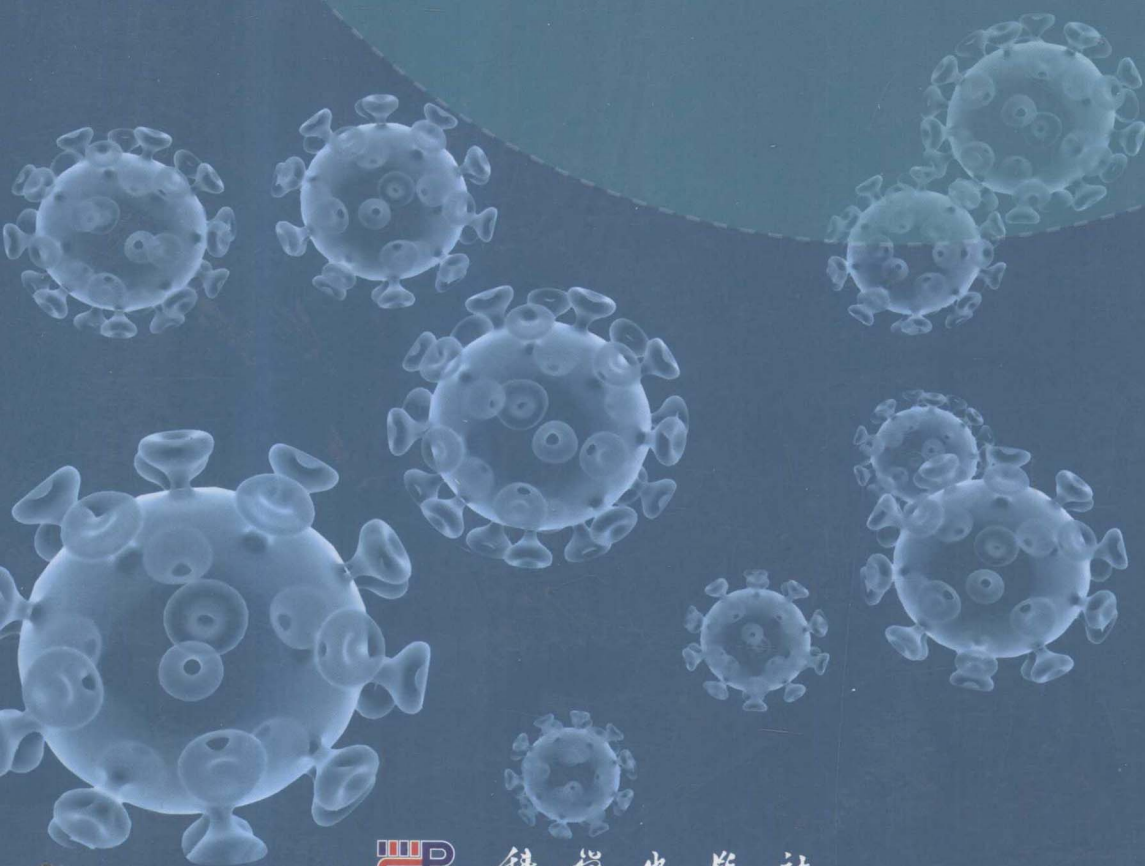


艾滋病

疫苗研究与评价

主 编 王佑春

副主编 张春涛 黄维金 徐建青



科学出版社

艾滋病疫苗研究与评价

主 编 王佑春

副主编 张春涛 黄维金 徐建青

科 学 出 版 社

北 京

内 容 简 介

全书分为上、下两篇,上篇主要介绍艾滋病疫苗的基础研究问题,包括艾滋病疫苗研究的发展历史及现状、B 细胞疫苗和 T 细胞疫苗免疫原的选择和优化、黏膜疫苗和黏膜免疫应答的策略、疫苗载体的特点、新型佐剂的研发,以及各种类型疫苗的生产工艺等。下篇主要介绍艾滋病疫苗的评价原则和技术方法,包括疫苗评价实验室的 GCLP 要求及实验室质量控制、模式动物评价模型的应用现状和研究进展、临床前期和临床期疫苗评价原则及主要内容、临床期体液和细胞免疫评价方法及标准化研究、临床研究受试者适应人群和临床基地的选择标准及基本原则等。本书作者都是从事艾滋病疫苗研究和评价的一线青年科学家,具有丰富的实际工作经验,所编写的内容反映了本领域的最新研究进展,具有较强的实用性。

本书适用于从事疫苗研究和评价的科研工作者,也适用于大专院校相关专业的教师和研究生阅读。

图书在版编目(CIP)数据

艾滋病疫苗研究与评价 / 王佑春主编. —北京:科学出版社,2014. 2
ISBN 978-7-03-039610-5

I. ①艾… II. ①王… III. ①艾滋病疫苗-研究 IV. ①R979. 9

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2014)第 011981 号

责任编辑:李 悦 刘 晶 / 责任校对:宋玲玲

责任印制:赵德静 / 封面设计:铭轩堂设计公司

版权所有,违者必究。未经本社许可,数字图书馆不得使用

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>

中国科学院印刷厂 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2014 年 2 月第 一 版 开本:787×1092 1/16

2014 年 2 月第一次印刷 印张:30 1/4 插页:1

字数:712 000

定价:158.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换)

《艾滋病疫苗研究与评价》编写委员会

主 编 王佑春
副 主 编 张春涛 黄维金 徐建青

编 委 会 委 员 (按姓氏汉语拼音排序)

陈志伟	冯 霞	何 鹏	黄维金	孔 维
李庆生	廖化新	刘 强	卢 山	聂建辉
万延民	王 宾	王三龙	王佑春	吴小兵
徐建青	许明哲	杨 焕	张春涛	张文艳

参加编写人员 (按姓氏汉语拼音排序)

陈 健	上海市公共卫生临床中心艾滋病免疫与疫苗研究组
陈志伟	香港大学李嘉诚医学院艾滋病研究所
丁相卿	上海市公共卫生临床中心艾滋病免疫与疫苗研究组
董小岩	北京五加和分子医学研究所
冯 霞	中国疾病预防控制中心病毒病预防控制所
耿 爽	复旦大学上海医学院 教育部和卫生部医学分子病毒重点实验室
何 鹏	中国食品药品检定研究院 肝炎病毒疫苗室
黄维金	中国食品药品检定研究院 艾滋病性病病毒疫苗室
孔 维	吉林大学 艾滋病疫苗国家工程实验室
李庆生	University of Nebraska-Lincoln, School of Biological Sciences, Nebraska Center for Virology(美国内布拉斯加-林肯大学,生命科学学院,内布拉斯加病毒研究中心)
廖化新	Duke University Medical Center, Human Vaccine Institute(美国杜克大学医学院人类疫苗研究所)暨南大学
刘保奎	中国医药集团总公司
刘 强	中国食品药品检定研究院 艾滋病性病病毒疫苗室
卢 山	University of Massachusetts Medical School(美国马萨诸塞州大学医学院)南京医科大学第一附属医院中美疫苗研究中心
吕铭宇	吉林大学第一医院艾滋病与病毒研究所
聂建辉	中国食品药品检定研究院 艾滋病性病病毒疫苗室

- 仇超 上海市公共卫生临床中心艾滋病免疫与疫苗研究组
- 任艳琴 上海市公共卫生临床中心艾滋病免疫与疫苗研究组
- 唐 娴 香港大学李嘉诚医学院艾滋病研究所
- 万延民 上海市公共卫生临床中心艾滋病免疫与疫苗研究组
- 王 宾 复旦大学上海医学院 教育部和卫生部医学分子病毒重点实验室
- 王 婧 上海市公共卫生临床中心艾滋病免疫与疫苗研究组
- 王 萌 中国食品药品检定研究院 艾滋病性病病毒疫苗室
- 王三龙 中国食品药品检定研究院 安全药理室
- 王世霞 University of Massachusetts Medical School(美国马萨诸塞州大学医学院)南京医科大学第一附属医院中美疫苗研究中心
- 王文波 中国食品药品检定研究院 单克隆抗体产品室
- 王佑春 中国食品药品检定研究院 艾滋病性病病毒疫苗室
- 吴小兵 北京五加和分子医学研究所
- 徐建青 上海市公共卫生临床中心艾滋病免疫与疫苗研究组
- 许明哲 中国食品药品检定研究院 综合业务处
- 杨 焕 国家食品药品监督管理总局药品审评中心
- 殷玉和 长春工业大学
- 赵晨燕 中国食品药品检定研究院 艾滋病性病病毒疫苗室
- 张春涛 中国食品药品检定研究院 体外诊断试剂二室
- 张 璐 南京医科大学第一附属医院中美疫苗研究中心
- 张瑞军 Duke University Medical Center, Human Vaccine Institute (美国杜克大学医学院人类疫苗研究所)
- 张文艳 吉林大学第一医院艾滋病与病毒研究所
- 钟一维 复旦大学上海医学院 教育部和卫生部医学分子病毒重点实验室
- 邹 强 复旦大学上海医学院 教育部和卫生部医学分子病毒重点实验室

序

艾滋病是严重危害人类健康的全球性疾病,虽然各国采取了一系列的防控措施,但仍没有得到有效的控制。而我国也出现了从高危人群向正常人群扩散的新的流行趋势,使防控形势变得更为严峻。但目前仍然缺乏有效的预防措施,疫苗的开发和应用仍将是控制乃至消除艾滋病的重要手段之一。

自艾滋病的病原体确认以来,艾滋病疫苗研究已有近三十年的历史,先后采用各种先进的技术对用于疫苗的抗原片段、疫苗载体、呈递方式以及提高免疫反应的佐剂等进行了系列研究,取得了一系列的理论成果,使疫苗研究的理论知识不断丰富。同时,也研制出了数百种艾滋病疫苗用于实验室和临床评价,其中全球开展的Ⅰ期临床试验158个,Ⅰ/Ⅱ期临床试验15个,Ⅱ期临床试验16个,Ⅲ期临床试验3个。但大部分候选疫苗的临床试验都因不能有效地保护艾滋病病毒感染而失败,甚至于对在试验过程中感染艾滋病病毒的病毒载量也未见降低作用,更有甚者个别疫苗的免疫组的受试者较对照组更易感染艾滋病病毒。多次的失败在很大程度上动摇了艾滋病疫苗研发的信心。但最近在泰国进行的RV144Ⅲ期临床试验,采用禽痘病毒载体疫苗初免,gp120蛋白加强免疫的方式,在异性传播高危人群中取得了约31%的保护率,虽然该疫苗离有效疫苗的标准还有很大的距离,但其显示的部分保护作用让研究者看到了疫苗研制成功的希望。

艾滋病疫苗研究所面临巨大困难,本质上主要与病毒本身的特性、病毒致病机理和人体对病毒的免疫反应特点有关,要想研制出有效的疫苗必须在基础理论研究方面有所突破。可喜的是面对困难,包括我国在内的全球一批科学家仍坚持致力于艾滋病免疫机制的研究,并取得了一些突破,尤其近几年从HIV感染者体内分离出大量有广谱中和作用的抗体,并证明被动免疫非人灵长动物后能有效预防艾滋病病毒感染。同时,对该类中和抗体产生过程及病毒进化对抗体产生的影响进行的深入研究,为基于中和抗体的疫苗设计提供了新的思路。

尽管艾滋病疫苗的研发工作仍然面临许多困难,但最近几年在基础研究和应用领域取得的不断进步,特别是高效中和抗体的分离和进化研究以及RV144疫苗取得的效果等,让研究者们看到了疫苗研制成功的希望。我国党和政府对艾滋病的防控工作高度重视,“国家传染病重大科技专项”对艾滋病疫苗的研发进行了专项支持,这不仅推动了我国艾滋病疫苗的研发,缩短了与国外的差距,而且也培养出了大批从事艾滋病研究工作的青年科技工作者。本人欣喜地注意到该书的作者都是国内以及长期在国外从事艾滋病疫苗研究和评价的一线青年科学家,既具有实际工作经验,又了解目前国际研究的前沿领域。该书涵盖了艾滋病疫苗的基础理论、疫苗研制,以及实验室和临床评价等各方面内容,相信对于艾滋病疫苗的研究从长远来看必然会具有较好的指导和借鉴作用。

借这本书出版之际,本人衷心希望从事艾滋病研究的科技工作者能够克服各种困难,持之以恒地开展相关研究,不断取得新的突破,必将为艾滋病的防控工作做出应有的贡献。

十一届全国人大常委会副委员长
中国工程院院士
中国药学会理事长
卫生部生物技术产品检定方法及其
标准化重点实验室学术委员会主任

A stylized handwritten signature in black ink, likely belonging to Song Yanyan, the Vice Chairman of the Standing Committee of the 11th National People's Congress.

2013 年 12 月于北京

前 言

艾滋病(获得性免疫缺陷综合征, AIDS)是严重威胁人类健康的一种传染病。自1981年首次报告以来,这种被称为“世纪瘟疫”的疾病在世界各地迅速蔓延,并已成为全球性的灾难。据联合国艾滋病规划署和世界卫生组织统计,截至2011年年底,全球约存活有3400万例艾滋病感染者。由于此病潜伏期长,传播途径和人类行为密切相关,因此,对社会稳定 and 经济发展呈现出巨大的负面效应,已成为世界各国共同关注的公共卫生问题。截至2012年10月底,中国累计报告艾滋病病毒感染者和艾滋病患者492 191例,存活的感染者和患者累计383 285例,而且其流行趋势也出现了新的特点。为控制艾滋病的快速传播和扩散,我国政府采取了一系列的防治措施,其防治工作取得了明显进展,但仍然面临很严峻的形势。

艾滋病疫苗是最终控制或消除艾滋病的重要手段。20世纪80年代,在发现HIV病毒之初,研究人员曾乐观地认为,1~2年内就可研制出有效的艾滋病疫苗。但30年过去了,虽然全球开展了共200多次艾滋病疫苗临床试验,至今仍未研制出有效的疫苗。从2007年Merck公司Step试验的失败,到2009年泰国开展的RV144试验显示有31.2%的微弱保护效果,再到2013年美国国立卫生研究院(NIH)的疫苗研究中心(VRC)公布的HVTN505临床试验的无效性,足以让学者认识到研究艾滋病疫苗的复杂性和任务的艰巨性,不得不重新审视之前疫苗的设计思路。单纯学习和模仿传统疫苗的研究理念及设计思路,在艾滋病疫苗研究领域显然是不够的。通过全球科学家的共同努力,近几年多项创新性研究成果引起关注,包括诱导广谱性中和抗体B细胞的成熟特点,广谱性中和抗体和病毒进化的相互影响和变化过程,广谱性中和抗体表位的筛选,滤泡辅助性T细胞的免疫辅助功能和病毒靶细胞特点,新型佐剂的研发和纳米技术等新材料的引入,HIV病毒体内实时监测的灵长类动物模型构建,以及对RV144和HVTN505等临床试验保护性免疫指标的深入分析等。这些创新成果对丰富艾滋病疫苗的设计思路提供了重要依据。

在国家“十二五”艾滋病和病毒性肝炎等重大传染病防治专项艾滋病疫苗评价技术的研究课题(2012ZX10004701-001)支持下,为了对国内外艾滋病疫苗基础和疫苗评价技术研究成果与经验进行系统的总结,我们邀请了从事艾滋病疫苗研究和评价技术的一线青年专家参与本书的编写,其中多位编委在国外艾滋病主流实验室长期从事疫苗基础理论的研究,并取得了突破性的成绩。所编写的内容是各位编者的实际工作总结,同时又包含了本领域的最新研究进展,反映了最新研究动态及发展方向,具有很强的实用性和指导价值。

本书力求将系统性、科学性、前沿性和实用性特点结合起来。全书分为上、下两篇。上篇主要围绕艾滋病疫苗的基础研究问题,包括疫苗研究的发展历史及现状、B细胞疫苗和T细胞疫苗免疫原的选择和优化、黏膜疫苗和黏膜免疫应答的策略、疫苗载体的特点、新型佐剂的研发,以及各种类型疫苗的生产工艺等,试图全面阐述目前国内外艾滋病疫苗研究的最新进展。下篇主要介绍艾滋病疫苗的评价原则和技术方法,包括疫苗评价

实验室的 GCLP 要求及实验室质量控制、模式动物评价模型的应用现状和研究进展、临床前期和临床期疫苗评价原则及主要内容、临床期体液和细胞学评价方法及标准化研究、临床研究受试者适应人群和临床基地的选择标准及基本原则等。试图为读者提供全方位的艾滋病疫苗评价的理念和技术。

本书适用于从事 HIV/AIDS 基础研究的科研工作者,从事疫苗研发、生产和质量控制的工作者,从事疫苗临床研究和实验室评价的科技工作者,也可作为大专院校从事疫苗研究的教师、研究生和技术人员的参考书。

需要特别指出的是,艾滋病疫苗研究现已涉及多个交叉学科,其基础研究和评价技术发展日新月异,且疫苗领域新产品层出不穷,同时,由于我们的能力和水平有限,本书不足之处在所难免,希望读者在阅读过程中给予批评和斧正。

王佑春
2013 年 10 月

目 录

上篇 艾滋病疫苗的研究

第一章 艾滋病疫苗研究发展历史及现状	3
第一节 人类免疫缺陷病毒(HIV)简介	3
第二节 研发艾滋病疫苗的必要性	6
第三节 艾滋病疫苗研制所面临的科学挑战	8
第四节 艾滋病疫苗研制所经历的过程	11
第五节 国内外艾滋病疫苗研究进展	15
第二章 诱导广谱中和抗体免疫原的选择和优化	28
第一节 诱导中和抗体艾滋病疫苗研究发展历史及现状	28
第二节 已知的 HIV-1 广谱中和抗体靶点	29
第三节 HIV-1 抗体疫苗的种类	35
第四节 设计诱导广谱中和抗体疫苗的其他考虑	39
第五节 选择和优化 HIV 疫苗免疫原所面临的主要挑战及新策略	40
第三章 艾滋病 T 细胞疫苗免疫原的选择和优化	54
第一节 T 细胞疫苗的基础理论	54
第二节 预防用艾滋病 T 细胞疫苗免疫原的选择与优化	61
第四章 广谱中和抗体时代背景下的 HIV-1 T 细胞疫苗研究	72
第一节 特异性 CD8 ⁺ T 细胞免疫应答可以控制 HIV-1 复制的研究证据	73
第二节 病毒特异性记忆 T 细胞可阻断 HIV-1 黏膜传播	73
第三节 疫苗模式与 T 细胞免疫	75
第五章 黏膜疫苗与活化黏膜免疫应答策略	84
第一节 HIV-1 黏膜感染的过程	85
第二节 黏膜先天免疫屏障	88
第三节 获得性免疫保护	91
第四节 HIV-1 疫苗及黏膜疫苗研究现状	94
第五节 展望	98
第六章 DNA 载体及相关疫苗	111
第一节 DNA 疫苗在艾滋病疫苗研究中的应用	112
第二节 艾滋病 DNA 疫苗载体的优化	113
第三节 艾滋病 DNA 疫苗抗原本身的优化	114
第四节 DNA 疫苗免疫途径	115
第五节 DNA 疫苗初免结合其他疫苗形式的异型追加联合免疫方式	118
第六节 多价艾滋病 DNA 疫苗	120

第七节 艾滋病 DNA 疫苗临床试验进展	120
第七章 艾滋病疫苗用病毒载体及其特点	127
第一节 病毒载体概况	127
第二节 艾滋病疫苗常用的病毒载体	129
第八章 DNA 疫苗和病毒载体疫苗的生产工艺	138
第一节 DNA 疫苗的生产工艺	138
第二节 病毒载体疫苗的生产工艺	149
第九章 蛋白类艾滋病疫苗原理及临床研究进展	159
第一节 艾滋病疫苗的问题:为何经典方法没有研制出成功的疫苗?	159
第二节 艾滋病蛋白疫苗的几种类型及其作用原理	160
第三节 艾滋病蛋白类疫苗相关临床试验结果	169
第四节 未来艾滋病蛋白类疫苗的设计目标和发展方向	175
第十章 佐剂的研制和发展	183
第一节 疫苗佐剂的研究历史及现状	183
第二节 化学佐剂	184
第三节 生物分子佐剂	187
第四节 佐剂前景展望	201
第十一章 治疗性艾滋病疫苗	206
第一节 治疗性艾滋病疫苗所面临的挑战	206
第二节 评价治疗性艾滋病疫苗的动物模型	209
第三节 治疗性艾滋病疫苗的种类及临床研究进展	210

下篇 艾滋病疫苗的评价

第十二章 艾滋病疫苗实验室检测方法学的验证	227
第一节 与分析方法验证相关的指导原则和法规要求	227
第二节 验证参数以及验证过程中所考虑的影响因素	229
第三节 验证步骤	234
第四节 方法转移	237
第五节 生物分析和生物检测方法验证	238
第六节 方法验证举例	252
第十三章 艾滋病疫苗的实验室质量控制	261
第一节 艾滋病疫苗实验室质量控制的共性项目	261
第二节 DNA 疫苗的特性检测项目	264
第三节 病毒载体疫苗的特性检测项目	269
第四节 蛋白疫苗的特性检测项目	273
第十四章 细胞免疫检测方法以及标准化研究	278
第一节 细胞免疫的检测方法	278
第二节 各种细胞免疫方法的比较	283
第三节 细胞免疫检测方法的标准化研究	284

第四节	艾滋病疫苗研究的细胞免疫评价策略	298
第十五章	其他免疫反应检测方法的研究	307
第一节	抗体依赖的细胞毒反应	307
第二节	病毒复制抑制实验	316
第十六章	中和抗体检测方法及其标准化研究	327
第一节	中和抗体的作用	327
第二节	检测中和抗体的方法	328
第三节	中和抗体检测方法的标准化	339
第四节	艾滋病疫苗中和抗体的检测策略	348
第十七章	艾滋病疫苗动物模型的研究与应用	354
第一节	HIV/非人灵长类动物模型	355
第二节	SIV/非人灵长类动物模型	356
第三节	SHIV/非人灵长类动物模型	357
第四节	新一代艾滋病动物模型研究	367
第十八章	艾滋病疫苗的临床前安全性评价	382
第一节	临床前安全性评价的适用规范	382
第二节	临床前安全性评价要点及主要内容	384
第三节	主要的方法学研究	392
第十九章	载体中和抗体对载体疫苗的影响及检测方法	397
第一节	预存中和抗体对载体疫苗的影响	397
第二节	各种载体中和抗体的检测方法	400
第三节	各抗载体中和抗体的流行情况	406
第四节	逃避载体预存抗体的疫苗免疫策略研究	412
第二十章	GCLP 的基本要求	421
第一节	GCLP 的基本概念	421
第二节	临床实验室的组织结构与成员职责	423
第三节	实验室设施、设备和材料	425
第四节	标准操作规程	429
第五节	实验的设计、执行与报告	431
第六节	实验室安全	437
第七节	质量保证	439
第二十一章	临床基地的选择以及临床评价的基本原则	446
第一节	预防性疫苗和治疗性疫苗	446
第二节	预防性疫苗的临床评价	448
第三节	治疗性疫苗的临床评价	460
第四节	疫苗临床研究机构的选择	462
第五节	艾滋病疫苗临床评价的特殊考虑	465

上篇 艾滋病疫苗的研究

第一章 艾滋病疫苗研究发展历史及现状

第一节 人类免疫缺陷病毒(HIV)简介

艾滋病全称为获得性免疫缺陷综合征(acquired immune deficiency syndrome, AIDS), 是一种由人类免疫缺陷病毒(human immunodeficiency virus, HIV)引起的人体免疫系统方面的疫病。HIV自1983年被发现以来呈不断扩散和蔓延的趋势, 已成为发达国家和发展中国家的主要健康问题之一, 并迅速发展成为一种全球的疾病负担。为控制艾滋病的传播和扩散, 我国已经采取了一系列的措施, 取得了一定的效果, 但是仍然面临着很严峻的形势。目前尚无有效疫苗防治艾滋病。

HIV属于逆转录病毒科慢病毒属, 是一种单正链RNA病毒。HIV-1外层的脂蛋白包膜是病毒颗粒在出芽过程中从细胞质膜中获得的; 中层为由衣壳蛋白CA组成的圆锥形核心; 核心蛋白中包埋着RNA基因组和逆转录酶。HIV-1包膜和靶细胞质膜相融合后, 病毒的核心部分进入细胞, 然后在逆转录酶的作用下将病毒RNA基因组转变成cDNA, 并整合进入宿主细胞的DNA中, 随着宿主DNA的复制而复制, 形成新的病毒颗粒, 病毒颗粒在宿主细胞膜上经过组装, 通过出芽的方式从宿主细胞释放。

成熟的HIV病毒是颗粒直径100~120nm的囊膜病毒, 二十面体对称结构球形, 电镜下可见一致密圆锥状核心, 内有病毒RNA分子和酶。其病毒颗粒由脂质囊膜、衣壳和病毒核心组成。在HIV囊膜上包膜糖蛋白(Env, gp160)三聚体由表面蛋白(SU, gp120)和跨膜蛋白(TM, gp41)组成。跨膜蛋白的中心区以非共价方式连接到病毒外部gp120上, 其主要结合部位是gp120的氨基及羧基末端的两个疏水区。病毒吸附时, gp120可以与宿主细胞的表面受体CD4和辅助受体CCR5/CXCR4结合, 引起跨膜蛋白gp41的构象变化, 使病毒囊膜和细胞膜相互接近并发生融合, 完成病毒进入步骤, 所以HIV-1根据辅助受体利用的不同, 又可以分为R5(M-tropic)、X4(T-tropic)或者双嗜性毒株。

HIV的最外层为脂蛋白包膜, 膜上有表面蛋白(gp120)和镶嵌蛋白(gp41)两种糖蛋白, gp120为刺突, gp41为跨膜蛋白。包膜内面为P17构成的基质蛋白(matrix), 其内为衣壳蛋白(P24)包裹的RNA。基质蛋白(MA, p17)位于囊膜内表面, 在囊膜之中包含有锥形病毒衣壳, 由衣壳蛋白(CA, p24)构成。病毒核心为两个拷贝的正链单股RNA形成的双体基因组结构, 大小为9.8kb, 含有gag、pol、env三个结构基因, 以及tat、rev、nef、vif、vpr、vpu等调控基因。核衣壳蛋白(NC, p7)紧密结合于基因组RNA, 在衣壳中也包含了和病毒转录复制有关的一些蛋白质, 如逆转录酶(reverse transcriptase)、整合酶(integrase)、蛋白酶(protease)等(图1.1)。

HIV-1基因组含9个可读框, 编码16种蛋白质^[1]。其中3个可读框编码结构蛋白Gag、Pol和Env, 这些蛋白质随后被裂解为单独的蛋白质。其中, 4个Gag蛋白p17(matrix, MA)、p24(capsid, CA)、p7(nucleocapsid, NC)和p6; 2个表面蛋白gp120和跨膜蛋白gp41, 属于结

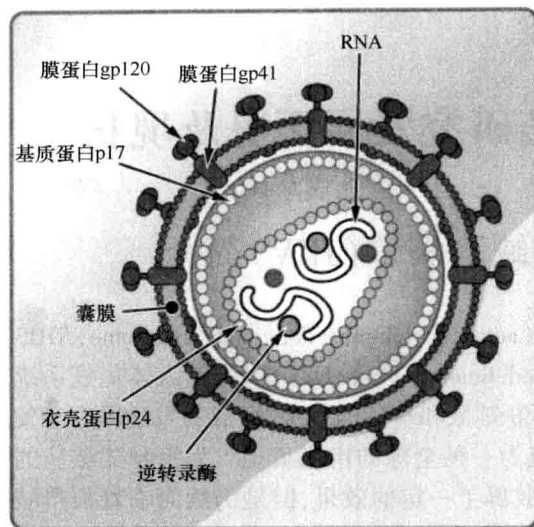


图 1.1 HIV 病毒结构

构蛋白,构成病毒粒子的核心和外膜;3个 Pol 蛋白 PR (protease)、RT (reverse transcriptase) 和 IN (integrase) 提供基本酶功能,存在于病毒颗粒之中。

Env 基因长约 2589 个核苷酸,定位于病毒基因组的 3' 端,位于基因组 5781 ~ 8369 位核苷酸之间。在 HIV-1 中,由于 *vpu* 基因和 *env* 基因的 5' 端相互重叠,因而转录形成的单拼接 mRNA 可以编码 Vpu 和 Env 糖蛋白前体,HIV-2 的单拼接 mRNA 仅编码 Env 的糖蛋白前体。Env 糖蛋白前体由 850 ~ 880 个氨基酸组成,分子质量为 160kDa,故称为 gp160。gp160 经过宿主蛋白酶的切割,可以形成由 550 个氨基酸残基构成的

的分子质量为 120kDa 的表面蛋白 gp120 (SU),以及由 350 个氨基酸残基构成的分子质量为 41kDa 的跨膜蛋白 gp41 (TM)。

HIV-1 表面膜蛋白 gp120 位于病毒包膜表面,有 5 个高变区 (V1 ~ V5) 和 5 个高度稳定的保守区 (C1 ~ C5)。gp120 的 9 个二硫键将其分成不同的功能区,与细胞表面受体 CD4 以及辅助受体结合。gp120 与 CD4 的结合区域定位于 C3 ~ C5 的保守区内,这 3 个保守区与邻近的序列折叠成袋状,结合 CD4 分子的 N 端 V1 区。gp120 和 CD4 的结合使其构象改变,有助于进一步与共受体的结合和随后病毒进入细胞。根据病毒对细胞的嗜性,可将 HIV-1 分为两类:一种是亲巨噬细胞,且不诱导合胞体 (non-syncytium inducing, NSI) 的形成,这种病毒主要利用 CCR5 作为共受体;另一种是亲 T 细胞,诱导合胞体 (syncytium inducing, SI) 的形成,这类病毒的共受体主要是 CXCR4/fusin^[2];一些 HIV-1 毒株也可以利用其他分子,如 CCR3、CCR2b 等作为共受体^[3]。

在已研究的 gp120 与 gp41 的抗原表位 (epitope) 中,最主要的抗原表位在 gp120 V3 区的 301 ~ 336 位的氨基酸内。V3 区可产生针对特异亚型的中和抗体。V3 区内以两个高度保守的 Cys (Cys301 ~ Cys336) 形成二硫键连接成环,故称 V3 环。gp120 的 V3 环的断裂可防止特异型的中和抗体对膜融合和病毒侵入的干扰。通常被感染细胞膜表面的蛋白酶识别和切割 V3 环,形成断裂,引起病毒胞膜的 Env 糖蛋白的寡聚体产生构象改变,并导致 gp41 N 端疏水性融合肽和 Leu 拉链暴露出来,使融合肽插入到细胞膜的脂质双分子层中,从而启动病毒胞膜与细胞膜的融合,促进病毒颗粒的吸附与侵入。

gp120 与 gp41 以非共价键结合,gp41 的 N 端形成一个突环,伸入 gp120 折叠产生的袋中,形成异源二聚体,此二聚体可以寡聚化。gp41 是跨膜蛋白,N 端 20 个氨基酸为疏水的,是病毒胞膜与细胞膜融合必需的,称为融合肽 (fusion peptide),在膜融合的早期与宿主细胞膜相互作用;gp41 中央有一个跨膜区;在胞外区有一个靠近融合区的七肽重复区 (HR1 或 N-peptide) 和一个靠近跨膜区的七肽重复区 (HR2 或 C-peptide),这两段七肽重复区能够形成反向平行的六螺旋束结构,这被认为是融合蛋白融合后构象的核心结

构。在 HIV-1 gp120 与 CD4 和辅助受体结合之后, gp41 的构象发生变化形成一个瞬时中间状态称为夹膜前体中间态, 这时 N-peptide 暴露出来可以作为 C-peptide 或其类似物 D-peptide 和 T-20 等抑制物的结合位点, C-peptide 也暴露出来作为 N-peptide 或 5-Helix 等抑制物的结合位点基于此, 目前已设计出抑制病毒膜融合的药物, 且已进入临床^[4~6]。

gag 基因约有 1536 个核苷酸, 由未拼接 mRNA 编码合成 55kDa 的 Gag 前体蛋白, 该蛋白质经过病毒蛋白酶的切割, 从 N 端到 C 端分别形成 4 种蛋白质, 即 MA/p17、CA/p24、NC/p7 和 p6 蛋白。基质蛋白的 132 个氨基酸残基在病毒包膜的内表面, 其对于病毒组装前 Gag 和 Gag-Pol 前体多聚蛋白在膜上的定位很重要。

衣壳蛋白是 Gag 多聚蛋白的第二个成分, 形成病毒颗粒的核心(每个病毒约有 2000 个分子)。其 C 端(152~231 残基)主要行使组装功能, 研究也表明, 其对于衣壳蛋白的二聚化和 Gag 的寡聚化很重要^[7]。

核衣壳蛋白是 Gag 多聚蛋白的第三个成分, 是一种碱性蛋白, 有 55 个氨基酸残基。该蛋白质具有两个锌指蛋白结构域(CCHC 类型), 覆盖在内部病毒核心的外面。核衣壳的主要功能是特异地与组装信号(packaging signal)结合, 并且将全长的病毒 RNA 运送到组装的病毒颗粒中去。

P6 蛋白含有 Gag 蛋白 C 端的 51 个氨基酸, 在病毒组装过程中对于 Vpr 整合入病毒颗粒具有重要的意义。研究发现, P6 蛋白的前 23 个氨基酸对于 Vpr 整合入病毒尤其重要^[8]。

pol 基因长约 3045 个核苷酸, 该基因的 5'端和 *gag* 基因的 3'端有 241 个核苷酸的重叠, 由未拼接 mRNA 编码合成 160kDa 的 Gag-Pol 前体蛋白, 此融合蛋白经过蛋白酶切割, 从 N 端到 C 端产生 99 个氨基酸的蛋白酶(PR), 分子质量为 10kDa; 556 个氨基酸的逆转录酶 RT 异二聚体, 分子质量分别为 66kDa 和 51kDa; 整合酶(IN)由 288 个氨基酸组成, 分子质量为 32kDa。

蛋白酶参与 Gag 和 Gag-Pol 多聚蛋白的切割, 从而产生有感染性的病毒颗粒。蛋白酶是一种天冬氨酸蛋白酶, 由两个相同的单体靠非共价键相连, 每个单体有 99 个氨基酸。它的活性位点与其他天冬氨酸蛋白酶相似, 在 25~27 位点有一个保守的 3 肽 Asp-Thr-Gly。疏水亚基裂缝(cleft)识别并切割 9 种不同的序列, 切割 Gag 多聚蛋白产生基质蛋白(MA)、衣壳蛋白(CA)、核衣壳(NC)和 P6 蛋白, 切割 Gag-Pol 多聚蛋白产生蛋白酶、逆转录酶(RT)和整合酶(IN)^[9]。

逆转录酶由两个异源二聚体 p51 和 p61 结合而成。p51 亚基由编码 RT 基因的前 450 个氨基酸组成, p66 亚基则是由编码 RT 基因的全部 560 个氨基酸组成。虽然 p51 和 p66 亚基有相同的 450 个氨基酸, 但是它们相对的排列却显著不同。p66 亚基包含 DNA 结合沟和活性位点; p51 亚基没有酶的活性, 只是为有活性的 p66 发挥酶的功能担当支架。p66 亚基包含 5 个亚结构域“fingers”、“palm”、“thumb”(三者参加酶的聚合反应)、“connection”和“RNase H”。逆转录酶是 RNA 依赖的 DNA 聚合酶和 DNA 依赖的 DNA 聚合酶, 催化 RNA 依赖的和 DNA 依赖的 DNA 聚合反应, 并且其含有 RNA 酶的 H 域(它能够切割在反应过程中产生的 RNA-DNA 杂交链中的 RNA 链)。逆转录过程起始时, 病毒基因组 RNA 的 5'端与一个 tRNA^{3'-lys} 引物结合。如果有结合位点的话, 逆转录酶也可以利用其他 tRNA 来起始反应, 但是利用 tRNA^{3'-lys} 进行逆转录的效率最高^[10]。逆转录起始