directly for research. In order to study the mechanism of latent HIV-1 infection and strategies targeting the viral reservoirs, it is critical to generate cell models for HIV-1 latent infection. Here we review a variety of classical *in vitro* HIV-1 latency models and their applications, and analyze the advantages and limitations of these models. This review provides an effective reference and theoretical basis for further in-depth study of HIV-1 latency and AIDS functional cure.

HIV-1, latent infection, viral latent reservoir, cell model

doi: [10.1360/SSV-2020-0030](https://doi.org/10.1360/SSV-2020-0030)