

HIV-1 Tat蛋白在细胞核中的功能

李露 宁淑香 王继红*

(辽宁师范大学生命科学学院, 大连 116081)

摘要 HIV-1 Tat蛋白是HIV-1病毒基因表达的重要调控蛋白,其通过与不同的细胞分子及信号通路相互作用来调控细胞过程。Tat蛋白由感染细胞产生,也可由感染细胞产生后分泌而作用于其他细胞;因此,它既能影响感染细胞,也能影响未感染细胞。Tat蛋白积聚在细胞核中,但根据其表达水平的不同,其可能会定位于核质或核仁,并发挥不同的核效应。该文针对Tat蛋白的结构、核输入机制及细胞核效应的研究进展进行概述。

关键词 HIV-1 Tat蛋白; 细胞核; 核质; 核仁; HIV-1相关疾病

Function of HIV-1 Tat Protein in the Nucleus

LI Lu, NING Shuxiang, WANG Jihong*

(College of Life Science, Liaoning Normal University, Dalian 116081, China)

Abstract The HIV-1 Tat protein is an important regulator of HIV-1 viral gene expression and regulates cellular processes by interacting with different cellular molecules and signalling pathways. Tat protein is produced by infected cells and can also be secreted by infected cells to act on other cells; Therefore, it can affect both infected and uninfected cells. Tat protein accumulates in the nucleus, but depending on its different expression level, it may be localized in the nucleoplasm or nucleolus and exerts different nuclear effects. This article provides an overview of the structure, nuclear import mechanisms and nuclear effects of Tat proteins.

Keywords HIV-1 Tat protein; nucleus; nucleoplasm; nucleoli; HIV-1 related diseases

HIV-1 Tat蛋白是人类免疫缺陷病毒-1型(human immunodeficiency virus type 1, *HIV-1*)基因编码的一种反式转录激活因子,是HIV-1的重要调控蛋白,在HIV-1转录和复制中起到至关重要的作用,因此受到科研人员的广泛关注。

许多研究发现,在感染HIV-1的细胞内,Tat蛋白与多种分子相互作用,启动病毒基因组的转录,促进转录延伸^[1]。Tat蛋白还可由感染HIV-1的细胞产生,并被分泌到细胞外,发挥作用^[2]。

Tat蛋白积聚在细胞核中,参与相应一系列的细胞反应^[3]。在一些情况下,Tat蛋白的细胞效应是通

过信号级联实现的;然而,在另一些情况下,Tat蛋白直接与细胞分子及核成分相互作用从而发挥作用。Tat蛋白与核成分的相互作用决定了其在细胞核中的积累,而目前对此的研究相对较少。

Tat蛋白可能根据其在核内的表达情况,定位于细胞核中的不同部位(核质或核仁),且会产生不同的核效应。在HIV-1感染细胞或表达Tat蛋白的培养细胞中,Tat蛋白的表达水平非常高,并被定位于核仁中。然而,在艾滋病患者的未感染细胞中,Tat蛋白表达水平较低,且优先定位于核质^[4]。

HIV-1的感染,是世界范围内的一个主要健康

收稿日期: 2022-11-02

接受日期: 2023-01-03

国家高技术研究发展计划(批准号: 2014AA093502)资助的课题

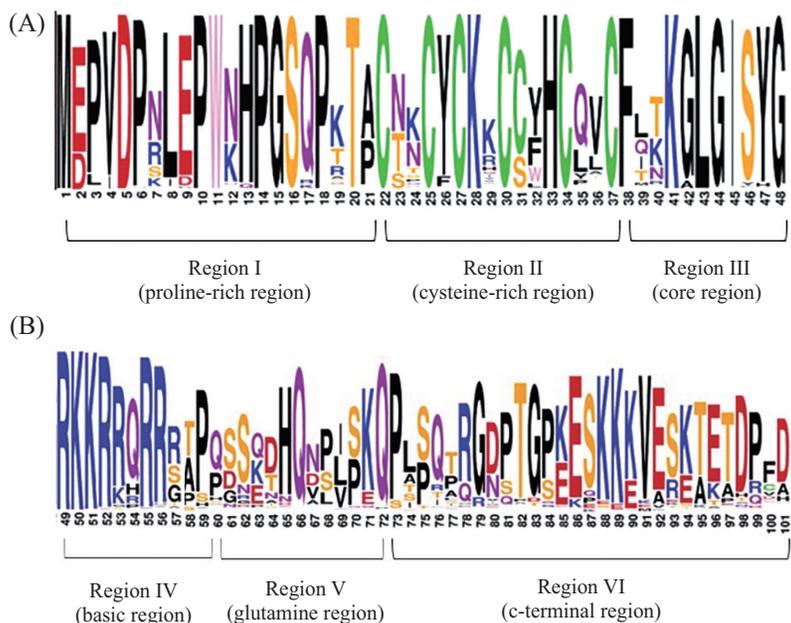
*通讯作者。Tel: 13840907531, E-mail: jihongwang999@hotmail.com

Received: November 2, 2022

Accepted: January 3, 2023

This work was supported by the National High Technology Research and Development Program of China (Grant No.2014AA093502)

*Corresponding author. Tel: +86-13840907531, E-mail: jihongwang999@hotmail.com



A: HIV-1 Tat蛋白I区~III区结构; B: HIV-1 Tat蛋白IV区~VI区结构。

A: structure of HIV-1 Tat protein region I-III; B: structure of HIV-1 Tat protein region IV-VI.

图1 HIV-1Tat蛋白结构示意图(根据参考文献[15]修改)

Fig.1 Schematic representation of d of HIV-1 Tat protein structure (modified from the reference [15])

问题。Tat蛋白在HIV-1感染周期的细胞核中发挥关键作用。因此，Tat蛋白的细胞核功能的研究对HIV-1的治疗至关重要。本文分别从Tat蛋白的结构、核输入机制及细胞核效应等方面综述相关的研究进展，旨在为基于Tat蛋白功能的相关研究及HIV-1的治疗应用提供参考依据。

1 HIV-1 Tat蛋白的结构

Tat蛋白是HIV-1的一种活跃在细胞核中的调节蛋白^[5]。最初，有研究发现Tat蛋白是一种有效的病毒复制激活剂。随着对其研究的深入，发现其可通过反式作用参与病毒和细胞基因表达的调节。

Tat蛋白与反式激活效应区RNA(trans-activation responsive, TAR)相互作用，反式激活HIV-1的转录。TAR，位于所有HIV-1 mRNA的5'末端的+1至+59位。Tat蛋白的分子量在14~16 kDa，由两个外显子编码，两个外显子之间大约有2 300个核苷酸^[1,6]。Tat蛋白的长度在84~101个氨基酸，共分为6个区：I区(1~21)，富脯氨酸酸性N末端区；II区(22~37)，富半胱氨酸区(Cys)；III区(38~48)，疏水核心区，含RKGLGI基序；IV区(49~59)，碱性区，含RKKRRQR-RR基序，具有TAR RNA结合活性；V区(60~72)，富谷氨酸区(Glu)；VI区(73~101)，C末端区，含RGD基序(图1)^[7]。

结构研究表明，在溶液中游离时，Tat蛋白的结构非常灵活，没有显示出任何主要的二级结构。当不存在Tat配体时，大多数Tat蛋白的全长结构不能鉴定出稳定的构象^[8]。由此可知，Tat蛋白是一种灵活且本质上无序的蛋白质，这种特性也使得它能与各种细胞结构相互作用从而执行各种功能。此外，晶体研究表明，Tat蛋白缺乏刚性结构，能与各种蛋白质或脂类形成高亲和力的复合体，且每个复合体都涉及不同特定构象的Tat蛋白^[9]。

Tat蛋白的结构依赖于细胞微环境的pH值。KUNIHARA等^[10]研究发现，在体外条件下，通过控制Tat蛋白与锌离子的结合，培养基的pH值可决定Tat蛋白的构象。在pH为7.0的中性环境中，Tat蛋白与锌离子结合，呈现出无序构象的预熔球态；然而，当pH降为4.0时，锌离子被去除，Tat蛋白呈现出完全展开的状态。

Tat蛋白的结构受与其相互作用的蛋白质或核酸的影响。根据其于蛋白质或核酸的相互作用，Tat蛋白可以存在于不同的折叠阶段。KIM等^[11]研究了Tat蛋白在细胞内的结构变化，结果表明Tat蛋白与Tat-RNA结合后保留了未折叠的性质，这不仅防止了Tat蛋白的错误折叠，而且采用了有利于与细胞转录机制结合的结构。

2 HIV-1 Tat蛋白在细胞核内积聚

Tat蛋白可以反式激活 *HIV-1* 基因, 其少部分活动活跃在细胞质中, 大部分发生在细胞核中。当 Tat 蛋白的碱性结构域发生突变或删除时, Tat 蛋白则无法到达细胞核, 还会导致其优先定位于细胞质, 且其反式激活作用也会受到抑制。此外, 当 Tat 蛋白的碱性结构域连接到 β -半乳糖苷酶 (β -galactosidase, β -Gal) 时, 所得复合体可有效靶向细胞核。这些结果表明, Tat 蛋白的碱性结构域对于 Tat 蛋白的核输入是非常必要的, 且其可作为核定位信号 (nuclear localization signal, NLS), 负责 Tat 蛋白在细胞核中的积聚^[12]。最新研究表明, 虽然 Tat 蛋白的碱性结构域对其在细胞核中的积累具有非常重要的作用, 但 Tat 蛋白的其他结构域对其核积累也是不可或缺的^[13]。

Tat 蛋白的核输入机制尚不清楚, 仍存在争议。蛋白质进入细胞核的方式主要为被动扩散与主动转运。其中, 被动扩散适用于分子量小于 60 kDa 的蛋白质。Tat 蛋白的分子量在 14~16 kDa 之间, 因此理论上 Tat 蛋白以被动运输的方式进出细胞核, 且可穿梭于细胞核与细胞质之间。SMITH 等^[14]通过对 GST-Tat⁴⁹⁻⁶¹ 融合蛋白进行实验发现, Tat 蛋白是通过其碱性结构域与经典的核输入受体蛋白 import α 相互作用进入细胞核的。然而, 体外实验表明 Tat 蛋白的核输入是通过其碱性结构域与 import β 直接结合介导的^[13]。此外, Tat 蛋白还可通过与核成分 (如核 RNA) 的相互作用积聚在细胞核内。

以上结论均是通过 Tat 蛋白碱性结构域或其片段进行实验获得的, 因此目前得到的一些结论仅对 Tat 蛋白碱性结构域有效。迄今为止, 使用全长蛋白对 Tat 蛋白核输入机制进行研究的报道甚少且并不深入。有研究发现, 相比与 EGFP 融合的 Tat 蛋白碱性结构域而言, 与 EGFP 融合的全长 Tat 蛋白在细胞核中的积累更多^[15]。由此推测, Tat 蛋白的核输入机制可能不局限于已经发表的模型, 还需进一步的深入研究。

3 HIV-1 Tat蛋白的细胞核效应

3.1 核质 Tat 蛋白的效应机制

Tat 蛋白在 HIV-1 的激活转录中起重要作用, 当 Tat 蛋白不存在时, HIV-1 前病毒不能有效地进行激活转录, 且不能合成全长转录本。当 Tat 蛋白存在时, *HIV-1* 的转录效率增加数百倍。

Tat 蛋白由细胞周期蛋白依赖性激酶 9 (composed of cyclin-dependent kinase 9, CDK9) 和细胞周期蛋白 T1 (cyclin T1, CycT1) 组成的正转录延伸因子 b (positive transcription elongation factor b, P-TEFb) 招募到 *HIV-1* 启动子上, 并与 TAR 结合形成复合体, 该复合体最初被称为 TAT 相关激酶 (tat-associated kinase, TAK)^[16]。P-TEFb 将 RNA 聚合酶 II 的 C 末端区域 (c-terminal domain, CTD) 的第 2 位丝氨酸磷酸化, 从而激活 RNA 聚合酶 II, 促进转录延伸^[3,5,17]。当 P-TEFb 与 7SK snRNP 结合时, 其 RNA 结合组分 HEXIM1 或 HEXIM2 会阻断 P-TEFb 的功能。为诱导 *HIV-1* 基因的表达, 各种环境刺激 (如 DNA 损伤、氧化应激等) 将 P-TEFb 从 7SK snRNP 中释放出来, 并激活 CDK9 的激酶活性, 此过程为 HIV-1 从潜伏期重新激活的主要调节步骤^[3]。

有研究发现, 核仁蛋白 NOP2 会同 Tat 蛋白发生竞争, 与 TAR 进行相互作用, 导致 TAR m5C 甲基化, 从而抑制 *HIV-1* 的转录。同时, NOP2 的 RNA MTase 催化域介导了这种作用^[18]。另外, Tat 蛋白还使用其他 TAR 非依赖性途径激活 *HIV-1* 的转录, 然而这些途径对 *HIV-1* 基因表达的作用可能不如 TAR 依赖性途径显著。有研究发现, Tat 蛋白通过与包括 Rel-B 在内的宿主因子结合来激活 *HIV-1* 启动子, 其中 Tat 蛋白和 Rel-B 以 NF- κ B 依赖的方式在 HIV-1 长末端重复序列 (*HIV-1* LTR) 启动子上募集以诱导 *HIV-1* 基因转录^[19]。

有体外实验结果表明, Tat 蛋白与染色质调节因子相互作用并利用影响转录起始和延伸的特定机制来发挥其反式激活特性^[20]。经实验鉴定, 与 Tat 蛋白相互作用的染色质相关因子包括: 染色体结构维持蛋白质 (structural maintenance chromosome proteins, SMC)、微小染色体维持蛋白质 (minichromosome maintenance proteins, MCM) 和起始复制复合体 (origin of replication complex proteins, ORC) 等^[21]。Tat 蛋白与染色质的相互作用会影响染色质的结构组织。此外, 这种相互作用还可能导致有丝分裂染色体组织的改变或染色体凝聚/解凝聚过程, 甚至导致染色体异常, 从而启动 HIV-1 感染患者的肿瘤形成。

染色质重塑是 *HIV-1* 转录的重要事件^[21]。在此过程中, 染色质重塑复合物发挥重要作用, 其能够破坏核小体结构, 并且使 DNA 更容易与相互作用的蛋白质接触。这些复合物分为组蛋白乙酰转移酶 (histone acetyltransferase, HAT) 及依赖于 ATP 的染色

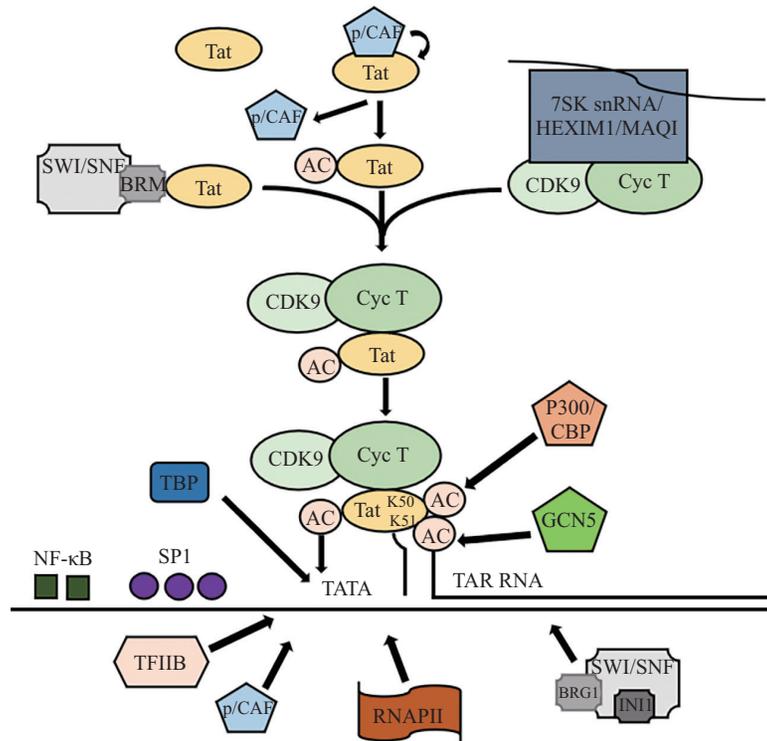


图2 核质Tat蛋白与染色质相互作用示意图(根据参考文献[20]修改)

Fig.2 Schematic diagram of interaction between nucleoplasmic Tat protein and chromatin (modified from the reference [20])

质重塑复合物两类。Tat蛋白会与染色质重塑复合物结合,从而激活HIV-1转录(图2)。

Tat蛋白可与HIV-1感染细胞中多种不同的组蛋白乙酰转移酶(例如:CBP/p300、p/CAF、GCN5、Tip60和TAFII250)相互作用^[20]。CBP和p300是密切的同系物,并作为整体转录共激活因子,它们通过与启动子结合的转录因子(如CREB)以及HAT(如p/CAF)相互作用而发挥作用^[22]。CBP/p300还可以乙酰化所有赖氨酸残基,其中优先乙酰化组蛋白H3的赖氨酸14、赖氨酸18以及组蛋白H4的赖氨酸5、赖氨酸8。p/CAF与GCN5密切相关,二者序列同源性达70%~80%,并倾向于乙酰化组蛋白H3的赖氨酸14或组蛋白H4的赖氨酸8上的游离组蛋白或核小体^[23]。

在转录启动开始之前,Tat蛋白首先解除HIV-1 LTR的染色质抑制。Tat蛋白与CBP/p300和p/CAF形成复合物,共同活化转录,同时将HATS定位在病毒启动子和随后的核小体相应靶点上。在CBP/p300和p/CAF的作用下,Tat蛋白诱导组蛋白H3和H4的乙酰化,从而诱导HIV-1 LTR的激活。同时,Tat蛋白也改变了CBP/p300复合物的构象,促进了其与基础转录因子(如TATA结合蛋白、转录因子IIB)的结合^[24]。

Tat蛋白与TAFII250的相互作用协助HIV-1转录

激活,并且对其他胞内基因的转录具有阻断作用^[25]。Tat蛋白与Tip60的相互作用抑制了Tip60的组蛋白乙酰转移酶活性,同时使得正常细胞基因表达受到干扰,以便优先转录病毒^[26]。

CBP/p300和p/CAF被募集到HIV-1 LTR上,帮助染色质重塑,通过形成松弛的环境来确保TFIIB和TBP等转录物质的结合^[26]。在没有Tat蛋白的情况下,LTR结合的核小体的乙酰化被抑制,然而与Tat蛋白相关的HAT的招募导致核小体的乙酰化被促进。病毒的反式激活需要Tat蛋白与许多不同的细胞蛋白甚至RNA瞬间相互作用。Tat蛋白通过翻译后修饰,如磷酸化、甲基化和乙酰化来实现这一点。CBP/p300和GCN5可以分别在TAR结合区域内乙酰化Tat蛋白的50和51位赖氨酸(K50、K51),这促进了Tat蛋白从TAR RNA中的解离,表明转录延伸的开始^[23,27-29]。Tat K50的乙酰化为与Tat/TAR相互作用竞争的p/CAF的溴域提供了特异结合部位,从而促进了Tat蛋白从TAR RNA中的解离^[30]。Tat蛋白可精密调节HIV-1转录过程中的乙酰化与非乙酰化状态。早期,细胞内Tat蛋白数量有限,而非乙酰化的Tat蛋白可将P-TEFb招募到TAR上,那么通过胞内去乙酰化酶使乙酰化的Tat蛋白恢复为非乙酰化状态,这在Tat蛋白促使HIV-1

转录的循环利用中至关重要。

SWI/SNF染色质重塑复合物在*HIV-1*启动子反式激活过程中具有重要作用。在SWI/SNF染色质重塑复合物的延伸和募集的早期阶段,lys50的乙酰化促使Tat蛋白从TAR中解离,其与p300的协同作用能重塑核小体并激活转录^[1]。SWI/SNF染色质重塑复合物的两个关键成分为BRG1和INI-1,敲除BRG1和INI-1会显著抑制Tat蛋白的介导性反式激活作用^[26]。BRG1与NF1/CTF、RNA聚合酶II共定位。Tat蛋白与启动子下游的NF1/CTF相互作用可介导病毒转录。

3.2 Tat蛋白在核仁积聚及其相关功能意义

3.2.1 Tat蛋白在核仁积聚 核仁是一个高度有序的核间隔,围绕着含有核糖体RNA活性基因的基因座形成。核仁的主要功能是前rRNA转录、加工以及与核糖体蛋白组装形成核糖体前亚单位。核仁还参与其他细胞过程,包括细胞周期控制、致癌过程、细胞应激反应等^[31]。

Tat蛋白密集地定位于核仁的纤维状和颗粒状成分中。同时,Tat蛋白的核仁定位依赖于核仁定位信号(nucleolar localization signal, NoLs)的存在。Tat NoLs与Tat蛋白的基本结构域重叠,该区域的缺失会导致其核仁定位的丧失。KURNAEVA等^[13]通过基因定点突变证明了Tat蛋白碱性结构域的每个带正电荷的氨基酸都参与其核仁的积聚,且Tat蛋白在核仁内的积聚是通过电荷依赖的机制,而不是序列依赖的机制。

核仁内蛋白质的积聚是由其与核仁成分(如核糖体DNA、RNA和蛋白质)相互作用实现的^[32]。Tat蛋白也可通过这种方式在核仁内积聚,有实验表明:Tat蛋白可与核仁磷酸蛋白B23、核仁素以及核仁RNA相互作用^[13,21,33-35]。FULCHER等^[36]通过对COS-7细胞进行激光扫描共聚焦显微镜分析发现,有活性的PRMT6甲基转移酶可特异性地导致Tat蛋白被运输到核仁之外。同时,通过光脱色荧光恢复技术发现,PRMT6甲基转移酶可使Tat蛋白发生甲基化,且阻止Tat蛋白与核仁成分相互作用,从而抑制Tat蛋白在核仁内的积聚。此研究首次发现了甲基化对Tat蛋白在核仁内积聚的调控。

在核仁中,Tat蛋白于B23蛋白共定位。当Tat蛋白和B23蛋白中都具有完整的NoLs时,二者发生相互作用。B23结合域(氨基酸187-255)与Tat蛋白在体内可形成稳定的复合体。然而,全长B23蛋白与Tat

蛋白在活细胞中未能形成稳定的复合体^[7]。Tat蛋白在核仁积聚的机制仍有待阐明。

3.2.2 Tat蛋白在核仁积聚的功能意义 Tat蛋白积聚在核仁上,同时会参与相关的细胞过程。JARBOUI等^[37]研究证明,在Jurkat T细胞中,转染Tat 86结构可以调节核仁蛋白的组成,以促进核糖体生物生成、糖酵解和氨基酸代谢、应激反应、T细胞信号转导等。

MICHENZI等^[38]发现,Tat蛋白的核仁积聚对HIV-1复制至关重要。他们设计了与Tat蛋白相互作用的TAR元件(即Tat诱饵),结果表明稳定表达核仁定位TAR元件的人T淋巴细胞对HIV-1感染具有高度的抵抗力,高度抑制HIV-1的复制。相反,核质定位TAR元件的表达仅部分抑制了HIV-1的复制。

PONTI等^[39]用果蝇为材料对Tat蛋白在核仁中的活性进行检测发现,当Tat蛋白在核仁中存在时,果蝇细胞中80S核糖体的总量会相应减少,这说明Tat蛋白能够干扰核仁的活性。实验中观察到rRNA前体加工受到干扰,这正是Tat蛋白引入核仁后rRNA生物生成降低的原因。

一些研究者认为,Tat蛋白的核仁定位不是实现其功能所必需的。Tat蛋白与核输出信号(Tat-GFP-NES)融合后优先定位于细胞质,并能够反式激活HIV-1 LTR。但由于Tat蛋白可以在细胞核与细胞质之间穿梭,这种细胞质定位并不能完全排除核定位。缺失碱性结构域的Tat蛋白(Tat⁴⁹⁻⁵⁷)仅定位于细胞质中,且无相关Tat蛋白的功能。当Tat NoLs与Tat⁴⁹⁻⁵⁷的羧基末端融合时,融合蛋白定位于核仁中,其仍抑制Tat蛋白的功能,即Tat⁴⁹⁻⁵⁷突变体的核仁定位不能恢复Tat蛋白的功能^[7]。由此推断,碱性结构域是HIV-1基因表达反式激活和核仁定位所必需的,但核仁定位可能不是Tat蛋白主要功能所必需的。

上述关于Tat蛋白核仁定位功能的相互矛盾的两种观点,还需在人类细胞中进一步实验,从而得出结论。

3.3 不同表达水平的Tat蛋白的核定位及核效应

MARINO等^[40]研究发现,不同表达水平的Tat蛋白在细胞核中的定位不同,且表现出不同的核效应。同时,Tat蛋白的核仁效应可能仅限于HIV-1感染和表达Tat蛋白的细胞。在Jurkat T细胞中,Tat蛋白低水平表达时,其定位于核质;Tat蛋白高水平表达时,其定位于核仁。在大多数研究中,对于HIV-1感染细

胞或表达Tat的培养细胞,其Tat蛋白浓度非常高,积聚在核仁中。然而,在艾滋病患者的未感染细胞中,Tat蛋白浓度较低,且优先定位于核质中。

在不同的表达水平及不同核定位的情况下,Tat蛋白所解除调控的基因之间存在明显的差异。核质Tat蛋白可解除与多种信号通路相关的基因调控,如病毒致癌、干细胞多能性、B细胞受体信号与癌症等,其中包括与B细胞淋巴瘤有关的*CMYC*和*BCL-2*,以及可以结合EBV的补体受体2(*complement receptor 2, CR2*),EBV是Burkitt淋巴瘤的主要病因^[41]。控制所有这些类基因的关键因素之一是NF- κ B,已有研究表明,在低水平表达Tat蛋白的Jurkat T细胞中,NF- κ B具有结构性活性,且Tat蛋白可影响NF- κ B的表达。同时,Tat蛋白还可通过与I κ B- α 和p65直接相互作用来增强NF- κ B复合体的DNA结合及转录活性^[42]。

核仁Tat蛋白可解除调控的基因,包括与细胞周期有关的*PFTK1*和与60S核糖体亚基的生物发生有关的*EFTUD1*。然而,核仁Tat蛋白不诱导与B细胞淋巴瘤相关的基因,而是诱导与其他疾病相关的基因,例如与T细胞前淋巴细胞白血病有关的*MTCPI*^[7]。此外,当Tat蛋白位于核仁中时,所有这些基因都不受NF- κ B的调控;只有当Tat蛋白位于核质中时,其才被激活的NF- κ B的调控。

3.4 Tat蛋白及其核效应在HIV-1相关疾病发生发展中的作用

HIV-1感染者常伴随着疾病的发生且发病率显著升高,这与Tat蛋白及其核效应有关。Tat蛋白可通过对基因表达的直接影响或与细胞核中其他蛋白质的相互作用等方式促进与HIV-1病毒感染相关的疾病的发生。

Tat蛋白及其核效应可以促进人类和动物细胞的生长及肿瘤发生,B细胞淋巴瘤是HIV-1感染患者中最常见的肿瘤。在HIV-1感染者的血液和淋巴结中均发现了Tat蛋白,其还可以被B细胞内化,由此可见Tat可能是一个很好的候选癌基因^[43]。EL-AMINE等^[44]研究发现,Tat蛋白调节的抗氧化功能与HIV-1感染者的B细胞淋巴瘤有关,B细胞本身没有被HIV-1感染,但Tat蛋白进入后,谷胱甘肽(GSH)减少,活性氧(ROS)增加,使得这些细胞的抗氧化反应受到抑制。Tat蛋白引起的抗氧化反应的丧失导致氧化应激的积累,使得DNA损伤和染色体异常,从而导致HIV-1感染患者B细胞淋巴瘤的形成。

Tat蛋白可诱导DNA修复缺陷及DNA损伤,二者与HIV-1感染患者疾病的发生发展有关。DNA修复系统可保护基因组免受有害的内源性和外源性损伤,DNA修复系统中的任何缺陷都可能导致疾病^[45]。CHIPITSYNA等^[46]研究表明,含有Tat蛋白的细胞提取物重新连接DNA的能力降低。SUN等^[47]研究发现,表达Tat蛋白的人横纹肌肉瘤细胞系相较于对照细胞,其增殖活性和放射敏感性均有所提高。在表达Tat蛋白的细胞中,修复DNA双链断裂的能力下降,其中的原因可能是DNA修复基因*DNA-PKcs*和细胞周期相关基因*Cdc20*、*Cdc25C*、*KIF2C*、*CTSI*的下调。DARBINIAN等^[48]用Tat蛋白培养的神经元细胞进行实验研究发现,Tat蛋白会引起核DNA与线粒体DNA的损伤,二者相比,线粒体DNA损伤更多。

Tat蛋白可直接调节细胞基因的转录,还可通过改变小的非编码RNA的表达及活性从而在转录后基因调控中发挥作用。SARDO等^[49]通过对miRNA图谱研究表明,Tat蛋白以RNA依赖的方式与DICER蛋白结合来抑制miRNA的功能,其可紧密结合至少18个miRNA,并下调其中10个miRNA的表达。这些miRNA中的大多数可能参与了关键的神经过程,如轴突传导和糖皮质激素信号转导,由此证实了Tat蛋白在HIV神经发病中的作用。此外,BAGASHEV等^[50]研究发现,Tat蛋白通过降低miR-196A的水平来解除对神经元功能的管制。miR-196A水平的降低导致了Abelson小鼠白血病(c-Abl)蛋白的增加,c-Abl蛋白使促凋亡转录因子p73磷酸化,从而调节其活性。此外,有研究表明,Tat蛋白上调靶向的miR-34a的表达,从而导致神经元功能障碍的加剧^[51-52]。

Tat蛋白在神经认知障碍中发挥重要作用。Tat蛋白可直接作用于神经元以及通过其他细胞类型(如巨噬细胞、小胶质细胞、星形胶质细胞)发挥作用引发炎症来诱导神经毒性^[2]。Tat蛋白的神经毒性也与其对谷氨酸能神经传递系统的作用有关。谷氨酸是一种兴奋性神经递质,过量会导致神经元死亡。Tat蛋白可增加小胶质细胞谷氨酸的释放,提高细胞外谷氨酸的水平,同时削弱星形胶质细胞对谷氨酸的重摄取,并通过结合和磷酸化N-甲基-D-天冬氨酸受体(N-methyl-D-aspartate receptor, NMDAR)进一步促进谷氨酸的功能^[1]。

Tat蛋白可参与免疫调节,其控制的免疫调节涉及细菌识别分子TLR4的功能改变^[53]。在没有TLR4

激动剂的情况下, Tat蛋白与TLR4结合并参与产生促炎和抗炎细胞因子。Tat蛋白与TLR4辅助因子MD2的结合可激活一系列信号级联, 包括MAP激酶、PKC和NF- κ B, 导致TNF- α 和IL-10的产生, 从而不可逆地激活TLR4。TNF- α 和IL-10在HIV-1感染期间产生, 并参与免疫系统的慢性激活和失调。Tat蛋白也可调节白细胞的活化、增殖和活性, 从而降低免疫功能。

Tat蛋白参与HIV-1相关心血管并发症的发病机理^[54]。炎症对于动脉粥样硬化的发生和发展至关重要。Tat蛋白通过激活人血管内皮细胞(human vascular endothelial cell, HUVECs)中的NF- κ B诱导血管炎症, 并导致炎症介质(包括IL-1 β 、MCP1、VCAM-1和E-selectin)的上调。此外, Tat蛋白通过抑制NF- κ B依赖性途径中的miR-221/-222, 刺激HUVECs中细胞黏附分子的上调, 尤其是ICAM-1的上调。Tat蛋白可介导黏附分子的诱导, 也可以作为外源性细胞因子激活人内皮细胞, 从而上调E-selectin的表达, 促进IL-6的分泌, 并与TNF协同介导这些效应。同时, Tat蛋白对心肌细胞有深远影响。转染腺病毒-Tat损害了心肌细胞的电生理活性, 影响了线粒体的Ca²⁺摄取, 并通过干扰自噬的启动和自噬蛋白的清除而加重缺氧所致的心肌损伤^[55]。

大多数HIV-1感染患者会出现造血抑制并发症, 骨髓间充质干细胞(bone mesenchymal stem cells, BMSCs)参与调节造血稳态。研究发现, Tat蛋白可通过下调一系列造血细胞因子的表达, 从而减弱BMSCs的造血支持功能^[56]。以上的各种效应机制皆可促进与HIV-1病毒感染相关疾病的发展。

4 结语与展望

Tat蛋白是HIV-1基因表达的重要调控蛋白, 其可以促进HIV-1的复制、转录及许多与HIV-1感染相关的细胞过程与疾病发展过程。作为一种本质上无序的蛋白质, Tat蛋白可与许多细胞成分相互作用, 其中包括核物质及核因子, 从而参与不同的细胞过程以调控HIV-1基因的表达。

Tat蛋白聚集在细胞核中, 其核效应分为: 核质与核仁两类。Tat蛋白通过其核效应调控HIV-1转录等过程, 同时能够影响与HIV-1感染相关的疾病发生。但不同表达水平的Tat蛋白定位于细胞核的不同位置(核质或核仁), 且其相应的核效应也是不同的。

进一步研究Tat蛋白在细胞核内的效应机制以及其如何影响细胞核结构将有助于阐明HIV-1感染的机制和相关的病理过程, 同时有助于研究HIV-1治疗的相关策略。

参考文献 (References)

- [1] CLARK E, NAVA B, CAPUTI M. Tat is a multifunctional viral protein that modulates cellular gene expression and functions [J]. *Oncotarget*, 2017, 8(16): 27569-81.
- [2] AJASIN D, EUGENIN E A. HIV-1 Tat: role in bystander toxicity [J]. *Front Cell Infect Microbiol*, 2020, 10: 61.
- [3] ASAMITSU K, FUJINAGA K, OKAMOTO T. HIV Tat/P-TEFb interaction: a potential target for novel anti-HIV therapies [J]. *Molecules*, 2018, doi: 10.3390/molecules23040933 .
- [4] LAZZI S, BELLAN C, DE FALCO G, et al. Expression of RB2/p130 tumor-suppressor gene in AIDS-related non-Hodgkin's lymphomas: implications for disease pathogenesis [J]. *Hum Pathol*, 2002, 33(7): 723-31.
- [5] 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.
- [6] CHIOZZINI C, TOSCHI E. HIV-1 Tat and immune dysregulation in aids pathogenesis: a therapeutic target [J]. *Curr Drug Targets*, 2016, 17(1): 33-45.
- [7] MUSINOVA Y R, SHEVAL E V, DIB C, et al. Functional roles of HIV-1 Tat protein in the nucleus [J]. *Cell Mol Life Sci*, 2016, 73(3): 589-601.
- [8] SHOJANIA S, O'NEIL J D. HIV-1 Tat is a natively unfolded protein: the solution conformation and dynamics of reduced HIV-1 Tat-(1-72) by NMR spectroscopy [J]. *J Biol Chem*, 2006, 281(13): 8347-56.
- [9] TAHIROV T H, BABAYEVA N D, VARZAVAND K, et al. Crystal structure of HIV-1 Tat complexed with human P-TEFb [J]. *Nature*, 2010, 465(7299): 747-51.
- [10] KUNIHARA T, HAYASHI Y, ARAI M. Conformational diversity in the intrinsically disordered HIV-1 Tat protein induced by zinc and pH [J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2019, 509(2): 564-9.
- [11] KIM J M, CHOI H S, SEONG B L. The folding competence of HIV-1 Tat mediated by interaction with TAR RNA [J]. *RNA Biol*, 2017, 14(7): 926-37.
- [12] KURNAEVA M A, SHEVAL E V, MUSINOVA Y R, et al. Tat basic domain: a "Swiss army knife" of HIV-1 Tat [J]? *Rev Med Virol*, 2019, 29(2): e2031.
- [13] KURNAEVA M A, ZALEVSKY A O, ARIFULIN E A, et al. Molecular coevolution of nuclear and nucleolar localization signals inside the basic domain of HIV-1 Tat [J]. *J Virol*, 2022, 96(1): e0150521.
- [14] SMITH K M, HIMIARI Z, TSIMBALYUK S, et al. Structural basis for Importin-alpha binding of the human immunodeficiency virus Tat [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 1650.
- [15] DEBAISIEUX S, RAYNE F, YEZID H, et al. The ins and outs of HIV-1 Tat [J]. *Traffic*, 2012, 13(3): 355-63.
- [16] SPECTOR C, MELE A R, WIGDAHL B, et al. Genetic variation and function of the HIV-1 Tat protein [J]. *Med Microbiol Immu-*

- nol, 2019, 208(2): 131-69.
- [17] ASAMITSU K, OKAMOTO T. The Tat/P-TEFb protein-protein interaction determining transcriptional activation of HIV [J]. *Curr Pharm Des*, 2017, 23(28): 4091-7.
- [18] KONG W, BISWAS A, ZHOU D, 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.
- [19] WANG M, YANG W, CHEN Y, et al. Cellular RelB interacts with the transactivator Tat and enhance HIV-1 expression [J]. *Retrovirology*, 2018, 15(1): 65.
- [20] GATIGNOL A. Transcription of HIV: Tat and cellular chromatin [J]. *Adv Pharmacol*, 2007, 55: 137-59.
- [21] GAUTIER V W, GU L, O'DONOGHUE N, et al. *In vitro* nuclear interactome of the HIV-1 Tat protein [J]. *Retrovirology*, 2009, 6: 47.
- [22] HE Z X, WEI B F, ZHANG X, et al. Current development of CBP/p300 inhibitors in the last decade [J]. *Eur J Med Chem*, 2021, 209: 112861.
- [23] DENG L, WANG D, DE LA FUENTE C, et al. Enhancement of the p300 HAT activity by HIV-1 Tat on chromatin DNA [J]. *Virology*, 2001, 289(2): 312-26.
- [24] DENG L, DE LA FUENTE C, FU P, et al. Acetylation of HIV-1 Tat by CBP/P300 increases transcription of integrated HIV-1 genome and enhances binding to core histones [J]. *Virology*, 2000, 277(2): 278-95.
- [25] RAHA T, CHENG S W, GREEN M R. HIV-1 Tat stimulates transcription complex assembly through recruitment of TBP in the absence of TAFs [J]. *PLoS Biol*, 2005, 3(2): e44.
- [26] EASLEY R, VAN DUYN R, COLEY W, et al. Chromatin dynamics associated with HIV-1 Tat-activated transcription [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2010, 1799(3/4): 275-85.
- [27] COL E, GILQUIN B, CARON C, et al. Tat-controlled protein acetylation [J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(40): 37955-60.
- [28] COL E, CARON C, SEIGNEURIN-BERNY D, et al. The histone acetyltransferase, hGCN5, interacts with and acetylates the HIV transactivator, Tat [J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(30): 28179-84.
- [29] VARDABASSO C, MANGANARO L, LUSIC M, et al. The histone chaperone protein nucleosome assembly protein-1 (hNAP-1) binds HIV-1 Tat and promotes viral transcription [J]. *Retrovirology*, 2008, 5: 8.
- [30] MUJTABA S, HE Y, ZENG L, et al. Structural basis of lysine-acetylated HIV-1 Tat recognition by PCAF bromodomain [J]. *Mol Cell*, 2002, 9(3): 575-86.
- [31] LAFONTAINE D L J, RIBACK J A, BASCETIN R, et al. The nucleolus as a multiphase liquid condensate [J]. *Nat Rev Mol Cell Biol*, 2021, 22(3): 165-82.
- [32] CARMO-FONSECA M, MENDES-SOARES L, CAMPOS I. To be or not to be in the nucleolus [J]. *Nat Cell Biol*, 2000, 2(6): E107-12.
- [33] MUSINOVA Y R, KANANYKHINA E Y, POTASHNIKOVA D M, et al. A charge-dependent mechanism is responsible for the dynamic accumulation of proteins inside nucleoli [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2015, 1853(1): 101-10.
- [34] MARTIN R M, TER-AVETISYAN G, HERCE H D, et al. Principles of protein targeting to the nucleolus [J]. *Nucleus*, 2015, 6(4): 314-25.
- [35] DI MATTEO A, FRANCESCHINI M, PAIARDINI A, et al. Structural investigation of nucleophosmin interaction with the tumor suppressor Fbw7gamma [J]. *Oncogenesis*, 2017, 6(9): e379.
- [36] FULCHER A J, SIVAKUMARAN H, JIN H, et al. The protein arginine methyltransferase PRMT6 inhibits HIV-1 Tat nucleolar retention [J]. *Biochim Biophys Acta*, 2016, 1863(2): 254-62.
- [37] JARBOUI M A, BIDOIA C, WOODS E, et al. Nucleolar protein trafficking in response to HIV-1 Tat: rewiring the nucleolus [J]. *PLoS One*, 2012, 7(11): e48702.
- [38] MICHENZI A, LI S, ZAIA J A, et al. A nucleolar TAR decoy inhibitor of HIV-1 replication [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(22): 14047-52.
- [39] PONTI D, TROIANO M, BELLENCHI G C, et al. The HIV Tat protein affects processing of ribosomal RNA precursor [J]. *BMC Cell Biol*, 2008, 9: 32.
- [40] MARINO J, WIGDAHL B, NONNEMACHER M R. Extracellular HIV-1 Tat mediates increased glutamate in the CNS leading to onset of senescence and progression of HAND [J]. *Front Aging Neurosci*, 2020, 12: 168.
- [41] VAQUE J P, MARTINEZ N, BATLLE-LOPEZ A, et al. B-cell lymphoma mutations: improving diagnostics and enabling targeted therapies [J]. *Haematologica*, 2014, 99(2): 222-31.
- [42] FIUME G, VECCHIO E, DE LAURENTIIS A, et al. Human immunodeficiency virus-1 Tat activates NF-kappaB via physical interaction with IkappaB-alpha and p65 [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40(8): 3548-62.
- [43] ALVES DE SOUZA RIOS L, MAPEKULA L, MDLETSHI N, et al. HIV-1 transactivator of transcription (Tat) co-operates with AP-1 factors to enhance c-MYC transcription [J]. *Front Cell Dev Biol*, 2021, 9: 693706.
- [44] EL-AMINE R, GERMINI D, ZAKHAROVA V V, et al. HIV-1 Tat protein induces DNA damage in human peripheral blood B-lymphocytes via mitochondrial ROS production [J]. *Redox Biol*, 2018, 15: 97-108.
- [45] SAEZ G T. DNA injury and repair systems [J]. *Int J Mol Sci*, 2018, 19(7): 1902.
- [46] CHIPITSYNA G, SLONINA D, SIDDIQUI K, et al. HIV-1 Tat increases cell survival in response to cisplatin by stimulating Rad51 gene expression [J]. *Oncogene*, 2004, 23(15): 2664-71.
- [47] SUN Y, HUANG Y C, XU Q Z, et al. HIV-1 Tat depresses DNA-PK(CS) expression and DNA repair, and sensitizes cells to ionizing radiation [J]. *Int J Radiat Oncol Biol Phys*, 2006, 65(3): 842-50.
- [48] DARBINIAN N, DARBINYAN A, MERABOVA N, et al. HIV-1 and HIV-1-Tat induce mitochondrial DNA damage in human neurons [J]. *J HIV AIDS*, 2020, 6(1): 176.
- [49] SARDO L, VAKIL P R, ELBEZANTI W, et al. The inhibition of microRNAs by HIV-1 Tat suppresses beta catenin activity in astrocytes [J]. *Retrovirology*, 2016, 13: 25.
- [50] BAGASHEV A, MUKERJEE R, SANTERRE M, et al. Involvement of miR-196a in HIV-associated neurocognitive disorders [J]. *Apoptosis*, 2014, 19(8): 1202-14.
- [51] HU G, LIAO K, YANG L, et al. Tat-Mediated induction of miRs-34a & -138 promotes astrocytic activation via downregulation of SIRT1: implications for aging in HAND [J]. *J Neuroimmune Pharmacol*, 2017, 12(3): 420-32.

- [52] PERIYASAMY P, THANGARAJ A, BENDI V S, et al. HIV-1 Tat-mediated microglial inflammation involves a novel miRNA-34a-NLRC5-NFkappaB signaling axis [J]. *Brain Behav Immun*, 2019, 80: 227-37.
- [53] PLANES R, BEN HAIJ N, LEGHMARI K, et al. HIV-1 Tat protein activates both the MyD88 and TRIF pathways to induce tumor necrosis factor Alpha and Interleukin-10 in human monocytes [J]. *J Virol*, 2016, 90(13): 5886-98.
- [54] JIANG Y, CHAI L, FASAE M B, et al. The role of HIV Tat protein in HIV-related cardiovascular diseases [J]. *J Transl Med*, 2018, 16(1): 121.
- [55] TAHRIR F G, SHANMUGHAPRIYA S, AHOYI T M, et al. Dysregulation of mitochondrial bioenergetics and quality control by HIV-1 Tat in cardiomyocytes [J]. *J Cell Physiol*, 2018, 233(2): 748-58.
- [56] YUAN Y, ZHOU C, YANG Q, et al. HIV-1 Tat protein inhibits the hematopoietic support function of human bone marrow mesenchymal stem cells [J]. *Virus Res*, 2019, 273: 197756.