

组蛋白去乙酰化酶抑制剂在艾滋病治愈中的研究进展

李燕青*,周波,邹尚荣#(广州市第八人民医院药剂科,广州 510060)

中图分类号 R978.7 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)08-1150-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.08.46

摘要 目的:了解组蛋白去乙酰化酶(HDAC)抑制剂在艾滋病(AIDS)治愈中的研究进展。方法:查阅近年来国内外AIDS治愈及HDAC抑制剂的相关文献,对HDAC抑制剂在AIDS治愈中的研究进行归纳和总结。结果:人类免疫缺陷病毒(HIV)不能被彻底清除的根源在于存在主要由整合了HIV-1 DNA的静息记忆性CD4⁺T细胞组成的HIV潜伏库。清除HIV潜伏库的方法为“惊醒并杀死”策略,期间联合抗逆转录病毒治疗以防止新细胞被逆转HIV潜伏细胞后释放的病毒所感染。伏立诺他是当前最有研究前景的用于AIDS治愈的HDAC抑制剂之一。结论:HDAC抑制剂在AIDS治愈中的应用仍有诸多问题需要解决,但其已成为AIDS治愈的研究热点,使实现AIDS治愈成为可能,为根除HIV开拓了广阔前景。

关键词 艾滋病;治愈;潜伏库;组蛋白去乙酰化酶抑制剂

抗逆转录病毒治疗(Antiretroviral therapy, ART)是治疗人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)感染患者的标准疗法,经其治疗的HIV患者预期寿命与非感染人群大致相同。1996—2012年,ART减少了全球约660万例艾滋病(Acquired immune deficiency syndrome, AIDS)患者的相关性死亡^[1]。然而,这种成功的维持需要终身的药物治疗。ART方案由多种药物组合而成,针对病毒生命周期的特定阶段,大量并完全地遏制持续的病毒复制,使血浆病毒载量下降并维持至临床检测限(HIV-1 RNA 20~50 copies/ml)以下^[2];一旦停止ART,病毒水平会在3~4周内反弹^[3]。终身的药物治疗可带来一系列健康及社会问题,如药物蓄积毒性、耐药性、药物相互作用以及药物等医疗资源持续供给问题^[4-6],亟需寻找一种可替代终身ART的方案。

核小体是真核生物染色质的基本单位,通过对组蛋白核心的N端的乙酰化、甲基化、磷酸化、遍在蛋白化的修饰作用而影响细胞的功能。组蛋白乙酰化酶(Histone acetylase, HAT)及组蛋白去乙酰化酶(Histone deacetylases, HDAC)之间的动态平衡控制着染色质的结构和基因表达。当组蛋白去乙酰化水平增加,乙酰化水平相对降低,即会导致正常的细胞周期与代谢行为的改变而诱发肿瘤及神经退行性变。HDAC抑制剂联合ART是有望实现AIDS治愈的方案之一,AIDS治愈也是近年研究的热点。笔者查阅近年来国内外AIDS治愈及HDAC抑制剂的相关文献,拟就HDAC抑制剂在AIDS治愈中的研究进行归纳和总结。

1 AIDS治愈的病例研究

至今,全球成功治愈AIDS患者仅1例,即“柏林患者”案例^[7]。该AIDS患者被诊断为急性骨髓性淋巴瘤(AML),并接受了2次同种异体造血干细胞移植(HSCT)。诊断为AML前,患者已接受ART,血液中HIV病毒载量被抑制在检测限下,其骨髓移植供体属于CCR5-32基因的突变纯合子,即供体细胞能天然抵抗HIV-1感染。接受HSCT之前,患者已接受广泛的调控方案,包括化疗、抗胸腺细胞蛋白和全身放疗。HSCT后,患者停止了ART,但HIV病毒并没有反弹。5年后,患者的多

种组织中均未发现HIV-1的存在^[8]。

然而,之后在波士顿的2例AIDS患者却没有复制“柏林患者”的成功,他们均由于诊断出恶性肿瘤而进行了HSCT,但是骨髓供体的CCR5基因为野生型,骨髓移植前的调控方案强度也不高,接受HSCT并停止ART后,2例患者HIV载量在检测限之下的时长分别为84 d和225 d,之后HIV病毒突然快速反弹至较高水平^[9-10],AIDS治愈宣告失败。

AIDS治愈研究中的另一著名案例为“密西西比婴儿”,该患儿母亲是HIV感染者,分娩前及分娩中并未接受ART。患儿出生后30 h即予足量的ART药物,但之后仍确诊其感染了HIV,至其18月龄,直接接受ART。患儿随后失访且中断了ART,至23月龄复诊,其血浆HIV-1载量仍在检测限以下,且无HIV特异性抗体。这种病毒学及血清学结果在未进行ART的情况下共维持了27个月,至其46月龄复诊,其血浆HIV-1载量出现了反弹。最新研究结果表明,极早行ART也不能完全清除患者体内的HIV^[11-12]。

2 HIV潜伏库

进行ART时,HIV-1仍然能够长期存在的主要原因为HIV感染后能够建立一个潜伏的病毒储库,该潜伏库主要由整合了HIV-1 DNA的静息记忆性CD4⁺T细胞组成,其半衰期稳定,长达44个月;数量很少,与全部静息CD4⁺T细胞之比约为1:106^[13-15],而且不能被强化的ART所清除^[16]。

Siliciano JD及Wei DG等^[2,17]的研究表明,HIV病毒基因上作为启动子的长末端重复序列(Long terminal repeat, LTR),与宿主转录因子如核转录因子(NF)-κB和活化T细胞的核因子,具有严格匹配的结合位点,这些转录因子位于活化的CD4⁺T细胞核内;而在静息CD4⁺T细胞中,转录因子却被隔离在细胞质中;而且,LTR的5端的甲基化修饰以及LTR邻近区域组蛋白去乙酰化和其他表观遗传修饰也会改变染色质环境,从而限制病毒转录。其次,HIV-1转录延伸极大地依赖于正性转录延伸因子,而在静息CD4⁺T细胞中,正性转录延伸因子处于非活化状态。由于宿主限制因子SAMHD1的作用,静息CD4⁺T细胞低表达HIV-1共受体CCR5和三磷酸脱氧核苷。这些因素都使HIV-1在活化的CD4⁺T细胞中复制活跃,而在静息CD4⁺T细胞中几乎不被复制。但是,在某些情况下,受感染的活化CD4⁺T细胞可以转化为不允许病毒复制的静息记忆状态。在长寿命的记忆T细胞中,存在稳定整合了HIV-1基因但

* 主管药师。研究方向:临床药学。电话:020-83710516。E-mail:liquie@163.com

通信作者:主任药师,硕士。研究方向:临床药学与药事管理。电话:020-83710515。E-mail:627bgs@163.com

不转录的前病毒,一旦该T细胞被抗原或细胞因子激活,又可以产生病毒复制。

3 清除 HIV 潜伏库

ART 仅能清除持续活化复制的 HIV 病毒,即使在感染的极早阶段开始 ART,潜伏库也已经建立,10 年后仍然能检测到 HIV 感染的静息 CD4⁺ T 细胞^[18]。HIV 潜伏库成为了 AIDS 治愈的主要障碍,清除潜伏库则是当前研究的首要目标。目前,研究广泛的一种清除潜伏库的策略是使用潜伏逆转剂(Latency-reversing agents, LRAs),上调潜伏感染细胞的 HIV-1 基因表达,旨在让之后感染的细胞能被病毒细胞病理作用杀死或被病毒特异性细胞毒性 T 淋巴细胞溶解,此方法命名为“惊醒并杀死”策略(The shock and kill strategy)。该策略需在 ART 并获得病毒抑制的患者中使用,ART 能够防止新细胞被逆转 HIV 潜伏细胞后释放的病毒所感染^[19]。

目前,研究中的 LRAs 主要有 HDAC 抑制剂、组蛋白甲基化酶(Histone methyltransferase, HMT)抑制剂、DNA 甲基化酶(DNA methyltransferase, DNMT)抑制剂和蛋白激酶 C (Protein kinase C, PKC)激动药等^[19]。其中,HDAC 抑制剂已在体内试验中被证实可行。

4 HDAC 抑制剂

4.1 伏立诺他(Vorinostat, VOR)

HAT 能使病毒 LTR N 端的组蛋白乙酰化,而 HDAC 则使其去乙酰化,通过多种转录调节因子募集 HDAC 至 LTR,是限制 HIV 转录启动的一种表型遗传修饰。HDAC 可使组蛋白的赖氨酸残基去乙酰化,诱发染色质凝聚,使转录启动位点下游的与 HIV 前病毒 DNA 相互作用的核小体 nuc-1 低乙酰化,从而抑制转录;相反,HAT 的募集则可以强化 LTR 的表达^[16-17]。这是形成 HIV 潜伏库的机制之一。据此,HDAC 抑制剂可以激活潜伏库,活化整合有前病毒的静息 CD4⁺ T 细胞。

HDAC 有 4 种类型,分别为 HDAC I 型、II 型、III 型、IV 型^[20]。其中,HIV-1 LTR 主要募集 I 型。VOR 是一种选择性 I 型 HDAC 抑制剂,美国食品药品监督管理局(FDA)批准其用于复发性和难治性皮肤 T 细胞淋巴瘤(CTCL)的治疗^[21-23]。在病毒潜伏的细胞模型中,VOR 可以诱导 HIV 启动子的活性,并诱导从经过 ART 治疗且病毒得到抑制的患者中获取的静息 CD4⁺ T 细胞产生病毒^[24]。VOR 的作用在体内研究中得到初步证实,Archin NM 等^[25]首次在 AIDS 患者中应用单剂量 VOR 来激活 HIV 潜伏库,研究纳入的 8 例患者皆服用 ART 药物且病毒载量在检测限以下。结果显示,VOR 具有良好的耐受性,能够诱导患者体内的静息 CD4⁺ T 细胞表达 HIV RNA,并使之增加 4.8 倍,提示以激活 HIV 潜伏库为治疗目标在患者体内可行。VOR 不会增强病毒与细胞的融合,但可增加病毒入侵细胞后一系列事件的动力学及效率,包括逆转录、核输入、整合和增加病毒的产生^[16]。VOR 是当前用于 AIDS 治愈最有研究前景的 HDAC 抑制剂。

4.2 其他

罗米地辛(Romidepsin, RMD, FK228)是由色素细菌 *Chromobacterium violaceum* 产生的一种抗生素,是 FDA 批准用于治疗复发性 CTCL 的抗生素。RMD 比 VOR 效价更高,且作用持续时间更长,其污染物致突变性检测(Ames)试验结果为阴性^[17,26]。

Ponobinostat 是一种泛 HDAC 抑制剂,暂处于治疗复发性

血液恶性肿瘤和实体肿瘤研究的临床 I / II 期阶段。Ponobinostat 可抑制 HDAC I 型、II 型和 IV 型,效价为 VOR 的 10 倍以上,且高于其他 HDAC 抑制剂(包括 Givinostat、Belinostat 等),是激活 HIV 潜伏库的良好候选药物^[26-27]。

5 研究方向

目前,HDAC 抑制剂在 AIDS 治愈中的应用研究大多基于体外细胞模型或患者的静息 CD4⁺ T 细胞,人体试验有限^[25],如何确定 HDAC 抑制剂的剂量及有效浓度尚不明确,需要更多的临床数据证明其在临床的可行性。Huber K 等^[28]研究显示,高浓度的 HDAC 抑制剂反而会达不到增加 HIV-1 激活的目标值。如 VOR 在临床常用的低浓度时是特异性 HDAC I 型抑制剂,但在高浓度时则可抑制多型 HDAC,并诱导细胞分化、毒性和细胞凋亡^[24]。

除了血液,HIV 还可潜伏在淋巴结、中枢神经系统等药物较难到达的组织中^[29]。HDAC 抑制剂能否在这些较隐蔽的组织中达到有效浓度,是另一个需要考虑的问题。研发一种体内屏障透过率高、在体内广泛分布的 HDAC 抑制剂,或者从制剂工艺上开发一种新剂型以提高渗透性或加强靶向性(如纳米制剂),是未来研究的方向之一。

当 LRAs 和 ART 联合组成的“惊醒并杀死”策略能有效减少 HIV 潜伏库时,潜伏库的数量将低至难以测定的水平,唯一能够衡量该策略有效性的方法是停止 ART 并监测患者病毒反弹的情况。激活体内潜伏库细胞,其动力学受诸多未知因素影响,故出现病毒反弹的时间不一^[2]。从 2 例失败的“波士顿患者”案例^[7]可见,数量较小的潜伏库细胞也可以导致病毒反弹,需要长期密切监测患者病毒反弹情况,及时给予治疗措施;若错过时机,潜伏库将会得到重新补充,恢复至干预前水平。不正确的治疗或不良的依从性也会导致耐药 HIV 的产生。

激活 HIV 潜伏库,可单用 HDAC 抑制剂或联用其他 LRAs(如 PKC 激活剂),从多个途径增加 HIV 在静息 CD4⁺ T 细胞中的表达,继而被病毒自身或宿主的免疫机制清除。与 ART 联用,则可避免新细胞被潜伏库新释放的 HIV 感染。随着 HIV 疫苗的同步研发^[30],与“惊醒并杀死”策略组合共同应用于预防和治疗 AIDS,AIDS 治愈将成为可以实现的目标。

6 结语

至今,AIDS 治愈的成功案例仅 1 例,但该病例治愈的过程复杂,涉及治疗手段众多,不容易被复制。HIV 不能被彻底清除的根源在于存在主要由整合了 HIV-1 DNA 的静息记忆性 CD4⁺ T 细胞组成的 HIV 潜伏库。“惊醒并杀死”策略旨在用 HDAC 抑制剂等 LRAs 激活静息 CD4⁺ T 细胞,使其表达 HIV RNA,让之后感染细胞能被病毒细胞病理作用杀死或被病毒特异性细胞毒性 T 淋巴细胞溶解,期间联合 ART 以防止新细胞被逆转 HIV 潜伏细胞后释放的病毒所感染。VOR 是当前最有研究前景的用于 AIDS 治愈的 HDAC 抑制剂之一。尽管 HDAC 抑制剂在 AIDS 治愈中的应用仍有诸多问题需要解决,但其已成为 AIDS 治愈的研究热点,使实现 AIDS 治愈成为可能,为根除 AIDS 开拓了广阔前景。

参考文献

- [1] UNAIDS. *Global report: UNAIDS report on the global AIDS epidemic* 2013[EB/OL].[2015-03-01]. <http://www.unaids.org/en/media/unaids/contentassets/documents/epide>

miology/2013/gr2013/unaided_global_report_2013_en.pdf.

- [2] Siliciano JD, Siliciano RF. Recent developments in the search for a cure for HIV-1 infection: targeting the latent reservoir for HIV-1[J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(1):12.
- [3] Finzi D, Hermankova M, Pierson T, *et al.* Identification of a reservoir for HIV-1 in patients on highly active antiretroviral therapy[J]. *Science*, 1997, 278(5 341):1 295.
- [4] Fauci AS, Marston HD, Folkers GK. An HIV cure: feasibility, discovery and implementation[J]. *JAMA*, 2014, 312(4):335.
- [5] 魏秀青, 陈曦. 艾滋病临床治疗最新研究进展[J]. 实用预防医学, 2009, 16(1):278.
- [6] 吴尊友. 中国艾滋病防治面临新形势与新挑战[J]. 中国公共卫生, 2011, 27(12):1 505.
- [7] Hutter G, Nowak D, Mossner M, *et al.* Long-term control of HIV by CCR5 delta32/delta32 stem-cell transplantation[J]. *N Engl J Med*, 2009, 360(7):692.
- [8] Yukl SA, Boritz E, Busch M, *et al.* Challenges in detecting HIV persistence during potentially curative interventions: a study of the Berlin patient[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(5):e1003347.
- [9] Henrich TJ, Hu Z, Li JZ, *et al.* Long-term reduction in peripheral blood HIV type 1 reservoirs following reduced-intensity conditioning allogeneic stem cell transplantation[J]. *J Infect Dis*, 2013, 207(11):1 694.
- [10] Henrich TJ, Hanhauser E, Sirignano MN, *et al.* HIV-1 rebound following allogeneic stem cell transplantation and treatment interruption[C]. Boston: Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, 2014.
- [11] Persaud D, Gay H, Ziemniak C, *et al.* Absence of detectable HIV-1 viremia after treatment cessation in an infant [J]. *N Engl J Med*, 2013, 369(19):1 828.
- [12] National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NI-AID). "Mississippi Baby" now has detectable HIV, researchers find[EB/OL]. [2015-03-01]. <http://www.niaid.nih.gov/news/newsreleases/2014/Pages/MississippiBaby-HIV.aspx>.
- [13] Finzi D, Blankson J, Siliciano JD, *et al.* Latent infection of CD4⁺ T cells provides a mechanism for lifelong persistence of HIV-1, even in patients on effective combination therapy[J]. *Nat Med*, 1999, 5(5):512.
- [14] Siliciano JD, Kajdas J, Finzi D, *et al.* Long-term follow-up studies confirm the stability of the latent reservoir for HIV-1 in resting CD4⁺ T cells[J]. *Nat Med*, 2003, 9(6):727.
- [15] Strain MC, Gunthard HF, Havlir DV, *et al.* Heterogeneous clearance rates of long-lived lymphocytes infected with HIV: intrinsic stability predicts lifelong persistence [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2003, 100(8):4 819.
- [16] 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 post-entry viral events[J]. *J Virol*, 2014, 88(18):10 803.
- [17] Wei DG, Chiang V, Fyne E, *et al.* Histone deacetylase inhibitor romidepsin induces HIV expression in CD4⁺ T cells from patients on suppressive antiretroviral therapy at concentrations achieved by clinical dosing[J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10(4):e1004071.
- [18] Buzon MJ, Martin-Gayo E, Pereyra F, *et al.* Long-term antiretroviral treatment initiated at primary HIV-1 infection affects the size, composition, and decay kinetics of the reservoir of HIV-1-infected CD4⁺ T cells[J]. *J Virol*, 2014, 88(17):10 056.
- [19] Xing S, Siliciano RF. Targeting HIV latency: pharmacologic strategies toward eradication[J]. *Drug Discov Today*, 2013, 18(11/12):541.
- [20] 王洁, 张心怡, 郝彩丽, 等. 组蛋白去乙酰化酶抑制剂的研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2014, 14(14):2 783.
- [21] Kogge A, Volteau C, Saint-Jean M, *et al.* Vorinostat for refractory or relapsing epidermotropic T-cell lymphoma: a retrospective cohort study of 15 patients[J]. *Acta Derm Venereol*, 2015, 95(1):72.
- [22] 杨梅. 皮肤T细胞淋巴瘤治疗新药伏立诺他[J]. 中国新药杂志, 2010, 19(8):646.
- [23] 宦娣, 余兴群, 李杰. 抗肿瘤药伏立诺他药理毒理研究进展[J]. 淮海医药, 2014, 32(4):415.
- [24] Manson MME, Hakre S, Verdin EM, *et al.* Therapy for latent HIV-1 infection: the role of histone deacetylase inhibitors[J]. *Antivir Chem Chemother*, 2014, 23(4):145.
- [25] Archin NM, Liberty AL, Kashuba AD, *et al.* Administration of vorinostat disrupts HIV-1 latency in patients on antiretroviral therapy[J]. *Nature*, 2012, 487(7 408):482.
- [26] Shirakawa K, Chavez L, Hakre S, *et al.* Reactivation of latent HIV by histone deacetylase inhibitors[J]. *Trends Microbiol*, 2013, 21(6):277.
- [27] Rasmussen TA, Schmeltz SO, 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.
- [28] Huber K, Doyon G, Plaks J, *et al.* Inhibitors of histone deacetylases: correlation between isoform specificity and reactivation of HIV type 1 (HIV-1) from latently infected cells[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(25):22 211.
- [29] Garrido C, Margolis DM. Translational challenges in targeting latent HIV infection and the CNS reservoir problem [J]. *J Neurovirol*, 2014, doi:10.1007/s13365-014-0269-z.
- [30] Shearer WT. Cure of HIV infection: is the long wait over [J]. *J Allergy Clin Immunol*, 2014, 134(1):20.

(收稿日期:2015-04-22 修回日期:2016-01-25)

(编辑:陶婷婷)