



HIV-1: Molecular Biology and Pathogenesis
Clinical Applications

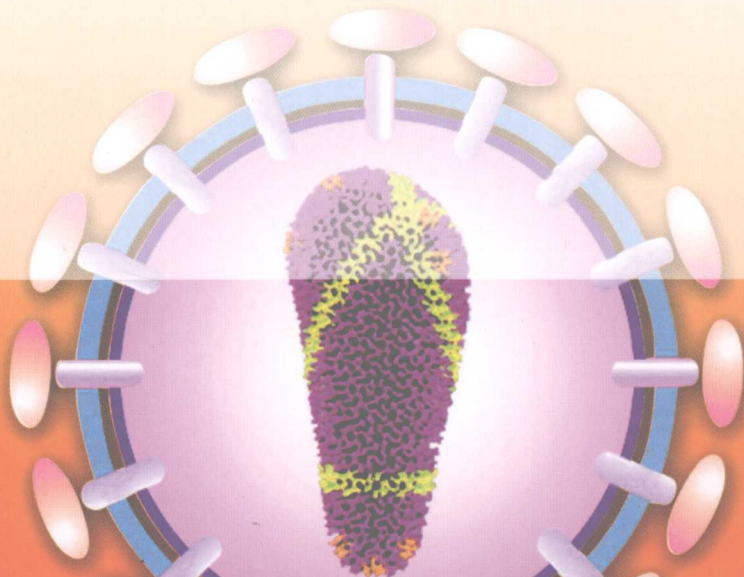
HIV-1: 分子生物学和发病学

临床应用

(第二版)

· 导读版 ·

〔美〕蒋观德 (Kuan-Teh Jeang)



原版引进



科学出版社

www.sciencep.com

HIV-1: MOLECULAR BIOLOGY AND PATHOGENESIS
Clinical Applications

Second Edition

HIV-1: 分子生物学和发病学
临床应用
(第二版)

〔美〕蒋观德(Kuan-Teh Jeang)

Molecular Virology Section

LMM, NIAID, NIH

Bethesda, Maryland

科 学 出 版 社
北 京

图字:01-2008-0442 号

This is an annotated version of

HIV-1: Molecular Biology and Pathogenesis, Clinical Applications,

2nd Edition

Kuan-Teh Jeang

Copyright © 2008, Elsevier Inc.

ISBN: 978-0-12-373601-7

All rights reserved.

No part of this publication may be reproduced or transmitted in any form or by any means, electronic or mechanical, including photocopy, recording, or any information storage and retrieval system, without permission in writing from the publisher.

AUTHORIZED EDITION FOR SALE IN P. R. CHINA ONLY

本版本只限于在中华人民共和国境内销售

图书在版编目(CIP)数据

HIV-1:分子生物学和发病学:临床应用=HIV-1:Molecular Biology and Pathogenesis: Clinical Applications:第2版:英文/(美)蒋观德(Jeang, K-T)编著. —影印本. —北京:科学出版社,2008

ISBN 978-7-03-022220-6

I. H… II. 蒋… III. 人类免疫缺陷病毒-研究-英文 IV. R512.910.3
R373.9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2008)第 080162 号

责任编辑:田慎鹏 贾明月/责任印制:钱玉芬/封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

北京佳信达艺术印刷有限公司印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2008 年 8 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2008 年 8 月第一次印刷 印张:38 插页:8

印数:1—1 500 字数:851 000

定价:138.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

导 读

《HIV-1:分子生物学和发病学:临床应用》(第二版)是 Elsevier 出版集团旗下的 Academic Press 出版的系列丛书《药理学进展》(Advances in Pharmacology)中的第 56 辑,由美国国家卫生研究院(NIH)分子病毒研究室主任、知名华裔病毒学家蒋观德(Kuan-Teh Jeang)教授主编。蒋观德教授长期从事逆转录病毒 HIV 及 HTLV-1 的基础及应用研究,包括 HIV 表达的调节机制、HIV 相关载体的开发、抗 HIV RNA 干扰以及抗病毒分子的鉴定、HTLV-I 相关的细胞转化研究等。本书由国际 40 余位 HIV 研究领域资深专家共同完成,共 16 章,内容丰富、取材广泛,全面总结了 HIV-1 分子生物学及致病机制的研究及其临床应用。

当代分子生物学技术发展日新月异,基因组学、蛋白组学研究领域迅速推广外延,推动了人们对 HIV 认识的不断深入,使我们得以从分子水平认识 HIV 的起源、演变以及在人群中的传播规律和重组演化,了解病毒感染过程及与宿主相互作用的细节、病毒致病性及宿主保护机制等。这些认识正逐步指导人们的临床实践,通过针对 HIV 的致病机制而优化改进现有治疗方法,针对病毒新靶点研发新型药物,设计研发保护型疫苗以保护高危人群,从而有效预防和控制艾滋病在全球的流行。本书旨在将这些领域的进展简明扼要地介绍给读者。

为了便于读者理解,本书可归纳为四部分主要内容:

第一部分(1~3 章):综述艾滋病全球分子流行病学、临床治疗及特异性免疫应答的研究。20 世纪早期 HIV-1 M 组开始在人类传播并不断变异,现已形成多种 HIV 亚型和流行重组型(CRF),分子流行病学方法是分析 HIV 起源并追踪其流行过程的有效工具,亦可为 HIV 预防和疫苗研发提供关键信息。过去的十一年中,艾滋病的治疗取得了突破性的进步,大大降低了感染者的发病率和死亡率。HIV 相关的体液及细胞免疫应答也得到了相应认识,表型、功能等实验策略可用于研究 HIV 特异性 T 细胞反应,探讨与控制病毒复制相关的免疫保护性因素。

第二部分(4~11 章):系统分述了经典抗 HIV 药物的应用以及新型治疗方法的开发。HIV 治疗中应用的药物包括以吸附、进入为靶点的药物,抑制逆转录酶、蛋白酶、整合酶的药物以及微生物杀灭剂,长期治疗后病毒可产生耐药,其适应性亦可发生变化。在新型治疗方法的开发中,应用基因治疗使细胞抵抗 HIV 感染并非不可企及,基因组和蛋白组学等方法可用于发现潜在的药物靶点。

第三部分(12~14 章):系统论述 HIV 感染动物模型及保护型疫苗的前途。SIV 感染非人灵长动物,为 HIV 的致病机制、治疗及疫苗研究提供了较好的动物模型。从 SIV 导致的艾滋病,特别是其快速进展中得到的宿主及病毒因素特征,对于人类 HIV 感染的相关研究非常有益。此外,小鼠、兔等也为艾滋病的研究提供了有效的动物模型。由于病毒作用的复杂性及免疫应答的不完全性,保护型疫苗的研制始终未有突破,但对于病毒包膜结构及保护性免疫的深入研究为疫苗研制提供了希望。

第四部分(15~16章):系统论述 HIV-1 垂直传播及对婴儿致病的分子机制以及艾滋病相关恶性肿瘤的病毒性病因。HIV 垂直传播是儿童 HIV 感染的重要原因,HIV 病毒的一些分子特征、基因功能区及分离株的免疫学相关突变与垂直传播密切相关。艾滋病相关肿瘤,如卡波氏肉瘤、淋巴瘤、非霍奇金淋巴瘤等肿瘤的病因均与病毒感染关系密切。对 HIV 感染中这些致癌病毒相关因素的作用、机制、病毒基因及免疫应答的研究,对于预防其感染及恶性化具有重要意义。

《HIV-1:分子生物学和发病学:临床应用》(第二版)具有以下特色:①是系统综合论述抗 HIV 治疗的科学专著。通过大量的临床试验,系统论述了抗 HIV 药物治疗、基因治疗和疫苗研制的临床应用、新进展与面临的挑战,为临床医生抗 HIV 治疗提供了最新的科学依据。②全书贯穿一个明显而突出的主线,即通过深入探讨 HIV-1 致病机制、抗 HIV-1 药物作用机理及耐药产生的分子机制,提出了设计和研制抗 HIV 新药的最新理念和临床策略,为抗 HIV 治疗指明了方向。③随着对 HIV 分子生物学和发病机理认识的深入,本书收集了大量抗 HIV 药物、基因疗法的应用及疫苗临床试验数据,为读者提供了大量的新资料和新成果,本书实为资料新颖、全面论述 HIV 分子致病机制和 HIV 治疗的权威性科学专著。

《HIV-1:分子生物学和发病学:临床应用》(第二版)可供高等院校和科研院所等从事艾滋病临床治疗、分子流行病学研究的科研人员参考,也可作为艾滋病领域研究生的教学参考书。

尚 红

中国医科大学附属第一医院

各章导读

1. HIV 全球分子流行病学:AIDS 流行的起源

HIV 的全球传播表明了一种具有严重危害的基因的出现和扩散。约 70 年前(20 世纪早期),HIV-1 M 组开始在人类传播并不断变异,现已形成多种 HIV 亚型和循环重组型(CRF)。分子流行病学方法是分析 HIV 起源并追踪其流行过程的有效工具,亦可以为 HIV 预防和疫苗研发提供关键信息。我们在本章阐述了 HIV 基因型的分类、分布以及 HIV 基因高度变异对生物学和公共卫生的影响。

近期研究显示,HIV-1 M 组现已形成多种 HIV 亚型和循环重组型(CRF),且新的重组株不断出现,成为全球 HIV-1 传播毒株的重要组成部分。多种研究已阐明了病毒进化的机制以及与致病及疾病进展相关的 HIV 生物学特征。然而,全球 HIV-1 毒株多样性的生物学意义仍需进一步研究。目前,与保护性相关的免疫机制并未完全阐明,HIV 变异的多样性可能在疫苗免疫原的构建中具有重要意义。总之,HIV 分子流行病学信息在阐明 HIV 传播的动力学、疫苗设计及其他预防策略上具有重要意义。

2. AIDS 临床治疗现状

HIV 感染的治疗总是面临独特的挑战。药物的数量、成分、联合应用、潜在的毒性及药物间的相互作用使 AIDS 成为最难以攻克疾病之一。但在过去的 11 年里 HIV 的治疗取得了引人瞩目的进展。接受较新药物治疗的患者,HIV 相关的发病率和病死率显著降低。研究发现,大多生活在美国和其他发达国家的患者采用简单、毒性小的治疗方案,生活质量得到提高。本章第一部分具体介绍 FDA 批准的各种抗 HIV 化合物。第二部分介绍 HIV 治疗的诊查问题,包括初始治疗、一线治疗方案的选择、HIV 感染者的监测、治疗并发症的避免及换药时机,还将介绍进展到临床晚期应用的药物。由于最近 HIV 治疗的进步,临床医生不再为药物的毒性和治疗方案的失败而烦恼。为阻止 AIDS 的进展,目前最重要的是确保患者对药物的依从性。

在过去的 10 年里 HIV 感染的治疗取得了巨大的进步。与 20 世纪 90 年代末的药物比较,越新的药物越有效,服用也更容易,毒副作用也较少。尽管 HIV 是一种变异迅速的病毒,新药仍是有力的武器。在美国大多数患者都得到了抗病毒治疗,患者依从性差成为治疗的唯一障碍,每个 HIV 感染者治疗后本应达到病毒载量检测不出的水平,但不幸的是许多患者因依从性不好导致机体免疫缺陷。

3. HIV-1 特异性免疫应答

天然免疫系统是防御微生物入侵的第一道防线;而且,越来越多的证据表明,入侵微生物和天然免疫系统的相互作用也决定着获得性免疫的发展。然而,对于病毒侵染的防御则主要由获得性免疫来调节,包括体液免疫和细胞免疫。体液免疫的抗病毒作用通过产生阻断病毒侵入及感染靶细胞的抗体来调节;而细胞免疫的作用则是通过分泌细胞因子来调节,细胞因子可以杀死被感染的细胞。

本章主要分析 HIV-1 的特异免疫反应,着重分析 HIV-1 特异的体液调节和细胞调

节的免疫反应。对于 HIV-1 特异的 T 细胞反应,我们总结了对其表型和功能的研究现状,将其中的异常现象与可由免疫反应有效控制的其他慢性感染做了比较,最后论述了保护性 HIV-1 特异 T 细胞反应的免疫机制。

4. 以 HIV 吸附及侵入为靶点的治疗

在过去的 20 年中,治疗 HIV 感染有效药物的研制取得了巨大进展。尽管如此,药物的毒性、患者对药物的耐受性及耐药性的发生,促使研究者不断探索更新更好的方法以控制 HIV 感染及其在全球的流行。

最近,研究者们将注意力集中到一类新的复合物,即 HIV 侵入抑制剂。这类药物可作用于病毒复制的早期,保护靶细胞免受 HIV 感染。本章介绍了 HIV 侵入过程的不同阶段靶向作用的背景和原理,并概述了研制中的阻止 HIV 感染及治疗 HIV 的新药。

5. HIV-1 逆转录酶抑制剂

自从 HIV-1 被确定为引起 AIDS 的病原体后,病毒的逆转录酶就最先成为研发和改进药物的焦点。截至 2007 年中期,在 FDA 批准的 28 种抗 HIV 感染治疗药物中,有 16 种是逆转录酶抑制剂,表明逆转录酶抑制剂在治疗中的重要性。目前有两类共 8 种逆转录酶抑制剂应用于临床,一类是核苷类逆转录酶抑制剂,包括齐多夫定(AZT)、拉米夫定(3TC)和替诺福韦,自 1986 年开始应用于临床抗病毒治疗。另一类是非核苷类逆转录酶抑制剂,是一种逆转录酶的变构抑制剂,通过与近似于逆转录酶活性点却不同于真正活性位点结合而抑制逆转录酶。目前有三种 FDA 通过的非核苷类逆转录酶抑制剂:奈韦拉平、地拉韦啉和依非韦仑。本章将会详细地描述逆转录酶抑制剂的临床应用,阐述其作用机制及 HIV-1 耐药对其产生的影响。此外,还将讨论一类新的逆转录抑制剂,包括一些与目前机制不同的直接靶向作用于逆转录酶的药物,例如:核糖核酸逆转录酶活性抑制剂(RNH)。

尽管 HIV-1 的核苷类和非核苷类逆转录酶抑制剂耐药株不断增加,但是逆转录酶仍然是治疗 HIV 感染的重要靶位。正如在本章中描述的一样,通过改善药物抵抗状况,许多新的核苷类和非核苷类逆转录酶抑制剂在临床前期和后期得以应用。除了针对 DNA 聚合酶的活性,逆转录酶还表现出一系列有助于药物研发的靶位作用,包括逆转录核糖核酸酶(RNH)、逆转录酶亚单位二聚体和逆转录酶的启动,每个位点的小分子先导物均已找到。在未来的几年里 HIV-1 逆转录酶仍将是 HIV 治疗的靶位。

6. 蛋白酶抑制剂的研究进展及抗 HIV-1 耐药变异的尝试

针对获得性免疫缺陷综合征(AIDS)的抗逆转录病毒治疗,见证了医学史上一段最戏剧性的前进历程。20 世纪 80 年代后期,应用 2 种核苷类逆转录酶抑制剂的联合治疗效果明显优于使用单一核苷类逆转录酶抑制剂药物。90 年代初蛋白酶抑制剂出现了,使高效抗逆转录病毒治疗(HAART)成为可能,其临床意义得以显现。本章,我们主要讨论蛋白酶抑制剂的原理和实用性,以及目前由 HIV-1 变异引起的蛋白酶抑制剂耐药问题。

理论上,成功的抗病毒药物在发挥特异性抗病毒作用时不会干扰细胞的正常代谢或功能。AIDS 患者和相关疾病的患者需长期进行抗病毒治疗,甚至终生治疗,然而目前没

有任何抗病毒药物是 HIV-1 特异性或无毒副作用的,这已经成为一个严峻的问题。因此,研制一类具有独特作用机制并且没有副作用或很小副作用的抗病毒药物仍是治疗方面的重要目标。

目前,一系列针对 HIV 复制不同阶段的新型抗病毒药物正在进行前期临床试验,随着这些药物被引入临床,我们控制 HIV 感染的能力将大幅度提高。然而,与逆转录酶抑制剂和蛋白酶抑制剂一样,耐药的出现和发展将会限制这些药物的疗效。因此,未来药物设计的重要目标是了解药物耐药突变是如何影响药物与其靶位间相互作用的机制,进而研制出可应对野生型 HIV-1 突变的联合治疗方案。通过应用分子生物学、生物化学和药物抵抗动力学理论,新一代 RTI 和 PI 已经有希望完成上述任务,也为设计更有效的抗 HIV-1 药物提供了良好的模型。

7. HIV-1 整合酶抑制剂:最新研究和前景

HIV 的复制需要病毒通过其编码的酶(整合酶,IN)催化一个重组过程,把病毒基因组整合到感染细胞核的基因组内。由于在临床试验中 IN 抑制剂达到了预期结果,HIV IN 被认为是一个可行的抗病毒靶位点。本章重点介绍 HIV 整合过程中的细胞机制和抑制剂作用靶位的研究进展。本章给出了一个已知突变的列表,这些突变是发生在 HIV-1 IN 上,能够影响病毒活性、复制和对治疗药物反应的一些位点。在这里我们也讨论了一些关于抑制 HIV 整合作用的新的合理方法,包括在临床试验中的两个 IN 抑制剂和处在研制过程中的其他抑制剂。

8. 微生物杀灭剂:逆转录病毒锌指抑制剂是控制 AIDS 流行的有效手段

HIV/AIDS 已经在全世界流行了 25 年之久,在新感染的病例中有 50%以上是女性。而微生物杀灭剂被认为是一种阻止 HIV 传播的方法。微生物杀灭剂主要包括凝胶、乳膏、薄膜和其他各种固体储存形式,其含有抑制 HIV 进入阴道、直肠或在阴茎黏膜表面复制的抑制剂。我们意识到了以局部微生物杀灭剂为基础的预防策略的应用前景,正在进行的 III 期临床试验具有非常好的结果,这将引发一系列微生物杀灭剂产品的研制,产生新的候选制剂来超越第一代微生物杀灭剂。我们已经开发了新一代局部微生物杀灭剂,其靶位作用于 HIV-1 核衣壳蛋白(NCp7)锌指,它可以使 HIV 丧失复制能力,失去感染性。我们在这里进一步证实了中性硫酯基 S-乙酰-2-巯基苯丙胺,即 HIV-1 NCp7 锌指抑制剂可作为局部微生物杀灭剂的候选药物,并已经确认新一代微生物杀灭剂可作为全能的、多抗病毒靶位的病毒杀灭剂。

通过提供给易感人群一种自助方法来阻止 HIV 感染,局部微生物杀灭剂有能力显著影响 HIV/AIDS 广泛流行。尽管我们依旧在等待确认一种安全、有效和可接受的微生物杀灭剂,但是有证据表明有效的局部微生物杀灭剂可能挽救上百万人免于感染。为了达到局部微生物杀灭剂的预期效果,不仅要满足临床的有效性、安全性和可接受性,而且新一代的微生物杀灭策略也需要发展新的微生物杀灭剂和寻找新的作用靶位。由于考虑到非特异性的、具有去污性质的病毒杀灭剂壬苯醇醚-9 的安全性,而且也证实微生物杀灭剂代表性有限,因此找到一个安全、有效、HIV 特异的病毒微生物杀灭剂已经不是首要任务。最佳的病毒杀灭剂不仅要能够作用于游离病毒,而且也要能够作用于进入细胞的

病毒,能够全能、特异性地作用于病毒复制过程中的各个阶段。通过对 HIV-1 NCp7 锌指抑制剂硫酯基 S-乙酰-2-巯基苯丙胺(SAMT)的发现与研制,就能够达到上述效果。试验证据也表明这些抑制剂能与高度保守的 HIV 蛋白序列以共价方式结合,不可逆地排斥蛋白上的 Zn 离子以改变蛋白结构,从而阻止游离病毒或细胞内病毒的复制。SAMT 可以在多种病毒和已检测到的耐药毒株上发挥作用,主要是通过干扰病毒复制过程中核衣壳锌指的活性。NCp7 结构与功能的缺失导致 HIV 复制与感染的抑制。这种硫酯碱基复合物长期以来一直被认为不适合药用,而锌指也被认为是非特异的靶位。然而,我们的先导复合物,作为一个 NCp7 抑制剂,已经克服了上述的体内体外作用缺点。这种先导的 NCp7 抑制剂通过保持在血浆、人工黏蛋白以及潜在的合成辅药中的高浓度,来发挥作用。它通过渗透压泵或胶载体进行体内皮下给药,已有初步证据证明 SAMT 在体内环境下具有抗 HIV 的潜能并且是安全的。在体外宫颈阴道组织块和灵长类阴道感染模型上的试验表明 SAMT 可安全有效地抑制 HIV 的传播。尽管这些数据是令人鼓舞振奋的,NCp7 锌指抑制剂依旧需要更多的研究。上述证据表明 NCp7 锌指抑制剂,特别是 SAMT 先导混合物 89 和 247,通过提供一线、多能的 HIV 特异的病毒杀灭剂使得现存的微生物杀灭剂具有更大的应用前景。

9. 病毒的耐药和适应性

所有抗病毒药物的特性是:无论哪一类药物,无论作用于哪一个靶位,都会出现选择性的 HIV-1 耐药变异。耐药主要是由那些广泛的和特异的 HIV 突变造成的,主要针对那些作用于病毒逆转录酶、蛋白酶和整合酶位点的药物。对于进入抑制剂发挥作用的突变形式十分复杂,而且其是否能发挥作用依赖于病毒包膜基因(*env*)的序列组成。病毒复制能力适应性下降几乎与所有的 RTI、PI、INI 的耐药突变相关。在 gp41 上,病毒对融合抑制剂的耐药突变会立即产生适应性的下降,但是耐药突变可增加病毒融合动力效应,新一类的 CCR5 激动剂/拮抗剂也具有同样的特点。许多 CCR5 嗜性的 HIV-1 耐药变异能够增加与进入细胞相关的共受体亲和力,而不是破坏那些作用于靶位酶的抗逆转录病毒药物的功能。这一章描述的就是关于 HIV 耐药和适应性的最新研究进展。

10. 基因疗法诱导细胞对 HIV-1 感染产生抵抗:来自临床试验的经验

从 20 世纪 90 年代中期开始,已有很多方法可抑制培养细胞中的 HIV-1 感染或复制。如针对病毒蛋白胞内抗体的表达;抑制病毒 RNA 逆转录、加工和翻译的反义 RNA; HIV 结构或调节基因的具有优势抑制活性的突变;RNA 诱导抑制 HIV-1 转录以及针对多种 HIV-1 RNA 毒株的核酶表达。

最近,干扰 RNA 的发现和一系列与 HIV-1 感染有关的细胞蛋白的确定,提供了新的技术和重要的干预目标。总体上,通过转基因使细胞对 HIV-1 感染具有抵抗力的目标是是可以实现的。然而,主要挑战是如何使这些基因策略适用于临床。本章将介绍使 T 细胞获得 HIV-1 抗性的研究,更准确地说是从临床试验结果中总结的经验,目的是探讨目前试验方法的局限性,描述当前研究现状,并客观地指出在基因治疗成功应用于 HIV-1 感染临床治疗前需解决的关键问题。事实上,在 HIV 耐药突变、长期抗病毒治疗导致的药物毒性,特别是不能彻底清除病毒的情况下,临床基因治疗的成功备受期待。

11. 用基因组学和蛋白质组学方法鉴定潜在药物靶点:系统方法

由于病毒有产生耐药突变的能力,现有的 HIV-1 抗病毒治疗药物的作用被证明是有限的。新一代抗 HIV-1 药物需要考虑 HIV-1 特异性细胞靶位。基因组学和蛋白质组学技术已证明大量参与病毒复制的细胞基因可以作为新型药物作用位点。这里介绍了病毒蛋白的细胞-病毒的相互作用,并证明了 HIV-1 感染能同时引起表型和细胞基因表达水平的改变。利用系统方法对收集的数据进行整理,发现了复杂途径的定位和其他未知蛋白间的相互作用。为支持这一观点,我们检测了与 Tat、Nef 和 Gag 表达相关的多种细胞改变。最终,我们证明了病毒蛋白的特异性作用可改变疾病的致病机制。

基因组学和蛋白质组学技术给我们提供了检测 HIV-1 的新方法。结合基因组学、蛋白质组学和表型研究技术有可能发现更有效的药物作用靶位。尽管对病毒蛋白的细胞-病毒的相互作用进行了大量研究,但我们了解的仍很有限。研究显示抗病毒治疗可以抵消 Tat、Nef 和 Gag 在宿主细胞中引起的改变。进一步利用生物学方法的研究将极有可能发现新的抗 HIV 药物作用靶位。

12. 从 SIV 感染猿猴模型中得到的与 AIDS 疾病快速进展相关的宿主及病毒性因素

非人灵长类感染猴免疫缺陷病毒(SIV)为研究艾滋病致病机制、评价实验性治疗与疫苗策略提供了相关动物模型。一部分短尾猴感染 SIV 后会快速进展,伴有短暂的 SIV 特异性免疫反应与高血浆毒血症,人类 HIV 感染时很少发生这种情况。本章节总结了这些动物模型的病毒学、免疫学与病理学特征。一部分短尾猴疾病快速进展似乎是由于早期病毒诱导大量记忆性 CD4⁺ T 细胞被不可逆杀伤,造成了免疫反应损伤,并且巨噬细胞嗜性和对中和敏感的毒株发生进化。SIV 的致病机制局限于 SIV 对免疫系统的直接致细胞病变作用,而在疾病缓慢进展时,SIV 可以造成免疫活化诱导细胞死亡及再生障碍。另外,SIV-mac 与 SIV-sm 感染的快速进展短尾猴体内,病毒会演化为特殊包膜变异株。然而,分子克隆方面的研究显示这些变异株是免疫妥协的宿主中病毒复制的最终结果,而不是快速进展的直接原因。我们推测是宿主与病毒因素产生复杂的相互作用导致疾病快速进展。

13. HIV-1 感染的非灵长类模型和致病机制

HIV-1 感染及致病机制的非灵长类模型在 HIV 研究中起重要作用。这些模型既具备采用小动物的方便性,又有采用完整动物模型的高效性。多种非灵长类动物模型被用于 HIV 研究中。大量关于 HIV-1 复制、细胞病变(CPE)和免疫的研究证明:移植了人淋巴组织/淋巴细胞的免疫缺陷小鼠是有效的动物模型。新近研究表明,免疫缺陷程度更高的小鼠嵌合的人白细胞在这种动物模型中发育存在更大的多样性,这种动物模型得到了推广应用。目前表达人 CD4 和 HIV 复制需要的其他分子的小鼠、大鼠、兔子作用有限,因为研究显示 HIV-1 在这些动物体内复制很少。反之,携带 HIV-1 全基因组或一至数条 HIV-1 基因的转基因小鼠为 HIV-1 致病机制研究提供了一线希望并成为有用的研究工具。

为获得模拟人 HIV/AIDS 的小动物模型,使用基因修饰或嵌合的小型实验室动物是

一种行之有效的方法。免疫缺陷小鼠模型可以同时移植胸腺细胞/PBL 和造血干细胞来研究 HIV-1 感染的特殊方面。新近发现的 NOD-SCID $\gamma c^{-/-}$ 和 Rag2 $^{-/-}$ $\gamma c^{-/-}$ 小鼠提高了人细胞移植效率,并实现了对 HIV-1 复制和致病机制的研究。Tg 小鼠也可用于研究 HIV-1 疾病特殊方面。将来可能使用 Tg 兔子、Tg 大鼠等其他模型。显然,在 HIV-1 复制和致病机制的研究中小型动物模型会继续发挥重要作用。

14. HIV-1 保护性疫苗的前景

全球公共健康的一个重要目标是开发有效的 HIV-1 疫苗,以对抗社会与经济条件比较落后地区(主要是非洲,比如津巴布韦与南非地区)艾滋病的流行。在这些国家,艾滋病的流行是社会与经济极大障碍。事实上,年轻人中 HIV 高感染率已经导致了国民预期寿命极大缩短,单亲家庭增加,上百万孤儿出现以及国家生产总值大量减少;这些情况进一步减少了公共健康的资源配置,又反过来导致促进艾滋病传播的社会条件长久存在。由于尚未发现普遍有效的抗病毒治疗药物,目前最需要解决的问题就是预防性疫苗的开发。开发有效疫苗所面临的一些问题与病毒包膜的特异性结构以及变异性有关。然而,由于对病毒包膜四级结构以及保护性免疫的理解有了新进展,一些研究对具有免疫原性的表位进行了合理的设计,也许有助于开发出有效的 HIV 疫苗。

高效抗病毒治疗的应用已经大大改善了 HIV 感染者的临床结局;但是,这种健康与社会的进步只限于美国与欧洲的 HIV 感染者。的确,在亚洲与非洲各发展中国家,HIV 感染及传播伴随着巨大的经济社会问题。由于尚未发现普遍有效的抗病毒治疗药物,目前最需要解决的问题就是预防性疫苗的开发。从伦理与经济角度考虑,预防性疫苗应该可以高度保护人体免受 HIV 原发感染。事实上,HIV 感染者和危险人群人数众多及其低收入水平使得发展中国家成为广泛开展疫苗试验的“重地”。美国 gp120 的疫苗试验失败提示,一种疫苗如果只能保护受试者中的一小部分,而不能保护大多数人免受 HIV 感染,那么一旦感染,这些感染者必须同发达国家的 HIV 感染者一样接受昂贵的抗病毒治疗。由于缺乏有效的公共健康体系,人们期待通过疫苗突破性地解决经济与社会负担。在这种情况下,有效的疫苗会为控制艾滋病大流行提供最好的机会。尽管本综述探讨了一些正在开发的可以诱导 T 细胞免疫的疫苗,但是研究有效疫苗的最大希望在于可以诱导具有广泛中和作用的抗体产生的组分。关于这一点,最近有研究阐明了与 CD4 分子或中和抗体结合状态下的 HIV 三聚体包膜的晶体结构,使我们更深入地理解针对于病毒包膜中和敏感区域的抗体反应被预先排除的机制。更重要的是,研究阐明了中和表位与同源中和抗体形成的四聚体结构,这些研究可以帮助设计引发交叉中和抗体反应的新结构表位。

15. HIV-1 垂直传播的分子机制和 HIV-1 在婴儿中的致病机制

HIV-1 母婴垂直传播的发生率大于 30%,是儿童患艾滋病的主要原因。来自母亲方面增加垂直传播风险的因素包括临床分期、低 CD4⁺ T 细胞计数、高病毒载量、免疫应答和疾病进展情况。虽然在妊娠时应用抗逆转录病毒药物可以减少母婴垂直传播的风险,但已有关于耐药毒株传播的报道。更重要的是,HIV-1 感染的新生儿和婴儿比成年感染者(包括他们的母亲)更快进展为艾滋病患者。通过对 HIV-1 感染的母婴垂直传播病例

的研究发现,多数阳性母亲是将体内 R5 表型的 HIV-1 非优势毒株垂直传播给她们的婴儿,并且感染早期的婴儿体内的毒株与其母亲传播的毒株具有相同的特征。此外,其他型毒株的传播也见报道。在分析了 HIV-1 基因组其他区域后我们发现母婴垂直传播保持了 gag p17 和 NC、*pol* RT、*tat*、*rev*、*vif*、*vpr*、*vpu* 和 *nef* 可读框(ORF)的完整性及其功能。而且,没发生垂直传播的母亲体内 HIV-1 序列与发生垂直传播的母亲和婴儿相比其异质性较低,但其辅助基因 *vif* 和 *vpr* 功能保守性较差。由于单个核细胞中基因表达水平的影响,HIV-1 在新生儿中比在成人中更易复制,而且靶细胞中 HIV-1 基因表达水平和复制的增加可能与高病毒载量和快速疾病进展相关,这可能是 HIV-1 在婴儿中的致病机制。我们应注重传播病毒的特点,这对在婴儿中制定良好有效的新型防治方案抑制疾病进程具有重要意义。

16. AIDS 相关恶性肿瘤的病毒性病因

第一例有记载的艾滋病病例以罕见的 Kaposi 肉瘤(KS)皮肤病变为特征。十几年后发现 KS 的病因是 γ 疱疹病毒,即人疱疹病毒-8(HHV-8)(KS 相关的 HV,KSHV)。现在已非常清楚,一些由病毒(如 Epstein-Barr 病毒 EBV 和人乳头瘤病毒 HPV)引起的癌症会因同时感染 HIV 而加剧免疫抑制。例如原发中枢神经系统淋巴瘤(PCNSL),霍奇金病,以 B 细胞增多为主的非霍奇金淋巴瘤(NHL),肛门、阴茎、口腔和浸润性宫颈癌症在 AIDS 患者中有较高的发生率。艾滋病相关的造血系统癌症、B 细胞和 T 细胞淋巴瘤、髓肉瘤、肺癌和胃肠道癌症也较常见。已证明高效抗病毒治疗(HAART)的应用可有效减少 PCNSL、NHL、KS 和其他由病毒引起的癌症的发生,延长艾滋病患者生命,提高其生存质量。然而拥有大量 HIV 感染者的发展中国家应用 HAART 和其他抗病毒药物的情况并不好。此外,有研究报道由于未知的原因,HAART 并不能逆转 HPV 引起的宫颈癌。预防性 HPV 疫苗的开发给我们防治宫颈和阴茎癌症带来了希望。然而在宫颈癌高发国家,如非洲的撒哈拉地区,HIV 阳性率接近 30%,抗病毒药物缺乏,无法获得 HPV 疫苗,对已经感染 HPV 的患者也无有效的治疗。因此,在 HIV 阳性人群中监测和治疗这些恶性疾病仍需更好的方法。

艾滋病相关恶性疾病已成为艾滋病主要的并发症。在 HAART 治疗期间,由于 HIV 病毒载量的下降和免疫重建,艾滋病患者的存活率大大提高。然而即使是有效的 HAART 治疗,也仅能使部分免疫重建。长期的免疫抑制易引起艾滋病相关癌症的复发。现在有四千万艾滋病患者,其中有许多患者生活在非洲大陆这些 HAART 治疗仍未广泛应用的地区。艾滋病相关癌症将是未来几年全球面临的挑战。在这章里介绍的许多有免疫抑制的肿瘤患者的病因都包括病毒感染。像 HPV 一样,除了开发有效的疫苗外,还需要了解疾病中的肿瘤病毒学因素、潜在的致病机制、病毒基因和宿主的免疫反应等内容,这些知识将促进阻止感染和潜在肿瘤病毒恶性病变研究更进一步的发展。

前言

本书各章节均由权威作者写就,我们从中可以深刻地理解人类免疫缺陷病毒(HIV-1)分子生物学如何被用于控制和治疗 HIV 感染。尽管 HIV-1 比较简单,仅含有 8 个基因,但是其与人体之间的相互作用却很复杂。在大多数情况下,HIV 感染最终导致患者死于免疫缺陷、消瘦和神经性疾病,上述症状被我们称为获得性免疫缺陷综合征(AIDS,艾滋病)。因此,未经治疗的 HIV-1 感染者的死亡率高于埃博拉(Ebola)和 SARS,而且免疫状态没有任何恢复的迹象。

与人类免疫缺陷病毒不同的是,HIV-1 的祖先 SIV-cpz 在其天然宿主黑猩猩体内多半是不致病的。HIV-1/SIV-cpz 基因组的微小变化,比如 *nef* 基因的变化,就可以影响其毒力的演变。在黑猩猩体内,天然免疫活化可以控制感染,而其在人体中却似乎与疾病进展有关(参见“HIV Specific Immune Response”,Harari and Pantaleo)。由于免疫活化是无益且持久的,因此最终导致免疫“崩溃”。更令人惊奇的是,感染 HIV 后进展为 AIDS 的速度并不快,这说明免疫系统具有再生能力。

艾滋病于 1981 年被首次发现,而且已经从“高危人群”范围发展到在世界范围内广泛流行,估计已导致 2500 万人死亡。目前约有 4000 万 HIV-1 感染者(参见“Global Epidemiology of HIV: Understanding the Genesis of AIDS Epidemic”,Yutaka Takebe),且大部分得不到抗病毒治疗。鉴于通过性途径感染 HIV-1 的比例最高,一些政治领袖将控制感染的重点放在“节制、诚信、自觉使用安全套”上,也就是所谓的 AIDS 预防 ABC。尽管行为约束的确发挥了应有的作用,但是它并不比 500 年前梅毒大流行时所进行的类似做法更为有效。这促使我们在道德教育的范畴之外,寻求遏制 HIV-1 传播的有效途径。

正如书中所述,我们要认识到,将科学用于医学已经为制定防治艾滋病的公共健康措施做出了贡献。在流行病学科学地证实了当时病因并不清楚的艾滋病的传播方式之后,人们才确认 HIV 为病原体;在发现 HIV-1 之后的两年时间内,筛查献血人员工作在所有工业化国家展开,大大减少了医源性 HIV 感染;1986 年第一种抗逆转录病毒药物齐多夫定作为单剂治疗进入临床试验;10 年之后,联合抗逆转录病毒治疗(ART)显现出了长期有效控制感染的作用。ART 的应用产生了巨大的影响:美国与其他西方国家 HIV-1 感染的死亡率下降了 75%,而且一直保持着这一低水平;AIDS 患者的专门医院设施闲置,因为 HIV-1 感染已经是可治的,在门诊就可以进行,尽管尚不能治愈(参见“Current Clinical Treatments of AIDS”,Murphy *et al.*)。

那些否认 HIV-1 是 AIDS 病因的人以及那些质疑 ART 效力和益处的人,应该为未能幸免的死者们深感愧疚,应该聆听到了他们尖锐的唾骂声。目前全球健康所面临的经济与理性的挑战就是要使所有需要 ART 的人们能够获得 ART。同时,由于 HIV-1 逐渐产生多重耐药(参见“Viral Drug Resistance and Fitness”,Quiones-Mateu *et al.*),如同细菌对抗生素产生耐药一样,我们需要开发新药和新靶点,以便始终赶在 HIV 耐药变异之前。在本书中,第 4 章至第 7 章重点阐述了如何开发具有前景的新型治疗方法。

某些 HIV-1 抑制剂也有望发挥其预防作用,如防止暴露者被病毒感染,其有效性已经被母婴垂直传播的大大减少所证实。另一些 HIV-1 抑制剂可以作为阴道抗微生物药

物的配方,女性可以间断使用,其中有些是 HIV 进入抑制剂(参见“Targeting HIV Attachment and Entry for Therapy”,Julie Strizki),也可能是病毒锌指抑制剂(参见“Topical Microbicides: A promising Approach for Controlling the AIDS Pandemic via Retroviral Zinc Finger Inhibitors”,Turpin *et al.*)。

创新性的基因学手段已经发展到涉及一系列的分子医学靶点,正在被用于更好地了解和治疗 HIV/AIDS。因此,基因组与蛋白质组技术能够有助于研发 HIV 药物(参见“Identification of Potential Drug Targets Using Genomics and Proteomics: A Systems Approach”,Klase *et al.*),有助于深入了解 AIDS 相关肿瘤(参见“The Viral Etiology of AIDS-Associated Malignancies”,Angelett *et al.*)。基因治疗(参见“Gene Therapy to Induce Cellular Resistance to HIV-1 Infection: Lessons from Clinical Trials”,Mauro Giacca)可能被作为治疗手段,其前提是骨髓干细胞与 CD4 T 细胞的前体细胞通过基因治疗后不再被 HIV 感染。而且,HIV 研究的一个可喜成果是,所开发的基于 HIV-1 基因组的慢病毒载体可以用于其他疾病的基因治疗及研究。因此,HIV 与 AIDS 研究并不是一个“孤岛”,它不仅得益于同时也推进了其他生物医学领域的发展。

AIDS 研究者所面临的重大科学挑战就是开发一种能够保护我们免受 HIV-1 感染的疫苗。目前尚不能开发一种安全有效的 HIV 疫苗并不是由于缺乏尝试,而是有些难以逾越的障碍:病毒的变异性(参见“Global Epidemiology of HIV: Understanding the Genesis of AIDS Epidemic”,Yutaka Takebe)以及慢病毒感染的复杂性和免疫应答的不完全性(参见“HIV Specific Immune Response”,Harari and Pantaleo 及“Perspectives for a Protective HIV-1 Vaccine”,Schiavone *et al.*)。动物模型(参见“Rapid Disease Progression to AIDS due to Simian Immunodeficiency Virus Infection of Macaques: Host and Viral Factors”,Dang and Hirsch 及“Nonprimate Models of HIV-1 Infection and Pathogenesis”,Hoang *et al.*)对于洞悉保护性免疫以及正确地设计临床试验至关重要(参见“Current Clinical Treatments of AIDS”,Murphy *et al.*)。在 HIV/AIDS 研究早期,由于资源有限,人们对于投入疫苗和治疗的资源比例存在争议。现在,政府与慈善机构均提供研究与开发基金,结束了这一尴尬局面。毫无疑问,我们需要审慎地回顾过去,合理地使用资金,以及国际间相互合作。然而,攻克 AIDS 的使命使得我们不仅要与 HIV 感染进行斗争,而且还要尽最大努力使未来的几代人远离这一重大人类灾难。

Robin A. Weiss
University College London
(尚红 译)

Contents

Contributors xi

Preface written by Robin A. Weiss xv

Global Molecular Epidemiology of HIV: Understanding the Genesis of AIDS Pandemic

Yutaka Takebe, Rie Uenishi, and Xiaojie Li

- I. Chapter Overview 1
- II. Introduction 2
- III. Genotype Classification of HIVs 4
- IV. Global Distribution of HIV Genotypes 9
- V. Methods for Identifying HIV Genetic Forms 11
- VI. Origin of HIVs and Genesis of HIV-1 Pandemic 13
- VII. Biological Significance of HIV-1 Variability and Recombination 14
- VIII. Conclusions 18
- References 18

Current Clinical Treatments of AIDS

Erin-Margaret Murphy, Humberto R. Jimenez, and Stephen M. Smith

- I. Chapter Overview 27
- II. HIV Medications 28
- III. HIV Treatment 52
- IV. Conclusion 63
- References 63

HIV-1-Specific Immune Response

Alexandre Harari and Giuseppe Pantaleo

- I. Introduction 75
- II. Humoral HIV-1-Specific Response 77
- III. HIV-1-Specific T-Cell Responses 78
- References 87

Targeting HIV Attachment and Entry for Therapy

Julie Strizki

- I. Chapter Overview 93
- II. Background 94
- III. Inhibition of Viral Attachment 95
- IV. Chemokine Receptors in HIV Infection 98
- V. Targeting Coreceptor Binding 99
- VI. Fusion Inhibitors 107
- VII. Resistance to Inhibitors of Viral Entry 109
- VIII. Use Entry Inhibitors as Microbicides 110
- References 111

Inhibitors of HIV-1 Reverse Transcriptase

Tatiana Ilina and Michael A. Parniak

- I. Chapter Overview 121
- II. Introduction 122
- III. The Target 123
- IV. Nucleoside RT Inhibitors 127
- V. Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors (NNRTIs) 140
- VI. Other Inhibitors of HIV-1 RT 150
- VII. Conclusion 154
- References 154

Development of Protease Inhibitors and the Fight with Drug-Resistant HIV-1 Variants

Hiroaki Mitsuya, Kenji Maeda, Debananda Das, and Arun K. Ghosh

- I. Chapter Overview 169
- II. Introduction 170
- III. Targeting Viral Protease 170
- IV. The Role of PIs and Challenges in HAART 174
- V. “Boosting”: A Critical Modification of Clinical Efficacy of PIs 175
- VI. Viral Resistance to PIs 176
- VII. PIs with Activity Against Drug-Resistant HIV-1 182
- VIII. Conclusions 189
- References 191

HIV-1 Integrase Inhibitors: Update and Perspectives

Elena A. Semenova, Christophe Marchand, and Yves Pommier

- I. Chapter Overview 199
- II. Foreword 200
- III. Integration: A Crucial Step in the HIV Life Cycle 200
- IV. Approaches to Inhibit HIV Integration 210
- V. Inhibitors in Clinical Trials 216
- VI. Inhibitors in Preclinical Development 217
- VII. Perspectives 218
- References 219

Topical Microbicides: A Promising Approach for Controlling the AIDS Pandemic via Retroviral Zinc Finger Inhibitors

Jim A. Turpin, Marco L. Schito, Lisa M. Miller Jenkins, John K. Inman, and Ettore Appella

- I. Chapter Overview 229
- II. The AIDS Pandemic and the Rationale for a Microbicide 230
- III. Topical Microbicides in Preclinical Development 232
- IV. Characteristics of an Ideal Microbicide 237
- V. The Retroviral Zinc Fingers of HIV-1 NCp7 as a Potential Microbicide Target 238
- VI. Characteristics of the SAMT Chemotype 240
- VII. Application of Thioesters for Microbicides 244
- VIII. Target Specificity of the SAMT NCp7 Inhibitors 246
- IX. Conclusions 249
- X. Addendum 250
- References 251