

[文章编号] 1671-587X(2025)03-0831-08

DOI:10.13481/j.1671-587X.20250330

以Tat为靶点的人类免疫缺陷病毒1型潜伏库治疗策略的研究进展

胡浩博, 桓 晨

(吉林大学第一医院艾滋病与病毒研究所, 吉林 长春 130021)

[摘要] 人类免疫缺陷病毒1型(HIV-1)潜伏库是目前治愈获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的主要障碍。反式激活蛋白(Tat)为HIV-1编码的调节蛋白,通过促进HIV-1转录影响潜伏库的建立和激活。以Tat蛋白为靶点的抑制剂通过降低Tat蛋白水平和干扰Tat蛋白的促转录功能抑制病毒反弹。在HIV-1潜伏库治疗的2种策略中,以Tat蛋白抑制剂为基础提出的“阻断和锁定”策略能够靶向HIV-1蛋白或宿主因子,同时干扰组蛋白表观遗传修饰,促使前病毒永久沉默,即使在中断治疗后也能够维持HIV-1潜伏状态。二脱氢皮质抑素A(dCA)、雷公藤甲素和阿帕塔隆衍生物Q308等Tat蛋白相关抑制剂可通过不同机制调控HIV-1潜伏。现就Tat对HIV-1潜伏库的调控作用、以Tat蛋白为靶点的HIV-1潜伏库治疗策略及其相关抑制剂的作用机制进行综述,旨在为HIV-1功能性治愈的药物研究提供参考。

[关键词] 获得性免疫缺陷综合征;反式激活蛋白;人类免疫缺陷病毒1型潜伏库;“阻断和锁定”策略;功能性治愈

[中图分类号] R512.91 **[文献标志码]** A

Research progress in therapeutic strategy of human immunodeficiency virus type 1 latency by targeting Tat

HU Haobo, HUAN Chen

(Institute of Virology and AIDS Research, First Hospital, Jilin University, Changchun 130021, China)

ABSTRACT Human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) latent reservoirs pose the primary obstacle to curing acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Transactivator (Tat), a regulatory protein encoded by HIV-1, influences the establishment and reactivation of latent reservoirs by promoting viral transcription. Inhibitors targeting Tat protein suppress viral rebound by reducing Tat protein levels and disrupting its transcription-promoting functions. Among the two strategies for treating HIV-1 latent reservoirs, the “block-and-lock” strategy, which is based on Tat protein inhibitors, aims to target HIV-1 proteins or host factors while interfering with histone epigenetic modifications, thereby permanently silencing proviral DNA and maintaining HIV-1 latency even after treatment discontinuation. Tat-related

[收稿日期] 2024-03-15 **[录用日期]** 2024-05-11

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(82372239);吉林省科技厅自然科学基金项目(20210101300JC);吉林省科技厅分子病毒学重点实验室项目(20102209)

[作者简介] 胡浩博(1999-),男,辽宁省阜新市人,在读硕士研究生,主要从事病毒与宿主相互关系方面的研究。

[通信作者] 桓 晨,副教授,硕士研究生导师(E-mail: lmsxsm@jlu.edu.cn)

©《吉林大学学报(医学版)》编辑部,开放获取遵循CC BY-NC-ND协议。

© Editorial Board of Journal of Jilin University (Medicine Edition). Open access under CC BY-NC-ND license.

inhibitors such as didehydrocortistatin A (dCA), triptolide, and apalutamide-derived Q308 regulate HIV-1 latency through distinct mechanisms. This review summarizes the regulatory roles of Tat in HIV-1 latency, Tat protein inhibitor-based therapeutic strategies for targeting latent reservoirs, and the mechanisms of action of related inhibitors, with the goal of providing insights for the development of drugs toward achieving functional HIV-1 cure.

KEYWORDS Acquired immunodeficiency syndrome; Transactivator; HIV-1 latent reservoir; “Block-and-lock” strategy; Functional cure

人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 起源于非洲黑猩猩非人灵长类动物猿类免疫缺陷病毒, 于1983年被首次发现并成功分离^[1]。其中, HIV-1是全球流行的主要毒株。HIV-1最初感染人体免疫细胞, 并逐渐破坏整个免疫系统, 最终发展为获得性免疫缺陷综合征 (acquired immune deficiency syndrome, AIDS)。当HIV-1感染宿主细胞时, 病毒基因组整合到宿主基因组中形成潜伏库, HIV-1潜伏库是AIDS难以治愈的主要原因^[2]。反式激活蛋白 (transactivator, Tat) 是HIV-1编码的调节蛋白, 是HIV-1复制所必需的病毒蛋白, 在调控HIV-1转录、潜伏和病毒反弹方面发挥关键作用^[3]。Tat蛋白与HIV-1转录起始和延伸有关的长末端重复序列 (long terminal repeat, LTR) 结合, 通过增强HIV-1转录促进潜伏库激活, Tat蛋白表达不足则抑制转录, 进而维持HIV-1潜伏状态^[4]。

目前, 联合抗逆转录病毒疗法 (combination antiretroviral therapy, cART) 是AIDS的主要治疗方法之一。cART使用核苷逆转录酶抑制剂、蛋白酶抑制剂和整合酶抑制剂等药物联合作用, 同时针对HIV-1生命周期的不同阶段, 有效抑制感染者体内HIV-1复制, 降低病毒载量并恢复整体免疫功能, 明显提高感染者的存活率^[5]。但由于HIV-1潜伏库的存在, cART治疗并不能将患者体内病毒彻底清除, 一旦停止给药, 这种稳定的潜伏库可在数周内重新被激活, 感染者需要终身治疗以维持对HIV-1的抑制^[6]。因此, 清除或沉默潜伏库是HIV-1治疗策略的重点。随着对HIV-1潜伏库形成和维持机制的深入研究, 现已提出多种针对HIV-1潜伏库的治疗方案, 主要分为“激活和杀伤”策略和“阻断和锁定”策略^[7]。研究^[7]表明: 通过“激活和杀伤”策略并不能彻底激活并消除HIV-1潜伏库, 为此提出了一种更为可行的策略, 即“阻断和锁定”策略, 利用HIV-1潜伏库的特性抑制其前病毒转录激活, 实现HIV-1长期转录沉默。在

“阻断和锁定”策略中, Tat蛋白被认为是治疗HIV-1的优良靶点, 如Tat蛋白抑制剂二脱氢皮质抑素A (didehydro-Cortistatin A, dCA) 可以在体外和体内维持高稳定性, 长期抑制HIV-1潜伏激活^[8]。以Tat蛋白为靶点的治疗策略的研究对深入了解HIV-1潜伏机制具有重要意义。

1 HIV-1潜伏库形成和维持机制

1.1 HIV-1潜伏库的形成机制 病毒潜伏是单个细胞处于可逆的非生产性感染状态, HIV-1潜伏库形成是病毒逃避机体免疫识别和持续存活的重要形式^[9]。HIV-1感染细胞后, 将基因组RNA释放至宿主的细胞质中, 在逆转录酶的作用下合成双链DNA并被转运进入细胞核。病毒整合酶将其稳定整合至细胞的基因组中形成前病毒后潜伏^[10], 为目前HIV-1潜伏库的主要形成方式, 也是HIV-1基因组能够在感染细胞的生命周期中持续存在的关键原因。随着相关研究的深入, 研究者还提出了建立HIV-1潜伏库的其他模型, 如HIV-1感染CD4+T淋巴细胞, 并随CD4+T淋巴细胞进入到静息G0期状态时而进入潜伏期^[2]。研究^[2]显示: 潜伏库也可以通过HIV-1直接感染静息记忆CD4+T淋巴细胞而建立。相关CD4+T淋巴细胞作为长寿命细胞在机体中分布广泛, 具有较长的半衰期, 可以在静息状态下存活数年, 也是HIV-1潜伏库长期存在的重要因素之一^[11]。

1.2 HIV-1潜伏库的维持机制 HIV-1潜伏库前病毒转录水平低, 不会受到细胞毒性的影响, 也不会被免疫系统所识别, 能够长期稳定存在^[2]。但潜伏库的维持机制十分复杂, 多种因素共同维持HIV-1的低转录状态, 包括转录干扰、核小体Nuc-1的表观遗传修饰和位置迁移、转录因子的抑制、微小RNA (microRNAs, miRNAs) 的过度表达以及HIV-1调节蛋白Tat及调节HIV病毒颗粒蛋白表达的蛋白质 (regulator of expression of viron protein, Rev) 表达不足等^[8, 12-13]。研究^[14]显示: 在HIV-1

潜伏于 U1 细胞中, 前病毒编码的 Tat 蛋白存在基因缺陷, 会损害其再激活能力, 提示 Tat 蛋白活性丧失有利于 HIV-1 转录的长期抑制。

2 HIV-1 潜伏库的治疗策略

目前, 针对 HIV-1 潜伏库的治疗策略主要分为“激活和杀伤”策略和“阻断和锁定”策略, 可用于清除或沉默 HIV-1 潜伏库。

2.1 “激活和杀伤”策略 “激活和杀伤”策略是目前研究最多和临床最为常见的 HIV-1 治疗方法之一, 该策略通过使用潜伏逆转剂 (latency reversing agents, LRAs) 诱导 HIV-1 前病毒转录和病毒粒子产生, 最后由宿主免疫细胞识别或触发病毒细胞病变效应清除感染细胞^[15]。LRAs 是“激活和杀伤”策略的关键, 目前已经发现几十种具有不同功能的逆转剂, 可通过直接或间接方式发挥作用。如组蛋白甲基转移酶抑制剂通过直接去除 HIV-1 DNA 甲基化而激活潜伏库, 蛋白激酶 C 激动剂能够介导天然免疫应答进而间接激活潜伏库^[16-17]。Tat 蛋白是部分 LRAs 发挥激活功能的关键一环。BET 溴结构域抑制剂 JQ1 与 Tat 蛋白协同作用增加 HIV-1 转录, 而毛壳素和双硫仑等 LRAs 则需在 Tat 蛋白存在下有效促进 HIV-1 潜伏库的激活^[18]。但是“激活和杀伤”策略也存在一些问题, 由于 LRAs 作用位点单一和缺乏特异性, 易引发过度炎症反应, 还可能额外激活体内的巨细胞病毒、丙型肝炎病毒和内源性逆转录病毒等潜伏病毒^[19]。因此“激活和杀伤”策略相关临床试验并未达到预期效果。

2.2 “阻断和锁定”策略 鉴于“激活和杀伤”策略的局限性, 目前开发了一种有望实现 HIV-1 功能性治愈的治疗策略——“阻断和锁定”策略。与“激活和杀伤”策略不同, “阻断和锁定”策略通过靶向 HIV-1 前病毒或宿主因子, 沉默 HIV-1 前病毒, 削弱病毒反弹^[7]。即使在停止治疗后, 依然可将 HIV-1 控制在无法检测到的低水平, 从而实现功能性治愈。

在“阻断和锁定”策略中, RNA 干扰 (RNA interference, RNAi) 和常间回文重复序列丛集-常间回文重复序列丛集关联蛋白系统 9 (clustered regularly interspaced short palindromic repeats-associated protein 9, CRISPR-Cas9) 技术通过靶向 HIV-1 的 Tat、Rev 和长末端重复序列 (long terminal repeat, LTR) 等区域, 阻断 HIV-1 的基

因表达, 促进 HIV-1 潜伏^[20-21]。但其递送和脱靶等问题还有待进一步研究。

根据“阻断和锁定”策略开发的一系列小分子化合物称为潜伏促进剂 (latency promoting agents, LPAs), 可通过抑制 HIV-1 蛋白和相关转录因子, 阻断潜伏细胞中 HIV-1 的转录, 维持 HIV-1 潜伏状态^[7]。在不同类型的 LPAs 中, Tat 蛋白抑制剂被认为是具有应用前景的治疗方案。如 dCA 能够特异性结合 Tat 蛋白的反式激活因子 (transactivation response, TAR) 元件, 抑制 HIV-1 转录, 在潜伏细胞系和原代 CD4 T 淋巴细胞中阻断 HIV-1 潜伏库再激活^[22]。即使在 LRAs 刺激下, 潜伏状态也可持续较长时间。小分子化合物 Q308 能够通过促进 Tat 蛋白降解以抑制 HIV-1 转录, 并且对细胞活力无影响^[23]。

以 Tat 蛋白为靶点的抑制剂不仅特异性强, 还能避免脱靶效应并减轻药物不良反应, 能够有效阻断 HIV-1 潜伏库激活。

3 Tat 蛋白在 HIV-1 潜伏库建立和激活中的作用

Tat 蛋白是 HIV-1 编码的一种非结构蛋白, 由 2 个外显子拼接而成, 是 HIV-1 复制周期所必需的调节蛋白^[24]。Tat 蛋白包含酸性 N 末端结构域、半胱氨酸富集结构域、疏水核心结构域、碱性氨基酸富集结构域、谷胱酰胺富集结构域和精氨酸-甘氨酸-天冬氨酸 (Arginine-Glycine-Aspartic Acid, RGD) 序列 6 个结构域^[25]。其中 N 端激活结构域 (包含酸性 N 末端结构域、半胱氨酸富集结构域和疏水核心结构域) 与细胞周期蛋白 CycT1 等多种细胞蛋白相互作用有关, 碱性氨基酸富集结构域对 Tat 蛋白与 TAR 结合、细胞核定位和内化进入旁观者细胞等功能至关重要^[24]。Tat 蛋白招募由 CycT1 和细胞周期蛋白依赖性激酶 9 (cyclin-dependent kinase 9, CDK9) 组成的阳性转录延伸因子 b (positive transcription elongation factor b, P-TEFb), 并形成复合物, 该复合物通过 Tat 蛋白碱性氨基酸富集结构域与 HIV-1 LTR 区的 TAR 相互结合并磷酸化 RNA 聚合酶 II (RNA polymerase II, RNAP II) C 末端结构域, 促进 HIV-1 转录激活^[26]。而当 Tat 蛋白表达不足或其活性受到抑制时, HIV-1 转录受到抑制, 促使 HIV-1 潜伏库建立。

在感染细胞中, HIV-1 潜伏库的激活主要取决于 Tat 蛋白所参与的病毒反馈回路, 而非细胞因子激活^[27]。与细胞因子激活比较, Tat 蛋白对 HIV-1

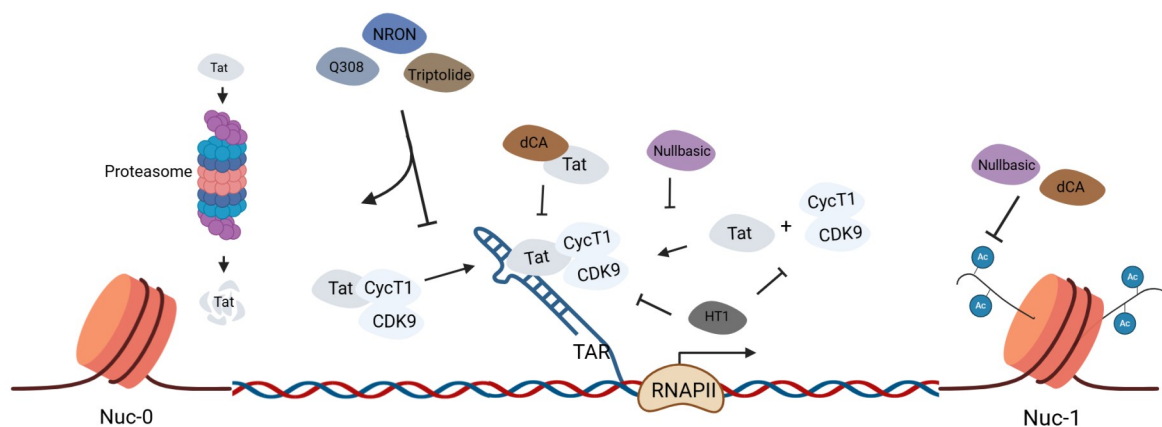
LTR的激活更有效,诱导潜伏库激活效率更加明显。当Tat蛋白表达量足够时,能够促进HIV-1转录起始或延伸,抵消多种与维持HIV-1潜伏库有关的胞内机制^[28]。如Tat蛋白可以促进核因子 κ B(nuclear factor-kappa B, NF- κ B)活性形式P50/P65的核定位,促使其与HIV-1 5'LTR结合并启动转录^[29]。Tat蛋白还能够将组蛋白乙酰转移酶招募至HIV-1 5'LTR上,诱导核结合蛋白1(nucleobindin-1, Nuc-1)组蛋白乙酰化,乙酰化导致染色质松弛,增加转录因子与HIV-1前病毒结合的可能性^[30]。研究^[31]表明:在感染者静息记忆CD4 T淋巴细胞中表达外源性Tat蛋白可以直接激活HIV-1前病毒转录。当Tat蛋白表达不足或失去活性时,RNAP II在转录至TAR后暂停并累积,前病毒无法继续转录产生成熟的RNA转录本,HIV-1转录延伸受到抑制,有利于建立并维持HIV-1潜伏状态^[32]。研究^[33]显示:泛素样含PHD和环指域蛋白1(ubiquitin-like with PHD and RING finger domain 1,

UHRF1)与TAR竞争性结合Tat蛋白,并通过泛素-蛋白酶体途径使其降解,从而抑制HIV-1转录。宿主限制因子核仁蛋白P120(nucleolar protein P120, NOP2)含有RNA甲基转移酶催化结构域,可与Tat蛋白竞争性结合TAR,抑制HIV-1转录并促进其潜伏^[34]。

鉴于Tat蛋白在转录激活中的重要作用,抑制Tat蛋白的表达和活性会阻断HIV-1基于Tat蛋白而建立的正反馈回路,有望实现HIV-1潜伏库的永久性沉默。

4 以Tat蛋白为靶点的“阻断和锁定”策略抑制剂

在HIV-1潜伏库激活前期仅产生少量Tat蛋白,通过反馈回路不断产生新的Tat蛋白和病毒粒子,最终使HIV-1由细胞中爆发并感染相邻的细胞^[35]。抑制Tat蛋白会阻断此种反馈,抑制HIV-1转录和释放。研究人员已经研究了一系列靶向Tat蛋白的抑制剂,可能有助于开发新的抗HIV-1药物。见图1。



Note: dCA hinders the interaction between Tat and TAR by binding Tat; Nullbasic inhibits the trans-activating function of Tat; HT1 inhibit the interaction between Tat and P-TEFb (CycT1 and CDK9); dCA and Nullbasic inhibit the acetylation of Nuc-1 histone; Triptolide, NRON and Q308 induce Tat degradation via the proteasome.

图1 以Tat蛋白为靶点的LPAs作用机制

Fig. 1 Mechanism of LPAs by targeting Tat protein

4.1 Tat蛋白抑制剂dCA抑制Tat蛋白与TAR相互作用和组蛋白乙酰化 皮质抑素A(cortistatins A, CA)是最近被发现的一种天然甾体生物碱,来源于海洋海绵单一皮质^[36]。dCA是CA的一种类似物,通过与Tat蛋白相互作用有效抑制HIV-1转录^[37]。dCA特异性结合Tat蛋白碱性氨基酸富集结构域,将Tat蛋白锁定在更稳定的构象中^[22],阻断了Tat蛋白与TAR的相互作用,进而抑制Tat蛋

白的反式激活能力。研究^[38]显示:长期dCA治疗对HIV-1潜伏库再激活的抑制效果更加明显,在不同功能的LRAs刺激下可维持16d,即使停止dCA治疗血液中病毒载量也在检测线以下。但此种持久性抑制由于外源Tat蛋白表达而恢复,并且dCA对Tat/TAR缺陷潜伏细胞系的HIV-1抑制效果不明显,表明dCA抑制HIV-1转录激活可能与体内Tat蛋白活性丧失有关,其再激活能力受损导致HIV-1

转录水平降低^[39]。dCA 对 Tat 蛋白介导的 HIV-1 潜伏库激活具有特异性和广谱性, 其对不同亚型的 HIV-1 Tat 蛋白和不同细胞系对细胞外 Tat 蛋白的摄取均有抑制作用, 该抑制作用与其他已知配体及其旁系同源物的作用无关^[40-41]。

除通过结合 Tat 蛋白影响病毒自身转录外, dCA 还可调节 HIV-1 5'LTR 上 Nuc-1 的表观遗传修饰^[37]。染色质免疫沉淀 (chromatin immunoprecipitation, ChIP) 实验结果显示: dCA 处理后, OM-10.1 细胞的 5'LTR 与 Nuc-1 结合能力增强, Nuc-1 组蛋白乙酰化水平降低, 阻断了 RNAP II 的募集和转录延伸^[38]。dCA 通过抑制 5'LTR 对 RNAP II 和转录激活因子的募集, 减少 HIV-1 mRNA 合成, 最终减少包括 Tat 蛋白在内的病毒蛋白产生。

dCA 体外和体内稳定性高、具有类似药物的结构和高水溶性易于配制等优点, 是 dCA 作为潜在 Tat 蛋白抑制剂的独特优势^[40]。dCA 对 Tat-TAR 和表观遗传修饰具有双重抑制作用, 尤其是鉴于 Tat-TAR 反馈回路在 HIV-1 转录中的独特作用, 将 dCA 与目前已有的抗病毒药物联合使用, 尽量减少已建立潜伏库大小并使之进入“深度潜伏”状态, 成为“阻断和锁定”策略中实现 HIV-1 功能性治愈的可行性方案。

4.2 Tat 突变体 Nullbasic 抑制 Tat 蛋白与 P-TEFb 相互作用和组蛋白乙酰化 反式显性阴性 (trans-dominant negative, TDN) 蛋白是一种突变体蛋白质, 能够干扰或阻止野生型蛋白质发挥正常功能。2009 年, MEREDITH 等^[42]首次报道了一种 Tat 蛋白的 TDN 突变体 Nullbasic, 其整个碱性氨基酸富集区的氨基酸被甘氨酸和丙氨酸残基取代, 能够与野生型 Tat 蛋白竞争性结合 P-TEFb 以抑制其反式激活。研究^[43]显示: 在构建的稳定表达 Nullbasic 的 J-Lat 6.3 细胞中, HIV-1 的潜伏不能被 LRAs 重新激活, 表明 Nullbasic 可使细胞中 HIV-1 前病毒维持在潜伏状态。

Nullbasic 还能够影响 HIV-1 5'LTR 上 Nuc-1 的表观遗传修饰。Nullbasic 通过抑制其组蛋白乙酰化, 降低 RNAP II 在 Nuc-1 的占有率, 抑制 5'LTR 与 RNAP II 的结合, 抑制 HIV-1 转录^[43]。Nullbasic 对 TZM-bl 细胞系和原代 CD4 T 淋巴细胞中不同 HIV-1 亚型的复制均有抑制作用^[44]。Nullbasic 还能够抑制 HIV-1 逆转录和 Rev 介导的病毒 mRNA 转

运等, 对 HIV-1 生命周期的多重抑制进行有效结合, 有望成为 HIV-1 功能性治愈的候选药物^[45]。

4.3 HIV-1 转录嵌合抑制剂 HT1 竞争性结合 TAR 和 P-TEFb 在细胞中 P-TEFb 的活性受六亚甲基双乙酰胺诱导蛋白 1 (hexamethylene bisacetamide-inducible protein 1, HEXIM1) / 7SK 小核 RNA (7SK small nuclear RNP, 7SK snRNA) 核糖核蛋白复合物的调节, HEXIM1 及其旁系同源物 HEXIM2 通过将 CycT1 募集至 7SK snRNA 以抑制 P-TEFb 活性^[46]。Tat 蛋白可将 P-TEFb 由 7SK snRNA (与 HEXIM1 结合并使之失活) 中置换出来, 并将其转移至 TAR 中发挥作用。

LEOZ 等^[47]将 HEXIM1 的精氨酸富集基序 (arginine rich motif, ARM) 结构域和抑制性结构域 (inhibitory domain, ID) 与 Tat 蛋白的激活结构域 (activation domain, AD) 结构域结合, 设计出一种 HIV-1 转录嵌合抑制剂 HEXIM1(150-220)-Tat (称为 HT1), 能够与 Tat 蛋白竞争性结合 TAR 和 P-TEFb, 抑制 HIV-1 5'LTR 转录。在 HIV-1 感染细胞系模型中, HT1 抑制 HIV-1 感染, 但并不会损害宿主的基因表达和细胞生长。在 HIV-1 潜伏型细胞系模型中, HT1 抑制潜伏逆转剂佛波醇 12-十四酸酯 13-乙酯 (phorbol 12-myristate 13-acetate, PMA) 刺激的病毒再激活^[47]。HT1 与“阻断和锁定”策略的观点相契合, 是 HIV-1 潜伏库潜在的功能性抑制剂。

4.4 中药提取物雷公藤甲素诱导 Tat 蛋白降解

雷公藤甲素是由传统中草药雷公藤中提纯的二萜三氧化物, 已用于治疗多种炎症和自身免疫性疾病, 对乳腺癌、前列腺癌和头颈癌等均有抑制作用^[48]。雷公藤甲素还可通过抑制 RNA 聚合酶的活性影响基因组转录和翻译。如转录因子 III B (transcription factor III B, TF III B) 复合物介导 RNAP III 的转录, 该复合物由 TATA 结合蛋白 (TATA-binding protein, TBP)、B 相关因子 1 (B-related factor 1, Brf1) 和 B 双引物 1 (B double prime 1, Bdp1) 组成。雷公藤甲素通过阻断 TBP 与 Brf1 间的相互作用, 破坏 TF III B 形成抑制 RNAP III 转录^[49]。

研究^[50]表明: 雷公藤甲素可作为一种新的 HIV-1 抑制剂, 降低 Tat 蛋白的稳定性进而抑制 HIV-1 复制。在雷公藤甲素作用下, HeLa 细胞来源的 TZM-bl 细胞和感染不同 HIV-1 毒株的人外周

血细胞,其病毒复制水平均受到抑制,病毒释放水平降低89%以上,且雷公藤甲素的抑制效果强于肿瘤坏死因子 α (tumor necrosis factor- α , TNF- α)对TZM-bl细胞中荧光素酶的激活效果^[50]。雷公藤甲素通过靶向Tat蛋白并增强其蛋白酶体降解,实现对HIV-1转录的抑制,该降解需要Tat蛋白的酸性N末端结构域参与,并且可被蛋白酶体抑制剂MG132完全恢复。

4.5 长链非编码RNA (long non-coding RNA, lncRNA)非编码抑制剂活化T细胞核因子[non-coding repressor of (nuclear factor of activated T cells, NFAT), NRON]诱导Tat蛋白降解

lncRNA是非编码RNA的一种,参与基因转录、转录后调节和信号转导等多种细胞进程^[51]。LI等^[52]发现:lncRNA NRON与泛素/蛋白酶体系统中的Cullin 4B (Cul4B)和蛋白酶体亚基D11 (proteasome subunit D11, PSMD11)结合,诱导Tat蛋白降解以抑制HIV-1转录。在HIV-1感染者静息CD4 T淋巴细胞中,随着HIV-1 RNA表达,内源性NRON表达水平降低,而高剂量的NRON可防止细胞中Tat蛋白积累,从而充当HIV-1潜伏库激活的屏障。

4.6 Q308诱导Tat蛋白降解 2021年,ZHOU等^[23]报道了一种阿帕塔隆的衍生物——Q308,可有效抑制潜伏HIV-1再激活,可能被开发为抗HIV-1药物。Q308对HIV-1的抑制作用已在J-Lat 10.6潜伏细胞系中被证实,与其他小分子化合物比较,Q308将PMA诱导的HIV-1潜伏激活水平由65.0%降低至6.5%,几乎消除PMA诱导的潜伏再激活。实验进一步证实Q308可通过增强病毒Tat蛋白酶体降解和抑制可促进染色质转录 (facilitated chromatin transcription, FACT)复合物的活性,可有效抑制潜伏HIV-1潜伏库再激活。FACT是一种由结构特异性识别蛋白1 (structure-specific recognition protein 1, SSRP1)和Ty16抑制因子 (uppressor of Ty 16 homolog, SUPT16H)组成的异二聚体组蛋白伴侣,是体外RNAP II通过核小体延伸转录物所必需的一种蛋白质^[53]。Q308还可优先诱导HIV-1潜伏细胞凋亡以抑制病毒反弹^[23]。上述结果支持了Q308在HIV-1功能性治愈策略的作用,并有望被开发为抗HIV-1药物。

以Tat为靶点的相关抑制剂的特异性更强且抑制范围更广泛,通过不同机制抑制HIV-1复制和潜

伏库激活,以Tat蛋白为靶点的HIV-1潜伏库治疗策略具有潜在优势,有望实现HIV-1感染者的功能性治愈。

5 总结与展望

抗逆转录病毒治疗并不能明显减少HIV-1潜伏库,治疗中断后导致病毒快速反弹,潜伏库的存在导致HIV-1无法彻底治愈。针对HIV-1潜伏库,研究者提出了“阻断和锁定”策略和“激活和杀伤”策略,相比于“激活和杀伤”策略,新提出的“阻断和锁定”策略在治疗方面具有更大的潜力,其不仅影响HIV-1的复制能力,还影响潜伏库再激活进程,在理想情况下,无cART治疗也可实现HIV-1长期控制^[7]。因此,开发一种可使HIV-1潜伏库处于永久“深度潜伏”状态的抑制剂,将是实现功能性治愈的重要一步。

近年来,随着对Tat蛋白作用机制的深入研究,发现Tat蛋白不仅是HIV-1复制的重要因子,其对HIV-1潜伏库建立和再激活过程也有较大影响,当Tat蛋白表达不足时有助于潜伏库的建立。研究者也致力于寻找能够降解Tat蛋白或抑制Tat蛋白功能的化合物,以实现HIV-1的长期抑制。如天然提取物dCA、雷公藤甲素和小分子化合物Q308等都具有促使HIV-1长期抑制的潜力。但目前Tat蛋白功能性抑制剂存在一些问题,如雷公藤甲素可能会影响机体总mRNA转录水平和HIV-1对dCA的耐药性等,提示单一的治疗策略往往难以奏效,联合治疗策略可能成为未来的研究趋势^[3]。以Tat蛋白为靶点的研究为HIV-1治疗领域带来了新的希望,随着技术的不断进步和研究的不断深入,有望开发更多具有高效和低毒性的Tat蛋白抑制剂,为HIV-1的治疗提供更多选择。

利益冲突声明:

所有作者声明不存在利益冲突。

作者贡献声明:

胡浩博参与文献查阅、整理和论文撰写,桓晨参与论文选题、修改和审阅。

[参考文献]

- [1] VAN HEUVEL Y, SCHATZ S, ROSENGARTEN J F, et al. Infectious RNA: human immunodeficiency virus (HIV) biology, therapeutic intervention, and the quest for a vaccine[J]. *Toxins (Basel)*, 2022, 14(2): 138.
- [2] CHEN J, ZHOU T, ZHANG Y, et al. The reservoir of

- latent HIV[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2022, 12: 945956.
- [3] JIN H P, LI D S, LIN M H, et al. Tat-based therapies as an adjuvant for an HIV-1 functional cure[J]. *Viruses*, 2020, 12(4): 415.
- [4] KAMORI D, UENO T. HIV-1 tat and viral latency: what we can learn from naturally occurring sequence variations[J]. *Front Microbiol*, 2017, 8: 80.
- [5] PAU A K, GEORGE J M. Antiretroviral therapy: current drugs[J]. *Infect Dis Clin North Am*, 2014, 28(3): 371-402.
- [6] GARCÍA F, PLANA M, VIDAL C, et al. Dynamics of viral load rebound and immunological changes after stopping effective antiretroviral therapy [J]. *AIDS*, 1999, 13(11): F79-F86.
- [7] VANSANT G, BRUGGEMANS A, JANSSENS J, et al. Block-and-lock strategies to cure HIV infection[J]. *Viruses*, 2020, 12(1): 84.
- [8] LI C, MOUSSEAU G, VALENTE S T. Tat inhibition by didehydro-Cortistatin A promotes heterochromatin formation at the HIV-1 long terminal repeat[J]. *Epigenetics Chromatin*, 2019, 12(1): 23.
- [9] SILICIANO R F, GREENE W C. HIV latency [J]. *Cold Spring Harb Perspect Med*, 2011, 1(1): a007096.
- [10] GARCÍA M, BUZÓN M J, BENITO J M, et al. Peering into the HIV reservoir [J]. *Rev Med Virol*, 2018, 28(4): e1981.
- [11] KO A, KANG G B, HATTLER J B, et al. Macrophages but not astrocytes harbor HIV DNA in the brains of HIV-1-infected aviremic individuals on suppressive antiretroviral therapy [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2019, 14(1): 110-119.
- [12] CASTRO-GONZALEZ S, COLOMER-LLUCH M, SERRA-MORENO R. Barriers for HIV cure: the latent reservoir[J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2018, 34(9): 739-759.
- [13] POMERANTZ R J, SESHAMMA T, TRONO D. Efficient replication of human immunodeficiency virus type 1 requires a threshold level of rev: potential implications for latency[J]. *J Virol*, 1992, 66(3): 1809-1813.
- [14] 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]. *J Virol*, 1998, 72(2): 1666-1670.
- [15] DEEKS S G. HIV: shock and kill[J]. *Nature*, 2012, 487(7408): 439-440.
- [16] BOUCHAT S, GATOT J S, KABEYA K, et al. Histone methyltransferase inhibitors induce HIV-1 recovery in resting CD4+ T cells from HIV-1-infected HAART-treated patients[J]. *AIDS*, 2012, 26(12): 1473-1482.
- [17] QI X H, KOYA Y, SAITOH T, et al. Efficient induction of HIV-1 replication in latently infected cells through contact with CD4+ T cells: involvement of NF-kappaB activation[J]. *Virology*, 2007, 361(2): 325-334.
- [18] KHOURY G, MOTA T M, LI S, et al. HIV latency reversing agents act through Tat post translational modifications[J]. *Retrovirology*, 2018, 15(1): 36.
- [19] GALLO R C. Shock and kill with caution[J]. *Science*, 2016, 354(6309): 177-178.
- [20] SCARBOROUGH R J, GATIGNOL A. RNA interference therapies for an HIV-1 functional cure [J]. *Viruses*, 2017, 10(1): 8.
- [21] XIAO Q Q, GUO D Y, CHEN S L. Application of CRISPR/Cas9-based gene editing in HIV-1/AIDS therapy[J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2019, 9: 69.
- [22] MEDIOUNI S, CHINTHALAPUDI K, EKKA M K, et al. Didehydro-cortistatin A inhibits HIV-1 by specifically binding to the unstructured basic region of tat[J]. *mBio*, 2019, 10(1): e02662-18.
- [23] ZHOU C L, HUANG Y F, LI Y B, et al. A new small-molecule compound, Q308, silences latent HIV-1 provirus by suppressing tat- and FACT-mediated transcription [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2021, 65(12): e0047021.
- [24] CAFARO A, SCHIETROMA I, SERNICOLA L, et al. Role of HIV-1 tat protein interactions with host receptors in HIV infection and pathogenesis [J]. *Int J Mol Sci*, 2024, 25(3): 1704.
- [25] AJASIN D, EUGENIN E A. HIV-1 tat: role in bystander toxicity [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 61.
- [26] ASAMITSU K, FUJINAGA K, OKAMOTO T. HIV tat/P-TEFb interaction: a potential target for novel anti-HIV therapies[J]. *Molecules*, 2018, 23(4): 933.
- [27] RAZOOKY B S, PAI A, AULL K, et al. A hardwired HIV latency program[J]. *Cell*, 2015, 160(5): 990-1001.
- [28] DONAHUE D A, KUHL B D, SLOAN R D, et al. The viral protein Tat can inhibit the establishment of HIV-1 latency[J]. *J Virol*, 2012, 86(6): 3253-3263.
- [29] DEMARCHI F, D' ADDA DI FAGAGNA F, FALASCHI A, et al. Activation of transcription factor NF-kappaB by the Tat protein of human immunodeficiency virus type 1[J]. *J Virol*, 1996, 70(7):

- 4427-4437.
- [30] TA T M, MALIK S, ANDERSON E M, et al. Insights into persistent HIV-1 infection and functional cure: novel capabilities and strategies [J]. *Front Microbiol*, 2022, 13: 862270.
- [31] LIN X, IRWIN D, KANAZAWA S, et al. Transcriptional profiles of latent human immunodeficiency virus in infected individuals: effects of Tat on the host and reservoir[J]. *J Virol*, 2003, 77(15): 8227-8236.
- [32] ALI A, MISHRA R, KAUR H, et al. HIV-1 Tat: an update on transcriptional and non-transcriptional functions[J]. *Biochimie*, 2021, 190: 24-35.
- [33] LIANG T Z, ZHANG Q, WU Z Y, et al. UHRF1 suppresses HIV-1 transcription and promotes HIV-1 latency by competing with p-TEFb for ubiquitination-proteasomal degradation of tat[J]. *mBio*, 2021, 12(4): e0162521.
- [34] KONG W L, BISWAS A, ZHOU D W, et al. Nucleolar protein NOP2/NSUN1 suppresses HIV-1 transcription and promotes viral latency by competing with Tat for TAR binding and methylation [J]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(3): e1008430.
- [35] LU H S, LI Z C, XUE Y H, et al. Viral-host interactions that control HIV-1 transcriptional elongation[J]. *Chem Rev*, 2013, 113(11): 8567-8582.
- [36] AOKI S, WATANABE Y, SANAGAWA M, et al. Cortistatins A, B, C, and D, anti-angiogenic steroidal alkaloids, from the marine sponge *Corticium simplex*[J]. *J Am Chem Soc*, 2006, 128(10): 3148-3149.
- [37] RICE A P. Unexpected mutations in HIV-1 that confer resistance to the tat inhibitor didehydro-cortistatin A[J]. *mBio*, 2019, 10(4): e01547-19.
- [38] KESSING C F, NIXON C C, LI C, et al. *In vivo* suppression of HIV rebound by didehydro-cortistatin A, a "block-and-lock" strategy for HIV-1 treatment[J]. *Cell Rep*, 2017, 21(3): 600-611.
- [39] MOUSSEAU G, KESSING C F, FROMENTIN R, et al. The tat inhibitor didehydro-cortistatin A prevents HIV-1 reactivation from latency[J]. *mBio*, 2015, 6(4): e00465.
- [40] LI C, MORI L, VALENTE S T. The block-and-lock strategy for human immunodeficiency virus cure: lessons learned from didehydro-cortistatin A [J]. *J Infect Dis*, 2021, 223(12 Suppl 2): 46-53.
- [41] MEDIOUNI S, JABLONSKI J, PARIS J J, et al. Didehydro-cortistatin A inhibits HIV-1 Tat mediated neuroinflammation and prevents potentiation of cocaine reward in Tat transgenic mice[J]. *Curr HIV Res*, 2015, 13(1): 64-79.
- [42] MEREDITH L W, SIVAKUMARAN H, MAJOR L, et al. Potent inhibition of HIV-1 replication by a tat mutant[J]. *PLoS One*, 2009, 4(11): e7769.
- [43] JIN H P, LI D S, SIVAKUMARAN H, et al. Shutdown of HIV-1 transcription in T cells by nullbasic, a mutant tat protein[J]. *mBio*, 2016, 7(4): e00518-16.
- [44] RUSTANTI L, JIN H P, LOR M, et al. A mutant Tat protein inhibits infection of human cells by strains from diverse HIV-1 subtypes[J]. *Virology*, 2017, 14(1): 52.
- [45] LIN M H, SIVAKUMARAN H, JONES A, et al. A HIV-1 Tat mutant protein disrupts HIV-1 Rev function by targeting the DEAD-box RNA helicase DDX1[J]. *Retrovirology*, 2014, 11: 121.
- [46] FRALDI A, VARRONE F, NAPOLITANO G, et al. Inhibition of tat activity by the HEXIM1 protein [J]. *Retrovirology*, 2005, 2: 42.
- [47] LEOZ M, KUKANJA P, LUO Z P, et al. HEXIM1-Tat chimera inhibits HIV-1 replication [J]. *PLoS Pathog*, 2018, 14(11): e1007402.
- [48] LUO H, VONG C T, CHEN H B, et al. Naturally occurring anti-cancer compounds: shining from Chinese herbal medicine[J]. *Chin Med*, 2019, 14: 48.
- [49] LIANG X, XIE R X, SU J F, et al. Inhibition of RNA polymerase III transcription by Triptolide attenuates colorectal tumorigenesis [J]. *J Exp Clin Cancer Res*, 2019, 38(1): 217.
- [50] WAN Z T, CHEN X L. Triptolide inhibits human immunodeficiency virus type 1 replication by promoting proteasomal degradation of Tat protein [J]. *Retrovirology*, 2014, 11: 88.
- [51] HERMAN A B, TSITSIPATIS D, GOROSPE M. Integrated lncRNA function upon genomic and epigenomic regulation[J]. *Mol Cell*, 2022, 82(12): 2252-2266.
- [52] LI J, CHEN C C, MA X C, et al. Long noncoding RNA NRON contributes to HIV-1 latency by specifically inducing tat protein degradation [J]. *Nat Commun*, 2016, 7: 11730.
- [53] JEONG E, MARTINA J A, CONTRERAS P S, et al. The FACT complex facilitates expression of lysosomal and antioxidant genes through binding to TFE8 and TFE3[J]. *Autophagy*, 2022, 18(10): 2333-2349.