

HIV-1 Vpr 蛋白对小鼠神经瘤母细胞 N2a 活性及细胞周期的影响

曹馨月¹ 单晓宇¹ 郑文慧¹ 郭帅志¹ 秦泽明² 温红玲¹ 赵丽¹

¹山东大学公共卫生学院卫生微生物学检验系, 济南 250012; ²山东大学公共卫生学院预防医学实验教学中心, 济南 250012

通信作者: 赵丽, Email: dlzhl@sdu.edu.cn, 电话: 0531-88382625

【摘要】 目的 探讨 HIV-1 Vpr 蛋白对小鼠神经细胞的毒性作用。方法 巢式 PCR 扩增了 1 例 HIV 相关性痴呆 (HIV associated dementia, HAD) 和 1 例非 HAD 的艾滋病患者脾 (spleen, SPL)、脑膜 (meninges, MG) 共 4 个部位的 HIV-1 vpr 基因测序, 对基因序列和氨基酸位点进行分析。构建 pEGFP-N1-vpr 真核表达载体, 脂质体法转染 N2a 细胞, Western blot 检测 Vpr 蛋白在 N2a 细胞中的表达, 流式细胞术研究了不同来源的 Vpr 蛋白对 N2a 细胞活性和细胞周期的影响。结果 PCR 扩增出 HIV-1 vpr 基因, 序列分析显示 vpr 基因序列属于 HIV-1B 亚型, HAD 和非 HAD 患者中枢来源的 Vpr 蛋白在 C 末端 84、86 和 87 位存在氨基酸位点的突变; Vpr 蛋白可抑制神经细胞活性, 导致 G₂ 周期阻滞, 不同来源的 Vpr 作用存在差异, HAD 患者 MG 来源的 Vpr 蛋白, 表现出更强的抑制细胞活性和 G₂ 周期阻滞能力。结论 Vpr 蛋白关键氨基酸位点的变异可致其生物学功能的明显改变, 其在 HAD 发病机制中的意义仍待进一步研究。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒 1 型; Vpr 蛋白; HIV 相关性痴呆; G₂ 周期阻滞

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.05.010

Effects of HIV-1 Vpr protein on cell viability and cell cycle of mouse neuroblastoma N2a cells

Cao Xinyue¹, Shan Xiaoyu¹, Zheng Wenhui¹, Guo Shuai¹, Qin Zeming², Wen Hongling¹, Zhao Li¹

¹Department of Hygienic Microbiology, School of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China;

²Experimental Teaching Center of Preventive Medicine, School of Public Health, Shandong University, Jinan 250012, China

Corresponding author: Zhao Li, Email: dlzhl@sdu.edu.cn, Tel: 0086-531-88382625

【Abstract】 Objective To investigate the toxic effect of HIV-1 Vpr protein on neurons. **Methods** HIV-1 vpr gene was amplified by nested PCR in four parts of peripheral spleen (SPL) and central nervous tissue meninges (MG) of HIV-associated dementia (HAD) patients and non-HAD patients. Eukaryotic expression vector pEGFP-N1-vpr was constructed. The gene sequence and key amino acid sites were analyzed by BLAST and MEGA6. The expression of Vpr protein in N2a cells was detected by Western-blotting. The effects of Vpr proteins from different sources on the activity and cell cycle of N2a cells were studied by flow cytometry. **Results** HIV-1 vpr gene was successfully amplified by PCR. Sequence analysis showed that the vpr gene sequence belonged to HIV-1B subtype. There were amino acid mutations at C-terminal 84, 86 and 87 sites of central Vpr protein from HAD and non-HAD patients. Vpr protein could inhibit the activity of nerve cells, leading to G₂ phase arrest. Different sources of Vpr had different intensity of action. Compared with other groups, Vpr protein from the meninges of HAD patients showed stronger inhibition of cell activity and G₂ phase arrest ability. **Conclusions** Variations in key amino acid sites of Vpr protein could cause significant changes in its biological functions, and its significance in the pathogenesis of HAD remains to be further studied.

【Key words】 Human immunodeficiency virus type 1; Vpr protein; HIV associated dementia; cell G₂ arrest

DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.05.010

HIV 相关性痴呆 (HIV-associated dementia, HAD) 是 HIV-1 感染者重要的神经系统并发症, 患

者症状包括记忆障碍、精神运动迟缓、注意力丧失、冷漠以及认知障碍。随着病情的加重,晚期会发生严重痴呆,昏迷和瘫痪^[1-2]。目前认为 HAD 的发病机制与患者大脑中神经元和其它各类细胞的损伤和凋亡有关^[3]。鉴于 HIV-1 并不能直接感染神经元,因此,更多的研究聚焦于 HIV-1 蛋白的神经毒性作用。Vpr 蛋白是 HIV-1 的辅助蛋白,在病毒的复制和患者发病中起重要作用,其功能包括:反式激活 HIV-1 长末端重复序列,影响宿主基因和 HIV-1 基因的表达、诱导感染细胞 G₂ 周期阻滞和凋亡等。目前研究表明 Vpr 蛋白可诱导神经细胞发生 G₂ 周期阻滞并引起细胞凋亡,这两种作用功能不仅存在时间上的联系或也可能存在相关机制方面的重合^[4]。因此,Vpr 蛋白诱导的细胞 G₂ 阻滞是细胞凋亡或者其他功能的基础。由于 HIV-1 病毒的高变异性,AIDS 患者体内病毒的变异与其神经毒性有关^[5]。因此,本文研究了 HAD 和非 HAD 患者中枢和外周不同来源的 Vpr 蛋白氨基酸变异及其对 N2a 细胞活性和细胞周期的影响,以期为 HAD 的发病机制提供新的思路。

1 材料与方法

1.1 材料

HAD (H) 与非 HAD 患者 (N) MG 和 SPL 部位的基因组 DNA 为本室保存^[6]。小鼠神经瘤母细胞 N2a、pEGFP-N1 载体为本室保存。抗 Vpr 抗体为武汉三鹰生物技术有限公司产品。ECL 发光液为 Thermo 公司产品。CCK8 为 biosharp 公司产品。细胞周期与细胞凋亡检测试剂盒为碧云天生物技术有限公司产品。PCR 仪,德国 Eppendorf 公司产品。酶标仪 (Synergy2) 为美国 BioTek 公司产品。AI600 超灵敏化学发光成像仪,美国 GE 公司产品。Cytotflex 流式细胞仪,贝克曼库尔特商贸 (中国) 有限公司产品。

1.2 巢式 PCR 扩增 HIV-1vpr 基因

从 NCBI GenBank 数据库搜索 HIV-1 vpr, 搜索得其序列位置位于 5595-5 708 位。根据标准序列, 扩增大小约为 300 bp 的 vpr 基因, 应用 Primer5.0 软件设计引物, 设计成功的引物由上海生工生物工程有限公司合成。PCR 引物序列如下: 外侧引物 F: 5'-TCCTCTGGAAGGTGAAGGG-3'; 外侧引物 R: 5'-CTTCCTGCCATAGGAGATGCCTAAG-3'; 内侧引物 F: 5'-CCCCTCGAGATGGAACAAGCCCCA-3'; 内侧引物 R: 5'-CCGAAGCTTGATCTACTGGCTCC-3'。

划线部分为 *Hind* III 和 *Xho* I 酶切位点。

以 HAD 患者 (H) 和非 HAD 患者 (N) MG 和 SPL 部位的基因组 DNA 为模板, 首先用外侧引物进行第一轮 PCR 扩增, PCR 体系: ExTaq0.25 μl、dNTP4.0 μl、10×ExTaq buffer5.0 μl、模板 DNA2.0 μl、上游和下游引物各 0.8 μl、Nuclease-free water 37.15 μl。反应条件: 95 °C, 5min; 95 °C, 0.5 min, 55 °C, 0.5 min, 72 °C, 1.5 min, 共 35 个循环, 最后以 72 °C 终延伸 10 min。以第一轮 PCR 产物为模板进行第二轮 PCR, 循环中的延伸时间为 0.5 min, 其余条件不变。PCR 产物通过 1.2% 琼脂糖凝胶电泳初步鉴定。

1.3 HIV-1vpr 基因真核表达载体的构建

PCR 扩增产物通过琼脂糖凝胶电泳回收, 并通过核酸内切酶 *Hind* III 和 *Xho* I 将目的基因与 pEGFP-N1 载体分别双酶切, 回收双酶切产物, 16 °C 连接过夜, 转化进大肠杆菌 DH5α 感受态细胞, 并接种于含有氨苄青霉素的 LB 固体培养基, 37 °C 培养 16~18 h 后, 取阳性菌落, 提取重组质粒测序鉴定。

1.4 HIV-1 Vpr 氨基酸序列分析

测序结果运用 NCBI 网站内的在线工具 BLAST 对序列进行比对、MEGA6 对氨基酸的关键位点进行分析。

1.5 N2a 细胞的培养以及 Vpr 蛋白在 N2a 细胞中的表达

N2a 细胞于含 10% 胎牛血清、1% 青链霉素的 DMEM 细胞培养液中, 置 37 °C, 5% CO₂ 孵箱中常规培养。取铺满单层的细胞, 用胰酶消化并计数, 分别接种于 96 孔板 (用于细胞活性检测) 和 6 孔细胞培养板 (用于细胞周期检测) 中, 每孔细胞数分别为 5×10³ 个和 10⁵ 个, 培养约 24 h, 按照转染试剂盒说明书的要求, 将 pEGFP-N1-vpr 转染 N2a 细胞, 48 h 后收获细胞, 在冰上用 RIPA 裂解细胞, 1 000×g, 4 °C 离心 10 min, 收集细胞上清, BCA 蛋白定量。样品经 SDS-PAGE 分离后, 转移到 NC 膜上, 5% 脱脂奶粉封闭 1 h 后, 过夜孵育 anti-Vpr 抗体, 以 TBST 洗膜 3 次后, 加入 HRP-羊抗兔 IgG (1 : 2 000) 孵育 1 h, 再次洗膜 3 次, 并加入 ECL 发光液, 通过超灵敏多功能化学发光仪检测蛋白条带。

1.6 Vpr 蛋白对 N2a 细胞活性的影响

转染 pEGFP-N1-vpr 48 h 后, 向每孔细胞中加入 10 μl CCK-8 溶液, 37 °C, 5% CO₂ 继续孵育 1 h, 用酶标仪在 450 nm 处测定吸光度 (A)。

1.7 Vpr 蛋白对细胞周期的影响

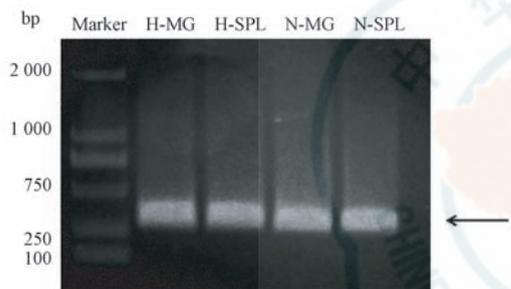
转染 pEGFP-N1-vpr 48 h 后, 1 000×g, 离心 5 min, 收集细胞, 并用

预冷的 PBS 溶液洗涤 2 次,按照试剂盒说明操作,利用流式细胞仪分析细胞周期,实验结果通过 modfit 软件处理。

1.8 统计学方法 计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 17.0 统计软件处理。细胞活性及其周期阻滞率的比较采用完全随机的单因素方差分析,若数据满足正态及方差齐,则组间比较采用 LSD 法;若数据满足正态但是方差不齐,则采用 welch 校正,组间比较采用 Dunnett's T3 法。

2 结果

2.1 巢式 PCR 扩增 HIV-1 vpr 基因 PCR 扩增结果如图 1 所示,在分子量约 300 bp 的附近有一条带,与预计大小相符(如箭头所示)。



Marker; DNA 分子质量标准;H-MG;HAD 患者脑膜;H-SPL;HAD 患者脾脏; N-MG;非 HAD 患者脑膜;N-SPL;非 HAD 患者脾脏

图 1 HIV-1 vpr 巢式 PCR 扩增结果

Marker; DNA molecular standard; H-MG; meninges of HAD patients; H-SPL; spleen of HAD patients; N-MG; meninges of non-HAD patients; N-SPL; spleen of non-HAD patients

Fig.1 Nested PCR amplification of HIV-1 vpr genes from HAD and Non-HAD patients

2.2 HIV-1 vpr 真核表达载体的构建 构建的 H-MG、H-SPL、N-MG、N-SPL 来源的 vpr 重组质粒

pEGFP-N1-vpr 测序结果证实插入片段为 vpr 序列, BLAST 分析显示为 HIV-1 B 亚型。

2.3 HIV-1 Vpr 氨基酸位点变异的分析 不同来源的 HIV-1 Vpr 各功能区氨基酸位点分析结果见图 2。与 HIV-1 B 亚型标准序列 HXB2 比对结果显示,同一患者体内中枢部位的 vpr 基因更为保守,变异更少。非 HAD 患者与 HAD 患者比对结果显示,中枢部位的 Vpr 蛋白仅在 C 末端存在 3 个氨基酸位点的差异,分别是 I84T、Q86R 和 R87S;而外周部位的差异则较大,共计有 12 个氨基酸的差异,分别是 N7D、P11Q、M36R、V37I、Y45H、T55 A、M67 L、H77Q、I84T、R85P、Q86R、R87S。

2.4 Vpr 在 N2a 细胞中的表达 Western blot 检测 Vpr 在 N2a 细胞中的表达结果见图 3 A,空载体对照组不表达 Vpr 蛋白,其余表达载体皆可正常表达 Vpr 蛋白,且表达量相近,见图 3B。

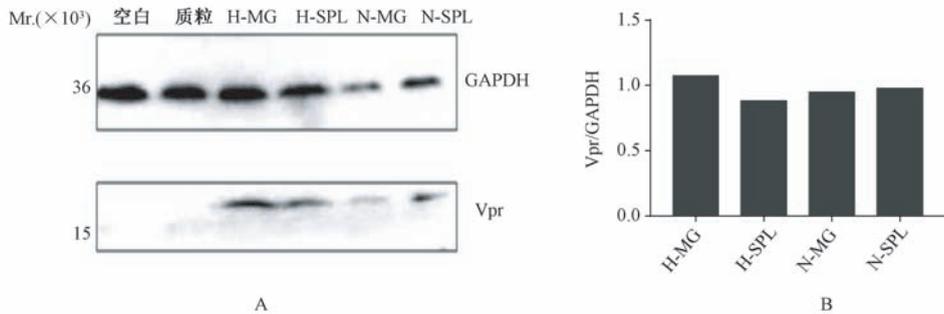
2.5 HIV-1 Vpr 蛋白对 N2a 细胞活性的影响 H-MG、H-SPL、N-SPL 组的细胞其细胞活性显著低于空载组($P < 0.001$),提示 Vpr 蛋白可引起细胞活性下降。而两两比较的结果显示, H-MG-Vpr 比 N-MG-Vpr 有更强的抑制细胞活性的能力,差异有统计学意义($P < 0.05$)。结果见图 4。

2.6 HIV-1 Vpr 蛋白对细胞周期的影响 HIV-1 Vpr 对 N2a 细胞周期的影响主要表现在 G_2 周期阻滞,结果见表 1 和图 5(箭头所示)。空载组和空白组相比差异无统计学意义($P > 0.05$)。表达 Vpr 蛋白的 4 组细胞,其 G_2 周期阻滞率显著高于空载组($P < 0.001$)。两两比较的结果显示,无论是 HAD 患者还是非 HAD 患者,中枢来源的 Vpr 蛋白都比外周来源的蛋白表现出更强的 G_2 周期阻滞的能力,差异有统计学意义($P < 0.001$);HAD 患者中枢部位来源

HXB2	1	MEQAPEDQGP QREPHNEWTL ELLEELKNEA VRHFPRWLH GLGQHIYETY GDTWAGVEAI	60
H-MG	1V.....Q..	60
N-MG	1V.....Q..	60
H-SPL	1N... P...Y.....S... ..MV... N...Y.....T.....	60
N-SPL	1Y.....S... ..N.....	60
HXB2	61	IRILQQLLFI HFRIGCRHSR IGVTRQRRAR NGASRS	96
H-MG	61Q... ..IIP.....	96
N-MG	61Q... ..I.PRS.....	96
H-SPL	61M... ..H... ..II.....	96
N-SPL	61Q... ..I.PRS.....	96

图 2 不同来源的 HIV-1 Vpr 氨基酸序列比对结果

Fig.2 Sequence alignment of HIV-1 Vpr amino acids from different sources

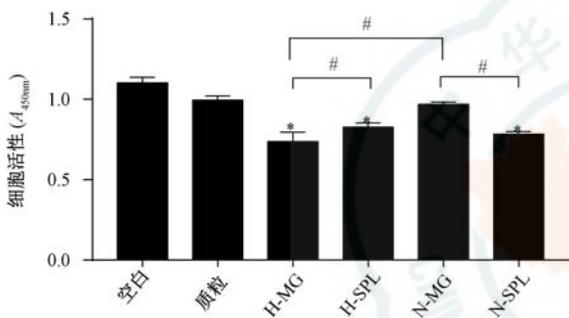


blank: 空白细胞对照; P: 空载体对照; H-MG: HAD 患者脑膜; H-SPL: HAD 患者脾脏; N-MG: 非 HAD 患者脑膜; N-SPL: 非 HAD 患者脾脏

图 3 Western blot 检测 HIV-1 Vpr 蛋白在 N2a 细胞中的表达(A)及灰度值(B)比较

Blank: blank cell control; P: plasmid control; H-MG: meninges of HAD patients; H-SPL: spleen of HAD patients; N-MG: meninges of non-HAD patients; N-SPL: spleen of non-HAD patients

Fig.3 Western blot analysis of HIV-1 Vpr protein expression in N2a cells(A) and comparison of gray values (B)



blank: 空白细胞对照; plasmid: 空载体对照; H-MG: HAD 患者脑膜; H-SPL: HAD 患者脾脏; N-MG: 非 HAD 患者脑膜; N-SPL: 非 HAD 患者脾脏

* $P < 0.001$ vs plasmid; # $P < 0.05$

图 4 HIV-1 Vpr 蛋白对 N2a 细胞活性的影响

blank: blank cell control; plasmid: plasmid control; H-MG: meninges of HAD patients; H-SPL: spleen of HAD patients; N-MG: meninges of non-HAD patients; N-SPL: spleen of non-HAD patients

* $P < 0.001$ vs plasmid; # $P < 0.05$

Fig.4 The effect of HIV-1 Vpr on activity of N2a cells

释放各类神经毒性物质(包括 gp120, Tat 和 Vpr 等毒性蛋白和细胞因子),从而诱导了神经细胞的死亡。

表 1 不同来源 Vpr 对 N2a 细胞 G₂ 周期阻滞率(%)的影响

Tab.1 Effect of Vpr from different sources on G₂ cycle arrest rate (%) of N2a cells

	对照组 A		对照组 B		F	P
	组名	$\bar{x} \pm s$	组名	$\bar{x} \pm s$		
空白对照	17.19 ± 0.39		空载体对照	18.84 ± 0.52		0.127
			H-MG	31.63 ± 1.79		0.000
			H-SPL	24.10 ± 1.11		0.000
			N-SPL	26.10 ± 1.04		0.000
空载体对照	18.84 ± 0.52		H-MG	31.63 ± 1.79	65.00	0.000
			H-SPL	24.10 ± 1.11		0.000
			N-MG	29.18 ± 0.41		0.000
			N-SPL	26.10 ± 1.04		0.000
H-MG	31.63 ± 1.79		H-SPL	24.10 ± 1.11		0.000
			N-MG	29.18 ± 0.41		0.032
			N-SPL	26.10 ± 1.04		0.000
H-SPL	24.10 ± 1.11		N-MG	29.18 ± 0.41		0.000
			N-SPL	26.10 ± 1.04		0.00
			N-SPL	26.10 ± 1.04		0.071
N-MG	29.18 ± 0.41		N-SPL	26.10 ± 1.04		0.010

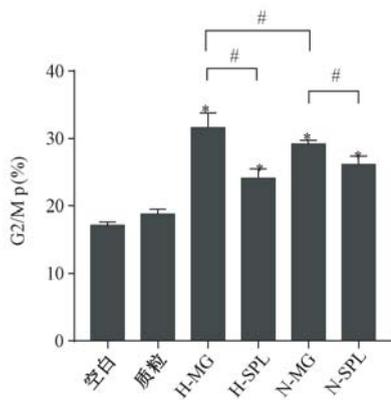
的蛋白比非 HAD 患者中枢部位来源的蛋白有更强的 G₂ 周期阻滞的能力,差异有统计学意义 ($P < 0.05$)。HAD 患者和非 HAD 患者,外周来源的 Vpr 蛋白 G₂ 周期阻滞能力差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

3 讨论

HIV-1 患者尤其是 HAD 患者的脑组织尸检可见白质苍白、脑炎和脑血管动脉粥样硬化、大量神经元损伤和死亡。关于 HAD 患者中枢神经细胞的损伤机制至今尚不清楚。HIV-1 进入中枢神经系统后,通过感染脑血管周围的巨噬细胞和小胶质细胞,

已知 HIV-1 Vpr 蛋白是 HIV-1 实现对宿主细胞的周期调控的重要蛋白,研究发现,该蛋白可引起被感染细胞 G₂ 周期阻滞,阻止其进入 M 期,从而影响了细胞活性,并增强了 HIV-1 的转录能力,有助于病毒的复制和免疫逃逸^[7-8]。同时,Vpr 蛋白不仅存在于 HIV-1 感染细胞,在 HAD 患者的大脑神经元中也发现了 Vpr 蛋白的存在^[9],提示 HIV-1 虽然不能感染神经元,但是 Vpr 蛋白可被神经元摄取,从而发挥其神经毒性作用。

虽然 Vpr 蛋白氨基酸序列较为保守,但是 Hadi



A:通过PI单染监测转染48 h后的N2a细胞周期分布;B:转染后48 h后N2a细胞中G₂/M群体的百分比;blank:空白细胞对照;plasmid:

空载体对照;H-MG:HAD患者脑膜;H-SPL:HAD患者脾脏;N-MG:非HAD患者脑膜;N-SPL:非HAD患者脾脏

图5 HIV-1 Vpr蛋白对N2a细胞G₂期的影响

* $P < 0.001$ vs plasmid; # $P < 0.05A$; Cell cycle distribution of N2a monitored by PI single staining at 48 hours posttransfection. B: Percentage of G₂/M population in N2a cells at 48 hours posttransfection. blank: blank cell control; plasmid: plasmid control; H-MG: meninges of HAD patients; H-SPL: spleen of HAD patients; N-MG: meninges of non-HAD patients; N-SPL: spleen of non-HAD patients * $P < 0.001$ vs plasmid; # $P < 0.05$

Fig.5 Effect of HIV-1 Vpr protein on N2a cell cycle

等^[10]通过评估艾滋病快速进展者(rapid progressors, RP)和长期不进展者(long-term nonprogressors, LTNP)的Vpr蛋白多态性发现,RP相关的L68M显示出更强的促进病毒复制的能力,表明Vpr蛋白的氨基酸突变会影响病毒的复制,进而影响到AIDS的发展和预后。但是,目前国内关于HAD患者来源的Vpr蛋白氨基酸变异对其神经毒性的影响尚未见报道。

本研究分析了1例HAD和1例非HAD患者中枢与外周4个部位的Vpr蛋白氨基酸的变异情况,结果显示,在同一患者体内中枢部位的变异较外周部位弱,这可能是由于抗逆转录病毒药物无法进入CNS,而外周由于抗逆转录病毒药物和中和抗体存在,导致较强的选择压力所致^[5]。

HAD患者中枢部位来源的Vpr蛋白在各组中具有最强的周期阻滞和抑制神经细胞活性的能力($P < 0.05$),可能与其C末端T84R和R85P突变有关,郑力文等^[11]报道,C末端截断的Vpr蛋白丧失诱导Hela细胞G₂周期阻滞的能力,与本研究结果一致。Vpr蛋白的C末端是实现G₂细胞周期停滞

和细胞凋亡的关键区域,其突变可影响蛋白质的二级结构,并改变与受体蛋白(Vpr结合蛋白以及DNA损伤结合蛋白1等)的结合能力^[12-13]。

综上所述,虽然Vpr蛋白氨基酸序列相对保守,但其关键氨基酸的突变也会造成其生物学功能的明显改变,其中哪个位点的突变起到关键作用,仍待进一步研究。由于本研究的vpr来源于HAD患者,相较于其他报道的定点突变,在研究Vpr的神经毒性方面具有重要意义。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 曹馨月:具体实验操作和撰写文章;单晓宇、郑文慧、郭帅志、秦泽明:协助实验和数据分析;温红玲:协助课题设计、协调实验;赵丽:课题设计、实验指导和文章修改

参考文献

- [1] Mamik MK, Asahchop EL, Chan WF, et al. Insulin treatment prevents neuroinflammation and neuronal injury with restored neurobehavioral function in models of HIV/AIDS neurodegeneration[J]. J Neurosci, 2016, 36(41): 10683-10695. DOI: 10.1523/JNEUROSCI.1287-16.2016.
- [2] Power C, Hui E, Vivithanaporn P, et al. Delineating HIV-associated neurocognitive disorders using transgenic models: the neuropathogenic actions of Vpr[J]. J Neuroimmune Pharmacol, 2012, 7(2): 319-331. DOI: 10.1007/s11481-011-9310-7.
- [3] Capô-Vélez CM, Delgado-Vélez M, Báez-Pagán CA, et al. Nicotinic acetylcholine receptors in HIV: Possible roles during HAND and inflammation[J]. Cell Mol Neurobiol, 2018, 38(7): 1335-1348. DOI: 10.1007/s10571-018-0603-8.
- [4] Andersen JL, Le Rouzic E, Planelles V. HIV-1 Vpr: mechanisms of G₂ arrest and apoptosis[J]. Exp Mol Pathol, 2008, 85(1): 2-10. DOI: 10.1016/j.yexmp.2008.03.015.
- [5] Dahiya S, Irish BP, Nonnemacher MR, et al. Genetic variation and HIV-associated neurologic disease[J]. Adv Virus Res, 2013, 87: 183-240. DOI: 10.1016/B978-0-12-407698-3.00006-5.
- [6] 李昕,张维嘉,郑文慧,等. 艾滋病痴呆综合征患者HIV-1Vpr基因多态性及氨基酸序列分析[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2018, 32(1): 48-52. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2018.01.010.
- [7] James T, Nonnemacher MR, Wigdahl B, et al. Defining the roles for Vpr in HIV-1-associated neuropathogenesis[J]. J Neurovirol, 2016, 22(4): 403-415. DOI: 10.1007/s13365-016-0436-5.
- [8] Laguette N, Bregnard C, Hue P, et al. Premature activation of the SLX4 complex by Vpr promotes G₂/M arrest and escape from innate immune sensing[J]. Cell, 2014, 156(1-2): 134-145. DOI: 10.1016/j.cell.2013.12.011.
- [9] Wheeler ED, Achim CL, Ayyavoo V. Immunodetection of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) Vpr in brain tissue of HIV-1 encephalitic patients[J]. J Neurovirol, 2006, 12(3): 200-210. DOI: 10.1080/13550280600827377.
- [10] Hadi K, Walker LA, Guha D, et al. Human immunodeficiency virus type 1 Vpr polymorphisms associated with progressor and

- nonprogressor individuals alter Vpr-associated functions [J]. J Gen Virol, 2014, 95 (Pt 3): 700-11. DOI: 10.1099/vir.0.059576-0.
- [11] 郑力文,胡维新,樊星,等. 中国 HIV 感染者 VPR 序列变异对细胞周期和致凋亡作用的影响[J]. 中国感染控制杂志, 2009, 8 (5): 306-310, 314. DOI: 10.3969/j. issn. 1671-9638. 2009. 05. 003.
- [12] Belzile JP, Duisit G, Rougeau N, et al. HIV-1 Vpr-mediated G2 arrest involves the DDB1-CUL4AVPRBP E3 ubiquitin ligase[J]. PLoS Pathog, 2007, 3 (7): e85. DOI: 10.1371/journal.ppat.0030085.
- [13] Hogan TH, Nonnemacher MR, Krebs FC, et al. HIV-1 Vpr binding to HIV-1 LTR C/EBP cis-acting elements and adjacent regions is sequence-specific[J]. Biomed Pharmacother, 2003, 57 (1):41-48

(收稿日期:2019-05-07)

(本文编辑:唐浏英)

· 文献速览 ·

沃尔巴克氏菌 (*Wolbachia*) 结合放射线的应用现场清除白纹伊蚊种群

Xiaoying Zheng, Dongjing Zhang, Yongjun Li, Cui Yang, Yu Wu, Xiao Liang, Yongkang Liang, Xiaoling Pan, Linchao Hu, Qiang Sun, Xiaohua Wang, Yingyang Wei, Jian Zhu, Wei Qian, Ziqiang Yan, Andrew G. Parker, jeremie r. l. Gilles, Kostas Bourtzis, Jérémy Bouyer, Moxun tang, Bo Zheng, Jianshe Yu, Julian Liu, Jiajia Zhuang, Zhigang Hu, Meichun Zhang, Juntao Gong, Xiaoyue Hong, Zhoubing Zhang, Lifeng Lin, Qiyong Liu, Zhiyong Hu, Zhongdao Wu, Luke Anthony Baton, Ary A. Hoffmann & Zhiyong Xi

Incompatible and sterile insect techniques combined eliminate mosquitoes

Nature. 2019 Aug;572(7767):56-61. doi: 10.1038/s41586-019-1407-9.

《自然》杂志近期发表论文介绍中国、美国、国际原子能机构和澳大利亚科学家通过合作于 2014—2017 年在中国广东省广州市南沙区和番禺区 2 个江中沙洲岛屿,开展清除白纹伊蚊即登革病毒主要传播蚊虫的现场研究。该研究结合昆虫绝育技术 (sterile insect technique, SIT), 通过释放携带沃尔巴克氏菌 (*Wolbachia*) 的白纹伊蚊雄蚊, 而达到靶向消灭现场野生白纹伊蚊的目的。研究结果显示, 此项技术可年平均消灭现场白纹伊蚊 83%~94% 雌性成蚊和 94% 蚊卵, 在部分区域实现了野生白纹伊蚊种群的灭绝。

沃尔巴克氏菌 (*Wolbachia*) 是广泛存在于自然界节肢动物中的革兰阴性胞内共生菌。本研究建立的新型沃尔巴克氏菌感染的白纹伊蚊雄蚊与野生白纹伊蚊雌蚊交配, 所产生的卵不能孵化成蚊, 该性状称为胞质不相容性 (cytoplasmic incompatibility, CI)。因此, 本研究释放的白纹伊蚊雄蚊具有使野生雌蚊繁育受阻的能力。并且, 该新型沃尔巴克氏菌的感染可显著减低白纹伊蚊经叮咬吸血传播登革热病毒的能力, 及通过蚊卵传递和叮咬吸血传播寨卡病毒的能力。本研究建立了大规模生产具有上述生物学特性蚊虫的工业化平台, 是国际首次将昆虫不相容与射线辐射绝育技术成功应用于白纹伊蚊现场种群的清除研究, 取得良好效果。该技术具有经济、环保的优势, 适合于城市中蚊虫媒介控制, 具有很好的现场应用前景。

(毛伟, 曾琴, 潘晓玲 编译; 梁国栋 审校)

作者单位: 湖南师范大学医学院, 湖南 长沙 410013

作者简介: 毛伟, 湖南师范大学医学院在读研究生, 研究方向为共生菌沃尔巴克氏体调控蚊媒宿主代谢及免疫系统抗病毒机制的研究。

基金项目: 研究获得国家自然科学基金青年基金 (81702036); 国家自然科学基金面上项目 (81873967); 湖南省杰出青年基金 (2019JJ20013); 湖湘高层次聚集工程“创新优秀青年人才”项目 (2018RS3068); 湖南省大学生创新创业训练计划项目 (S201910542039) 资助。