DOI：10.12287/j.issn.2096-8965.20240103

蛋白质翻译后修饰调控HIV-1潜伏感染

吴桐，王恬恬，邓凯*

（中山大学中山医学院，广东 广州 510062）

【摘要】艾滋病是一种由人类免疫缺陷病毒（HIV）引起的获得性免疫缺陷综合征。HIV可分为HIV-1型和HIV-2型。HIV-1全球流行，造成严重的危害。尽管抗逆转录病毒联合疗法（cART）的应用可以延长患者寿命，但HIV-1感染目前仍然不能完全治愈。HIV-1感染治愈最主要的障碍就是病毒潜伏库的存在。HIV-1潜伏库可以被定义为一群携带具备复制潜力的HIV-1前病毒的长寿命静息$CD4^+$ T细胞。蛋白质翻译后修饰使得病毒蛋白和宿主细胞蛋白形成了更复杂的相互作用网络。HIV-1潜伏库的形成与调控，也与病毒和宿主蛋白的翻译后修饰密切相关。因此，本文将从病毒蛋白和宿主蛋白翻译后修饰的角度阐述HIV-1潜伏的建立与调控的机制。这将有助于HIV-1治疗新靶点的探索和研发，并有利于实现HIV-1感染的功能性治愈目标。最后，本文还会综述有关以蛋白质翻译后修饰为靶点的HIV-1药物研究进展，为后续HIV-1治疗药物的研发提供思路和启发。

【关键词】人免疫缺陷病毒；翻译后修饰；潜伏调控

中图分类号：R373.9　　**文献标识码**：A　　**文章编号**：2096−8965（2024）01−0028−09

Protein post-translational modification regulates HIV-1 latency

Wu Tong, Wang Tiantian, Deng Kai*

（Sun Yat-sen University Zhongshan School of Medicine, Guangzhou 510062, Guangdong, China）

【**Abstract**】AIDS is a disease named acquired immunodeficiency syndrome, which caused by the human immunodeficiency virus (HIV). HIV can be divided into HIV type 1 (HIV-1) and HIV type 2 (HIV-2). HIV-1 is a global pandemic that has caused serious harm. Although the application of combination antiretroviral therapy (cART) can prolong the life of patients, HIV-1 infection cannot be completely cured at present. The main obstacle to the cure of HIV-1 infection is the existence of the HIV-1 latent reservoir. The HIV-1 latent reservoir can be defined as a population of long-lived resting $CD4^+$ T cells that carry HIV-1 proviruses with the potential to replicate. Post-translational modifications make viral proteins and host cell proteins form a more complex interaction network, and the formation and regulation of HIV-1 latent reservoir are closely related to the post-translational modifications of viral proteins and host cell proteins. Therefore, this paper will explain the mechanism of HIV-1 latency establishment and regulation from the perspective of viral proteins and host cell proteins post-translational modifications. This will help to explore and develop new targets for HIV-1 treatment, and facilitate the realization of the goal of functional cure of HIV-1 infection. Finally, this paper will also review the research progress of HIV-1 medicines which target protein post-translational modifications and may provide

收稿日期：2024-02-06；**修回日期**：2024-03-03

基金项目：国家自然科学基金面上项目（32070159）

通信作者：邓　凯（1983-），男，湖南耒阳人，教授，主要从事病毒免疫学、病毒建立和维持持续性感染的机制及宿主针对持续性病毒感染的免疫应答机理方面研究。E-mail：dengkai6@mail.sysu.edu.cn

insights and inspiration for subsequent medichines development of HIV-1 treatment.

【**Keywords**】Human immunodeficiency virus; Post translational modifications; Regulation of latency

0 前言

人类免疫缺陷病毒（Human Immunodeficiency Virus，HIV）是一种可以影响免疫系统的逆转录病毒[1]，可分为HIV-1型和HIV-2型，其中HIV-1在全球范围内广泛流行，是目前对于人类影响最大的HIV亚型。根据WHO组织统计的数据估计，截至2022年，全球大约有3 900万人感染HIV[2]。在中国，每年新感染HIV的人数也维持在一定水平，截至2022年的统计数据，中国现有的HIV感染者约有122.3万人[3]。HIV-1感染的常见传播方式包括性传播、母婴传播和血液传播。病毒进入人体后，HIV-1利用包膜上的糖蛋白与$CD4^+$ T细胞表面的CD4和趋化因子受体5（CC-Chemokine Receptor，CCR5）相互作用，进而与$CD4^+$ T细胞膜融合，并将其遗传物质释放到细胞中[4]。随后，病毒RNA在宿主细胞质中逆转录形成DNA，并迁移入宿主细胞核，在病毒蛋白的作用下整合进宿主细胞基因组中[4]。然后，宿主细胞开始病毒基因的转录、翻译并产生新的病毒颗粒[4]。这些颗粒被释放到胞外后还能感染其他的$CD4^+$ T细胞，从而使感染循环持续下去。重要的是，HIV-1可以逃避免疫系统反应并建立持续感染[5-6]。HIV-1病毒在最初的急性感染后，许多患者进入临床潜伏期或慢性感染阶段，在此阶段，病毒继续以低水平复制，但个体可能不会出现明显症状[7]。这一阶段可能持续数年，但随着时间的推移，病毒会逐渐损害免疫系统[8-9]。如果不及时治疗，HIV-1感染可导致获得性免疫缺陷综合征（Acquired Immuno Deficiency Syndrome，AIDS），其特征是严重的免疫缺陷[9]。在这个阶段，免疫系统严重受损，患者往往死于其他病原感染或恶性肿瘤等严重疾病。尽管目前抗逆转录病毒联合疗法（combination Antiretroviral Therapy，cART）被广泛的应用，极大延长了HIV-1携带者的寿命，但是接受cART治疗的患者需要终生服药抑制病毒的复制[10]。病毒的突变也常常导致耐药问题的出现。同时社会对于HIV-1携带者仍有偏见，以及艾滋病给社会带来沉重的经济负担。因此，如何治愈HIV-1感染仍然是十分有意义且亟待解决的问题。

HIV-1感染治愈的一大障碍是患者体内HIV-1潜伏库的持续存在。想要实现HIV-1感染的治愈，对于潜伏库的形成与调控机制的深入研究将是至关重要的。HIV-1潜伏库可以被定义为一群长期存在的静息$CD4^+$ T细胞，它们的基因组中整合了具有复制潜力的HIV-1前病毒DNA片段，并在持续的抗逆转录病毒治疗中也能持续存在[11]。关于潜伏库形成的机制十分复杂，但因为病毒潜伏与病毒蛋白转录水平关系密切，并且HIV-1基因组会整合入宿主细胞基因组中，所以总结来说潜伏库的形成与宿主的染色质的抑制状态、DNA甲基化、宿主转录因子入核受限、HIV-1 Tat蛋白表达的抑制、转录干扰、RNA的剪接和输出缺陷，以及组蛋白与非组蛋白的翻译后修饰等方面均有关系[11]。

蛋白质的翻译后修饰（Post Translational Modifications，PTMs）在蛋白表达中引入了巨大的多样性，包括添加化学基团，如甲基化、乙酰化、磷酸化修饰，或者添加多肽，如泛素化修饰。病毒的生活周期完全依赖宿主细胞的代谢，会对宿主细胞进行多方面调控以实现复制过程的关键步骤，其中病毒对于宿主蛋白的PTMs调控就是常见的一方面[10]。因为病毒自身不携带可以用来参与PTMs的元件，所以病毒蛋白的PTMs依赖于宿主细胞内代谢的产物和酶。在过去几年中，病毒与宿主细胞相互作用的分子机制领域已经取得了许多实质性的进展。伴随着新的检测方法投入使用，人们能够更深入地了解入侵病毒对细胞通路的调控和影响，尤其是PTMs鉴定手段的发展有助于了解HIV-1是如何通过蛋白质PTMs调节细胞周期、转录、翻译或抗病毒蛋白的选择性降解，以及在此过程中HIV-1又是如何与宿主相互作用实现潜伏的建立和调控的。

在病毒的整个生活周期中PTMs都起着重要作用。清除患者体内的病毒潜伏库或者彻底沉默病毒潜伏库是功能性治愈HIV-1的手段之一。因此，本文将从蛋白质PTMs的角度描述HIV-1潜伏库的形成及其调控机制。由于PTMs是一个庞大且复杂的体系，本文将聚焦于几种经典的蛋白质翻译后修饰，并主要包括病毒蛋白自身的PTMs以及病毒蛋白对于宿主蛋白的PTMs调控两个方面。这些内容将有助于我们寻找和发现新的治疗HIV-1的靶点，为功能性治愈HIV-1感染提供新的思路。

1 病毒蛋白Tat的PTMs对于潜伏的影响

Tat蛋白是HIV-1编码小核转录激活蛋白，也称为转录反式激活因子[13]。Tat可以与HIV-1前病毒DNA[14]、宿主细胞DNA[15]和病毒RNA结合并影响转录。HIV-1 Tat有86~101个氨基酸，分子量为9~

11 kDa[16]。Tat是逆转录酶合成cDNA后产生的第一个蛋白[17]。它不仅是病毒转录起始所必需的，也是合成全长RNA链所必需的[18]。因此有关潜伏调控的研究大多集中在Tat蛋白中。由于Tat蛋白功能的重要性和与许多AIDS病理成相关性，使HIV-1 Tat蛋白成为开发治疗方法的重要靶点。本部分将聚焦于HIV-1 Tat蛋白的甲基化、乙酰化、泛素化和磷酸化等几个重要的PTMs。

1.1 Tat蛋白的甲基化

甲基化是指从活性甲基化合物上将甲基催化转移到其他化合物的过程。蛋白质的甲基化通过改变目标氨基酸的电荷，从而改变蛋白质的功能。Tat蛋白的52位和53位点的精氨酸可以被蛋白精氨酸甲基转移酶甲基化[19]。蛋白精氨酸甲基转移酶PRMT2可以优先甲基化Tat蛋白52位点的精氨酸残基，抑制其与超延伸络合物的结合，从而导致其功能失活，促进前病毒潜伏期[20]。在体外Tat蛋白的50位和51位的赖氨酸残基可被组蛋白甲基转移酶SETDB1甲基化，降低病毒转录[21]。赖氨酸甲基转移酶KMT7可以在51位点赖氨酸对Tat进行单甲基化。有研究发现，敲除KMT7可以抑制Tat对HIV长末端重复序列（Long Terminal Repeat，LTR）的交互激活但不影响其转录活性。因此，Tat的51位点处赖氨酸甲基化在早期的反式激活周期中是必不可少的[22]。Tat蛋白与赖氨酸甲基转移酶SMYD5之间的相互作用模式也值得关注。无论是否有Tat存在，SMYD5都可以激活HIV-1启动子转录，但是当Tat存在时，SMYD5可以将Tat甲基化并被Tat和USP11共同稳定，使激活作用被放大[23]。

1.2 Tat蛋白的乙酰化

将乙酰基从乙酰辅酶A转移到赖氨酸残基的ε-氨基被称为乙酰化。蛋白质在赖氨酸残基处的乙酰化是一个可逆过程，它中和了赖氨酸的正电荷，从而影响了蛋白质的功能。在转录的初始阶段Tat被p300/CBP乙酰化。在早期转录延伸过程中，Tat的乙酰化通过促进Tat与反式激活区（Trans-Activating Region，TAR）RNA的分离来破坏Tat/TAR/cyclin T1复合物的形成。然后乙酰化的Tat与p300/CBP相关蛋白因子（P300/CBP-Associated Factor，PCAF）一起转移到延长聚合酶上[24-25]。PCAF通过一个称为溴域的保守模块与Tat直接结合。这种相互作用需要50位点的赖氨酸乙酰化。PCAF和TAR RNA相互竞争结合到50位点赖氨酸乙酰化的Tat上，使得Tat从复合物中被释放并重复用于下次的反式激活[25]。

乙酰化和去乙酰化共同作用，将导致HIV-1-Tat蛋白的不同功能。Tat与参与细胞凋亡和细胞周期控制的蛋白p73结合，可阻止Tat在28位点赖氨酸乙酰化[26]。若Tat和p73之间的相互作用丧失，则会诱导宿主细胞凋亡。HIV-1剪接也受Tat乙酰化调节。p32是选择性剪接因子（Alternative-Splicing Factor，ASF）/剪接因子2（Splicing Factor 2，SF-2）的辅助因子，可以与乙酰化Tat结合，导致HIV-1基因组剪接减少[27]，从而产生全长的病毒转录本。

1.3 Tat蛋白的泛素化

泛素是一个由76个氨基酸组成的，高度保守的蛋白质。泛素化是指泛素共价附着在目标蛋白上。细胞蛋白质会通过泛素化靶向降解调节它们的半衰期。核蛋白UHRF1与正转录因子b（positive Transcription Factor b，p-TEFb）竞争，其通过对称Tudor结构域、PHD结构域、SRA结构域和RING结构域与HIV-1 Tat的富含半胱氨酸的基序结合。此外，UHRF1以RING依赖的方式介导Tat蛋白48位赖氨酸相关的泛素化和Tat的蛋白酶体降解，导致Tat/ cyclin T1/CDK9复合物被破坏并造成转录延伸障碍[28]。有研究表明，一个名为NRON的长链非编码RNA可以直接将Tat与包括CUL4B和PSMD11在内的泛素/蛋白酶体组分连接，促进Tat的降解，从而抑制病毒基因转录，促进HIV-1的潜伏[29]。除了细胞蛋白外，病毒蛋白包括Nef、Rev和核衣壳蛋白，也被发现参与调控Tat的泛素化。例如，Nef在细胞质中与Tat相互作用，并通过泛素-蛋白酶体依赖途径促进Tat降解[30]；而Vif蛋白可以通过蛋白激酶B（Protein Kinase B，PKB）信号通路，以去泛素的方式稳定并增加Tat蛋白的水平以促进病毒复制[31]。

1.4 Tat蛋白的磷酸化

磷酸化是一类由蛋白质激酶催化的反应。在反应中蛋白质激酶把ATP的磷酸基团转移至底物蛋白质氨基酸残基上，或者在信号作用下结合GTP。蛋白质磷酸化是调控蛋白质活性和功能最普遍、最基本的PTMs之一。肿瘤抑制因子p53是抑制HIV-1复制的宿主限制性因子之一，p53沉默会导致HIV-1复制增强[32]。有研究表明，HIV-1感染会激活p53，随后诱导蛋白激酶R（Protein Kinase R，PKR）表达，并介导Tat在5个保守的磷酸化位点磷酸化，导致Tat蛋白显著失活[33]。细胞周期蛋白依赖性激酶（Cyclin-Dependent Kinases，CDK）在调控HIV-1转录中起到重要作用，其中CDK家族中的CDK2可以通过磷酸化Tat蛋白，促进HIV-1基因组RNA聚合酶Ⅱ转录的增加[34]。CDK2磷酸化Tat的16位丝氨酸，这种修饰促进Tat与TAR RNA结合。分子

模型进一步表明，Tat蛋白16位丝氨酸的磷酸化会重新排列Tat/CDK9/cyclin T1复合物[35]（见表1）。

表1 Tat蛋白各PTMs修饰位点及其功能

Table 1 The modification sites and functions of PTMs in Tat protein

PTMs名称	修饰位点	功能	参考文献
甲基化	Lys 50	降低病毒转录	[21]
	Lys 51	降低病毒转录，促进病毒感染前期反式激活	[21−22]
	Arg 52	抑制其与超延伸络合物的结合，从而导致其功能失活，促进前病毒潜伏期	[19−20]
	Arg 53	促进病毒潜伏	[19]
乙酰化	Lys 28	促进宿主细胞凋亡	[26]
	Lys 41	招募参与剪接的因子，促进病毒复制	[27]
	Lys 50	加速Tat循环，促进病毒转录，抑制潜伏	[25,27]
	Lys 51	招募参与剪接的因子，促进病毒复制	[27]
泛素化	Lys 48	Tat经蛋白酶体降解，抑制转录，促进潜伏	[28]
磷酸化	Ser 16	促进Tat与TAR RNA结合	[35]
	Thr 23	消除Tat−cyclin T1的相互作用	[33]
	Thr 40	消除Tat−cyclin T1的相互作用，协助Tat核定位	[33]
	Ser 46	协助Tat核定位	[33]
	Ser 62	协助Tat核定位	[33]
	Ser 68	协助Tat核定位	[33]

2 宿主蛋白PTMs对于潜伏的影响

2.1 组蛋白的PTMs

真核生物的DNA被包装在染色质中，核小体是染色质的功能和结构单位。核小体由两个分子组成，每个包含四个核心组蛋白：H2A、H2B、H3和H4[36]。每个组蛋白的氨基末端结构域分布在核小体核心之外，并受到各种类型的翻译后修饰。每个核小体包裹在146 bp的DNA中，DNA以1.65圈超螺旋旋转的形式紧密包裹在八聚体周围[37-38]。核小体通过一个由H1组蛋白稳定的连接体DNA的小片段相互连接。去浓缩的基因组或常染色质与活性转录基因相连，而浓缩的基因组或常染色质则与非活性转录基因相连[37]。染色质的凝聚或去凝聚状态可以通过多种翻译后修饰而改变[38-39]。因此，HIV-1基因组的转录也受到组蛋白翻译后修饰的调控[39]。本部分将聚焦于宿主组蛋白与非组蛋白的甲基化、乙酰化和泛素化等PTMs进行讨论。

2.1.1 组蛋白甲基化

组蛋白甲基化常常与基因沉默相关。研究发现，赖氨酸甲基转移酶SMYD2可以通过组蛋白H4的20位点赖氨酸甲基化在HIV LTR调节HIV-1潜伏期[40]。异质核核糖核蛋白（heterogeneous nuclear Ribonucleoproteins，hnRNPs）家族中的RBMX可以在LTR下游区域与HIV-1前病毒DNA结合，并维持组蛋白H3的9位点赖氨酸三甲基化，导致正向转录因子磷酸化RNA聚合酶Ⅱ的募集受阻，从而阻碍转录延伸[40]。还有研究表明，Tat的表达会诱导H3K27me3，并促进了星形胶质细胞中HIV-1的潜伏期[42]。

2.1.2 组蛋白乙酰化

在病毒转录过程中，Tat会通过招募几种乙酰转移酶，如乙酰转移酶KAT2A/组蛋白乙酰转移酶KAT2B和EP300/CREB结合蛋白CREBBP到5'-LTR来增强转录，并形成核乙酰化体[43]。使用定量染色质免疫沉淀法观察到组蛋白H3和H4上的离散组蛋白区域被乙酰化。在组蛋白乙酰化的同时，Tat还募集了EP300/CREBBP、KAT2B和KAT2A以及转录因子NF-κB来增强转录[44-45]。此外，还有报道发现，NF-κB的P50亚基RelA以及P50/P65复合物被EP300/CREBBP以Tat依赖的方式乙酰化。P50的乙酰化增加了RelA与DNA的结合，这与转录效率的增加相一致[45]。尽管建立和维持HIV-1潜伏的分子机制仍未完全明晰，但是HIV-1启动子区域的染色质重塑以及表观遗传沉默和转录因子结合的调节等关键性事件的发生是病毒基因组进入潜伏所必需的。在大部分情况下，核蛋白的乙酰化可以促使转录机器进入启动子从而直接影响转录活性，而组蛋白的去乙酰化也会明显限制转录因子的结合导致基因的沉默。某些化合物可以抑制赖氨酸去乙酰化酶，导致重新激活HIV-1，使一部分潜伏感染的细胞暴露从而被清除[46-47]。TRIM5α可以通过促进HDAC1的募集来抑制HIV-1基因转录，从而促进HIV-1的潜伏[48]。

2.1.3 组蛋白泛素化

目前HIV-1潜伏相关的组蛋白泛素化报道较少。有报道发现，经过PMA再激活的潜伏细胞中多梳抑制复合物（Polycomb Repressor Complex，PRC）蛋白表达显著下调，随后H3K27甲基化和H2AK119泛素化降低[49]。而在人类嗜T淋巴细胞病毒（Human T-cell Lymphotropic Virus，HTLV）中，Kulkarni等[50]发现HTLV-1的正链转录受细胞p38-MAPK激酶、葡萄糖代谢和组蛋白H2A（H2AK119ub1）的泛素化调控。值得注意的是，H2AK119ub1在潜伏的HTLV-1启动子上富集，并为病毒再激活提供表观遗传屏障。用通用去泛素酶抑制剂PR-619处理可显著增加病毒启动子上的H2AK119ub1，并抑制潜伏期的前病毒再激活[50]。这些发现提供了包括泛素化在内的表观遗传修饰参与病毒潜伏期的线索。

2.2 宿主非组蛋白的PTMs

2.2.1 非组蛋白甲基化

蛋白精氨酸甲基转移酶（Protein Arginine Methyltransferases，PRMTs）可以靶向除组蛋白外的许多底物，并参与转录调控、DNA修复、RNA加工和细胞代谢的相互作用[51-53]。这些非组蛋白底物包括转录因子、RNA剪接因子、结合蛋白和细胞信号转导功能的蛋白[54]。PRMT1可以甲基化Sam68以促进未剪接HIV-1 RNA的输出，PRMT5可以甲基化异质核糖核蛋白A1以促进病毒蛋白合成，这都破坏了HIV-1潜伏状态的维持[55]。

2.2.2 非组蛋白乙酰化

反式作用因子的乙酰化也可以调节HIV-1转录，其靶标包括之前描述的病毒蛋白Tat，以及cyclin T1[56]和NF-κB亚基[57]。cyclin T1乙酰化会触发cyclin T1/CDK9上Hexim1蛋白和7SK小核RNA的解离，并激活p-TEFb的转录活性。如前所述，NF-κB的RelA亚基可诱导乙酰化，但是乙酰化形式的RelA与IκBα的相互作用很弱。乙酰化的RelA随后通过与组蛋白去乙酰化酶HDAC3的特异性相互作用而去乙酰化。这种去乙酰化反应促进了与IκBα的有效结合，并通过染色体区域维持蛋白-1（Chromosomal Region Maintenance-1，CRM-1）依赖途径实现IκBα依赖的复合体核输出。控制了NF-κB转录反应的持续时间，又有助于补充耗尽的潜在NF-κB-IκBα复合物的细胞质池。

2.2.3 非组蛋白泛素化

ELL2、AFF1/4和ENL/AF9组成的细胞超延伸复合物会被Tat招募到启动子上，导致暂停的RNAPⅡ释放[58]。与p-TEFb一样，ELL2对于基础转录和Tat激活的HIV-1转录都是必不可少的。E3泛素连接酶Siah1可以促进ELL2的多泛素化和蛋白酶体降解，导致HIV-1的潜伏[58-59]。

3 针对PTMs靶点的药物研究进展

如果要实现HIV-1的功能性治愈，必须面对的问题是HIV-1潜伏库如何处理。目前有两个主要的研究方向，分别是：抑制HIV-1潜伏库再激活，将HIV-1基因组带入更深层次的沉默；或者全面激活HIV-1潜伏库，在抑制新的子代病毒感染宿主细胞的同时，通过免疫系统清除HIV-1潜伏库[60]。无论是哪一种途径都需要对HIV-1潜伏库的形成和调控有更为全面的认识。蛋白质PTMs与HIV-1潜伏的形成与调控息息相关，PTMs中某些通路也被设计为药物靶点用于HIV-1的治疗。该部分将对以调控PTMs为靶点的HIV-1治疗药物的研发进行综述。由于目前针对促进HIV-1基因表达沉默的研究方向主要以抑制Tat蛋白功能和RNA诱导沉默为主，同时辅助去乙酰化酶和甲基化酶形成强大的基因沉默，针对PTMs的调控涉及较少，因此该部分主要介绍潜伏逆转的药物在PTMs方向的研发现状。

3.1 组蛋白甲基化抑制剂

组蛋白甲基化转移酶（Histone Methyltransferase，HMT）Suv39h1主要参与组蛋白H3的9位点赖氨酸的三甲基化（H3K9me3），导致HIV-1转录的沉默[61]。毛蛋白是一种Suv39h1的抑制剂。其作为减少HIV-1病毒库的药物已经显示出前景，并且已被证明可以使潜伏的HIV-1表达增加25倍[62-63]。毛蛋白和组蛋白去乙酰化酶（Histone Deacetylase，HDAC）抑制剂TSA的联合应用已被证明对HIV-1表达具有很强的协同作用[62]。毛蛋白不会激活T细胞，因此使用时不会引起炎症和相关的细胞毒性作用。然而，精确控制毛蛋白的浓度至关重要，如果使用不当，它可能对非靶细胞产生有害影响[64]。G9α是负责H3K9二甲基化（H3K9me2）的重要酶。BIX-01294是一种G9α的小分子抑制剂，当给小鼠外周给药时，会导致H3K9甲基化降低并激活病毒转录[64-65]。组蛋白甲基化抑制剂在HIV-1感染的治疗中显示出积极的作用。

3.2 组蛋白去乙酰化抑制剂

HDAC的功能是去除组蛋白中赖氨酸残基的乙酰化，可分为Ⅰ-Ⅳ类。组蛋白乙酰转移酶和去乙酰化酶是激活潜伏HIV-1的两种染色质修饰酶，被认为是治疗HIV-1感染的靶点。HDAC可以通过去乙酰化抑制基因表达[66]。HDAC抑制剂通常通过阻断HDAC的催化结构域来干扰HDAC的去乙酰

化酶活性[66-67]，导致组蛋白乙酰化水平增加，克服HDAC的抑制作用，刺激潜伏感染细胞中的病毒转录[68]。HDAC抑制剂可以潜在地用于HIV-1治疗以清除潜伏库[69-70]。

临床试验已经证明了HDAC抑制剂的有效性，如伏立诺他、帕比诺他、罗米地辛和丙戊酸[71]。其中，罗米地辛对I类HDAC表现出最高的效力和特异性[72]，单核细胞的耐药实验证明了减少HIV-1储存库的可能性[68]。在一项使用HIV-1潜伏期体外T细胞模型的研究中，在暴露于40 nM罗米地辛4 h后，观察到细胞HIV-1 RNA的数量增加了6倍[73]。在临床前模型中，HDAC抑制剂MS275已被证明可以成功引起小鼠HDAC活性和促炎细胞因子表达水平的改变[74]。

然而，临床试验已经将罗米地辛与许多严重的心脏不良反应相联系[75]。患者心电图分析显示，不良反应的严重程度主要受药物剂量和给药时间的影响。然而，也有人观察到，长期口服低剂量药物可能会减轻这种毒性[76]。此外，HDAC抑制剂还有许多其他缺点，包括对正常细胞有毒性，导致血小板减少和中性粒细胞减少，以及引起恶心、腹泻和疲劳[77]。此外，HDAC抑制剂治疗HIV-1的有效性受到多种因素的影响[78]。

3.3 溴域和外端结构域抑制剂（Bromodomain and Extra-Terminal Domain inhibitors，BETi）

溴域和外端结构域（Bromodomain and Extra-Terminal Domain，BET）蛋白是表观遗传读取器，在基因表达中起着至关重要的作用[79-81]。四个蛋白家族成员BRD2、BRD3、BRD4和BRDT都包含两个N端溴结构域BD1和BD2，它们可以结合组蛋白上乙酰化赖氨酸残基[81]。BRD4使染色质松弛，并将转录因子、中间复合物和RNA聚合酶Ⅱ招募到活跃的启动子和增强子区域[82-83]。BRD4还能结合p-TEFb，激活转录起始和延伸[84]。在活跃的HIV-1转录过程中，BRD4和Tat会竞争p-TEFb的结合，而p-TEFb的供应有限[85]。在潜伏期，高水平的BRD4与Tat竞争p-TEFb结合，抑制Tat介导的转录反式激活，同时增加基础转录[86-87]。其他BET蛋白在HIV-1表达中的作用尚不明确。然而，BRD2被证明通过向LTR招募抑制复合物，以Tat不依赖的方式促进潜伏期并抑制HIV-1转录[88]。在体外shRNA BRD2敲除实验中，HIV-1再激活与使用BET抑制剂JQ1治疗相当[88]。几种BETi在体外和离体均表现出不同程度的潜伏期逆转[86-87,89-91]。如JQ1和I-BET151等普遍靶向BET蛋白的抑制剂，在体外显示出很强的潜伏期逆转活性，但这些结果尚未转化为无毒浓度下的离体和体内研究[86,89,92]。

3.4 以PTMs为靶点的HIV-1治疗药物展望

HIV-1潜伏库的形成离不开基于PTMs调控的病毒蛋白和宿主蛋白的相互作用网络。而无论是病毒蛋白还是宿主蛋白PTMs的实现完全依赖宿主细胞提供的酶和通过细胞代谢产生的底物。因此，通过调节PTMs相关酶的活性实现PTMs调控，进而实现HIV-1潜伏调控可能是一条可行的途径。但是PTMs在维持正常的宿主细胞功能中也起到至关重要的作用，因此，长期使用针对全身细胞的PTMs调控药物很可能会导致强烈的副作用，在药物开发时需要权衡药物副作用和疗效收益。基于以上问题，有关针对病毒特异性的PTMs的探索是非常必要的。这需要更多的研究支持，包括以下三个方面：病毒蛋白的PTMs位点及功能的确认；与病毒潜伏库建立和调控有关的宿主蛋白的PTMs的探索；宿主细胞内对于蛋白PTMs的偏好性和调控机制。除了对病毒特异性的PTMs探索以外，如果能实现全身作用的PTMs调节药物的靶向递送，也将是一种十分有潜力的治疗策略。在此之前，把以PTMs为靶点的药物应用于“Kick and Kill”策略中或许是一个有效的治疗手段。但是通过调控PTMs实现“Block and Lock”策略似乎仅在感染早期使用更有效果。因为调控PTMs导致的基因沉默在停药后很容易被逆转[93]。因此，或许可以在感染早期使用例如HDAC抑制剂，杀死容易被激活的感染细胞，从而实现更加沉默的潜伏库筛选[94]。

4 总结

治愈HIV-1的一大阻碍就是HIV-1潜伏库的存在，这将导致HIV-1感染持续终生。尽管cART疗法极大延长了患者寿命，但是病毒的突变可能会使cART对于病毒的压制失效，HIV-1患者长期受到社会偏见，并且还给社会造成一定的经济压力，这些都使HIV-1的治愈仍是必须要解决的问题。HIV-1感染过程的整个生活周期都与蛋白质PTMs有紧密的联系。本文聚焦潜伏形成和调控过程的PTMs，并以蛋白质甲基化、乙酰化、磷酸化和泛素化等几个重要的PTMs进行综述，旨在为HIV-1治疗手段的研发提供新的见解。目前以PTMs为靶点的药物研发仍面临着特异性不足、副作用大、效率不高等问题[95]，这都需要对HIV-1潜伏过程中的PTMs有着更深的了解，包括修饰选择的偏好性和PTMs功能的进一步探索。随着组学技术的发展，人们对于HIV-1感染及潜伏过程中的PTMs也将获

得更深的认识，而这些认识都将为HIV-1的治愈提供新的见解和思路。

参考文献

[1] BARRÉ-SINOUSSI F, CHERMANN J C, REY F, et al. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immune deficiency syndrome (AIDS)[J]. Science, 1983, 220(4599): 868-871.

[2] WHO. HIV data and statistics[EB/OL]. (2024-03-06)[2024-01-30]. https://www. who. int / teams / global-hiv-hepatitis-and-stis-programmes/hiv/strategic-information/hiv-data-and-statistics.

[3] 国家疾病预防控制局. 政府信息公开: 京ICP备2023001208号-1[EB/OL]. (2024-01-15)[2024-01-30]. https://www.ndcpa.gov.cn/jbkzzx/c100016/common/list.html.

[4] DEEKS S G, OVERBAUGH J, PHILLIPS A, et al. HIV infection[J]. Nature Reviews Disease Primers, 2015, 1(1): 15035.

[5] WEST A P, SCHARF L, SCHEID J F, et al. Structural insights on the role of antibodies in HIV-1 vaccine and therapy[J]. Cell, 2014, 156(4): 633-648.

[6] LAGUETTE N, SOBHIAN B, CASARTELLI N, et al. SAMHD1 is the dendritic-and myeloid-cell-specific HIV-1 restriction factor counteracted by Vpx[J]. Nature, 2011, 474(7353): 654-657.

[7] KELLEY C F, BARBOUR J D, HECHT F M. The relation between symptoms, viral load, and viral load set point in primary HIV infection[J]. Jaids-Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes, 2007, 45(4): 445-448.

[8] MOIR S, CHUN T W, FAUCI A S. Pathogenic mechanisms of HIV disease[J]. Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease, 2011, 6(1): 223-248.

[9] MELLORS J W, RINALDO C R, GUPTA P, et al. Prognosis in HIV-1 infection predicted by the quantity of virus in plasma[J]. Science, 1996, 272(5265): 1167-1170.

[10] DAVEY R T, BHAT N, YODER C, et al. HIV-1 and T cell dynamics after interruption of highly active antiretroviral therapy (HAART) in patients with a history of sustained viral suppression[J]. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 1999, 96(26): 15109-15114.

[11] SENGUPTA S, SILICIANO R F. Targeting the latent reservoir for HIV-1[J]. Immunity, 2018, 48(5): 872-895.

[12] BUSSIENNE C, MARQUET R, PAILLART J C, et al. Post-translational modifications of retroviral HIV-1 gag precursors: An overview of their biological role[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2021, 22(6): 2871.

[13] JEANG K T, XIAO H, RICH E A. Multifaceted activities of the HIV-1 transactivator of transcription, Tat[J]. Journal of Biological Chemistry, 1999, 274(41): 28837-28840.

[14] EL K A, PIRAS G, ZENSEN R, et al. Transcriptional activation of the integrated chromatin-associated human immunodeficiency virus type 1 promoter[J]. Molecular and Cellular Biology, 1998, 18(5): 2535-2544.

[15] PESSLER F, CRON R Q. Reciprocal regulation of the nuclear factor of activated T cells and HIV-1[J]. Genes and Immunity, 2004, 5(3): 158-167.

[16] ROBERTSON D L, ANDERSON J P, BRADAC J A, et al. HIV-1 nomenclature proposal[J]. Science, 2000, 288(5463): 55-57.

[17] LI W, LI G, STEINER J, et al. Role of Tat protein in HIV neuropathogenesis[J]. Neurotoxicity Research, 2009, 16(3): 205-220.

[18] WONG J K, CAMPBELL G R, SPECTOR S A. Differential induction of interleukin-10 in monocytes by HIV-1 Clade B and Clade C Tat proteins[J]. Journal of Biological Chemistry, 2010, 285(24): 18319-18325.

[19] XIE B, INVERNIZZI C F, RICHARD S, et al. Arginine methylation of the human immunodeficiency virus type 1 Tat protein by PRMT6 negatively affects Tat interactions with both cyclin T1 and the Tat transactivation region[J]. Journal of Virology, 2007, 81(8): 4226-4234.

[20] JIN J X, BAI H, YAN H, et al. PRMT2 promotes HIV-1 latency by preventing nucleolar exit and phase separation of Tat into the super elongation complex[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 7274.

[21] VAN D R, EASLEY R, WU W, et al. Lysine methylation of HIV-1 Tat regulates transcriptional activity of the viral LTR[J]. Retrovirology, 2008, 5: 40.

[22] PAGANS S, KAUDER S E, KAEHLCKE K, et al. The cellular lysine methyltransferase Set7/9-KMT7 binds HIV-1 TAR RNA, monomethylates the viral transactivator Tat, and enhances HIV transcription[J]. Cell Host & Microbe, 2010, 7(3): 234-244.

[23] BOEHM D, LAM V, SCHNOLZER M, et al. The lysine methyltransferase SMYD5 amplifies HIV-1 transcription and is post-transcriptionally upregulated by Tat and USP11[J]. Cell Reports, 2023, 42(3): 112234.

[24] DORR A, KIERMER V, PEDAL A, et al. Transcriptional synergy between Tat and PCAF is dependent on the binding of acetylated Tat to the PCAF bromodomain[J]. EMBO Journal, 2002, 21(11): 2715-2723.

[25] MUJTABA S, HE Y, ZENG L, et al. Structural basis of lysine-acetylated HIV-1 Tat recognition by PCAF bromodomain[J]. Molecular Cell, 2002, 9(3): 575-586.

[26] AMINI S, MAMELI G, DEL V L, et al. p73 interacts with human immunodeficiency virus type 1 Tat in astrocytic cells and prevents its acetylation on lysine 28[J]. Molecular and Cellular Biology, 2005, 25(18): 8126-8138.

[27] BERRO R, KEHN K, DE LA FUENTE C, et al. Acetylated

Tat regulates human immunodeficiency virus type 1 splicing through its interaction with the splicing regulator p32[J]. Journal of Virology, 2006, 80(7): 3189-3204.

[28] 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): e01625-21.

[29] 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]. Nature Communications, 2016, 7(1): 11730.

[30] SUGIYAMA R, NAGANUMA H, NISHITSUJI H, et al. Human immunodeficiency virus-1 Nef suppresses Hsp70-mediated Tat activation[J]. FEBS Letters, 2011, 585(21): 3367-3371.

[31] LATA S, SOOD V, BANERJEA A C. Human immunodeficiency virus type 1 Vif up-regulates the expression of Tat via AKT signaling pathway: Role of ubiquitin specific protease 17[J]. Frontiers In Microbiology, 2022, 13: 828430.

[32] MUKERJEE R, CLAUDIO P P, CHANG J R, et al. Transcriptional regulation of HIV-1 gene expression by p53 [J]. Cell Cycle, 2010, 9(22): 4569-4578.

[33] YOON C H, KIM S Y, BYEON S E, et al. P53-derived host restriction of HIV-1 replication by protein kinase r-mediated Tat phosphorylation and inactivation[J]. Journal of Virology, 2015, 89(8): 4262-4280.

[34] AMMOSOVA T, BERRO R, JEREBTSOVA M, et al. Phosphorylation of HIV-1 Tat by CDK2 in HIV-1 transcription[J]. Retrovirology, 2006, 3: 78.

[35] IVANOV A, LIN X H, AMMOSOVA T, et al. HIV-1 Tat phosphorylation on Ser-16 residue modulates HIV-1 transcription[J]. Retrovirology, 2018, 15: 39.

[36] ROBISON A J, NESTLER E J. Transcriptional and epigenetic mechanisms of addiction[J]. Nature Reviews Neuroscience, 2011, 12(11): 623-637.

[37] TRIPATHY M K, ABBAS W, HERBEIN G. Epigenetic regulation of HIV-1 transcription[J]. Epigenomics, 2011, 3 (4): 487-502.

[38] MORERA L, LÜBBERT M, JUNG M. Targeting histone methyltransferases and demethylases in clinical trials for cancer therapy[J]. Clinical Epigenetics, 2016, 8: 1-16.

[39] VAN LINT C, BOUCHAT S, MARCELLO A. HIV-1 transcription and latency: An update[J]. Retrovirology, 2013, 10: 67.

[40] BOEHM D, JENG M, CAMUS G, et al. SMYD2-mediated histone methylation contributes to HIV-1 latency [J]. Cell Host & Microbe, 2017, 21(5): 569-579.

[41] MA L, JIANG Q A, SUN L, et al. X-linked RNA-binding motif protein modulates HIV-1 infection of $CD4^+$ T cells by maintaining the trimethylation of histone H3 lysine 9 at the downstream region of the 5' long terminal repeat of HIV proviral DNA[J]. MBIO, 2020, 11(2): e03424-19.

[42] LIU Y, NIU Y H, LI L, et al. Tat expression led to increased histone 3 tri-methylation at lysine 27 and contributed to HIV latency in astrocytes through regulation of MeCP2 and Ezh2 expression[J]. Journal of NeuroVirology, 2019, 25(4): 508-519.

[43] BOEHM D, CONRAD R, OTT M. Bromodomain proteins in HIV infection[J]. Viruses, 2013, 5(6): 1571-1586.

[44] LUSIC M. Regulation of HIV-1 gene expression by histone acetylation and factor recruitment at the LTR promoter [J]. The EMBO Journal, 2003, 22(24): 6550-6561.

[45] FURIA B, DENG L W, WU K, et al. Enhancement of nuclear factor - κB acetylation by coactivator p300 and HIV - 1 Tat proteins[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(7): 4973-4980.

[46] QUIVY V, LINT C V. Diversity of acetylation targets and roles in transcriptional regulation: the human immunodeficiency virus type 1 promoter as a model system[J]. Biochemical Pharmacology, 2002, 64(5-6): 925-934.

[47] SHIRAKAWA K, CHAVEZ L, HAKRE S, et al. Reactivation of latent HIV by histone deacetylase inhibitors[J]. Trends in Microbiology, 2013, 21(6): 277-285.

[48] RAN X H, ZHU J W, NI R Z, et al. TRIM5α recruits HDAC1 to p50 and Sp1 and promotes H3K9 deacetylation at the HIV-1 LTR[J]. Nature Communications, 2023, 14(1): 3343.

[49] YOON C H, JANG D H, KIM K C, et al. Disruption of polycomb repressor complex-mediated gene silencing reactivates HIV-1 provirus in latently infected cells[J]. Intervirology, 2014, 57(2): 116-120.

[50] KULKARNI A, TAYLOR G P, KLOSE R J, et al. Histone H2A monoubiquitylation and p38-MAPKs regulateimmediate-early gene-like reactivation of latent retrovirus HTLV-1[J]. JCI Insight, 2018, 3(20): e123196.

[51] GUCCIONE E, RICHARD S. The regulation, functions and clinical relevance of arginine methylation[J]. Nature Reviews Molecular Cell Biology, 2019, 20(10): 642-657.

[52] WU Q, SCHAPIRA M, ARROWSMITH C H, et al. Protein arginine methylation: From enigmatic functions to therapeutic targeting[J]. Nature Reviews Drug Discovery, 2021, 20(7): 509-530.

[53] BROBBEY C, LIU L, YIN S, et al. The role of protein arginine methyltransferases in DNA damage response[J]. International Journal of Molecular Sciences, 2022, 23 (17): 9780.

[54] AL-HAMASHI A A, DIAZ K, HUANG R. Non-histone arginine methylation by protein arginine methyltrans-ferases [J]. Current Protein & Peptide Science, 2020, 21(7): 699-712.

[55] ZHENG K, CHEN S, REN Z, et al. Protein arginine methylation in viral infection and antiviral immunity[J]. Int J Biol Sci, 2023, 19: 5292-5318.

[56] CHO S, SCHROEDER S, KAEHLCKE K, et al. Acetylation of cyclin T1 regulates the equilibrium between active and inactive P-TEFb in cells[J]. EMBO Journal, 2009, 28 (10): 1407-1417.

[57] CHEN L, FISCHLE W, VERDIN E, et al. Duration of nuclear NF-kappaB action regulated by reversible acetylation[J]. Science, 2001, 293(5535): 1653-1657.

[58] SCHULZE-GAHMEN U, HURLEY J H. Structural mechanism for HIV-1 TAR loop recognition by Tat and the super elongation complex[J]. Proceedings of The National Academy of Sciences of The United States of America, 2018, 115(51), 12973-12978.

[59] LIANG T Z, LI G J, LU Y F, et al. The involvement of ubiquitination and SUMOylation in retroviruses infection and latency[J]. Viruses, 2023, 15(4): 985.

[60] MORANGUINHO I, VALENTE S T. Block-And-Lock: New horizons for a cure for HIV-1[J]. Viruses-Basel, 2020, 12(12): 1443.

[61] DU CHÉNÉ I, BASYUK E, LIN Y L, et al. Suv39H1 and HP1 gamma are responsible for chromatin-mediated HIV-1 transcriptional silencing and post-integration latency[J]. EMBO Journal, 2007, 26(2): 424-435.

[62] BERNHARD W, BARRETO K, SAUNDERS A, et al. The Suv39H1 methyltransferase inhibitor chaetocin causes induction of integrated HIV-1 without producing a T cell response[J]. FEBS Letters, 2011, 585(22): 3549-3554.

[63] 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.

[64] ROMBO R, WEIHER H, SCHMIDT-WOLF I G. Effect of chaetocin on renal cell carcinoma cells and cytokine-induced killer cells[J]. German Medical Science: GMS e-Journal 14, 2016, Doc04.

[65] CHASE K A, FEINER B, RAMAKER M J, et al. Examining the effects of the histone methyltransferase inhibitor BIX-01294 on histone modifications and gene expression in both a clinical population and mouse models [J]. PLoS One, 2019, 14 (6): e0216463.

[66] ARCHIN N M, KIRCHHERR J L, SUNG J A, et al. Interval dosing with the HDAC inhibitor vorinostat effectively reverses HIV latency[J]. Journal Of Clinical Investigation, 2017, 127(8): 3126-3135.

[67] GLOZAK M A, SETO E. Histone deacetylases and cancer [J]. Oncogene, 2007, 26(37): 5420-5432.

[68] VANDERGEETEN C, QUIVY V, MOUTSCHEN M, et al. HIV-1 protease inhibitors do not interfere with provirus transcription and host cell apoptosis induced by combined treatment TNF-alpha + TSA[J]. Biochem Pharmacol, 2007, 73(11): 1738-1748.

[69] IVELAND T S, HAGEN L, SHARMA A, et al. HDACi mediate UNG2 depletion, dysregulated genomic uracil and altered expression of oncoproteins and tumor suppressors in B- and T-cell lines[J]. Journal of Translational Medicine, 2020, 18(1): 159.

[70] BOSE P, DAI Y, GRANT S. Histone deacetylase inhibitor (HDACi) mechanisms of action: Emerging insights[J]. Pharmacology & Therapeutics, 2014, 143(3): 323-336.

[71] JENG M Y, ALI I, OTT M. Manipulation of the host protein acetylation network by human immunodeficiency virus type 1[J]. Critical Reviews In Biochemistry And Molecular Biology, 2015, 50(4): 314-325.

[72] BELIAKOVA-BETHELL N, MUKIM A, WHITE C H, et al. Histone deacetylase inhibitors induce complex host responses that contribute to differential potencies of these compounds in HIV reactivation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2019, 294(14): 5576-5589.

[73] MCMAHON D K, ZHENG L, CYKTOR J C, et al. A Phase 1/2 randomized, placebo-controlled trial of romidespin in persons with HIV-1 on suppressive antiretroviral therapy[J]. Journal of Infectious Diseases, 2021, 224(4): 648-656.

[74] ZHANG H, LI X, ZHANG Q, et al. Role of histone deacetylase expression levels and activity in the inflammatory responses of patients with chronic hepatitis B[J]. Molecular Medicine Reports, 2017, 15(5): 2744-2752.

[75] SHAH M H, BINKLEY P, CHAN K, et al. Cardiotoxicity of histone deacetylase inhibitor depsipeptide in patients with metastatic neuroendocrine tumors[J]. Clinical Cancer Research, 2006, 12(13): 3997-4003.

[76] MOLIFE R, FONG P, SCURR M, et al. HDAC inhibitors and cardiac safety[J]. Clinical Cancer Research, 2007, 13 (3): 1068.

[77] BAI M, CUI M, LI M, et al. Discovery of a novel HDACi structure that inhibits the proliferation of ovarian cancer cells in vivo and in vitro[J]. International Journal of Biological Sciences, 2021, 17(13): 3493-3507.

[78] NEWHARD W, PATEL M, CASSADAY J, et al. In vitro pharmacokinetic / pharmacodynamic modeling of HIV latency reversal by novel HDAC inhibitors using an automated platform[J]. SLAS Discovery, 2021, 26(5): 642-654.

[79] WU S Y, CHIANG C M. The double bromodomain-containing chromatin adaptor Brd4 and transcriptional regulation[J]. Journal of Biological Chemistry, 2007, 282 (18): 13141-13145.

[80] ZAWARE N, ZHOU M M. Bromodomain biology and drug discovery[J]. Nature Structural & Molecular Biology, 2019, 26(10): 870-879.

[81] CHEUNG K L, KIM C, ZHOU M M. The functions of BET proteins in gene transcription of biology and diseases

（下转第47页）