

# La biología molecular del neurotropismo del VIH-1

Trujillo JR,<sup>1,3</sup> Boursiquot R,<sup>1</sup> Ramirez Rodriguez C,<sup>2</sup>  
Ancer Rodriguez J,<sup>2</sup> Essex M,<sup>3</sup> Major EO<sup>1</sup>

## RESUMEN

La selectividad de las cepas del VIH-1 para los diferentes tipos celulares es regulada por interacciones virales entre los receptores celulares y la envoltura viral. La infección por VIH-1 de los linfocitos T cooperadores (virus T-trópicos) y monocitos/macrófagos (virus M-trópicos) requiere la presencia de un receptor CD4. Además, algunos miembros de la familia de los receptores quimiocinéticos son utilizados en combinación con el CD4 para la entrada del VIH-1 en las células blanco. El VIH-1 T-trópico utiliza el receptor CXCR4 como un co-receptor, mientras que el VIH-1 M-trópico utiliza el CCR5 y CCR3 como co-receptores.

De manera adicional, el VIH-1 también infecta células que no expresan CD4, como las células gliales del cerebro, células neuronales y células epiteliales coloniales. Estas células que no expresan el receptor CD4, expresan el receptor de la familia de los glicolípidos, denominado galactosil de ceramida, la cual se ha demostrado como receptor del VIH-1.

La región V3 del gp120 ha sido identificada como la principal región del VIH-1 que regula el tropismo celular. Los virus con tropismo de células T tienden a tener más residuos con cargas positivas, particularmente en ciertas posiciones de la región V3, mientras que los virus con tropismo de macrófagos tienden a tener residuos negativamente cargados en la región V3, incluyendo la tal llamada secuencia consenso V3.

La entrada del VIH-1 es el primer paso en la neuropatogénesis del VIH-1. Se ha demostrado que la infección por VIH-1 de las microglia es regulada por el virus M-trópico, a través de los co-receptores CCR5 y CCR3 y a su vez ha sido asociada con la encefalitis inflamatoria del VIH-1. Por otra parte, el tráfico dentro del sistema nervioso de linfocitos infectados por el VIH-1 y los virus T-trópico es un fenómeno común que ocurre en los pacientes con SIDA. Sin embargo, se desconoce el efecto o la infección en las células del sistema nervioso que son afectadas por estos virus T-trópicos. Varios trabajos han demostrado la infección de astrocitos por el VIH-1 en estudios "in vitro" e "in vivo". Recientemente, demostramos que los residuos con cargas positivas en la región V3 del gp120 del VIH-1 regulan el tropismo astrocitario. Paralelamente, esta región es la misma que regula el tropismo de los linfocitos CD4. Nuestros resultados indican que la región V3 del VIH-1 es un determinante esencial para el tropismo de los astrocitos. Por lo tanto, el "virus neurotrópico" puede ser el responsable de la infección de las neuronas y astrocitos que se observa en los pacientes con encefalopatía del VIH-1.

**Palabras clave:** neurotropismo, VIH-1, SIDA, virus T-trópicos, virus M-trópicos, región V3, gp 120, astrocitos.

Rev Mex Neuroci 2004; 5(2): 127-132

Molecular biology of HIV-1 neurotropism

## ABSTRACT

The cellular tropism of different strains of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) is regulated by viral envelope/cell receptor interactions. Over the last decade, much progress has been made in the identification of HIV-1 receptors. The CD4 molecule was the first cellular protein receptor implicated in HIV-1 infection of T-helper lymphocytes (T-tropic virus) and monocytes/macrophages (M-tropic virus). It was then shown that some members of the chemokine receptor family are used, in combination with CD4, for HIV-1 fusion and entry into target cells. T-tropic HIV-1 uses CXCR4 as a co-receptor, whereas M-tropic HIV-1 uses CCR5 and CCR3. However, HIV-1 also infects several cell types that express no CD4, including colonic epithelial, brain-derived glial and neuronal cells. These CD4-negative cells express the glycolipid named galactosyl ceramide, which also serves as an HIV-1 receptor. The V3 loop of gp120 has been identified as a critical determinant of HIV-1 cell tropism. Specific sequences within the V3 loop have been associated with either the M-tropic (CCR5, CCR3) or T-tropic viruses (CXCR4). T-tropic viruses tend to have positively charged residues in certain positions in the V3 loop; whereas M-tropic viruses tend to have negatively charged residues in the V3 loop, so called the consensus V3 sequence. HIV-1 entry into the brain is the first step of HIV-1 neuropathogenesis. Infection of microglia cells by HIV-1 M-tropic viruses through CCR5 and CCR3 has been well characterized and has been associated with HIV-1 encephalitis. Nevertheless, trafficking of infected HIV-1 CD4+ T-cells into the brain is a common event, but the outcome of T-tropic virus in the brain is unknown. HIV-1 infection of astrocytes has been shown in both in vivo as well as in vitro studies. Recently, we demonstrated that positive amino acid charges in the HIV-1 gp120 V3 loop regulate astrocyte tropism. Interestingly, this is the same determinant that regulates the HIV-1 T-cell tropism. These results indicate that the V3 loop of HIV-1 serves as an essential viral determinant for astrocyte-tropic virus. This "neurotropic HIV-1" may be responsible for infections of neuronal and/or glial cells observed in patients with AIDS encephalopathy.

**Key words:** neurotropism, HIV-1, T-tropic virus, M-tropic virus, V3 loop, gp 120, astrocytes.

Rev Mex Neuroci 2004; 5(2): 127-132

1. Laboratory of Molecular Medicine and Neurosciences, National Institute of Neurological Disorders and Stroke, NIH, Bethesda, Maryland 20892.
2. Facultad de Medicina y Hospital Universitario "Dr. José E. González" Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL), Monterrey, Nuevo León, C.P. 64460, México.
3. Department of Immunology and Infectious Diseases, Harvard School of Public Health, Boston, Massachusetts 02115.

Correspondencia: J Roberto Trujillo, MD, PhD.

National Institute for Neurological Disorders and Stroke, National Institutes of Health. 36 Convent Drive, Bldg 36, Room 5W21. Bethesda, MD 20892. Tel (301) 496 1788, Fax (301) 594 5799  
E-mail: trujillr@ninds.nih.gov

## INTRODUCCIÓN: NEUROEPIDEMIOLOGÍA DEL VIH-1/SIDA

El virus de la inmunodeficiencia adquirida (VIH) afecta todos los sistemas del cuerpo humano y el sistema nervioso es afectado desde el inicio de la infección del VIH-1. Las complicaciones neurológicas se manifiestan muy frecuentemente en el curso natural del VIH/SIDA. Aproximadamente de 30 a 60% de pacientes con SIDA presentan síntomas neurológicos y en más de 80% se pueden encontrar anomalías neuropatológicas en la autopsia.<sup>1-3</sup> En una pandemia de más de 50 millones de infectados por el VIH-1, aproximadamente más de 30 millones de personas infectadas por este virus a nivel mundial presentan o presentaron complicaciones neurológicas durante el curso de su enfermedad. En México, por ejemplo, en el primer estudio que reportamos, se observó que más de 30% de la población con SIDA presentó complicaciones neurológicas,<sup>4</sup> las cuales solamente han sido descritas en pacientes infectados con el subtipo B del VIH-1.<sup>5</sup>

Las complicaciones neurológicas generalmente se dividen en 2 tipos: Las complicaciones primarias o directas del VIH y las complicaciones indirectas o secundarias a infecciones oportunistas y neoplasias. Las complicaciones directas o primarias incluyen: el complejo demencial de SIDA (CDS), la mielopatía vacuolar, la meningitis aséptica, la neuropatía periférica y la miopatía. Frecuentemente los pacientes con SIDA presentan múltiples patologías o enfermedades coexistentes al mismo tiempo.<sup>6</sup>

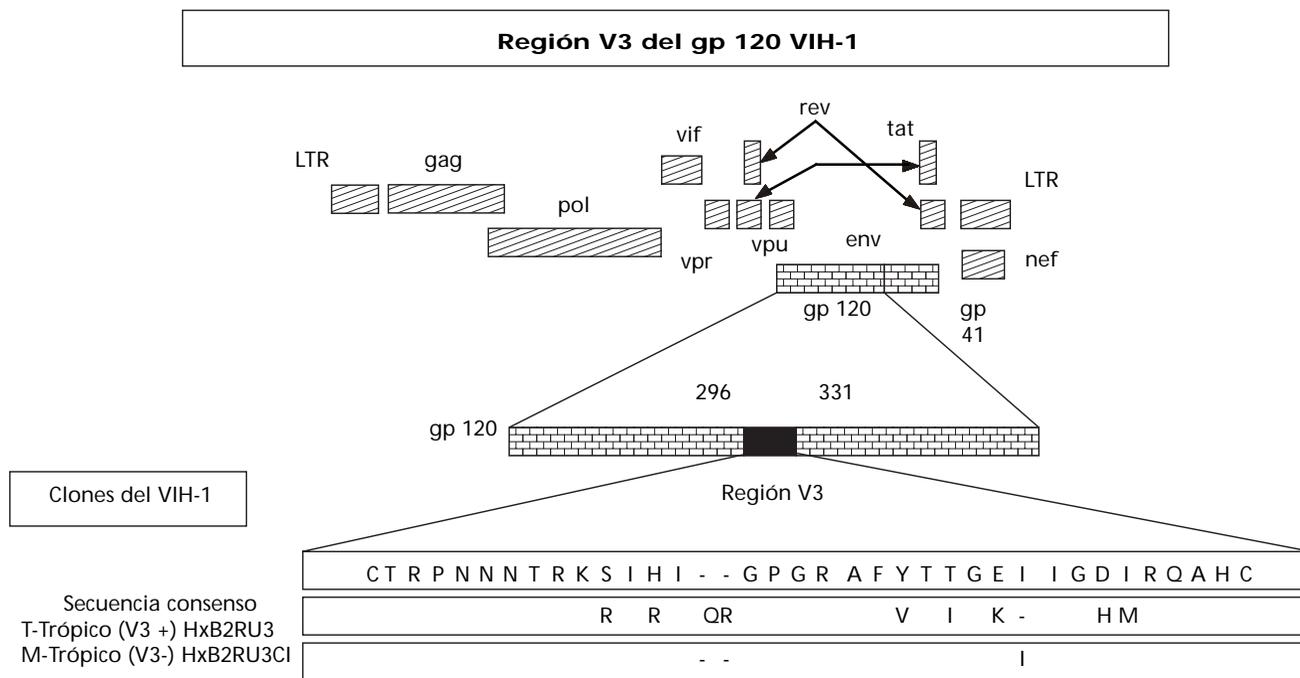
El complejo demencial de SIDA es la complicación más común del VIH-1.<sup>1,2</sup> Aproximadamente entre 40 a 60% de pacientes con SIDA padecen CDS o encefalitis del VIH, y de 3 a 10% de los pacientes presentan el CDS como primer síntoma o manifestación neurológica.<sup>7</sup> En los estudios realizados en México, el CDS se presentó en 32.5% de los pacientes con SIDA, siendo ésta la complicación neurológica de presentación más común<sup>4</sup> y en 80% de los pacientes afectados los síntomas progresan rápidamente.<sup>8</sup> El uso actual de los medicamentos antirretrovirales, particularmente el AZT, ha disminuido la severidad y la frecuencia de presentación del CDS.<sup>9</sup> Los mecanismos específicos para la patogénesis del CDS no están muy claros. Los datos actuales sugieren que el VIH-1 puede inducir degeneración y disfunción neurológica por mecanismos indirectos más que por la infección directa del VIH-1 con lisis de células neuronales.

El propósito de esta revisión es describir las bases moleculares del VIH-1 y su tropismo en el sistema nervioso, especialmente el papel de la región V3 de la glicoproteína gp120 del VIH-1 y el papel de los co-receptores celulares del sistema nervioso.

## BIOLOGÍA MOLECULAR DE LA REGIÓN V3 DEL VIH-1 GP120

El VIH-1 es el agente causal del SIDA; es un virus RNA, miembro de la familia *retroviridae*, cuya organización genética es compleja (Figura 1). Además de los genes estructurales gag, pol y env encontrados en todos los retrovirus, el VIH-1 contiene genes que codifican para proteínas reguladoras como: rev (regulador de la proteína estructural del virión), tat (transactivador) y nef (factor regulador negativo); y genes que codifican para proteínas las cuales se creen involucradas en la maduración y liberación del virus: vif (factor de infectividad del virión), vpu (proteína viral U) y vpr (proteína viral R). Basados en el parentesco de las secuencias de nucleótidos y en la diversidad vista entre casos aislados de VIH-1 de personas de diferentes países, una clasificación del VIH-1 en subtipos ha sido diseñada. Dichos subtipos, designados de la A a la K, tienen secuencias de genes en la envoltura que varían un 20% o más entre los subtipos.<sup>10</sup> En la actualidad se han estudiado generalmente las complicaciones neurológicas asociadas al subtipo B.

El gen env del VIH-1 codifica a un precursor glicoproteico gp160, el cual es dividido intracelularmente al gp120 maduro y a moléculas del gp41.<sup>11,12</sup> La proteína gp120 de la envoltura tiene una estructura secundaria compleja estabilizada por enlaces bisulfuro entre residuos conservados de cisteína. Extensa variabilidad se concentra en cinco áreas discretas del gp120, denominadas V1 a V5, las cuales se encuentran esparcidas entre cinco regiones conservadas, denominadas C1 a C5.<sup>13-15</sup> La región V3 es la tercera área variable de la proteína gp120 y ha sido el centro de atención en la investigación del SIDA. Está formada por un puente bisulfuro entre los residuos de Cis 301 y 336<sup>16</sup> (Figura 1). Aunque la mayoría de los aminoácidos de la región V3 son variables entre las diferentes cepas del VIH-1, la secuencia Gli-Pro-Gli-Arg en la punta de la región se ha visto altamente conservada entre casos aislados de Europa y Norteamérica.<sup>17</sup> Varios estudios también han demostrado que el área neutralizante principal (PND) del VIH-1 se encuentra dentro de la región V3. Esta región en la punta, altamente conservada, forma un sitio de unión para anticuerpos que pueden inhibir la fusión del VIH-1 con células y, por lo tanto, bloquear la infección por el VIH-1. La región V3 ha sido identificada como un área de fusión,<sup>18</sup> y un anticuerpo anti-V3 por sí solo puede prevenir la infección *in vitro*.<sup>19</sup> Además, un anticuerpo anti V3 pudo proveer protección en 2 chimpancés infectados por el VIH-1.<sup>20</sup> La región V3 también regula el tropismo de las células blanco CD4 positivas y negativas.<sup>21</sup>



**Figura 1. Representación esquemática de la región V3 del gp120 del VIH.** La región V3 comprende los residuos de cisterna 296 a la cisterna 331. El virus quimérico HxB2RU3, es el clono molecular que representa la región V3 con cargas positivas y confiere tropismo a los astrocitos y los linfocitos CD4 (virus T-trópico). El virus quimérico HxB2RU3C1 es un clono molecular que representa la región V3 con cargas negativas y confiere tropismo a los macrófagos y a las células de la microglia (virus M-trópico).

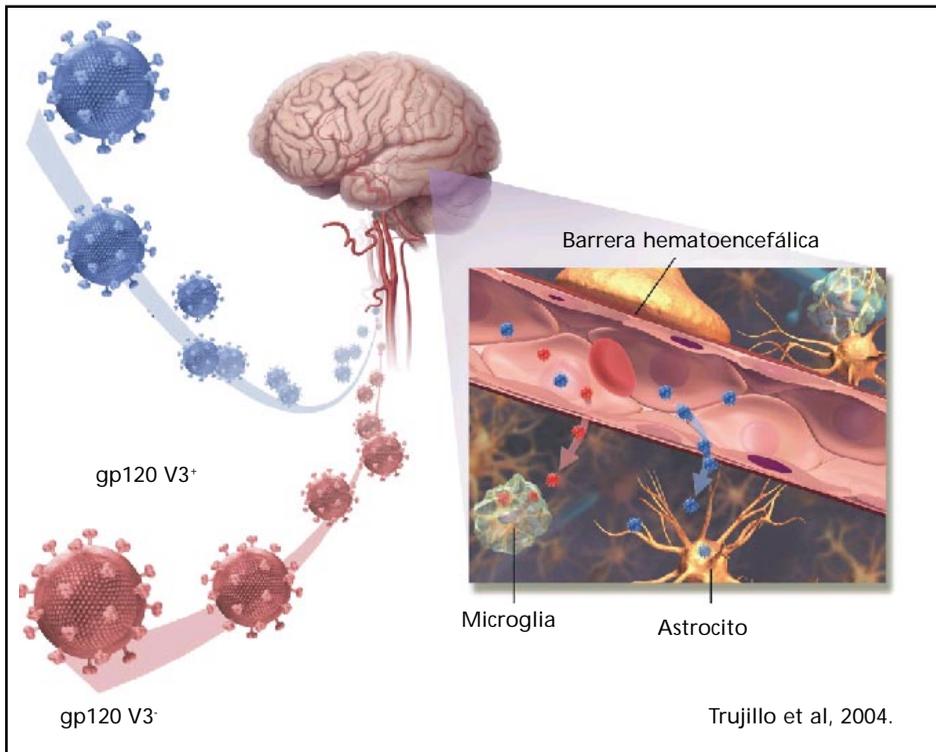
## REGULACIÓN DEL NEUROTROPISMO DEL VIH-1

La selectividad de las cepas del VIH-1 para los diferentes tipos celulares es regulada por interacciones virales entre los receptores celulares y la envoltura viral. La infección por VIH-1 de los linfocitos T cooperadores (virus T-trópicos) y monocitos/macrófagos (virus M-trópicos) requiere la presencia de un receptor CD4.<sup>22,23</sup> Además, algunos miembros de la familia de receptores quimiocinéticos son utilizados en combinación con el CD4 para la entrada del VIH-1 en las células blanco. El VIH-1 T-trópico utiliza el receptor CXCR4 como un co-receptor,<sup>24</sup> mientras que el VIH-1 M-trópico utiliza el CCR5 y CCR3 como co-receptores.<sup>25-30</sup> Los virus con tropismo de células T tienden a tener más residuos con cargas positivas, particularmente en ciertas posiciones de la región V3, mientras que los virus con tropismo de macrófagos tienden a tener residuos negativamente cargados en la región V3, incluyendo la tal llamada secuencia consenso V3<sup>21</sup>(Figura 1).

De manera adicional, el VIH-1 también infecta células que no expresan CD4, como las células gliales del cerebro, células neuronales y de la retina, células endoteliales de los capilares cerebrales, fibroblastos de la piel humana, líneas celulares fibroblastoides derivadas de músculo y hueso, células trofoblásticas humanas, células dendríticas foliculares, células epiteliales colónicas, células adrenales fetales, y células carcinomatosas del hígado hu-

mano.<sup>31-40</sup> En nuestro laboratorio en la Universidad de Harvard descubrimos que los virus con tropismo de células T con residuos de cargas positivas en la región V3, parecen regular el tropismo de las neuronas CD4 negativas y de las células epiteliales colonicas<sup>21,41</sup>(Figura 1).

La entrada del VIH-1 es el primer paso en la neuropatogénesis del VIH-1. Se ha demostrado que la infección por VIH-1 de la microglia es regulada por el virus M-trópico, a través de los co-receptores CCR5 y CCR3<sup>26</sup> y a su vez ha sido asociado con la encefalitis inflamatoria del VIH-1. Esta clase de demencias asociadas al virus M-trópico se presenta generalmente en los estadios tardíos del curso natural de la enfermedad. Por otra parte, el tráfico dentro del sistema nervioso de linfocitos infectados por el VIH-1 y los virus T-trópico es un fenómeno común que ocurre en los pacientes con SIDA. Sin embargo, se desconoce el efecto o la infección en células del sistema nervioso afectadas por estos virus T-trópicos. Varios estudios han demostrado la infección de astrocitos por el VIH-1 es estudios *in vitro* e *in vivo*. Recientemente, demostramos con estudios de clones moleculares e infección de virus quiméricos que los residuos con cargas positivas en la región V3 del gp120 del VIH-1 regulan en tropismo astrocitario.<sup>42</sup> Paralelamente, esta región es la misma que regula el tropismo de los linfocitos CD4. El fenotipo de este virus está asociado a la encefalopatía del VIH-1, la cual se presenta al principio de



**Figura 2. Modelo del neurotropismo del VIH-1.** La entrada del VIH-1 es el primer paso en la neuropatogénesis del VIH-1. Los virus T-trópicos con cargas positivas en la región V3 y los virus M-trópicos con residuos negativamente cargados en la región V3 ingresan de la periferia al sistema nervioso. El virus M-trópico infecta a las células de la microglía y es regulado a través de los co-receptores CCR5 y CCR3. El virus M-trópico está asociado con la encefalitis inflamatoria del VIH-1. El virus T-trópico infecta los astrocitos, parcialmente por el CXCR4 y está asociado con la encefalopatía del VIH.

la enfermedad y generalmente es más severa en su presentación clínica. Sin embargo, esta forma severa ha disminuido después de la introducción de terapia antirretroviral.<sup>9</sup>

En resumen, la región del V3 del VIH-1 regula el tropismo de las células de origen neuronal y fagocitario del sistema nervioso central. Por lo tanto, postulamos un modelo de neurotropismo molecular del VIH-1 (Figura 2), en el cual los virus T-trópicos infectan a los astrocitos, parcialmente a través del co-receptor CXCR4 y está asociado a su vez con la encefalopatía severa del VIH. Por otra parte, el virus M-trópico infecta a las células de la microglía y es regulado a través de los co-receptores CCR5 y CCR3. El virus M-trópico está asociado con la encefalitis inflamatoria del VIH-1.

### CONCLUSIONES Y PERSPECTIVAS

Nuestros resultados indican que la región V3 del VIH-1 gp120 es un determinante esencial del "virus neurotrópico". El virus de cargas positivas en la región V3 es el principal determinante en la infección de las neuronas y astrocitos que se observa en los pacientes con encefalopatía por VIH-1.

A pesar de los grandes adelantos en la caracterización de la biología molecular, sobre el VIH en el sistema nervioso, y la descripción neurológica del SIDA, solamente hemos estudiado una porción pequeña de la pandemia del VIH. Al dispersarse el VIH en los diferentes continentes, la diversidad genética del virus se incrementa. En Estados Unidos,

Latinoamérica y el continente europeo, el VIH principal de la epidemia del SIDA es el subtipo B. Globalmente, la infección por este subtipo B sólo ocurre entre 10 a 20%. La región Sub-Sahara del África es la región del mundo más afectada por el SIDA, y el número de personas infectadas sigue incrementándose.<sup>43</sup> A finales del año 2004, se estima más de 26 millones de personas de la región Sub-Sahara vivirán con el VIH. El subtipo de VIH más común en esta región de África es el C. Por lo tanto, es de suma importancia el estudio de VIH-1 subtipo C en el sistema nervioso. Estudios colaborativos entre los autores (Dres. Max Essex y J. Roberto Trujillo) sobre la caracterización molecular del VIH-1 tipo C están actualmente en progreso en la República de Botswana, África.

Es muy importante tener modelos celulares del sistema nervioso para el estudio molecular del VIH. Recientemente, en el Laboratorio de Medicina Molecular y Neurociencias, con el Dr. Eugene Major, descubrimos un modelo celular para la producción de VIH. Este modelo de células gliales inmortales, llamado SVG ofrece muchas ventajas: 1) son células humanas de origen glial, 2) crecen en cultivos del laboratorio indefinidamente, 3) no son células cancerígenas, y 4) la producción activa de VIH-1 (Trujillo *et al*, resultados no publicados). Este fenotipo se realizó por la inserción de la proteína T del virus SV40.<sup>44</sup> En conclusión, las colaboraciones científicas son críticas para los avances en el estudio de la epidemia del SIDA. El SIDA es quizás la epidemia viral

más importante que la humanidad ha presentado en su historia. Por lo tanto, la búsqueda de una vacuna terapéutica y/o profiláctica y el control de las enfermedades neurológicas son los retos críticos del futuro.

## AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a Donald Bliss y Lydia Ki-  
biuk por el diseño gráfico.

## REFERENCIAS

1. Navia BA, Jordan BD, Price RW. The AIDS dementia complex I, clinical features. *Ann Neurol* 1986; 19: 517-24.
2. Navia BA, Cho ES, Petit CK, Price RW. The AIDS dementia complex II. Neuropathology. *Ann Neurol* 1986; 19: 525-35.
3. Ho DD, Bredesen DE, Vinters HV, Daar ES. AIDS Dementia Complex. *Ann Int Med* 1989; 111(5): 400-10.
4. Trujillo JR, Garcia-Ramos G, Novak IS, Rivera VM, Huerta E, Essex M. Neurological manifestations of AIDS: a comparative study of two populations from Mexico and the US. *J AIDS and Hum Retrov* 1995; 8: 23-9.
5. Rivera-Morales LG, Novitsky VA, Trujillo JR, Lavalle C, Cano C, Ramos JE, Flores L, Lopez P, Vannberg F, Tamez R, Rodriguez C, Essex M. HIV-1 Subtype B is a predominant AIDS virus in Mexico. *AIDS Res Hum Retrovirus* 2001; 17: 87-92.
6. Gildenberg PL, Langford L, Kim JH, Trujillo JR. Stereotactic biopsy in cerebral lesions of AIDS. *Acta Neurochirurgica* 1993; 58[Suppl]: 68-70.
7. Janssen RS, Nwyanuwu OC, Silik RM, Stehr-Green JK. Epidemiology of HIV-1 Encephalopathy in the United States. *Neurology* 1992; 42: 1472-6.
8. Price RW, Sidtis JJ, Navia BA, Pumarola S, Ornitz DB. The AIDS dementia complex. In: Rosenblum ML, Levy RM, Bredesen DE (Eds.). *AIDS and the nervous system*. New York: Raven Press; 1988, chapter 10.
9. Richman DD. HIV chemotherapy. *Nature* 2001; 401: 995-1001.
10. Levy JA. *HIV and the pathogenesis of AIDS*. 2nd. Ed. Washington, D.C.: ASM Press; 1998.
11. Allan JS, Coligan JE, Barin F, McLane MF, Sodroski JG, Rosen CA, Haseltine WA, Lee TH, Essex M. Major glycoprotein antigens that induced antibodies in AIDS patients are encoded by HTLV-III. *Science* 1985; 228: 1091-4.
12. Robey WG, Satai B, Oroszian S, Arthur LO, Onda MA, Gallo RC, Fischinger PJ. Characterization of envelope and core structural gene products of HTLV-III with sera from AIDS patients. *Science* 1985; 228: 593-5.
13. Willey RL, Rutledge RA, Dias S, Folks T, Theodore TS, Martin MA. Functional interaction of constant and variable domains of human immunodeficiency virus type 1 gp120. *J Virol* 1989; 83: 3595-600.
14. Modrow S, Hahn BE, Shaw GM, Gallo RC, Wong-Staal F, Wolf H. Computer-assistance analysis of envelope protein sequences of seven human immunodeficiency virus isolates: Prediction of antigen epitopes in conserved and variable regions. *J Virol* 1987; 61: 570-8.
15. Leonard CK, Spellman MW, Riddle L, Hartris RJ, Thomas JN, Gregory TJ. Assignment of intrachain disulfide bonds and characterization of potential glycosylation sites of the type 1 recombinant human immunodeficiency virus envelope glycoprotein (gp120) expressed in Chinese hamster ovary cells. *J Biol Chem* 1990; 265: 10373-82.
16. LaRosa GJ, Davide JP, Weinhold K, Waterbury JA, Profy AT, Lewis JA, Langlois AJ, Dreesman GR, Boswell RN, Shaddock P. 1990. Conserved sequences and structural elements in the HIV principal neutralizing determinant. *Science* 1990; 249: 932-5.
17. Foley B, and Korber B, in *Human Retroviruses and AIDS 1995*. Myers G, Hahn BH, Mellors JW, Henderson LE, Korber B, Jeang KT, McCutchan FE, Pavlakis GN (Eds.). Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New México, p. III77-150.
18. Freed EO, Myers DS, Risser R. Identification of the principal neutralizing determinant of human immunodeficiency virus type 1 as a fusion domain. *J Virol* 1992; 65: 190-4.
19. Skinner MA, Langlois AJ, McDanal CB, McDougal JS, Bolognesi DP, Matthews TJ. Neutralizing antibodies to an immunodominant envelope sequence do not prevent gp120 binding to CD4. *J. Virol* 1988; 62: 4195-200.
20. Emini EA, Schleif WA, Nunberg JH, Conley AJ, Eda Y, Tokiyoshi S, Putney SD, Matsushita S, Cobb KE, Jett CM, Eichberg JW, Murphy KK. Prevention of HIV-1 infection in chimpanzees by gp120 V3 domain-specific monoclonal antibody. *Nature* 1992; 355: 728-30.
21. Trujillo JR, Wang WK, Essex M, Lee TH. Identification of envelope V3 loop as a determinant of CD4-negative neuronal cell tropism for HIV-1. *Virology* 1996; 217: 613-7.
22. Klatzmann D, Champagne D, Chamaret S, Gruest J, Guetard D, Hercend T, Gluckman J, Montagnier L. T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984; 312: 767-8.
23. Maddon P, Dalgleish A, McDougal J, Clapham P, Weiss R, Axel R. The T4 gene encodes the AIDS virus receptor and is expressed in the immune system and the brain. *Cell* 1986; 47: 333-48.
24. Feng Y, Broder C, Kennedy P, Berger E. HIV-1 entry cofactor: Functional cDNA cloning of a seven-transmembrane, G protein-couple receptor. *Science* 1996; 272: 872-7.
25. Alkhatib G, Combadiere C, Broder C, Feng Y, Kennedy P, Murphy P, Berger E. CC CK5: A Rantes, MIP-1a, MIP-1b receptor as a fusion cofactor for macrophage-tropic HIV-1. *Science* 1996; 272: 1955-8.
26. Choe H, Farzan M, Sun Y, Sullivan N, Rollins R, Ponath P, Wu L, Mackay C, LaRosa G, Newman W, Gerard N, Gerard C, Sodroski J. The b-chemokine receptors CCR3 and CCR5 facilitate infection by primary HIV-1 isolates. *Cell* 1996; 85: 1135-48.
27. Deng H, Liu R, Ellmeir W, Choe S, Unutmaz D, Burkhardt M, Di Marzio P, Marmon S, Hill C, Davis C, Peiper C, Schall T, Littman D, Landau N. Identification of a major co-receptor for primary isolates of HIV-1. *Nature* 1996; 381: 661-6.
28. Doranz B, Rucker J, Smyth J, Samson M, Peiper S, Parmetier M, Collman, Doms R. A dual-tropic HIV-1 isolate that uses fusin and the b-chemokine receptors CKR-5, CKR-3 and CKR-2b as fusion factors. *Cell* 1996; 85: 1149-58.
29. Dragic T, Litwin V, Allaway G, Martin S, Huang Y, Nagashima K, Cayanan C, Maddon P, Koup R, Moore J, Paxton W. HIV-

- 1 entry into CD4+ cells is mediated by a chemokine receptor CC-CKR-5. *Nature* 1996; 381: 667-73.
30. He J, Chen Y, Farzan M, Choe H, Ohagen A, Gartner S, Busciglio J, Yang X, Hofmann W, Newman W, Mackay C, Sodroski J, Gabuzda D. CCR3 and CCR5 are co-receptors for HIV-1 infection of microglia. *Nature* 1997; 385: 645-9.
31. Cheng-Mayer C, Rutka J, Rosenblum M, McHugh T, Stites D, Levy J. HIV can productively infect cultured human glial cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1987; 84: 3526-30.
32. Harouse J, Kunsch C, Hartle H, Laughlin M, Hoxie J, Wigdahl B, Gonzalez-Scarano F. CD4-independent infection of human neural cells by human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1989; 63: 2527-33.
33. Li X, Moudgil T, Vinters H, Ho D. CD-4 independent, productive infection of a neural cell line by HIV-1. *J Virol* 1990; 64: 1383-7.
34. Tateno M, Gonzalez-Scarano F, Levy J. The human immunodeficiency virus can infect CD-negative human fibroblastoid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 1989; 86: 4287-90.
35. Clapham P, Wenek J, Whitby D, McIntosh K, Dalgleish A, Maddon P, Deen K, Sweet R, Weiss R. Soluble CD4 blocks the infectivity of diverse strains of HIV-1 and SIV for T cells and monocytes but not for brain and muscle cells. *Nature* 1989; 337: 368-70.
36. Zachar V, Spire B, Hirsch I, Chermann J, Ebbesen P. Human transformed trophoblast-derived cells lacking CD4 receptor exhibit restricted permissiveness for human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1991; 65: 2102-7.
37. Stahmer I, Zimmer J, Ernst M, Fenner T, Finnern R, Schmitz H, Flad H, Gerdes J. Isolation of normal human follicular dendritic cells and CD4-independent in vitro infection by human immunodeficiency virus (HIV-1). *Eur J Immunol* 1991; 21: 1873-8.
38. Yahi N, Baghdiguian S, Morea H, Fantini J. Galactosyl ceramide (or a closely related molecule) is the receptor for human immunodeficiency virus type 1 on human colon epithelial HT29 cells. *J Virol* 1992; 66: 4848-54.
39. Barboza A, Castro B, Whalen M, Moore C, Parkin J, Miller W, Gonzalez-Scarano F, Levy J. Infection of cultured human adrenal cells by different strains of HIV-1. *AIDS* 1992; 12: 1437-43.
40. Cao Y, Friedman-Kien A, Huang Y, Li X, Mirabile M, Moudgil T, Zucker-Franklin D, Ho D. CD4 independent, productive human immunodeficiency virus type 1 infection of hepatoma cell lines in vitro. *J Virol* 1990; 64: 2553-9.
41. Trujillo JR, Goletiani NV, Bosch I, Kendrick C, Rogers R, Trujillo EB, Essex M, Brain JD. The T-Tropic sequence of the V3 loop is critical for HIV-1 infection of CXCR4-positive colonic HT-29 epithelial cells. *JAIDS Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes* 2000; 25: 1-10.
42. Trujillo E, Trujillo JR, Brain JD. The molecular virology of HIV-1 tropism in HIV-1 wasting syndrome and AIDS dementia complex. *Neurology* 1997; 48(Suppl.): 94-5.
43. Piot P, Bartos M, Ghys PD, Walker N, Schwartlander B. The global impact of HIV/AIDS. *Nature* 2001; 401: 968-73.
44. Major EO, Miller AE, Mourrain P, Traub RG, Widt ED, Sever J. Establishment of a line of human glial cells that support JC virus replication. *PNAS* 1985; 82: 1257-61.

