



SAMHD1 限制 HIV/SIV 病毒复制功能研究的最新进展

彭灵娟, 丛 喆, 魏 强

(北京协和医学院比较医学中心, 中国医学科学院医学实验动物研究所, 卫生部人类疾病比较医学重点实验室,
国家中医药管理局人类疾病动物模型三级实验室, 北京 100021)

【摘要】 SAMHD1 是宿主限制性天然免疫分子, 主要在髓系细胞及静息 CD4⁺T 细胞中表达, 通过降低胞内 dNTP 水平限制 HIV-1 的复制和感染。近来研究发现 SAMHD1 还能够促进 HIV/SIV 病毒的基因重组、降解病毒基因组 RNA 以及抑制病毒在细胞间的传播, 在病毒的感染、复制、包装、传播等整个生命过程中都发挥着一定的作用。目前这一天然抗病毒蛋白分子已经成为 HIV 研究领域的新热点, 本文将就 SAMHD1 抗 HIV 病毒研究的最新进展做一综述。

【关键词】 SAMHD1; HIV-1; Vpx

【中图分类号】 R-332 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2015) 10-0071-04

doi: 10.3969/j.issn.1671.7856.2015.010.017

The updated research progress of SAMHD1 on the restriction of HIV/SIV replication

PENG Ling-juan, CONG Zhe, WEI Qiang

(Comparative Medicine Center, Peking Union College(PUMC)&Institute of Medical Laboratory Animal Science,
Chinese Academy of Medical Sciences (CAMS); Key Laboratory of Human Diseases Comparative Medicine,
Ministry of Health; Key Laboratory of Human Diseases Animal Models, State administration of Traditional
Chinese medicine, Beijing 100021, China)

【Abstract】 The host protein SAMHD1 has been identified as the first mammalian deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase (dNTPase), which blocks the infection of HIV-1 in non-cycling immune cells. SAMHD1 protein is highly expressed in human myeloid-lineage cells and resting CD4⁺T lymphocytes, which restricts HIV-1 replication by hydrolyzing the cellular dNTPs, thus inhibiting reverse transcription and viral complementary DNA (cDNA) synthesis. Recent studies have revealed that SAMHD1 plays an important role in virus whole life by promoting HIV-1 genome recombination, degenerating viral genome RNA and restricting virus transmission between cells. In this review, these progress on SAMHD1 research are summarized and the mechanisms by which SAMHD1 mediates retroviral restriction are analyzed.

【Key words】 SAMHD1; HIV-1; Vpx

SAMHD1 是近年来新发现的抗艾滋病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 的天然蛋白质分子, 与 APOBEC3G、Trim5 α 、BST-2 或 cyclophilin 一样都是固有免疫系统的一部分。人的 SAMHD1

基因位于 20 号染色体, 编码 626 个氨基酸, 蛋白质的分子量为 72.2 $\times 10^3$ ^[1], 最初在人树突细胞中被发现。它包括 SAM (sterile alpha motif) 和 HD (histidine-aspartic) 两个结构域。SAM 结构域, 包含

【基金项目】 国家十二五科技重大专项课题 (2013ZX10004608-003 和 2012ZX10004501-001)。

【作者简介】 彭灵娟, 女, 硕士生, 从事实验动物病毒学研究工作。

【通讯作者】 魏强, 教授, 博士生导师, 研究方向: 实验动物病毒学。E-mail: weiqiang0430@sohu.com。

45 ~ 110 位氨基酸,参与蛋白与蛋白、蛋白与核酸之间的相互作用,具有信号转导和转录调节的功能;HD 结构域,包含 164 ~ 319 位氨基酸,含有两个组氨酸和天冬氨酸,具有核酸酶、dGTP 三磷酸酶、磷酸酶或磷酸二酯酶等活性^[2-3]。早期研究表明,SAMHD1 蛋白作为限制因子,在髓系树突细胞(myeloid derived dendritic cells, MDDCs)、巨噬细胞和 CD4⁺ 静息 T 细胞中,发挥 dNTPase 功能,通过降低胞内 dNTP 水平,阻止 HIV-1 病毒早期复制^[4-5]。除此以外,最新研究发现,SAMHD1 蛋白在 HIV 生命过程中多个重要环节都会发挥一定作用,本文将就这方面的研究进展作简要综述。

1 SAMHD1 具有磷酸水解酶活性,通过降低 dNTP 水平来限制 HIV-1 的复制、促进病毒的基因重组

人们普遍认为在髓系细胞和静息 CD4⁺ T 细胞中,SAMHD1 通过发挥磷酸水解酶作用,降低胞内的 dNTP 水平,从而达到限制 HIV-1 基因组的反转录,抑制感染的作用^[4-5]。不只在人的细胞,Zhang R 在小鼠的脾、淋巴结、胸腺和肺都发现高表达的 SAMHD1 蛋白,Rehwinkel 和 Behrendt 在 SAMHD1 缺陷小鼠的纯合体模型中也发现,用 HIV-1 假病毒感染缺陷鼠或鼠的细胞时,HIV-1 假病毒的感染具有 dNTP 依赖性,随 dNTP 水平增加其反转录水平也逐渐增加,SAMHD1 蛋白在体内具有类似的抵御 HIV-1 的作用,这一结论与体外实验研究结果是一致的^[6-8]。当 siRNA 沉默小鼠骨髓来源的巨噬细胞后,能显著增加 HIV-1 的感染水平。当 shRNA 沉默了小鼠的单核细胞系 RAW264.7,同样增加了胞内 dNTP 水平,也增强了 HIV-1 病毒基因组的复制以及鼠白血病病毒的易感性^[9]。

低水平的 dNTP 可以促进病毒基因组反转录的暂停和降解 RNA 模板,除了限制 HIV-1 的感染和复制外,还可以促进链转移的发生进而导致病毒的基因重组^[10-11]。基因重组是 HIV-1 多态性不断增加的重要进化机制。重组发生在病毒基因组的反转录过程中,通过链转移来实现。两个病毒 RNA 之间的同源区域重组需要 DNA 的合成和降解 RNA 模板^[12]。新的重组病毒可能具有传播优势,从而成为流行重组形式(circulating recombinant forms, CRFs)。全世界现已发现 43 种 CRFs,此数量还会不断增加。HIV-1 基因重组将有利于病毒复制和传播联合起来,使病毒能更快地逃避药物选择和宿主

免疫压力。一些研究表明,HIV-1 在每一个复制周期能够大约重组 2 到 3 次,远远高于在其他逆转录病毒中观察到的水平^[13-14]。基因重组在 HIV-1 的分子进化、适应宿主和逃避药物治疗等方面都是不可或缺的部分。

两种病毒 RNA 的同源重组需要 DNA 的合成和 RNA 模板的降解,在这个过程中,反转录的暂停直接增加链转移的频率和重组的发生^[15-16]。事实上,艾滋病毒反转录的暂停导致更高频率的链转移。在单核来源的巨噬细胞(monocyte-derived macrophages, MDMs)中 SAMHD1 发挥 dNTPase 活性,减少反转录底物,限制 HIV-1 的复制。MDMs 与激活的 CD4⁺ T 细胞相比,HIV-1 链转移频率是后者的两倍^[17]。转染 Vpx 后,随着 SAMHD1 蛋白被降解,胞内的 dNTP 水平升高,MDMs 中 HIV-1 链转移效率随之降低。当 SAMHD1 的 shRNA 转染到细胞 THP1,HIV-1 模板的转换效率降低了两倍。由于 HIV-1 不能编码 Vpx 蛋白,它可能比 HIV-2 和 SIVsm 病毒进行更频繁的基因重组,这也可能是 HIV-1 更流行的一个重要原因。

2 SAMHD1 具有核酸酶活性,通过降解病毒 RNA 来限制 HIV-1 的复制

虽然一直以来,人们认为 SAMHD1 通过降低 dNTP 水平来限制 HIV-1 的复制,然而,也有学者发现,磷酸化的 SAMHD1 限制 HIV-1 感染,并没有同时引起胞内 dNTP 水平的改变^[18]。由此,人们开始注意到,dNTPase 活性可能不是唯一作用机制。此前 Beloglazova N^[19]发现 SAMHD1 有降解单链 DNA,单链 RNA,以及 DNA 和 RNA 混合物中的 DNA 等功能。在 AGS 综合症研究中,Jeongmin Ryoo 利用点突变分别构建了只具有 RNase 活性、只具有 dNTPase 活性和两种酶活性都缺陷的三种突变体。分别转染不表达 SAMHD1 的 U937 细胞后,发现只具有 dNTPase 的活性的 SAMHD1 降低了细胞内的 dNTP 水平,但不能限制 HIV-1 的感染;两种酶活性都缺失的 SAMHD1 不能降低细胞内的 dNTP 水平和限制 HIV-1 的感染;只有具有 RNase 活性 SAMHD1 能限制 HIV-1 感染,抑制病毒早期和晚期反转录 cDNA 产物表达水平。并且在人的单核巨噬细胞和静息的 CD4⁺ T 细胞中,转染 siRNA 沉默 SAMHD1 基因后,HIV-1 的 RNA 的稳定性增加了 2 ~ 4 倍。由此看来,RNase 活性是 SAMHD1 限制 HIV-1 必要的功能之一^[20]。

之前的研究发现 SAMHD1 作为 HIV-1 限制因子,其磷酸水解酶活性具有 dGTP 依赖性,dGTP 既能调节 SAMHD1 磷酸水解酶活性,还可以作为 RNase 的底物^[21-22]。SAMHD1 具有双重酶活性,这两种酶活性不同时发挥作用,但都依赖于 dGTP 水平。结合之前的研究有学者推测,当 dGTP 水平低时,SAMHD1 以单体或二聚体形式存在,具有 RNase 活性,没有 dNTPase 活性,通过裂解 RNA 来限制 HIV-1;当 dNTP 水平高时,SAMHD1 四聚体化,具有 dNTPase 活性,没有 RNase 活性,通过降解 dNTP 来限制 HIV-1。这就可以解释:不管是在不分裂的细胞中如树突细胞和巨噬细胞中低水平 dNTP,还是在含高水平的 dNTP 增殖细胞中,SAMHD1 都可以发挥限制 HIV-1 的功能^[4-5,23-24]。

3 Vpx 与 SAMHD1 的相互作用,通过降解 SAMHD1 促进病毒在细胞间传播

研究发现,HIV-2 和一些 SIV 编码的 Vpx 蛋白,可以通过加载 SAMHD1 到 CRL4^{DCAF1}E3 泛素连接酶上诱导 SAMHD1 蛋白酶体降解,通过降解 SAMHD1 促进 HIV-1 反转录产物 cDNA 的积累,明显促进人的单核细胞、及其来源的树突细胞和巨噬细胞的 HIV-1 的感染^[5,18,25]。在其他 SAMHD1 限制感染的细胞,如星形胶质细胞中,Vpx 也能发挥降解 SAMHD1 功能,促进这些细胞的感染^[26-27]。

Vpx 降解 SAMHD1 作用还影响到病毒在细胞间的传播。早在 2004 年,科学家就发现 HIV 在细胞间的转移可通过感染细胞与正常细胞间形成病毒突触发生,但他们无法了解这一过程在病毒扩散中所处的地位^[28]。包括 HIV-1 病毒通过粘膜表面进入机体后,传播到淋巴组织,造成免疫系统的全身性感染,这种病毒早期传播的机制也不是十分清楚。新的研究显示,HIV 可通过在细胞间直接转移来规避识别。经由病毒突触形成的 T 细胞-T 细胞间直接转移,是 HIV 病毒感染的一个高效途径,甚至也许是最主要的传播模式^[29-30]。在粘膜途径感染过程中,HIV-1 病毒从被感染的巨噬细胞和树突细胞传播到 T 细胞也都被证明是可以通过病毒突触完成的^[30-31]。这也许能解释为什么游离的 HIV-1 病毒很难感染树突状细胞,但当感染的淋巴细胞与 MDDCs 混合培养后,2~3 d 就能检测到 HIV-1 病毒的 gag 蛋白的表达。如果非复制 SIV-Vpx 或 siSAMHD1 处理细胞后,MDDC 感染后的病毒产物表达量更是明显上升^[32]。可见,病毒学突触在病毒

细胞间传播过程中发挥重要作用,Vpx 通过降解 SAMHD1 促进了病毒通过这种途径的传播。

综上所述,在 Vpx 存在的情况下,无论是游离病毒还是通过细胞间病毒突触的传播,HIV-1 都能在 MDDC 内有效复制。可见 HIV-1 不能有效感染 MDDC 是由于病毒缺少 Vpx 样粒子。然而这却不能解释自身携带 Vpx 蛋白的 HIV-2 为什么不能感染 MDDC 细胞。研究发现,HIV-2 病毒感染 MDDC,引起细胞内 SAMHD1 基因的下调,却没有病毒感染的发生,感染的限制应该是发生在病毒进入阶段,即 HIV-2 病毒在进入细胞时存在缺陷,阻止了病毒与胞膜融合以及 SAMHD1 限制性反转录的发生。因此即使在 Vpx 存在的情况下,病毒 DNA 也不能有效合成^[33]。对于此种现象,研究认为,在 HIV 病毒感染过程中,DC 的主要作用是进行抗原提呈,激发 B 和 T 淋巴细胞介导的抗病毒免疫反应,而不是自身的复制性感染,DC 细胞通过体内高水平的 SAMHD1 来实现这一目的^[34]。一旦 DC 细胞出现可复制性感染,会引发机体产生强烈的 I 型 IFN 应答反应^[35]。HIV 病毒为了避免机体的这种免疫反应,在进化过程中也会做出相应的改变,HIV-1 病毒 Vpx 蛋白的丢失和 HIV-2 病毒进入缺陷看来都是这种改变的结果^[33]。

4 结束语

作为天然免疫蛋白,SAMHD1 在免疫系统中发挥着重要作用,在限制 HIV-1 的感染、复制、细胞间传播以及促进病毒基因重组中起到重要作用。深入研究其机制,将有可能为抗艾滋病药物的研究提供新的线索和思路。

参考文献:

- [1] Welbourn S, Miyaqi E, White TE, *et al.* Identification and characterization of naturally occurring splice variants of SAMHD1 [J]. *Retrovirology*, 2012, 9: 86.
- [2] Crow YJ, JH Livingston. Aicardi - Goutieres syndrome: an important Mendelian mimic of congenital infection [J]. *Dev Med Child Neurol*, 2008, 50(6): 410-416.
- [3] 李佩璐,陈倩倩,张弛宇. 髓系单核细胞来源的 HIV-1 限制因子-SAMHD1[J]. *动物学研究*, 2012,33 (5):537-541.
- [4] Baldauf HM, Pan X, Erikson E, *et al.* SAMHD1 restricts HIV-1 infection in resting CD4(+)T cells [J]. *Nat Med*, 2012, 18(11): 1682-1687.
- [5] Laguette N, Sobhan 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.

- [6] Wu L. SAMHD1 knockout mice; modeling retrovirus restriction in vivo [J]. *Retrovirology*, 2013, 10:142.
- [7] Rehwinkel J, Maelfait J, Bridgeman A, *et al.* SAMHD1-dependent retroviral control and escape in mice [J]. *EMBO J*, 2013, 32(18): 2454–2462.
- [8] Behrendt R, Schuman T, Gerbaulet A, *et al.* Mouse SAMHD1 has antiretroviral activity and suppresses a spontaneous cell-intrinsic antiviral response [J]. *Cell Rep*, 2013, 4(4): 689–696.
- [9] Zhang R, Bloch N, Nguyen LA, *et al.* SAMHD1 Restricts HIV-1 Replication and Regulates Interferon Production in Mouse Myeloid Cells [J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e89558.
- [10] Gao L, Hanson MN, Balakrishnan M, *et al.* Apparent defects in processive DNA synthesis, strand transfer, and primer elongation of Met-184 mutants of HIV-1 reverse transcriptase derive solely from a dNTP utilization defect [J]. *J Biol Chem*, 2008, 283(14): 9196–9205.
- [11] Operario DJ, Balakrishnan M, Bambara RA, *et al.* Reduced dNTP interaction of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase promotes strand transfer [J]. *J Biol Chem*. 2006, 281(43): 32113–32121.
- [12] Onafuwa-Nuga A, Telesnitsky A. The remarkable frequency of human immunodeficiency virus type 1 genetic recombination [J]. *Microbiol Mol Bio Rev*, 2009, 73(3): 451–480.
- [13] Jetzt AE, Yu H, Klarmann GJ, *et al.* High rate of recombination throughout the human immunodeficiency virus type 1 genome [J]. *J Virol*, 2000, 74(3): 1234–1240.
- [14] Zhuang J, Jetzt AE, Sun G, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 recombination: rate, fidelity, and putative hot spots [J]. *J Virol*, 2002, 76(22): 11273–11282.
- [15] Wisniewski M, Balakrishnan M, Palaniappan, *et al.* The sequential mechanism of HIV reverse transcriptase RNase H [J]. *J Biol Chem*, 2000, 275(48): 37664–37671.
- [16] Gao L, Balakrishnan M, Roques BP, *et al.* Insights into the multiple roles of pausing in HIV-1 reverse transcriptase promoted strand transfer [J]. *J Biol Chem*, 2007, 282(9): 6222–6231.
- [17] Nguyen LA, Kim DH, Daly MB, *et al.* Host SAMHD1 Protein Promotes HIV-1 Recombination in Macrophages [J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(5): 2489–2496.
- [18] Ryoo J, Oh C, Choi J, *et al.* The ribonuclease activity of SAMHD1 is required for HIV-1 restriction [J]. *Nat Med*, 2014, 20(8): 936–941.
- [19] Beloglazova N, Flick R, Tchikvintsev A, *et al.* Nuclease activity of the human SAMHD1 protein implicated in the Aicardi-Goutieres syndrome and HIV-1 restriction [J]. *J Biol Chem*, 2013, 288(12): 8101–8110.
- [20] Goncalves A, Kavayel E, Rice GI, *et al.* SAMHD1 is a nucleic-acid binding protein that is mislocalized due to aicardi-goutieres syndrome-associated mutations [J]. *Hum Mutat*, 2012, 33(7): 1116–1122.
- [21] Goldstone DC, Ennis-Adeniran V, Hedden JJ, *et al.* HIV-1 restriction factor SAMHD1 is a deoxynucleoside triphosphate triphosphohydrolase [J]. *Nature*. 2011, 480(7377): 379–382.
- [22] Powell RD, Holland PJ, Hollis T, *et al.* Aicardi-Goutieres syndrome gene and HIV-1 restriction factor SAMHD1 is a dGTP-regulated deoxynucleotide triphosphohydrolase [J]. *J Biol Chem*. 2011, 286(51): 43596–43600.
- [23] White TE, Tuzova M, Valle-Casuso JC, *et al.* The retroviral restriction ability of SAMHD1, but not its deoxynucleotide triphosphohydrolase activity, is regulated by phosphorylation [J]. *Cell Host Microbe*, 2013, 13: 441–451.
- [24] Descours B, Cribier A, Chable-Bessia C, *et al.* SAMHD1 restricts HIV-1 reverse transcription in quiescent CD4(+) T-cells [J]. *Retrovirology*, 2012, 9: 87.
- [25] Ayinde D, Casartelli N, Schwartz O. Restricting HIV the SAMHD1 way: through nucleotide starvation [J]. *Nat Rev Microbiol*, 2012, 10(10): 675–680.
- [26] Cuadrado E, Jansen MH, Anink J, *et al.* Chronic exposure of astrocytes to interferon-alpha reveals molecular changes related to Aicardi-Goutieres syndrome [J]. *Brain*, 2013, 136(1): 245–258.
- [27] Dragin L, Anh Nguyen L, Lahouassa H, *et al.* Interferon block to HIV-1 transduction in macrophages despite SAMHD1 degradation and high deoxynucleoside triphosphates supply [J]. *Retrovirology*, 2013, 10(1): 30.
- [28] 美国科学家首次拍摄 HIV 在人体内扩散过程 [J]. *生物医学工程与临床*, 2009, 13(3): 217.
- [29] Thomas T. Murooka, Maud Deruaz, Francesco Marangoni, *et al.* HIV-infected T cells are migratory vehicles for viral dissemination [J]. *Nature*, 2012, 10490(7419): 283–287.
- [30] Groot F, S Welsch, QJ Sattentau. Efficient HIV-1 transmission from macrophages to T cells across transient virological synapses [J]. *Blood*, 2008, 111(9): 4660–4663.
- [31] Blanchet F, Moris A, Mitchell JP, *et al.* A look at HIV journey: from dendritic cells to infection spread in CD4(+) T cells [J]. *Curr Opin HIV AIDS*, 2011, 6(5): 391–397.
- [32] Puigdomenech I, Casartelli N, Porrot F, *et al.* SAMHD1 restricts HIV-1 cell-to-cell transmission and limits immune detection in monocyte-derived dendritic cells [J]. *J Virol*, 2013, 87(5): 2846–2856.
- [33] Chauveau L, Puigdomenech I, Ayinde D, *et al.* HIV-2 infects resting CD4+ T cells but not monocyte-derived dendritic cells [J]. *Retrovirology*, 2015, 12(1): 2.
- [34] Bloch N, O'Brien M, Norton TD, *et al.* HIV type 1 infection of plasmacytoid and myeloid dendritic cells is restricted by high levels of SAMHD1 and cannot be counteracted by Vpx [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*. 2014, 30(2): 195–203.
- [35] Sunseri N, O'Brien M, Bhardwai N, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 modified to package Simian immunodeficiency virus Vpx efficiently infects macrophages and dendritic cells [J]. *J Virol*, 2011, 85(13): 6263–6274.

[修回日期]2015-08-18