

· 综 述 ·

I 型人类免疫缺陷病毒潜伏激活剂的研究进展

张颐娜¹, 梁瑞英¹, 田士军¹, 王 娟^{1,2}, 王春颖³, 霍珊珊^{1,2}, 于 飞^{1,2}

(1. 河北农业大学生命科学学院, 河北 保定 071001; 2. 河北省人畜共患病原微生物分析与防控重点实验室, 河北 保定 071001; 3. 保定市妇幼保健院, 河北 保定 071066)

摘要:艾滋病(AIDS)是由人类免疫缺陷病毒(HIV)引起的获得性机体免疫缺陷综合征。高效抗反转录病毒治疗是目前治疗 AIDS 患者最有效的方法,其虽可降低病人体内病毒载量,但却不能彻底清除病毒。2012 年“shock and kill”治疗策略被提出,该策略利用 HIV 潜伏激活剂(LRA)激活潜伏在 CD4⁺ T 细胞内的 HIV-1 使其暴露,随后通过增强免疫系统或采用抗病毒药物消灭携带有病毒的宿主细胞,从而逐渐清除病毒潜伏库,最终实现艾滋病的功能性治愈。HIV-1 潜伏机制主要有 5 种:表观遗传学调控、转录因子对基因的调控、免疫信号通路的调节、前病毒基因整合位点的影响和微 RNA 的影响。基于 HIV-1 的潜伏机制,目前有潜力作为 LRA 的药物主要包括表观遗传修饰剂、转录因子调节剂和免疫激活剂等。本文对以上几类药物的作用机制、代表性药物以及研究进展进行综述,以期对 LRA 研发提供思路。

关键词:艾滋病; HIV-1 潜伏激活剂; HIV-1 病毒潜伏库

中图分类号:R967, R512.91

文献标志码:A

文章编号:1000-3002-(2023)06-0456-15

DOI: 10.3867/j.issn.1000-3002.2023.06.007

艾滋病(acquired immune deficiency syndrome, AIDS)是一种由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)感染引起的危害性极大的传染病。HIV 可攻击人体的免疫系统,主要感染人体免疫系统中最重要的 CD4⁺ T 淋巴细胞,使人体丧失免疫功能。HIV 可分为 I 型 HIV(HIV-1)和 HIV-2 2 个主要类型。HIV-1 是最常见和最广泛传播的类型,是导致全球 AIDS 疫情的主要病毒株;HIV-2 是一种较罕见的类型,主要在西部非洲地区流行。与 HIV-1 相比,HIV-2 感染的进展速度较慢,病程较长,且对抗逆转录病毒药物的抵抗性较高。AIDS 已成为严重的公共卫生和社会问题,但世界范围内仍缺乏根治 HIV-1 感染的有效药物。现阶段的治疗目标是最大限度和持久抑制患者体内的病毒复制,重建并有效维持患者的免疫功能,降低 HIV-1 感染和非 AIDS 相关疾病的发病率和死亡率。感染早期应用

高效抗逆转录病毒治疗(highly active antiretroviral therapy, HAART)可有效抑制病毒复制,控制病情进展。然而,单纯采取 HAART 不能彻底清除患者体内的 HIV-1,必须终生用药,一旦停药,潜伏病毒库会很快被激活并再度出现新一轮感染。长期用药不仅经济负担重,也面临病毒耐药、变异和药物毒性积累等问题。因此,急需开发新的创新性方案实现 AIDS 的功能性治愈。2012 年,Deeks^[1]首次提出了“shock and kill”策略,该策略利用 HIV-1 潜伏激活剂(latency-reversing agents, LRA)激活病毒潜伏库,然后将 HIV-1 LRA 与 HAART 联合使用,阻止活化病毒进一步感染,并结合增强自身免疫系统或使用抗病毒药物逐渐清除病毒潜伏库,最终实现对 AIDS 的功能性治愈。目前尚无 LRA 或 LRA 组合药物能够彻底激活病毒潜伏库,本文综述 HIV-1 的潜伏机制和各类 LRA 代表性药物及作用机制,以期对 LRA 的研发提供思路。

1 HIV-1 的潜伏机制

HIV-1 属于逆转录 RNA 病毒,其基因组是由 2 个拷贝的单股正链 RNA 组成,它们通过 1 个帽状结构在 5' 端形成二聚体。HIV-1 基因组的两端各有 1 个长末端重复序列(long terminal repeats, LTR),包含启动子、增强子和负调控区。LTR 之间的序列

基金项目:河北省高等学校科学技术研究项目(BJ2018045); 保定市科技计划项目(2172P008)

作者简介:张颐娜,本科生,主要从事生物学研究, E-mail: 626587618@qq.com; 霍珊珊,博士,讲师,主要从事病原微生物学研究; 于 飞,博士,教授,主要从事病原微生物学研究。

通讯作者:于 飞, E-mail: shmyf@hebau.edu.cn; 霍珊珊, E-mail: shmhss@hebau.edu.cn

编码多种蛋白质,包括结构蛋白(Gag, Pol 和 Env)、调节蛋白(Tat, Rev 和 Nef)和辅助蛋白(Vif, Vpr 和 Vpu)^[2]。

早期转录产物主要是多剪接的短转录本,合成 Tat 和 Rev 等多种调控蛋白,是 HIV-1 早期感染的必需的蛋白。长 mRNA 包括未剪接 mRNA 和单剪接 mRNA,未剪接 mRNA 翻译成 Gag 和 Pol 等多种结构蛋白,并可用作子代病毒的基因组,不完全剪接或单剪接 mRNA 翻译成病毒辅助蛋白 Vif, Vpr 和 Vpu 等,均是 HIV-1 感染晚期所必需的蛋白质。在 HAART 研究中,大多数患者的 CD4⁺ T 细胞中只能检测到较少未剪接 mRNA,其中大多都是不完整转录本,表明潜伏感染细胞中的 HIV-1 转录效率较低^[3]。短转录本出现频率较高,而完全转录本和多聚腺苷酸化转录本出现频率较低^[4]。因此, LRA 主要针对提高 HIV-1 的转录水平。

目前 HIV-1 潜伏库的形成与维持的相关分子机制主要有 5 种:① HIV-1 基因表达的表观遗传学调控。HIV-1 基因通过可逆的染色质修饰,如组蛋白甲基化、乙酰化和去乙酰化等,诱导染色质重塑,影响染色体的凝聚状态,并决定转录因子对基因的调控^[5]。HIV-1 的转录起始位点和转录调控序列位于 LTR 区域,转录调控序列是特异性转录因子的识别区域。在静息 CD4⁺ T 细胞中,调控因子与 LTR 结合,通过募集组蛋白去乙酰化酶(histone deacetylase, HDAC)将调控序列中的组蛋白去乙酰化,使其被重塑为一种致密结构,抑制 RNA 聚合酶 II(RNA polymerase II, RNAP II)与启动子的结合,从而阻止 HIV-1 基因的转录起始。同时调控因子还可通过募集组蛋白甲基转移酶(histone methyltransferase, HMT)使调控序列中的组蛋白甲基化,从而导致正常染色体异染色质化,或通过募集 DNA 甲基转移酶(DNA methyltransferase, DNMT)来甲基化 LTR 区域的 CpG 岛,抑制基因转录,促使 HIV-1 潜伏。最终大量凝集的病毒异染色质在 CD4⁺ T 细胞中累积,形成 HIV-1 潜伏库。② T 细胞内活化转录因子对基因的调控。T 细胞核中的活化转录因子与潜伏密切相关。HIV-1 基因转录的启动子位于 5' LTR 上,包含多个转录因子结合位点^[6]。这些转录因子包括 NF- κ B、活化的 T 细胞核因子(nuclear factor of activated T cells, NFAT)、激活蛋白 1(activator protein 1, AP-1)和 Tat 等。静息状态下, NF- κ B 游离在细胞质中与 NF- κ B 抑制蛋白(inhibitor of NF- κ B, I κ B)结合,无法进入细胞核,活化后的 NF- κ B 与 HIV-1 LTR 上的 κ B 元件结合,在

HIV-1 基因的转录中起关键作用。此外,正性转录延伸因子 b(positive transcription elongation factor b, P-TEFb)可被 Tat 招募到 HIV-1 基因的启动子,通过解旋调控序列并推动磷酸化的 RNAP II 向前移动来促进病毒基因的转录。静息 CD4⁺ T 细胞中仅存在少量活化转录因子,是形成 HIV-1 潜伏的主要因素。③ 免疫信号通路的调节。通过激活 CD4⁺ T 细胞中的免疫信号通路如 Janus 激酶/信号转导和转录激活子(janus kinase/signal transducers and activators of transcription, JAK/STAT)通路,可同时起到激活潜伏病毒和免疫治疗的作用。部分 LRA 既能激活潜伏的 HIV-1,又能增强细胞的免疫功能,从而提高感染细胞的病毒清除率。Toll 样受体(Toll like receptor, TLR)激活剂既可逆转 HIV-1 的潜伏状态,又可导致树突状细胞(dendritic cells, DC)成熟、自然杀伤(natural killer, NK)细胞活化、抗原呈递效率提高和适应性免疫应答增强^[7]。④ 前病毒基因整合位点的影响。研究发现,前病毒基因大多整合在活化的 mRNA 内含子中^[8]。若前病毒基因整合到宿主染色体的异染色质区或基因间隔区,其染色质环境不利于 HIV-1 基因转录,则易发生潜伏。⑤ 微 RNA(microRNA, miRNA)对 HIV-1 基因表达的影响。miRNA 是一种小的单链非编码 RNA,通过与 Nef 基因或 HIV-1 mRNA 的 3' 端相互作用来阻碍 HIV-1 基因转录,抑制其基因表达,促进其潜伏^[9]。

2 HIV-1 潜伏激活剂

HIV-1 LRA 主要包括以下 3 类 10 种:① 表观遗传修饰剂,包括 HDAC 抑制剂、DNMT 抑制剂和 HMT 抑制剂;② 转录因子调节剂,包括蛋白激酶 C(protein kinase C, PKC)激活剂、P-TEFb 激活剂、溴结构域和超末端结构域(bromodomain and extra terminal domain, BET)抑制剂、第二线粒体源胱天蛋白酶激活物(second mitochondria-derived activator of caspases, SMAC)类似物;③ 免疫激活剂,包括 TLR 激活剂、细胞因子(cytokine, CK)和免疫检查点(immune checkpoint, IC)抑制剂等。HIV-1 潜伏激活剂的分类、代表性化合物及其作用机制见表 1,代表性化合物结构见图 1。

2.1 HDAC 抑制剂

HDAC 是一类与表观遗传修饰相关的蛋白酶,对染色体的结构修饰和基因表达调控发挥重要作用。HDAC 可使组蛋白去乙酰化,使带正电荷的组

表 1 HIV-1 潜伏激活剂的分类、代表性化合物及其作用机制

分类	名称	作用机制	参考文献
HDAC 抑制剂	帕比司他(panobinostat)	广谱性 HDAC 抑制剂	[10–14]
	林立司他(vorinostat)	I 型和 II 型 HDAC 抑制剂	[15–16]
	曲古抑菌素 A(trichostatin A)	I 型和 II 型 HDAC 抑制剂	[17–20]
	恩替司他(entinostat)	选择性抑制 I 型 HDAC	[11,21]
	罗米地辛(romidepsin)	选择性抑制 I 型 HDAC	[22–23]
	吉维司他(givinostat)	主要选择性抑制 I 型 HDAC	[10,20,24–25]
PKC 激活剂	prostratin	激活 NF-κB 信号通路	[26–30]
	勃利抑素 1(bryostatin-1)	Nef 与 Tat 介导的 LTR 反式激活	[31–35]
	EK-16A	激活 NF-κB 信号通路,并上调 P-TEFb	[36]
P-TEFb 直接激活剂	六亚甲基二乙酰胺(HMBA)	诱导释放出有活性的 P-TEFb 和 BRD4	[37–40]
P-TEFb 间接激活剂 (BET 抑制剂)	JQ1	特异性的 BET 抑制剂,抑制 BRD4	[41–45]
	OTX-015	通过促进 CDK9 磷酸化,增加 P-TEFb 对 LTR 的募集	[46]
DNMT 抑制剂	地西他滨(decitabine)	阻止 DNMT 与 DNA 结合,抑制其转甲基功能	[47–50]
HMT 抑制剂	毛壳素(chaetocin)	组蛋白甲基转移酶 SUV39H1 的抑制剂	[51–53]
	BIX-01294	特异性抑制 G9a(H ₃ K ₉ me2)	[52,54]
TLR 激活剂	维沙莫德(vesatolimod)	TLR7 激动剂	[55–57]
	来非莫德(lefitolimod)	TLR9 激动剂	[58–59]
CK	白细胞介素 7(IL-7)	参与 JAK/STAT 途径来激活潜伏的病毒	[60]
	N-803	IL-15 超激动剂	[61–64]
SMAC 类似物	AZD5582	激活非经典 NF-κB 信号通路	[65]
IC 抑制剂	纳武单抗(nivolumab)	一种 PD-1 抑制剂	[66–69]
	伊匹木单抗(ipilimumab)	一种 CTLA-4 抑制剂	[70–73]
其他	双硫仑(disulfiram)	耗尽 PTEN 激活 PI3K/Akt 信号通路	[74]

HDAC: 组蛋白去乙酰化酶; PKC: 蛋白激酶 C; P-TEFb: 正性转录延伸因子 b; BET: 溴结构域和超末端结构域; DNMT: DNA 甲基转移酶; HMT: 组蛋白甲基化转移酶; TLR: Toll 样受体; CK: 细胞因子; SMAC: 第二个线粒体源胱天蛋白酶激活物; IC: 免疫检查点; Nef: 负调节因子; Tat: 转录激活因子; LTR: 长末端重复序列; BRD4: 溴结构域蛋白 4; CDK: 细胞周期蛋白激酶; JAK/STAT: Janus 激酶/信号转导和转录激活因子; PD-1: 程序性死亡受体 1; CTLA-4: 细胞毒性 T 淋巴细胞相关抗原 4; PTEN: 磷酸酶和张力蛋白同源物; PI3K: 磷脂酰肌醇 3 激酶; Akt: 蛋白激酶 B。

蛋白与带负电荷的 DNA 紧密结合,染色质呈致密卷曲状态,基因的转录受到抑制。一般情况下,组蛋白的乙酰化有利于 DNA 与组蛋白八聚体的解离,核小体结构松弛,从而使各种转录因子和协同转录因子能与 DNA 结合位点特异性结合,激活基因的转录。在细胞核内,组蛋白乙酰化与去乙酰化过程处于动态平衡,并由组蛋白乙酰化转移酶(histone acetyltransferase, HAT)和 HDAC 共同调控。HAT 将乙酰辅酶 A 的乙酰基转移到组蛋白 N 端特定的赖氨酸残基上。HDAC 有 HDAC I ~IV 4 种类型,其中 I 类 HDAC 在 HIV-1 潜伏中起重要作用^[75]。选

择性 HDAC 抑制剂可能只激活部分病毒潜伏库,而不会彻底激活 CD4⁺ T 细胞中的潜伏病毒。HDAC 抑制剂通过形成自噬小体抑制 HIV-1 在人巨噬细胞间的传播,并诱导巨噬细胞中 HIV-1 DNA 的降解^[76]。此外,HDAC 抑制剂还下调 HIV-1 共受体的表达。

HDAC 抑制剂通过抑制 HDAC 活性,减少组蛋白去乙酰化,从而促进 HIV-1 的转录,激活病毒潜伏库。目前,HDAC 抑制剂是临床上最有效的一类 LRA。

2.1.1 帕比司他(panobinostat)

帕比司他是一种有效的口服广谱性 HDAC 抑

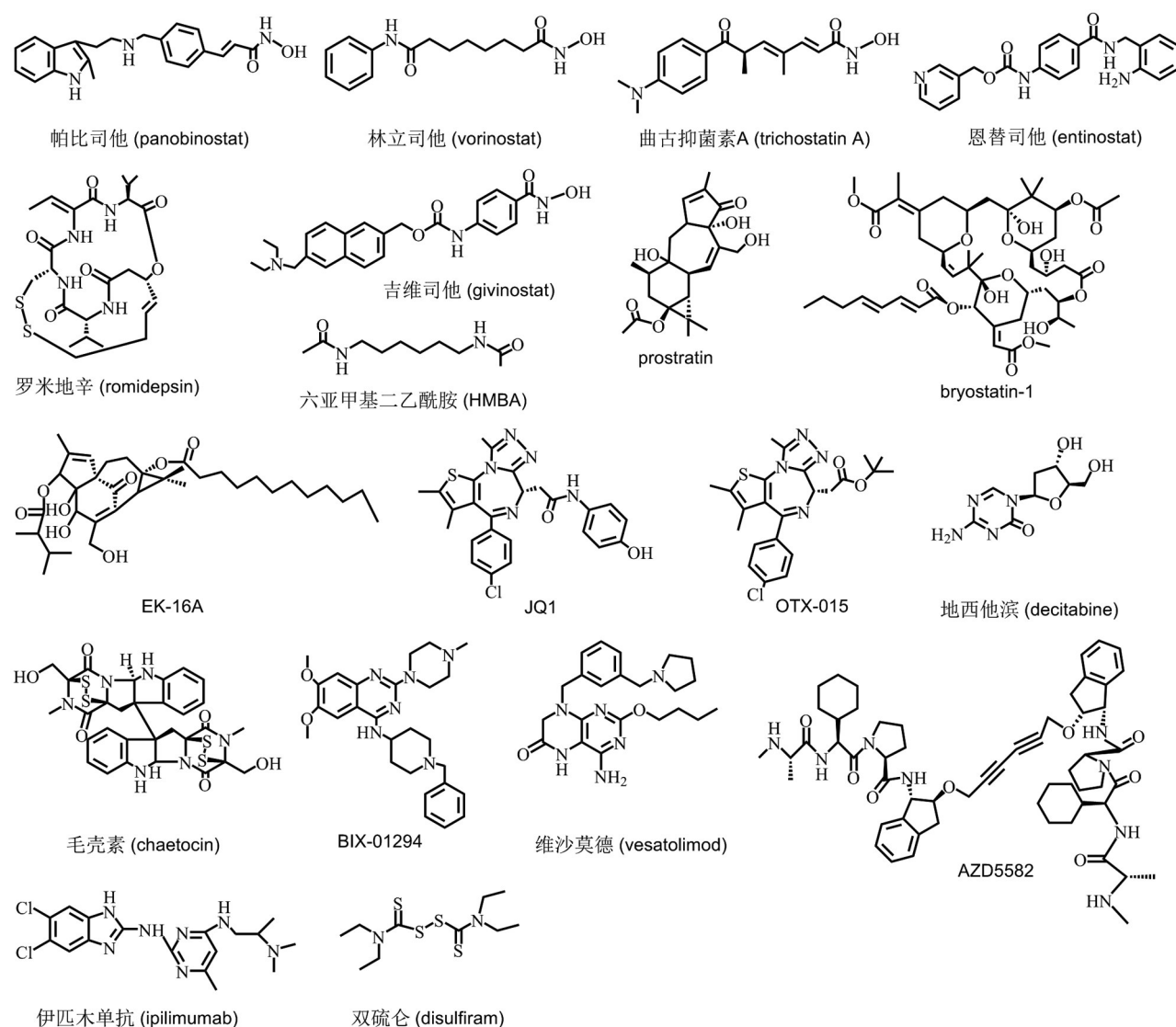


图1 HIV-1潜伏激活剂的主要代表性化合物结构。

制剂, $8 \sim 31 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 即可诱导 HIV-1 激活,且在远低于临床治疗剂量下,亦可激活 CD4^+ T 细胞中潜伏的 HIV-1^[10]。帕比司他激活效率高,但细胞毒性也较大^[11]。研究显示,将病毒潜伏库重复暴露于帕比司他中,能有效扰乱 HIV-1 在体内的潜伏^[12]。在帕比司他治疗期间,细胞内未剪接的 HIV-1 mRNA 水平较基线显著升高,最高升幅达 3.5 倍,但并未引起潜伏感染细胞数量减少,可能需要与其他药物相结合才能有效减少 HIV-1 病毒潜伏库^[12]。也未观察到 HIV-1 感染者体内基因表达模式的长期变化^[13]。在癌症治疗中,纳米药物递送体系可通过特异性靶向细胞将转运分子释放到特定细胞器等方法可克服传统药物递送的局限性。利用纳米技术,提高 HDAC 抑制剂对潜伏 HIV-1 的激活效率。研究表明,包裹帕比司他的纳米粒子的激活效率优于单用

帕比司他,且无毒性作用,并具有良好的生物相容性^[14]。由于较高剂量帕比司他具有毒性,使得优化给药方式非常必要,如通过纳米技术等改进药物对其靶标部位的输送,可提高 LRA 的效力。

2.1.2 林立司他 (vorinostat)

林立司他是一种含羧酸结构的 I 和 II 类 HDAC 抑制剂,其安全性高,耐受性好,对 HDAC1 和 HDAC3 的 IC_{50} 值分别为 10 和 $20 \text{ nmol} \cdot \text{L}^{-1}$ 。用从低水平病毒血症患者体内分离出的静息 CD4^+ T 细胞研究林立司他在病毒潜伏库中的作用显示,接受林立司他处理的 CD4^+ T 细胞中 HIV-1 RNA 水平增加 4.8 倍;与基线 RNA 水平相比,林立司他 400 mg 单次给药后, HIV-1 RNA 表达量显著增加^[15]。林立司他并未促进 HIV-1 特异性 T 细胞增多或免疫激活,但却引起血液中调节性 T 细胞数量增加。在

58% 的患者 CD4⁺ T 细胞中,林立司他诱导 HIV-1 RNA 水平持续增加,但并不引起血浆中 HIV-1 RNA 表达量的改变,也未引起潜伏感染细胞频率的改变,因此需要更多有效的干预措施来诱导 HIV-1 的激活,并最终消除被感染细胞^[16],这些表明林立司他激活效率低,单用不能完全激活 HIV-1 潜伏库。

2.1.3 曲古抑菌素 A(trichostatin A)

曲古抑菌素 A 是一种链霉菌代谢产物,是 I 类和 II 类 HDAC 抑制剂,对 HDAC 的 IC₅₀ 值为 1.8 nmol·L⁻¹。其可延缓 IκB 的胞内再生,促进活化的 NF-κB 与 LTR 上的 κB 元件结合,促进病毒转录^[17]。HIV-1 转录依赖染色质上少量有转录活性的模板,每个模板可支持近 100 轮转录。研究发现,曲古抑菌素 A 可增加每轮活性模板的数量^[18]。曲古抑菌素 A 处理可抑制细胞周期,是一种潜在的抗癌药物。Apicidin 是一种广泛使用的抗寄生虫药,研究表明,Apicidin 可协同曲古抑菌素 A 激活 HIV-1 基因的转录^[19]。此外,曲古抑菌素 A 与肿瘤坏死因子(tumor necrosis factor, TNF)可协同激活 HIV-1 LTR 转录,二者间的协同作用严格依赖于靶基因上特定的 DNA 序列(κB 位点)的存在^[20]。

2.1.4 恩替司他(entinostat)

恩替司他是一种苯甲酰胺结构的 I 类 HDAC 抑制剂,其对 HDAC1 和 HDAC3 的 IC₅₀ 分别为 0.51 和 1.7 μmol·L⁻¹。恩替司他可诱导潜伏感染的原代 T 细胞产生病毒,其效力与林立司他相似^[11]。它不增加 T 细胞表面受体趋化因子受体 4(C-X-C chemokine receptor type 4, CXCR4)和趋化因子受体 5(C-C chemokine receptor type 5, CCR5)的表达量,所以不提高 HIV-1 激活后入侵细胞的风险,且毒性小于帕比司他^[11]。恩替司他通过选择性阻碍 I 类 HDAC 与 HIV-1 LTR 结合和促进组蛋白 H3 乙酰化诱导病毒粒子产生^[11]。将其与苔藓抑素(bryostatin-1)联用可最大限度诱导病毒蛋白表达、促进病毒粒子产生和感染细胞死亡^[21]。

2.1.5 罗米地辛(romidepsin)

罗米地辛在 nmol 浓度即可抑制 I 类 HDAC 的活性,其对 HDAC1 和 HDAC2 的 IC₅₀ 值分别为 36 和 47 nmol·L⁻¹,被美国 FDA 批准用于治疗皮肤和外周 T 细胞淋巴瘤。罗米地辛激活 HIV-1 潜伏库的能力与帕比司他相近,但对 CD8⁺ T 细胞具有较高的细胞毒性,平均细胞死亡率为 (22±6)%^[22]。研究表明,罗米地辛可安全地激活 HIV-1 复制,而不改变 HIV-1 特异性 T 细胞的比例,也不抑制其产生 CK,即使导致 T 细胞受体受损,也不会减弱 T 细胞介导

的免疫反应^[23]。罗米地辛可显著抑制 HIV-1 感染外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC)和 CD4⁺ T 细胞。因此,在 HAART 治疗后病毒载量下降不理想的情况下,基于罗米地辛的治疗策略可使病毒几乎不能重新形成潜伏库。

2.1.6 吉维司他(givinostat)

吉维司他主要选择性抑制 I 类 HDAC,其对 HDAC1 和 HDAC3 的 IC₅₀ 值分别为 198 和 157 nmol·L⁻¹。吉维司他有 3 大优点:① 在安全使用浓度下,体外诱导潜伏感染细胞中 HIV-1 的表达量至少增加 10 倍,而丙戊酸作为 I 类 HDAC 抑制剂,诱导细胞中的 HIV-1 增加不到 2 倍;② 口服给药在人体中有很好的安全性(包括儿童)^[10];③ 不增加 CD4⁺ T 细胞表面 CCR5 表达,并使 CD4⁺ T 细胞表面 CXCR4 和单核细胞表面 CCR5 的表达量降低 50%,诱导 HIV-1 重新激活的比例是 CD3/CD28 单克隆抗体的 57%~74%。在 U1 和 ACH2 细胞中,吉维司他的激活能力是林立司他的 50~100 倍^[20]。研究表明,吉维司他与 PKC 联用可诱导 HIV-1 RNA 的表达^[24]。吉维司他不仅诱导潜伏感染细胞株产生 HIV-1,同时大大降低 HIV-1 共受体的表达^[25]。此外,吉维司他的安全使用浓度(达 400 nmol·L⁻¹)高于帕比司他和罗米地辛,这可能是其逆转 HIV-1 潜伏效率较强的原因之一^[20]。

2.2 PKC 激活剂

PKC 是 G 蛋白偶联受体系统中的效应物,在非活性状态下是水溶性的,游离在胞质中。其激活依赖二酰甘油(diacylglycerol, DAG)的存在和胞质中 Ca²⁺浓度的升高,即 DAG 在质膜中出现时,PKC 从胞质中移位到质膜上,然后在 Ca²⁺作用下被激活。

PKC 可调控基因表达,PKC 激活剂通过对 PKC 信号通路的激活,激活 HIV-1 潜伏库。在静息状态下,细胞中的 IκB 与 NF-κB 结合形成复合体,可使 NF-κB 以无活性形式滞留在胞质中。IκB 激酶(IκB kinase, IKK)被激活后,可促进 IκB 磷酸化、泛素化和随后的降解,使得 IκB 释放 NF-κB,然后 NF-κB 迅速易位入核并结合于靶基因上的 κB 位点,从而促进 HIV-1 基因转录。

2.2.1 prostratin

prostratin 发现于萨摩亚的 Mamala 树的树皮中,是一种非肿瘤促进性佛波酯。prostratin 通过 PKC 介导的通路活化有转录活性的 NF-κB,使其进入细胞核内激活 HIV-1 DNA 的表达(表 1)。研究表明,PKCθ、PKCε 和蛋白激酶 D3(protein kinase D3, PKD3)是 prostratin 诱导 HIV-1 转录激活所必

需。在信号传递中,PKC θ 和PKC ϵ 通过磷酸化PKD3使其激活,随后活化的PKD3通过调控NF- κ B信号途径激活HIV-1的基因表达。综上,prostratin诱导激活HIV-1基因转录的信号通路为prostratin-PKC θ /PKC ϵ -PKD3-NF- κ B-HIV-1-LTR^[26]。prostratin能够激活转录起始,但对转录延伸没有明显影响^[27]。prostratin可与六亚甲基二乙酰胺(hexamethylenebisacetamide, HMBA)通过不同机制协同激活HIV-1基因转录。prostratin通过活化P-TEFb从而促进HMBA诱导的HIV-1基因转录延伸, HMBA通过促进prostratin诱导的I κ B降解,使得NF- κ B易位入核及HIV-1基因转录起始。二者共处理的激活作用可能是通过下调NF- κ B信号通路中负反馈调节因子脱泛素酶A20的表达,致使NF- κ B信号通路长时间持续活化^[28]。研究表明,prostratin与HDAC抑制剂联合使用对潜伏的HIV-1有很强的协同激活作用^[26]。此外,prostratin还通过降低CD4和CXCR4受体表达量从而抑制HIV-1进入靶细胞^[29-30]。

2.2.2 勃利抑素 1(bryostatin-1)

勃利抑素 1 是从海洋生物草苔虫(*Bugula neritina*)中提取的一种 PKC 激活剂,能持续活化 PKC 并最终导致 PKC 耗竭^[31]。勃利抑素 1 通过 Nef 与 Tat 介导的 LTR 反式激活,协同调节 HIV-1 的重新激活,AMP 依赖的蛋白激酶激活 PKC,进而促进 HIV-1 的重新激活^[32]。勃利抑素 1 在 nmol 浓度下即可激活潜伏的 HIV-1^[31],对 T 细胞的安全浓度高达 100 nmol·L⁻¹^[33];重新激活潜伏病毒的能力是 prostratin 和 林立司他的 25~1000 倍。勃利抑素 1 与 HDAC 抑制剂(如帕比司他和罗米地辛)联用可协同激活 HIV-1 的基因表达^[34]。勃利抑素 1 还可下调 HIV-1 受体 CD4 和共受体 CXCR4 的表达,阻止易感细胞中 HIV-1 的初始感染^[35]。此外,研究发现勃利抑素 1 与其他在医疗实践中常用的 HDAC 抑制剂(如 VPA)有很强的协同作用^[35]。

2.2.3 EK-16A

EK-16A 是一种巨大戟醇衍生物,提取自大戟属植物甘遂(*Euphorbia kansui* T.N. Liou ex S. B. Ho),与 prostratin 结构相似,但比 prostratin 的重新激活效率更高。EK-16A 对 HIV-1 的重新激活主要依赖于 PKC γ 。EK-16A 激活 PKC γ 后,I κ B 蛋白被磷酸化和泛素化降解,使 NF- κ B 易位入核,诱导 HIV-1 LTR 转录起始;同时通过促进细胞周期蛋白依赖性激酶 9(cyclin-dependent kinase 9, CDK9)磷酸化和上调细胞周期蛋白 T 水平活化 P-TEFb,从

而促进转录延伸。研究表明,在潜伏感染的 Jurkat 细胞中,EK-16A 可在 nmol 水平显著激活 HIV-1 的基因转录,活性远高于 prostratin。EK-16A 在有效激活浓度(1~100 nmol·L⁻¹)未检测到细胞毒性,且未显著增加 CK 表达,虽然其使 T 细胞在活化早期表达 CD69,但对另一个激活标志物 CD25 的促表达程度很小^[36]。

2.3 P-TEFb 激活剂

HIV-1 转录可分为起始、延伸和终止 3 个阶段,其中延伸阶段耗时最长。P-TEFb 由 CDK9 及其调节亚基周期蛋白 T 组成,其活性受到严格调控,维持动态平衡,在体内以活性型和非活性型 2 种形式存在,当细胞处于紫外线、HMBA 或心肌肥大等刺激下,7SK 核糖核蛋白(7SK small nuclear ribonucleoprotein, 7SK snRNP)复合体解离并释放有活性的 P-TEFb(cyclin T/CDK9)。P-TEFb 一方面通过磷酸化苯并咪唑敏感性诱导因子和负性转录延伸因子解除其对 RNAP II 的抑制,另一方面通过直接催化 RNAP II C 端结构域(carboxyl-terminal domain, CTD)发生磷酸化,促使转录进入延伸阶段。溴结构域蛋白 4(bromodomain-containing protein 4, BRD4)在 P-TEFb 由非活性型向活性型转变中发挥重要作用,还可增强 P-TEFb 对 RNAP II 的磷酸化作用。但由于 BRD4 和 Tat 竞争性结合 P-TEFb,故常使用 BET 抑制剂来增强 Tat 和 P-TEFb 的结合进而激活病毒潜伏库。

2.3.1 直接激活剂 HMBA

HMBA 是一种 P-TEFb 激活剂,也是有效的细胞生长抑制剂和细胞分化诱导剂。HMBA 可诱导 7SK snRNP 复合物的解离,从而释放有活性的 P-TEFb,诱导染色质释放 BRD4,通过 BRD4 将活性 P-TEFb 重新招募到启动子上,从而刺激转录延伸。P-TEFb 的活化也受多种信号通路的调控,如通过蛋白磷酸酶 2B 诱导 7SK snRNP 复合体构象改变,促进 CDK9 上 T186 去磷酸化,使 P-TEFb 从 7SK snRNP 复合物中解离出来。也可通过激活磷脂酰肌醇 3 激酶/蛋白激酶 B(phosphatidylinositol 3-kinase/protein kinase B, PI3K/Akt)信号通路,促使蛋白磷酸化,继而释放有活性的 P-TEFb^[37]。HMBA 也可能是通过非经典的 NF- κ B 途径激活 HIV-1 转录^[38],诱导潜伏感染细胞系中病毒的产生。在 HMBA 处理的潜伏感染细胞系中,PI3K/Akt 通路的激活是产生病毒所必需^[39]。HMBA 还可和 prostratin 协同激活 HIV-1 转录。通过阻断负反馈通路, HMBA 可作为 NF- κ B 途径的信号增强剂发挥作

用^[40]。prostratin 通过促进 P-TEFb 活化来增强 HMBA 诱导的 HIV-1 基因转录,从而促进转录延伸。HMBA 除了激活 HIV-1 转录,也可下调 HIV-1 表面受体表达,阻碍 HIV-1 感染其他细胞。

2.3.2 间接激活剂(BET 抑制剂)

人 BET 家族由 BRD2, BRD3, BRD4 和 BRDT 组成,主要通过识别并结合组蛋白尾部的乙酰化赖氨酸残基,发挥调节基因转录和细胞生长的作用。人 BET 家族的 4 个成员有相似的结构,即 2 个串联溴结构域(BD1 和 BD2)及 1 个超末端(ET)结构域,但生物学功能存在差异。

其中 BRD4 与 HIV-1 转录激活密切相关, BRD4 末端有 1 个 CTD。CTD 通过募集 P-TEFb 到 BRD4 靶基因——HIV-1 基因转录区上,促进 RNAP II 磷酸化,进而促使转录延伸。Tat 是病毒编码的主要调控蛋白,能够使 HIV-1 转录水平提高千倍,它可与转录出的反式激活应答序列结合,在 SF1 等细胞因子的帮助下大大加强 RNAP II 的延伸能力,合成大量全长 mRNA^[77]。BRD4 与 Tat 竞争性结合 P-TEFb,从而抑制 HIV-1 转录。BET 抑制剂抑制 BRD4 与 P-TEFb 结合,可增强 Tat 与 P-TEFb 的结合,提高 HIV-1 转录效率。

2.3.2.1 JQ1

JQ1 是一种特异性 BET 抑制剂,对 BRD4 的 IC₅₀通常在 10 ~ 100 nmol·L⁻¹。JQ1 通过与热休克蛋白 90(heat shock protein 90, HSP90)-细胞分裂周期蛋白 37(cell division cyclin, CDC37)-CDK9 复合物稳定结合调控潜伏 HIV-1 的转录激活。当 HSP90 活性降低和 CDC37 的表达量下降时,7SK snRNP 复合物重新组装,使更多 CDK9 处于无活性状态,从而降低 JQ1 激活潜伏 HIV-1 基因表达的效率。JQ1 还可促进热休克转录因子 1(heat shock transcription factor 1, HSF1)与 HIV-1 LTR 区域结合,并使 HSF1 募集更多 HSP90-CDK9 复合物来参与其激活潜伏 HIV-1 基因转录的过程^[41]。JQ1 可能是通过从 HIV-1 LTR 中移除 BRD4 而使 Tat 随后能与之结合^[42]。JQ1 还被证明在 Jurkat T 细胞中以非 Tat 依赖的方式促进 HIV-1 转录。研究发现,前花青素 C1(procyanidin C1, 丝裂原活化蛋白激酶激活剂)与 PKC 激活剂和 BET 抑制剂(JQ1)联合治疗时,较低浓度的 3 种化合物均能有效激活潜伏的 HIV-1^[43]。PKC 激活剂 PEP005 和 BET 抑制剂 JQ1 可协同激活 HIV-1 潜伏储存库^[44]。从虎杖(*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.)中提取的天然产物 REJC1G3 是一种 P-TEFb 激活剂,可通过诱导 P-TEFb

从 7SK snRNP 中释放与 JQ1 起协同作用^[45]。

2.3.2.2 OTX-015

OTX-015 是一种有效的 BRD2/3/4 抑制剂, IC₅₀ 值为 92 ~ 112 nmol·L⁻¹。OTX-015(0.1, 1, 5 μmol·L⁻¹)可诱导接受 HAART 患者的静息 CD4⁺ T 细胞产生 HIV-1 全长转录本和病毒粒子。OTX-015 通过增加 CDK9 环磷酸化,促进 HIV-1 LTR 对 P-TEFb 的募集,进一步诱导 RNAP II CTD 磷酸化和病毒转录,从而激活潜伏 HIV-1^[46]。OTX-015 对细胞活力无明显影响,既不诱导 T 细胞活化,也不诱导 HIV-1 受体/共受体的表达。因此,在重新激活病毒期间,OTX-015 不增加 CD4⁺ T 细胞对 HIV-1 的易感性。此外,OTX-015 与 prostratin 联用可有效提高激活潜伏 HIV-1 的效率。但 OTX-015 激活效率不高,需要优化给药浓度和时间,或与其他激活剂联合,以进一步提高其诱导 HIV-1 基因表达的效率。

2.4 DNMT 抑制剂地西他滨(decitabine)

DNA 甲基化是在 DNMT 作用下,将甲基选择性添加到特定碱基上。DNA 甲基化修饰是真核细胞调控基因表达的特点之一,其通过 3 种途径抑制基因表达:① 甲基化的 CpG 岛阻碍转录因子的结合,直接抑制基因表达;② 通过招募 DNA 甲基结合蛋白及一些阻遏复合物,阻止转录因子和特定 DNA 序列结合,间接抑制基因表达;③ 凝集状态的染色质阻碍转录因子与其调控序列的结合。DNMT 抑制剂通过抑制病毒 DNA 甲基化过程,进而促进 HIV-1 基因转录。一些 DNMT 抑制剂(如核苷类似物)磷酸化后能与 DNMT 形成共价化合物,阻碍 DNMT 与 DNA 结合,抑制其转甲基功能,诱导 DNA 去甲基化。

地西他滨是 2-脱氧胞苷类似物,又称 5Aza-CdR,高浓度时具有细胞毒作用,低浓度时具有去甲基化作用。5Aza-CdR 本身是很弱的 HIV-1 LRA,但与 prostratin 联用可显著提高多数 J-Lat 细胞中病毒基因表达的效率^[47]。研究表明, LRA 浓度及联合治疗时给药顺序对于协同激活 HIV-1 基因表达至关重要。5Aza-CdR+HDAC 抑制剂(恩替诺特除外)顺序给药在 2 个潜伏感染的 T 细胞系中协同诱导了 HIV-1 的基因表达^[48]。最近一项在小鼠获得性免疫缺陷综合征模型中的研究表明,5Aza-CdR 单独或与吉西他滨(嘧啶类抗肿瘤药物)联用,通过在病毒逆转录过程中引入致命突变来抑制 HIV-1 的复制,导致病毒潜伏库缩小^[49]。此外,在潜伏感染的 Jurkat 细胞和原代 T 细胞中的 HIV-1 CpG 岛上,发现甲基 CPG 结合域蛋白 2(methyl CpG binding domain protein 2, MBD2)结合到甲基化的

胞嘧啶上,进而募集 HDAC 促使组蛋白去乙酰化,MBD2 和去乙酰化的组蛋白通过募集更多的 DNMT 来加强沉默信号,而用 5Aza-CdR 抑制胞嘧啶甲基化可消除对 MBD2 和 HDAC 的募集^[50]。

2.5 HMT 抑制剂

组蛋白甲基化修饰一般发生在组蛋白赖氨酸和精氨酸残基上,分别由组蛋白赖氨酸甲基转移酶和组蛋白精氨酸甲基转移酶催化。在 HMT 的作用下,以 S-腺苷甲硫氨酸(S-adenosylmethionine, SAM)为甲基供体,可将 SAM 上的甲基转移到赖氨酸侧链的 N 原子上。组蛋白赖氨酸甲基化常发生在 H₃K₄, H₃K₉, H₃K₂₇ 和 H₃K₃₆ 等位点上,这些位点也可发生多甲基化。组蛋白赖氨酸甲基化对基因转录起激活或抑制作用。H₃K₉ 的甲基化与基因沉默相关,而 H₃K₄ 的甲基化则与基因的激活相关。组蛋白甲基转移酶 SUV39 可特异性甲基化 H₃K₉。HMT 抑制剂通过抑制 SUV39,包括 SUV39H1, SUV39H2, G9a 和 ESET,抑制组蛋白 H₃K₉ 甲基化,从而促进潜伏 HIV-1 基因的转录。

2.5.1 毛壳素(chametocin)

毛壳素是一类来自毛壳菌属(*Chaetomium kunze*)的天然产物,是组蛋白甲基转移酶 SUV39H1 的抑制剂(表 1)。研究表明,由于 HIV-1 基因的表现遗传沉默限制了基因表达,因此即使在 T 细胞激活的情况下,病毒仍可能处于潜伏状态^[51]。毛壳素抑制 H₃K₉ 的三甲基化(H₃K₉me₃)并促进组蛋白乙酰化水平增加,引起 LTR 启动子区的染色质重塑,从而产生了一个允许多种转录激活因子结合的环境,进而激活转录。90 nmol·L⁻¹ 是毛壳素激活 HIV-1 基因表达并保持细胞活力的最佳浓度,可诱导 50% PBMC 和 86% HLA-DR-CD4⁺ T 细胞中 HIV-1 的激活^[52]。毛壳素+林立司他和毛壳素+prostratin 在重新激活感染者 CD4⁺ T 细胞中病毒方面比单用这 2 种化合物效力更高^[52]。毛壳素细胞毒性较小,其与曲古抑菌素 A 和林立司他有协同作用,机制可能是通过染色体重构重新激活 HIV-1 基因的表达^[53]。

2.5.2 BIX-01294

BIX-01294 可特异性抑制组蛋白甲基转移酶 G9a 对 H₃K₉ 的二甲基化(H₃K₉me₂),对与其密切相关的胰高血糖素样肽酶(主要是 H₃K₉me₃)的抑制作用较弱,IC₅₀ 分别为 1.7 和 38 μmol·L⁻¹。研究表明,G9a C 端的 SET 结构域是 G9a 介导的 H₃K₉ 甲基化所必需,同时也是抑制 HIV-1 基因表达所必需^[54]。HIV-1 基因通过招募 G9a,导致 H₃K₉me₂ 进

而诱导基因沉默。随后 H₃K₉me₂ 被包含异染色质蛋白 1 和 HDAC 的异染色质蛋白复合物识别,进而招募 SUV39H,将沉默的常染色质转变为异染色质^[54]。BIX-01294 抑制 G9a,降低 H₃K₉me₂,并在转录水平重新激活潜伏的 HIV-1。BIX-01294 可激活 HIV-1 感染者和无法检测到病毒载量患者的静息 CD4⁺ T 细胞中 HIV-1 基因的表达^[52]。

2.6 TLR 激活剂

TLR 是一种模式识别受体(pattern recognition receptors, PRR)。PRR 主要是由免疫系统细胞表达的免疫受体,其功能是识别微生物特定分子结构即病原体相关分子模式(pathogen associated molecular pattern, PAMP)。TLR 为 I 型跨膜蛋白,其胞外段为富含亮氨酸的重复序列,参与配体识别;胞内段含有保守的 Toll 样/白细胞介素 1(interleukin 1, IL-1)受体结构域,负责信号转导。TLR1, 2, 4, 5, 6 和 10 定位于细胞表面,识别细菌和真菌的细胞壁成分。TLR3, 7, 8 和 9 存在于细胞内,主要识别来自细菌和病毒的核酸。TLR 激活剂既是免疫激活剂,也是 HIV 潜伏激活剂。TLR7 激活剂可诱导 CK 的分泌,并使 CD4⁺ T 细胞中潜伏的 HIV-1 重新激活。TLR9 激活剂 MGN1703 可激活潜伏的 HIV-1 并增强抗病毒免疫反应^[58]。TLR 激活剂可通过上调 CK 水平,增强免疫系统抗病毒的能力。目前大多数研究都集中在 TLR7 和 TLR9 激活剂。除能重新激活潜伏的 HIV-1 外,TLR 通过同源二聚体或异源二聚体识别其同源配体,在巨噬细胞、PDC 和上皮细胞表面表达,介导对外来病原体的识别和应答。

2.6.1 维沙莫德(vesatolimod)

维沙莫德是一种可口服 TLR7 激活剂,又称 GS-9620,可直接激活 PDC 和 B 淋巴细胞,产生 CK,诱导免疫激活。GS-9620 通过依赖于 I 型干扰素的机制诱导接受 HAART 患者细胞中的 HIV-1 重新激活,且增强抗体介导的免疫反应,最终提高对 HIV-1 感染细胞的杀伤力^[55]。研究表明,TLR2/7 双重激活剂既能增强对潜伏病毒的再激活能力,又能增强免疫反应。2 类激活剂各自触发不同的途径,TLR2 激活剂 Pam2CSK4 通过诱导记忆 T 细胞中 NF-κB 活化来重新激活 HIV-1 基因表达,GS-9620 诱导单核细胞和 PDC 分泌肿瘤坏死因子 α,从而增强免疫反应^[57]。另有研究表明,靶向 HIV-1 的广谱中和抗体 PGT121 和 GS-9620 联用能够延缓 HIV-1 在停止服用 HAART 药物的猴体内的再复制^[56]。

2.6.2 来非莫德(lefritolimod)

来非莫德是一种 TLR9 激活剂, 又称 MGN-1703, 是一个含有非 CG 甲基化的小 DNA 分子。TLR9 主要表达于 B 细胞和 PDC。MGN-1703 可促进 B 细胞分化, 激活 PDC、NK 细胞和 T 细胞产生的干扰素, 在淋巴结中发挥调节作用^[59]。MGN-1703 在 CD4⁺ T 细胞中促进 HIV-1 基因的转录, 诱导强大的抗病毒天然免疫反应, 并增强 NK 细胞介导的抗病毒感染作用^[58]。目前临床试验结果表明, MGN-1703 耐受性良好, 不良反应主要是 1 级或 2 级。

2.7 CK

CK 是免疫原、丝裂原或其他刺激剂诱导多种细胞产生的低相对分子质量可溶性蛋白质, 具有调节固有免疫和适应性免疫、血细胞生成、细胞生长以及损伤组织修复等多种功能。CK 可被分为 IL、干扰素、肿瘤坏死因子、趋化因子和生长因子等。CK 与细胞表面相应的受体结合后, 可引发复杂的细胞内分子相互作用, 最终导致细胞基因表达的改变。HIV-1 LTR 介导的转录受到一些 CK 的调控。CK 影响 HIV-1 基因转录的能力因细胞类型而异, 并依赖于其他 CK 的存在^[78]。

2.7.1 IL-7

IL-7 是趋化因子家族成员之一, 是一种具有广泛免疫效应的多功能 CK, 其靶细胞主要为淋巴细胞, 对来自人或小鼠骨髓的 B 祖细胞、胸腺细胞和外周 T 细胞等均有促生长作用。IL-7 的受体是一个异源二聚体, 由共有 γ 链和 IL-7 受体特异性 α 链组成。IL-7 通过与 α 链结合, 促使 γ 链发生磷酸化, 进而激活 JAK/STAT 信号通路促进潜伏病毒的重新激活, 同时 IL-7 可通过促进外周 CD4⁺ T 细胞和 CD8⁺ T 细胞的稳态增殖来恢复免疫功能, 在病毒感染治疗时增强抗原特异性的 T 细胞反应。目前 IL-7 作为免疫激活剂已经进入临床研究^[60], 由于其对病毒的重新激活能力, 未来可作为一种极具潜力的 HIV-1 LRA。

2.7.2 N-803

N-803 (ALT-803), 是 IL-15 超激动剂, 是由突变的 IL-15、IL-15 受体 α 链和 IgG1 的 Fc 段融合而成的复合物。研究发现, 在猴免疫缺陷病毒(simian immunodeficiency virus, SIV)感染的猕猴和 HIV-1 感染的人源化小鼠中, N-803 在 CD8⁺ T 淋巴细胞耗尽的情况下持续高强度诱导潜伏期逆转^[61]。体外实验表明, N-803 能增强 HIV-1 特异性 CD8⁺ T 细胞和 NK 细胞介导的抗病毒免疫效应, 从而靶向体内残留的病毒潜伏库^[62]。同时 N-803 激活的 NK 细胞

可抑制体内 HIV-1 急性感染^[63]。此外, 在接受 HAART 的猴-人类免疫缺陷病毒(simian-human immunodeficiency virus, SHIV)感染的猕猴中, 皮下注射 N-03 可促使 NK 细胞和 SHIV 特异性 CD8⁺ T 细胞从外周血进入淋巴滤泡中^[64]。

2.8 SMAC 类似物 AZD5582

SMAC 是存在于线粒体中调节细胞凋亡的蛋白质, 通过阻碍凋亡抑制蛋白(inhibitor of apoptosis protein, CLAP), 尤其是 X 连锁凋亡抑制蛋白(X-linked inhibitor of apoptosis protein, XIAP)实现促凋亡作用。在 CLAP1/2、肿瘤坏死因子受体相关蛋白组成的复合体中, CLAP1 结构性降解 NF- κ B 诱导激酶, 从而阻止 P100 到 P52 的转化。SMAC 类似物抑制 CLAP, 导致 NF- κ B 诱导激酶积累和 IKK 磷酸化, 以及随后 P100 到 P52 的加工, 最后, P60/P52 异源二聚体转移到细胞核, 激活靶基因转录^[79]。帕比司他和 SMAC 类似物联合作用于接受 HAART 患者的静息 CD4⁺ T 细胞, 可协同激活病毒潜伏库。

AZD5582 是一种新型小分子 CLAP 抑制剂, 可与 CLAP1, CLAP2 和 XIAP 的 BIR3 区域有效结合, IC₅₀ 分别为 15, 21 和 15 nmol·L⁻¹。HAART 联合 AZD5582 处理可引起从 BLT 小鼠和猕猴淋巴结及血浆中分离的 T 细胞中 HIV-1 RNA 和 SIV RNA 水平显著增加, 且毒副作用小。研究表明, AZD5582 可以逆转静息 CD4⁺ T 细胞中 HIV-1 和 SIV 的潜伏状态^[65]。

2.9 免疫检查点抑制剂

IC 分子是调节免疫反应的细胞表面受体。刺激性 IC 分子可提供共刺激信号, 增强免疫激活, 而抑制性 IC 分子会负调节免疫细胞功能, 并在降低免疫效应和维持自身耐受性方面起重要作用^[80]。在 HIV-1 感染期间, 免疫细胞中抑制性 IC 分子上调, 如程序性细胞死亡蛋白 1(programmed cell death protein 1, PD-1)、细胞毒性 T 淋巴细胞相关蛋白 4(cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, CTLA-4), 会导致 T 细胞衰竭, 其特征是免疫细胞的效应功能丧失并无法响应抗原而增殖^[81]。抑制性 IC 分子与 HIV-1 潜伏库的建立和维持有关。HIV-1 潜伏感染多发生在表达 PD-1、T 细胞免疫球蛋白与黏蛋白结构域 3、CTLA-4 或 B、T 淋巴细胞弱化因子的细胞中^[82]。此外, PD-1 高表达的滤泡辅助性 T 细胞被证明富含复制能力强的 HIV-1^[83]。IC 分子如 PD-1 或 CTLA-4 主要通过干扰 CD28 信号通路阻断 T 细胞受体传递信号。IC 抑制剂可促进 T 细胞受体活化, 激活下游信号转导通路, 如酪氨酸激酶

ZAP70、PI3K 和钙调神经磷酸酶等,进而激活调控 HIV-1 基因转录的 NF- κ B、AP-1 和 NFAT 等转录因子^[84]。因此,IC 抑制剂可能是一种专门逆转 HIV-1 潜伏状态的 LRA。

IC 抑制剂主要包括 CTLA-4 抑制剂与 PD-1/程序性细胞死亡-配体 1 (programmed cell deathligand 1, PD-L1) 抑制剂,主要针对免疫 T 细胞激活过程中的 2 个关键 IC 通路 CTLA-4/B7-1/2 和 PD-1/PD-L1 通路。

2.9.1 纳武单抗 (nivolumab)

纳武单抗是 PD-1 抑制剂,可重新激活 PD-1 过表达的 HIV 特异性 T 细胞并提高其免疫应答。研究表明,在 HIV-1 感染的癌症病例中,纳武单抗成功增强了 CD8⁺ T 细胞增殖和分泌 CK 的能力,扩大了 PD-1 低表达的 T 细胞亚群^[66]。同样,在另一癌症病例中,纳武单抗治疗使得 HIV-1 病毒潜伏库剧烈持续缩小,且 CD8⁺ T 细胞数量明显增加^[67]。然而也有研究表明,将从接受 HAART 患者体内分离的细胞进行体外培养,用 PD-L1 抑制剂 (BMS-936559) 和纳武单抗联合治疗,不能持续促使 PBMC 产生成熟病毒粒子^[68]。在长期接受 HAART 的 SIV 感染的恒河猴中,双重阻断 CTLA-4/PD-1 通路可逆转潜伏病毒并缩小病毒潜伏库,但仍不足以完全控制病毒^[69]。目前纳武单抗逆转潜伏 HIV-1 的作用机制尚不明,需进一步研究。

2.9.2 伊匹单抗 (ipilimumab)

伊匹单抗是 CTLA-4 抑制剂。有研究表明,CD4⁺ T 细胞表面 CTLA-4 的高表达与 HIV-1 感染有关^[70]。在接受 HAART 的晚期恶性肿瘤病例中,单独使用 PD-1 抑制剂纳武单抗对 HIV-1 的潜伏状态或病毒潜伏库没有影响,但将纳武单抗和伊匹单抗联合使用可诱导相关未剪接的 HIV-1 RNA 水平适度增加,并潜在消除了含有 HIV-1 复制能力的细胞^[71]。在 3 例接受 HAART 的肿瘤患者中发现,IC 抑制剂伊匹单抗、纳武单抗和 avelumab 可激活潜伏的 HIV-1,增强 HIV 特异性 T 细胞功能,但个体差异较大^[72]。在评估的剂量范围和时间范围内,未接受 HAART 的患者使用伊匹单抗治疗是安全的且耐受性良好,且 2 剂以上更高剂量伊匹单抗 (3 mg·kg⁻¹) 可极大促使 T 细胞激活和 HIV-1 基因表达^[73]。

2.10 双硫仑 (disulfiram)

双硫仑是特异性乙醛脱氢酶 1 抑制剂,可通过对乙醇产生急性敏感性治疗慢性酗酒。双硫仑通过耗尽胞内磷酸酶和张力蛋白同源物,激活 PI3K/Akt 信号通路,从而激活 HIV-1 基因转录^[74]。同时

双硫仑治疗不会引起 T 细胞的全局激活、促炎细胞因子的产生或激活标志物的表达。双硫仑与 HDAC 抑制剂相似,其激活潜伏病毒的能力与缩减病毒潜伏库的能力无关。

3 结语

虽然 HIV-1 LRA 的种类很多,但多数作用机制单一,不能有效激活病毒潜伏库,目前尚未发现能彻底激活 HIV-1 病毒潜伏库的 LRA,因此未来的研究应更倾向于不同作用机制药物的联用,这样不仅可有效提高激活效率,还可在一定程度上减轻单一药物的不良反应。在确定最佳 LRA 组合和浓度等方面,既要做到协同效应最大化,又要确保彻底逆转潜伏病毒。研究表明,增加 LRA 浓度,可增强逆转潜伏期的能力,但会降低 LRA 间的协同作用^[85]。除药物联用外,还可在给药方式和增加 LRA 半衰期等方面进行优化,如采用靶向给药 (如生物偶联)、纳米药物递送体系等毒副作用小、针对性强、且具有良好生物相容性的策略^[14]。增加 LRA 的半衰期可通过延长药物在体内的留存时间来实现,避免因接触时间过短,而降低药物作用效率。但 LRA 的使用也有很多限制,如某些 LRA 会破坏内皮屏障的完整性^[86];由于 LRA 缺乏特异性,不同感染者有不同的激活情况,即病毒潜伏库的异质性和导致 HIV-1 潜伏机制的多样性,潜伏库的异质性在很大程度上导致 LRA 的临床试验成功率低^[87]。其他问题还包括:研究人员尚不清楚体外“效力”是否与体内“效力”有关,特别是消除潜伏感染细胞的能力;残留的病毒血症是否表示在接受 HAART 后病毒的持续复制,还是病毒从激活的宿主中释放;LRA 干预前潜伏库的大小可能会影响潜伏期逆转^[88]。此外,试验中使用的一些 LRA 导致 CD8⁺ T 细胞功能障碍,并使潜伏感染细胞上 T 细胞耗竭标志物上调,从而降低细胞免疫反应^[89-90]。这些问题有待进一步深入研究。

参考文献:

- [1] Deeks SG. HIV: shock and kill[J]. *Nature*, 2012, 487 (7408): 439-440.
- [2] Lu K, Heng X, Summers MF. Structural determinants and mechanism of HIV-1 genome packaging [J]. *J Mol Biol*, 2011, 410(4): 609-633.
- [3] Ishizaka A, Sato H, Nakamura H, *et al*. Short intracellular HIV-1 transcripts as biomarkers of residual

- immune activation in patients on antiretroviral therapy [J]. *J Virol*, 2016, 90(12): 5665-5676.
- [4] Yukl SA, Kaiser P, Kim P, *et al.* HIV latency in isolated patient CD4⁺ T cells may be due to blocks in HIV transcriptional elongation, completion, and splicing[J/OL]. *Sci Transl Med*, 2018, 10(430): eaap9927 (2018-02-28) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aap9927>.
 - [5] Shukla A, Ramirez NP, D'Orso I. HIV-1 proviral transcription and latency in the new era[J/OL]. *Viruses*, 2020, 12(5):555 (2020-05-18) [2021-01-15]. <https://doi.org/10.3390/v12050555>.
 - [6] Tacheny A, Michel S, Dieu M, *et al.* Unbiased proteomic analysis of proteins interacting with the HIV-1 5'LTR sequence: role of the transcription factor Meis[J/OL]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(21): e168 (2012-11-01) (2022-01-15). <https://doi.org/10.1093/nar/gks733>.
 - [7] Zerbato JM, Purves HV, Lewin SR, *et al.* Between a shock and a hard place: challenges and developments in HIV latency reversal[J]. *Curr Opin Virol*, 2019, 38: 1-9.
 - [8] Passaes CP, Sáez-Cirión A. HIV cure research: advances and prospects[J]. *Virology*, 2014, 454-455: 340-352.
 - [9] Wang P, Qu X, Zhou X, *et al.* Two cellular microRNAs, miR-196b and miR-1290, contribute to HIV-1 latency [J]. *Virology*, 2015, 486: 228-238.
 - [10] Rasmussen TA, Schmeltz Søgaard O, Brinkmann C, *et al.* Comparison of HDAC inhibitors in clinical development: effect on HIV production in latently infected cells and T-cell activation[J]. *Hum Vaccin Immunother*, 2013, 9(5): 993-1001.
 - [11] Wightman F, Lu HK, Solomon AE, *et al.* Entinostat is a histone deacetylase inhibitor selective for class 1 histone deacetylases and activates HIV production from latently infected primary T cells[J]. *Aids*, 2013, 27(18): 2853-2862.
 - [12] Rasmussen TA, Tolstrup M, Brinkmann CR, *et al.* Panobinostat, a histone deacetylase inhibitor, for latent-virus reactivation in HIV-infected patients on suppressive antiretroviral therapy: a phase 1/2, single group, clinical trial[J/OL]. *Lancet HIV*, 2014, 1(1): e13-e21 (2014-09-15) [2022-01-15]. [https://doi.org/10.1016/S2352-3018\(14\)70014-1](https://doi.org/10.1016/S2352-3018(14)70014-1).
 - [13] Brinkmann CR, Højen JF, Rasmussen TA, *et al.* Treatment of HIV-infected individuals with the histone deacetylase inhibitor panobinostat results in increased numbers of regulatory T cells and limits *ex vivo* lipopolysaccharide-induced inflammatory responses[J/OL]. *mSphere*, 2018, 3(1): e00616-17 (2018-02-14) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1128/mSphere.00616-17>.
 - [14] Kuai Q, Wang Y, Gao F, *et al.* Peptide self-assembly nanoparticles loaded with panobinostat to activate latent human immunodeficiency virus[J]. *J Biomed Nanotechnol*, 2019, 15(5): 979-992.
 - [15] Archin NM, Liberty AL, Kashuba AD, *et al.* Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on antiretroviral therapy[J]. *Nature*, 2012, 487(7408): 482-485.
 - [16] Archin NM, Kirchherr JL, Sung JA, *et al.* Interval dosing with the HDAC inhibitor vorinostat effectively reverses HIV latency[J]. *J Clin Invest*, 2017, 127(8): 3126-3135.
 - [17] Sheridan PL, Mayall TP, Verdin E, *et al.* Histone acetyltransferases regulate HIV-1 enhancer activity *in vitro*[J]. *Genes Dev*, 1997, 11(24): 3327-3340.
 - [18] Quivy V, Adam E, Collette Y, *et al.* Synergistic activation of human immunodeficiency virus type 1 promoter activity by NF-kappaB and inhibitors of deacetylases: potential perspectives for the development of therapeutic strategies[J]. *J Virol*, 2002, 76(21): 11091-11103.
 - [19] Lin S, Zhang Y, Ying H, *et al.* HIV-1 reactivation induced by apicidin involves histone modification in latently infected cells[J]. *Curr HIV Res*, 2011, 9(4): 202-208.
 - [20] Banga R, Procopio FA, Cavassini M, *et al.* *In vitro* reactivation of replication-competent and infectious HIV-1 by histone deacetylase inhibitors[J]. *J Virol*, 2016, 90(4): 1858-1871.
 - [21] Zaikos TD, Painter MM, Sebastian Kettinger NT, *et al.* Class 1-selective histone deacetylase (HDAC) inhibitors enhance HIV latency reversal while preserving the activity of HDAC isoforms necessary for maximal HIV gene expression[J/OL]. *J Virol*, 2018, 92(6): e02110-e02117 (2018-02-26) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1128/JVI.02110-17>.
 - [22] Zhao M, De Crignis E, Rokx C, *et al.* T cell toxicity of HIV latency reversing agents[J]. *Pharmacol Res*, 2019, 139: 524-534.
 - [23] Søgaard OS, Graversen ME, Leth S, *et al.* The depsipeptide romidepsin reverses HIV-1 latency *in vivo* [J/OL]. *PLoS Pathog*, 2015, 11(9): e1005142 (2015-09-17) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005142>.
 - [24] Curreli F, Ahmed S, Victor SMB, *et al.* Identification of combinations of protein kinase C activators and histone deacetylase inhibitors that potently reactivate latent HIV[J/OL]. *Viruses*, 2020, 12(6): 609

- (2020-06-03) [2021-12-25]. <https://doi.org/10.3390/v12060609>.
- [25] Matalon S, Palmer BE, Nold MF, *et al*. The histone deacetylase inhibitor ITF2357 decreases surface CXCR4 and CCR5 expression on CD4⁺ T-cells and monocytes and is superior to valproic acid for latent HIV-1 expression *in vitro* [J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2010, 54(1): 1-9.
- [26] Reuse S, Calao M, Kabeya K, *et al*. Synergistic activation of HIV-1 expression by deacetylase inhibitors and prostratin: implications for treatment of latent infection[J/OL]. *PLoS One*, 2009, 4(6): e6093 (2009-06-30) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0006093>.
- [27] Rullas J, Bermejo M, García-Pérez J, *et al*. Prostratin induces HIV activation and downregulates HIV receptors in peripheral blood lymphocytes[J]. *Antivir Ther*, 2004, 9(4): 545-554.
- [28] Wang H, Zhu X, Zhu Y, *et al*. Protein kinase D3 is essential for prostratin-activated transcription of integrated HIV-1 provirus promoter via NF- κ B signaling pathway[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2014, 2014: 968027 (2014-05-27) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1155/2014/968027>.
- [29] Kulkosky J, Culnan DM, Roman J, *et al*. Prostratin: activation of latent HIV-1 expression suggests a potential inductive adjuvant therapy for HAART[J]. *Blood*, 2001, 98(10): 3006-3015.
- [30] Hezareh M, Moukil MA, Szanto I, *et al*. Mechanisms of HIV receptor and co-receptor down-regulation by prostratin: role of conventional and novel PKC isoforms [J]. *Antivir Chem Chemother*, 2004, 15(4): 207-222.
- [31] Wender PA, Hardman CT. Scalable synthesis of bryostatin 1 and analogs, adjuvant leads against latent HIV[J]. *Science*, 2017, 358(6360): 218-223.
- [32] Mehla R, Bivalkar-Mehla S, Zhang R, *et al*. Bryostatin modulates latent HIV-1 infection via PKC and AMPK signaling but inhibits acute infection in a receptor independent manner[J / OL]. *PLoS One*, 2010, 5(6): e11160 (2010-06-16) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0011160>.
- [33] López-Huertas MR, Jiménez-Tormo L, Madrid-Elena N, *et al*. The CCR5-antagonist Maraviroc reverses HIV-1 latency *in vitro* alone or in combination with the PKC-agonist bryostatin-1[J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 2385 (2017-05-24) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02634-y>.
- [34] Martínez-Bonet M, Clemente MI, Serramía MJ, *et al*. Synergistic activation of latent HIV-1 expression by novel histone deacetylase inhibitors and bryostatin-1 [J/OL]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16445 (2015-11-13) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1038/srep16445>.
- [35] Pérez M, de Vinuesa AG, Sanchez-Duffhues G, *et al*. Bryostatin-1 synergizes with histone deacetylase inhibitors to reactivate HIV-1 from latency[J]. *Curr HIV Res*, 2010, 8(6): 418-429.
- [36] Wang P, Lu P, Qu X, *et al*. Reactivation of HIV-1 from latency by an ingenol derivative from *Euphorbia kansui* [J/OL]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):9451 (2017-08-25) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-07157-0>.
- [37] Fujinaga K, Barboric M, Li Q, *et al*. PKC phosphorylates HEXIM1 and regulates P-TEFb activity[J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(18): 9160-9170.
- [38] Antoni BA, Rabson AB, Kinter A, *et al*. NF-kappa B-dependent and -independent pathways of HIV activation in a chronically infected T cell line[J]. *Virology*, 1994, 202(2): 684-694.
- [39] Contreras X, Barboric M, Lenasi T, *et al*. HMBA releases P-TEFb from HEXIM1 and 7SK snRNA via PI3K / Akt and activates HIV transcription[J / OL]. *PLoS Pathog*, 2007, 3(10): 1459-1469 (2007-10-12) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.0030146>.
- [40] Chen D, Wang H, Aweya JJ, *et al*. HMBA enhances prostratin-induced activation of latent HIV-1 via suppressing the expression of negative feedback regulator A20/TNFAIP3 in NF- κ B signaling[J/OL]. *Biomed Res Int*, 2016, 2016: 5173205 (2016-06-21) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1155/2016/5173205>.
- [41] Mbonye U, Wang B, Gokulrangan G, *et al*. Cyclin-dependent kinase 7 (CDK7)-mediated phosphorylation of the CDK9 activation loop promotes P-TEFb assembly with Tat and proviral HIV reactivation[J]. *J Biol Chem*, 2018, 293(26): 10009-10025.
- [42] Li Z, Guo J, Wu Y, *et al*. The BET bromodomain inhibitor JQ1 activates HIV latency through antagonizing Brd4 inhibition of Tat-transactivation[J]. *Nucleic Acids Res*, 2013, 41(1): 277-287.
- [43] Cary DC, Peterlin BM. Procyanidin trimer C1 reactivates latent HIV as a triple combination therapy with kansui and JQ1[J / OL]. *PLoS One*, 2018, 13(11): e0208055 (2018-11-26) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0208055>.
- [44] Jiang G, Mendes EA, Kaiser P, *et al*. Synergistic reactivation of latent HIV expression by ingenol-3-angelate, PEP005, targeted NF- κ B signaling in combination with JQ1 induced P-TEFb activation[J/OL].

- PLoS Pathog*, 2015, 11(7): e1005066 (2015-07-30) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005066>.
- [45] Wang C, Yang S, Lu H, *et al*. A natural product from *Polygonum cuspidatum* Sieb. Et Zucc. promotes Tat-dependent HIV latency reversal through triggering P-TEFb's release from 7SK snRNP[J/OL]. *PLoS One*, 2015, 10(11): e0142739 (2015-11-16) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0142739>.
- [46] Lu P, Qu X, Shen Y, *et al*. The BET inhibitor OTX015 reactivates latent HIV-1 through P-TEFb[J/OL]. *Sci Rep*, 2016, 6: 24100 (2016-04-12) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1038/srep24100>.
- [47] Kauder SE, Bosque A, Lindqvist A, *et al*. Epigenetic regulation of HIV-1 latency by cytosine methylation[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2009, 5(6): e1000495 (2009-06-26) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1000495>.
- [48] Bouchat S, Delacourt N, Kula A, *et al*. Sequential treatment with 5-aza-2'-deoxycytidine and deacetylase inhibitors reactivates HIV-1[J]. *EMBO Mol Med*, 2016, 8(2): 117-138.
- [49] Clouser CL, Holtz CM, Mullett M, *et al*. Activity of a novel combined antiretroviral therapy of gemcitabine and decitabine in a mouse model for HIV-1[J]. *Antimicrob Agents Chemother*, 2012, 56(4): 1942-1948.
- [50] Samer S, Arif MS, Giron LB, *et al*. Nicotinamide activates latent HIV-1 *ex vivo* in ART suppressed individuals, revealing higher potency than the association of two methyltransferase inhibitors, chaetocin and BIX01294[J]. *Braz J Infect Dis*, 2020, 24(2): 150-159.
- [51] Bensussen A, Torres-Sosa C, Gonzalez RA, *et al*. Dynamics of the gene regulatory network of HIV-1 and the role of viral non-coding RNAs on latency reversion[J/OL]. *Front Physiol*, 2018, 9: 1364 (2018-09-28) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01364>.
- [52] Bouchat S, Gatot JS, 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.
- [53] 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 Lett*, 2011, 585(22): 3549-3554.
- [54] Imai K, Togami H, Okamoto T. Involvement of histone H3 lysine 9 (H3K9) methyltransferase G9a in the maintenance of HIV-1 latency and its reactivation by BIX01294[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(22): 16538-16545.
- [55] Tsai A, Irrinki A, Kaur J, *et al*. Toll-like receptor 7 agonist GS-9620 induces HIV expression and HIV-specific immunity in cells from HIV-infected individuals on suppressive antiretroviral therapy[J/OL]. *J Virol*, 2017, 91(8): e02166-e02116 (2017-03-29) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1128/JVI.02166-16>.
- [56] Borducchi EN, Liu J, Nkolola JP, *et al*. Antibody and TLR7 agonist delay viral rebound in SHIV-infected monkeys[J]. *Nature*, 2018, 563(7731): 360-364.
- [57] Macedo AB, Novis CL, De Assis CM, *et al*. Dual TLR2 and TLR7 agonists as HIV latency-reversing agents[J/OL]. *JCI Insight*, 2018, 3(19): e122673 (2018-10-04) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1172/jci.insight.122673>.
- [58] Offersen R, Nissen SK, Rasmussen TA, *et al*. A novel Toll-like receptor 9 agonist, MGN1703, enhances HIV-1 transcription and NK cell-mediated inhibition of HIV-1-infected autologous CD4⁺ T cells[J]. *J Virol*, 2016, 90(9): 4441-4453.
- [59] Schleimann MH, Kobberø ML, Vibholm LK, *et al*. TLR9 agonist MGN1703 enhances B cell differentiation and function in lymph nodes[J]. *EBioMedicine*, 2019, 45: 328-340.
- [60] Delagrèverie HM, Delaugerre C, Lewin SR, *et al*. Ongoing clinical trials of human immunodeficiency virus latency-reversing and immunomodulatory agents[J/OL]. *Open Forum Infect Dis*, 2016, 3(4): ofw189 (2016-10-07) [2021-12-25]. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofw189>.
- [61] McBrien JB, Mavigner M, Franchitti L, *et al*. Robust and persistent reactivation of SIV and HIV by N-803 and depletion of CD8⁺ cells[J]. *Nature*, 2020, 578(7793): 154-159.
- [62] Ellis-Connell AL, Balgeman AJ, Zarbock KR, *et al*. ALT-803 transiently reduces simian immunodeficiency virus replication in the absence of antiretroviral treatment[J/OL]. *J Virol*, 2018, 92(3): e01748-17 (2018-01-17) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1128/JVI.01748-17>.
- [63] Seay K, Church C, Zheng JH, *et al*. *In vivo* activation of human NK cells by treatment with an interleukin-15 superagonist potently inhibits acute *in vivo* HIV-1 infection in humanized mice[J]. *J Virol*, 2015, 89(12): 6264-6274.
- [64] Webb GM, Molden J, Busman-Sahay K. The human IL-15 superagonist N-803 promotes migration of

- virus-specific CD8⁺ T and NK cells to B cell follicles but does not reverse latency in ART-suppressed, SHIV-infected macaques[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2020, 16(3): e1008339 (2020-03-12) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008339>.
- [65] Nixon CC, Mavigner M, Sampey GC, *et al*. Systemic HIV and SIV latency reversal via non-canonical NF- κ B signalling *in vivo* [J]. *Nature*, 2020, 578(7793): 160-165.
- [66] Le Garff G, Samri A, Lambert-Niclot S, *et al*. Transient HIV-specific T cells increase and inflammation in an HIV-infected patient treated with nivolumab[J]. *Aids*, 2017, 31(7): 104-1051.
- [67] Guihot A, Marcelin AG, Massiani MA, *et al*. Drastic decrease of the HIV reservoir in a patient treated with nivolumab for lung cancer[J]. *Ann Oncol*, 2018, 29(2): 517-518.
- [68] Bui JK, Cyktor JC. Blockade of the PD-1 axis alone is not sufficient to activate HIV-1 virion production from CD4⁺ T cells of individuals on suppressive ART [J/OL]. *PLoS One*, 2019, 14(1):e0211112 (2019-01-25) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0211112>.
- [69] Harper J, Gordon S, Chan CN, *et al*. CTLA-4 and PD-1 dual blockade induces SIV reactivation without control of rebound after antiretroviral therapy interruption[J]. *Nat Med*, 2020, 26(4): 519-528.
- [70] Tomsitz D, Hein R, Biedermann T, *et al*. Treatment of a patient with HIV and metastatic melanoma with consecutive ipilimumab and nivolumab[J/OL]. *J Eur Acad Dermatol Venereol*, 2018, 32(1): e26-e28 (2018-01-17) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1111/jdv.14450>.
- [71] Rasmussen TA, Rajdev L, Rhodes A, *et al*. Impact of anti-PD-1 and anti-CTLA-4 on the human immunodeficiency virus (HIV) reservoir in people living with HIV with cancer on antiretroviral therapy: the AIDS malignancy consortium 095 study[J/OL]. *Clin Infect Dis*, 2021, 73(7): e1973-e1981 (2021-10-05) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa1530>.
- [72] Lau JSY, McMahon JH, Gubser C, *et al*. The impact of immune checkpoint therapy on the latent reservoir in HIV-infected individuals with cancer on antiretroviral therapy[J]. *Aids*, 2021, 35(10): 1631-1636.
- [73] Colston E, Grasela D, Gardiner D, *et al*. An open-label, multiple ascending dose study of the anti-CTLA-4 antibody ipilimumab in viremic HIV patients [J/OL]. *PLoS One*, 2018, 13(6):e0198158 (2018-06-07) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0198158>.
- [74] Doyon G, Zerbato J, Mellors JW, *et al*. Disulfiram reactivates latent HIV-1 expression through depletion of the phosphatase and tensin homolog[J]. *Aids*, 2013, 27(2): F7-F11.
- [75] Lucera MB, Tilton CA, Mao H, *et al*. The histone deacetylase inhibitor vorinostat (SAHA) increases the susceptibility of uninfected CD4⁺ T cells to HIV by increasing the kinetics and efficiency of postentry viral events[J]. *J Virol*, 2014, 88(18):10803-10812.
- [76] Gammoh N, Lam D, Puente C, *et al*. Role of autophagy in histone deacetylase inhibitor-induced apoptotic and nonapoptotic cell death[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2012, 109(17): 6561-6565.
- [77] Spector C, Mele AR, Wigdahl B, *et al*. Genetic variation and function of the HIV-1 Tat protein[J]. *Med Microbiol Immunol*, 2019, 208(2): 131-169.
- [78] Copeland KF. Modulation of HIV-1 transcription by cytokines and chemokines[J]. *Mini Rev Med Chem*, 2005, 5(12): 1093-1101.
- [79] Pache L, Dutra MS, Spivak AM, *et al*. BIRC2/cIAP1 is a negative regulator of HIV-1 transcription and can be targeted by SMAC mimetics to promote reversal of viral latency[J]. *Cell Host Microbe*, 2015, 18(3): 345-353.
- [80] Henderson LJ, Reoma LB, Kovacs JA. Advances toward curing HIV-1 infection in tissue reservoirs[J/OL]. *J Virol*, 2020, 94(3): e00375-19 (2020-01-17) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1128/JVI.00375-19>.
- [81] Kula-Pacurar A, Rodari A, Darcis G, *et al*. Shocking HIV-1 with immunomodulatory latency reversing agents[J/OL]. *Semin Immunol*, 2021, 51: 101478 (2021-04-19) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1016/j.smim.2021.101478>.
- [82] Van der Sluis RM, Kumar NA, Pascoe RD. Combination immune checkpoint blockade to reverse HIV latency[J]. *J Immunol*, 2020, 204(5): 1242-1254.
- [83] Banga R, Procopio FA, Noto A, *et al*. PD-1⁺ and follicular helper T cells are responsible for persistent HIV-1 transcription in treated aviremic individuals[J]. *Nat Med*, 2016, 22(7): 754-761.
- [84] Hui E, Cheung J. T cell costimulatory receptor CD28 is a primary target for PD-1-mediated inhibition[J]. *Science*, 2017, 355(6332): 1428-1433.
- [85] Gupta V, Dixit NM. Trade-off between synergy and efficacy in combinations of HIV-1 latency-reversing agents[J/OL]. *PLoS Comput Biol*, 2018, 14(2):e1006004 (2018-02-16) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1006004>.

- [86] Dental C, Proust A. HIV-1 latency-reversing agents prostratin and bryostatin-1 induce blood-brain barrier disruption / inflammation and modulate leukocyte adhesion / transmigration[J]. *J Immunol*, 2017, 198 (3): 1229-1241.
- [87] Ait-Ammar A, Kula A, Darcis G, *et al.* Current status of latency reversing agents facing the heterogeneity of HIV-1 cellular and tissue reservoirs[J/OL]. *Front Microbiol*, 2020, 10: 3060 (2020-01-24) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.03060>.
- [88] Bricker KM, Chahroudi A, Mavigner M. New latency reversing agents for HIV-1 cure: insights from non-human primate models[J/OL]. *Viruses*, 2021, 13(8): 1560 (2021-08-06) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.3390/v13081560>.
- [89] Pace M, Williams J, Kurioka A, *et al.* Histone deacetylase inhibitors enhance CD4 T cell susceptibility to NK cell killing but reduce NK cell function[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(8): e1005782 (2016-08-16) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005782>.
- [90] Chew GM, Fujita T, Webb GM, *et al.* TIGIT marks exhausted T cells, correlates with disease progression, and serves as a target for immune restoration in HIV and SIV infection[J/OL]. *PLoS Pathog*, 2016, 12(1): e1005349 (2016-01-17) [2022-01-15]. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1005349>.

Research advances in HIV-1 latency reversing agents

ZHANG Yi-na¹, LIANG Rui-ying¹, TIAN Shi-jun¹, WANG Juan^{1,2}, WANG Chun-ying³,
HUO Shan-shan^{1,2}, YU Fei^{1,2}

(1. College of Life Sciences, Hebei Agricultural University, Baoding 071001, China; 2. Hebei Key Laboratory of Analysis and Control of Zoonotic Pathogenic Microorganisms, Baoding 071001, China;
3. Baoding Maternal and Child Health Hospital, Baoding 071066, China)

Abstract: Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) is a deficiency of immune function caused by human immunodeficiency virus (HIV). Highly active antiretroviral therapy is the most effective treatment for AIDS. Although this treatment can reduce the viral load in patients, it fails to completely clear the virus from the body. In 2012, researchers proposed a "shock and kill" treatment strategy, which uses HIV-1 latency-reversing agents (LRAs) to activate latent HIV-1 in CD4⁺ T cells for exposure before host cells carrying the virus are eliminated by enhancing the immune system or using antiviral drugs so as to gradually clear the latent reservoir of the virus and finally ensure a functional cure for AIDS patients. There are five main latent mechanisms of HIV-1: epigenetic regulation, transcription factor regulation, regulation of immune signaling pathways, influence of provirus genes integration sites and effect of microRNAs. Based on the latent mechanisms of HIV-1, potential drugs as LRAs include epigenetic modifiers, transcription regulators and immune activators. In this paper, the action mechanism, representative drugs and research progress related to the above drugs are reviewed in order to provide new ideas for the research and development of LRAs.

Key words: acquired immunodeficiency syndrome; HIV-1 latency-reversing agents; HIV-1 latent reservoir

Foundation item: Science and Technology Research Project of Higher Learning in Hebei Province (BJ2018045); and Baoding Science and Technology Plan Project (2172P008)

Corresponding author: YU Fei, E-mail: shmyf@hebau.edu.cn; HUO Shan-shan, E-mail: shmhss@hebau.edu.cn

(收稿日期: 2022-01-17 接受日期: 2022-06-02)

(本文编辑: 魏霞)