

[20] Wang HY, Takasaki T, Fu SH, et al. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China[J]. J Gen Virol, 2007, 88: 885 ~ 894.

[21] 孙肖红, 付士红, 张海林, 等. 云南省虫媒病毒的分离鉴定[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2005, 19(4): 319~324.

[22] Jan LR, Yueh YY, Wu YC, et al. Genetic variation of Japanese encephalitis virus in Taiwan[J]. Am J Trop Med Hyg, 2000, 62(4): 446 ~ 452.

[23] Konishi E, Shoda M, Ajiro N, et al. Development and evaluation of an Enzyme-linked immunosorbent assay for quantifying antibodies to Japanese encephalitis virus nonstructural 1 protein to detect subclinical infections in vaccinated horses[J]. J Clin Microbiol, 2004, 42(11): 5087 ~ 5093.

[24] Parida MM, Santhosh SR, Dash PK, et al. Development and evaluation of reverse transcription-loop-mediated isothermal amplification assay for rapid and real-time detection of Japanese encephalitis virus[J]. J Clin Microbiol, 2006, 44(11): 4172 ~ 4178.

[25] 俞永新. 流行性乙型脑炎减毒活疫苗(SA14-14-2)弱毒株的表型和基因型特性及其稳定性[J]. 中国计划免疫, 2002, 8(5): 283 ~ 287.

[26] 俞永新. 流行性乙型脑炎减毒活疫苗的发展和应[J]. 上海预防医学杂志, 2006, 18(3): 110~112.

[27] 章域震, 张海林, 俞永新, 等. 三带喙库蚊和致倦库蚊经口感染乙型脑炎病毒疫苗 SA14-14-2 株的研究[J]. 中国人兽共患病杂志, 2005, 21(7): 584 ~ 586.

[28] 章域震, 张海林, 俞永新, 等. 三带喙库蚊和致倦库蚊胸腔接种乙型脑炎病毒减毒活疫苗 SA14-14-2 株的研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2005, 19(4): 344 ~ 346.

[29] 冯云, 张海林, 俞永新, 等. 三带喙库蚊胸腔接种乙型脑炎病毒减毒活疫苗的感染动态及致病力观察[J]. 中国人兽共患病学报, 2007, 23(3): 278 ~ 281.

[30] 刘志文, 俞永新, 张海林, 等. 乙型脑炎减毒活疫苗病毒 SA14-14-2 株经三带喙库蚊胸腔接种后的生物学和分子生物学特性[J]. 中国生物制品学杂志, 2007, 20(6): 419~421.

[31] Tsai TF. New initiatives for the control of Japanese encephalitis by vaccination; minutes of a WHO/CVI meeting, Bangkok, Thailand, 13 ~ 15 October 1998[J]. Vaccine, 2000, 18(Suppl 2): 1 ~ 25.

[32] Nam JH, Cha SL, Cho HW. Immunogenicity of a recombinant MVA and a DNA vaccine for Japanese encephalitis Virus in swine [J]. Microbiol Immunol, 2002, 46(1): 23 ~ 28.

[33] Ashok MS, Rangarajan PN. Immunization with plasmid DNA encoding the envelope glycoprotein of Japanese encephalitis Virus confers significant protection against intracerebral viral challenge without inducing detectable antiviral antibodies[J]. Vaccine, 1999, 18(1-2): 68 ~ 75.

apanese encephalitis virus envelope protein fused to tissue plasminogen activator signal sequences; studies in a murine intracerebral virus challenge model [J]. Vaccine, 2002, 20(11-12): 1563 ~ 1570.

[35] Konishi E, Yamaoka M, Kurane I, et al. Japanese encephalitis DNA vaccine candidates expressing pre-membrane and envelope genes induce virus specific memory B cell and long-lasting antibodies in swine [J]. Virology, 2000, 268(1): 49 ~ 55.

[36] Kaur R, Sachdeva G, Vrati S. Plasmid DNA immunization against Japanese encephalitis virus; immunogenicity of membrane anchored and secretory envelope protein[J]. J Infect Dis, 2002, 185(1): 1 ~ 12.

[37] Kojima A, Yasuda A, Asanuma H, et al. Stable High-Producer Cell Clone Expressing Virus-Like Particles of the Japanese Encephalitis Virus E Protein for a Second-Generation Subunit Vaccine[J]. (akojima/at/nih.go.jp).

[38] Lin YL, Chen LK, Liao CL, et al. DNA immunogenicity with Japanese encephalitis virus nonstructural protein NS1 elicits protective immunity in mice[J]. J Virol, 1998, 72(1): 191 ~ 200.

[39] Konishi E, Win KS, Kurane I, et al. Particulate vaccine candidate for Japanese encephalitis induces long-lasting virus-specific memory T lymphocytes in mice[J]. Vaccine, 1997, 15(3): 281 ~ 286.

收稿日期: 2007-12-19

[研究进展]

HIV-1 亚型分析与研究综述*

Research in subtyping of HIV-1. WEI Qi-hou. (Liuzhou Municipal Center for Disease Control and Prevention, Liuzhou 545001, Guangxi, P. R. China)

韦启后

关键词: AIDS/HIV; 基因

中图分类号: R373.9 文献标识码: B 文章编号: 1009-9727(2008)2-309-03

艾滋病(AIDS)是本世纪对人类社会威胁最大的传染性疫病。引发 AIDS 的人类免疫缺陷病毒(Human Immunodeficiency Virus, HIV)于 20 世纪 80 年代中期发现以来,随着分子生物学技术的不断完善,世界各国陆续开展针对其基因结构的分类研

究。根据血清学和基因序列的差异, HIV 分为 HIV-1 型和 HIV-2 型。HIV-1 广泛分布于世界各地,是造成全世界 HIV/AIDS 流行的主要原因, HIV-2 主要分布于非洲西部。根据免疫印迹(Western blot)结果可以将 HIV-1 和 HIV-2 明确区

* 基金项目: 广西卫生厅资助课题(Z 2007289)

作者单位: 柳州市疾病预防控制中心, 广西柳州 545001

作者简介: 韦启后(1967~),男,广西上林县人,大学本科,副教授,从事艾滋病防控工作, E-mail: victor888666@126.com

分^[1],在确认 HIV 感染的过程中就能确定感染者携带的 HIV 型,由于 HIV-2 毒株流行的局限性,而 HIV-1 的感染力较强,是当今世界 HIV 流行的主要病毒株,因此 HIV-1 亚型是目前的研究重点对象。

1 HIV 基因组高度变异的生物学特性

HIV 在病毒分类学上属逆转录病毒科慢病毒属,带有以 RNA 为模板合成 DNA 的逆转录酶(Reverse transcriptase, RT)^[2]。HIV 基因组有 2 条相同的正链 RNA 在 5' 端通过氢键互相连接在一起形成二聚体, HIV 的增殖过程为逆转录过程, HIV 通过逆转录酶逆转录产生 DNA 与人体细胞基因组结合实现病毒的复制。由于 HIV 在复制过程中逆转录酶的忠实性较差,缺乏 3' → 5' 外切核酸的校读功能,基因转录在人体免疫或抗 HIV 药物压力下容易发生差错产生基因突变,从而产生新的病毒基因型;在 HIV 感染的个体, HIV 变异株出现的频率是 HIV 复制周期的函数。而 HIV 感染的所有阶段,都有持续高水平的 HIV 复制(血液循环中 HIV 毒粒的半衰期仅为 6h,因此病毒群体每 6h 更新一半)^[1],同时 HIV 感染者每天 HIV 基因的每一个位置都可能引入突变。HIV 的快速复制速率加上高突变率使 HIV 从原发感染时的状态进化为一群遗传差异很大的病毒,结果导致出现高度分化的个体,不同亚型和相同亚型的 HIV 毒株之间都可发生重组,因此 HIV 基因组具有高度的变异性,这给艾滋病的诊断、治疗和 AIDS 疫苗研制推广带来很多难题。

2 HIV-1 基因型分类

分子生物学研究成果显示, HIV-1 的基因排列为 LTR-gag-pol-vif-vpr-vpr-tat-rev-vpr-env-nef-LTR^[1],其中 vif、vpr、tat、rev、vpr、nef 为调节基因。根据基因序列的同源性,国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)将 HIV-1 分为组(group)、亚型(subtype)、亚亚型(sub-subtype)、流行重组型(circulating recombinant form, CRF)。根据编码包膜蛋白的 env 基因和编码壳蛋白的 gag 基因序列, HIV-1 分为 3 个组: M 组(main)、O 组(outlier)和 N 组(non-M-non-O),组间基因离散率为 30%~50%。其中 M 组的病毒对人类健康构成的威胁较严重,在全世界范围内广泛流行,而 HIV-1 的 O 群、N 群和 HIV-2 型只局限在非洲某些局部地区流行^[3]。HIV-1 基因型分类主要针对 HIV-1M 群。

依据 env 区序列, HIV-1M 组分为 A、B、C、D、F、G、H、J、K9 个非重组纯亚型。HIV-1M 组亚型间的基因离散率为 20%~30%,亚型内的基因离散率为 7%~20%^[3]。某些毒株在分子进化上很接近某个已知亚型,同时进化距离又不足以形成新的亚型被命名为亚亚型,如 A 亚型包括 A1 和 A2 亚亚型, F 亚型包括 F1 和 F2 亚亚型。已经发生流行传播(至少感染 3 个或以上流行病学无关联的患者)的重组嵌合病毒株称为流行重组型(CRF),在 CRF 的同一毒株中有不同亚型的基因结构。同一种 CRF 具有相同的基因嵌合结构,他们来源于相同的重组毒株,目前 HIV-1M 组有 18 种流行重组型(CRF)^[4],其中主要重组形式有 AE、AG、AB 和 BC。因为 HIV-1 有很高的重组频率,检测重组的可能性,特别是在有不同基因型的病毒流行的地区显得尤为重要^[5]。

3 HIV-1 亚型的流行分布与进化趋势

HIV-1M 组各基因亚型在全世界流行,呈不均匀分布。全球流行的绝大多数毒株是 HIV-1M 组中的 A、C 亚型毒株,

其次是 B 亚型毒株(泰国 B 与欧美 B 的主要差异是 V3 环的氨基酸序列),然后是 A/E 和 A/G 亚型重组毒株^[9]。HIV-1 基因亚型分布与社会经济、地理环境、人口种族基因组特征、生活习惯的差异和先期基础效应^[7]等因素有关。在北美洲、欧洲、澳洲流行的主要是 B 亚型,主要通过同性性行为 and 静脉吸毒传播;南美洲流行的主要是 B、C、F 亚型,主要通过异性性行为传播;非洲流行的主要亚型是 C 亚型^[8],但所有的 HIV-1M 组亚型均发现在非洲流行,而且有些亚型只在非洲被发现,主要通过异性性行为传播(超过 80%)及输血和母婴传播(约各占 10%);在亚洲流行的包括 A、B、C、D、E 和 F 亚型,主要在静脉吸毒者以及通过异性性行为传播^[9]。

自从 1985 年发现第一例 HIV 感染者以来, HIV-1 在我国的流行形势日趋严峻, 1996~1999 年全国首次 HIV 分子流行病学调查在 30 个省市、自治区共发现 A、B(欧美 B)、B'(泰国 B)、C、D、E 和 F 等 7 种类型的 HIV-1 流行,其中三个主要亚型 B'(占 47.5%)、C(占 34.3%)和 E 亚型(占 9.6%)中以 HIV-1 B'亚型流行区域最广,几乎见于所有调查地区; HIV-1 C 亚型主要分布于吸毒人群较多的云南、四川、新疆和西北地区; HIV-1 E 亚型主要见于性传播较多的西南边境和东南沿海地区; A、D、F 亚型则散发于有劳工输出的不同省份^[10]。2001 年第 2 次全国 HIV 流行病学调查结果表明我国流行的 HIV-1 亚型毒株为: A 亚型 1.47%; B 亚型 2.55%; B'亚型 29.11%; C 亚型 1.03%; CRF-BC 50.20%; CRF01-AE 15.54%; CRF02-AG 1%。B'亚型还是分布最广泛的 HIV-1 亚型; CRF-BC (CRF07-BC 和 CRF08-BC)是我国 HIV-1 重组的主要模式,流行于全国大部分地区; CRF01-AE 正从南部及沿海城市(福建、广东、广西、云南等)向周围扩散。在人群分布上,献血者中主要为 B'亚型,吸毒人群中主要为 CRF-BC 型和 CRF01-AE 型,性传播人群可见全部 7 种亚型^[11~16]。

不同人群中流行的 HIV-1 主要亚型不同,不仅与不同亚型病毒的生物学特性有关,也可能与不同亚型的病毒分别被传入的人群有关^[17]。随着时间的推移,我国的 HIV-1 亚型分布出现了新的特征, HIV-1 在我国的主要流行毒株由重组型代替单一亚型是流行毒株的可能进化趋势。HIV-1 感染中各亚型所占的比例改变,提示了 HIV-1 各亚型的传播能力可能不同^[17]。由于 HIV 基因组具有高度变异的特征,随着全国范围内高发病期的到来, HIV 感染人数急剧增加, HIV 流行出现了众多型别,各省流行的 HIV 正由单一亚型向众多亚型和由个别地区向全国各地区传播。加强地区性的 HIV-1 流行毒株的基因亚型检测对于预测当地病毒株的进化趋势、采取针对性干预手段是重要的 HIV 防控研究工作。

4 HIV-1 基因亚型分析技术

目前 HIV-1 基因亚型的分析技术主要有 DNA 序列测定法(GSA)、多肽免疫酶法(PEIA)和异源双链泳动分析法(HMA)。GSA 法通过测定病毒基因的全长序列或某一段具有识别意义的序列来分型,是确定 HIV-1 基因亚型最直接、最准确的方法^[18]; PEIA 法是通过检测机体产生的针对病毒 env 区蛋白 gp120 的 V3 环肽的抗体来确定病毒分型,但只能鉴别有限几种亚型,虽然操作比较简单,但特异性和敏感性欠佳^[19]; HMA 法是根据不同样品的单链 DNA 形成的异源双链二聚体在 PAGE 中泳动率的快慢来确定病毒亚型的鉴别诊断试验,适合

开展大规模的 HIV-1 亚型分型研究工作^[20]。但在 HIV-1 基因亚型较多的地区,使用 HMA 和血清学方法进行检 测时可靠性不高,容易出现中间型,或者出现错误的结果的比率比较大,可以采用 HMA 法初筛,对于不能明确分型的样品,再选择 GSA 法进行确证分析。

5 HIV-1 基因亚型研究意义

基因突变和基因重组是 HIV-1 基因亚型产生的生物学基础,因此在 HIV 新感染的个体体内的病毒相对同质性较高,而在 HIV 反复感染的个体内可同时感染多个亚型的 HIV-1 毒株^[1]。不同亚型或不同型毒株间 HIVRNA 片段重组都将导致 HIV 基因高度变异,且随时间的延长和变异程度不断增大而产生新的型或亚型。由于 HIV 亚型之间容易发生基因重组使 HIV 病毒具备高度变异的生物学特性, HIV 流行毒株的高度变异给 HIV 诊断和疫苗生产研究带来了 很多困难; HIV-1 不同基因亚型具有不同的感染力、毒力、对细胞的嗜性、不同途径的传播效率及在不同地区的流行时间。不同亚型毒株的生物学特征与传播途径在不同人群中的传播效率均有差异,并有一定的地区分布特点。因此,对 HIV-1 进行基因亚型、亚亚型、流行重组型分析对我国的 HIV 疫情预防控制和 AIDS 的临床诊断和治疗更具有实际研究价值和重要意义。

参考文献:

[1] 李敬云. 艾滋病检测技术与应用[M]. 北京:人民军医出版社, 2006.
[2] 张卓然. 临床微生物学和微生物检验[M]. 北京:人民卫生出版社, 2004.
[3] 姚均. HIV 分型的分子流行病学和临床意义[J]. 传染病信息, 2002, 15(2): 65
[4] 陈轲 严延生, 翁育伟, 等. 福建省 HIV-1 病毒基因亚型分布的研究[J]. 中国公共卫生, 2001, 17(1): 31~32
[5] 冯铁建, 陈琳, 何建凡, 等. 不同 HIV-1 亚型毒株混合感染的分子流行病学分析[J]. 中国公共卫生, 2000, 16(4): 333~335.
[6] Janssens W, Buve A, Nkengasong IN. The puzzle of HIV-1 Subtypes in

Africa AIDS, 1997; 11: 705~712
[7] 张一中, 苏成豪, 马桂林. HIV-1 基因亚型研究现状[J]. 海峡预防医学 2005, 11(4): 25~26.
[8] Pyasisirilp S, McCutchan FE, Carr JK, et al. A recent outbreak of human immunodeficiency virus type 1 infection in southern China was initiated by two highly homogeneous, geographically separated strains circulating recombinant form AE and a novel BC recombinant[J]. J Virol, 2000, 74 (23): 11286~11295
[9] 辛小娟. HIV 感染的分子流行病学[J]. 预防医学情报杂志, 2000, 16 (4): 27~28
[10] 邵一鸣, 苏玲, 邢辉, 等. 全国艾滋病病毒分子流行病学研究[J]. 医学研究通讯, 2000 29(11): 58.
[11] 韩晓旭, 姜拥军, 尚红, 等. 辽宁省流行的人类免疫缺陷病毒 1 基因亚型调查[J]. 中华流行病学杂志, 2001, 22(6): 432~434
[12] 黎志东, 徐志凯, 张亮, 等. 陕西省 HIV-1 分子流行病学研究[J]. 中国皮肤性病学杂志, 2003, 17(1): 12~15.
[13] 刘刚, 王敦志, 秦光明, 等. 四川省 HIV/AIDS 流行现状及趋势分析[J]. 中国艾滋病性病, 2003, 9(2): 79~80.
[14] 陈杰, 刘伟, Nancy L, 等. 广西 HIV-1 首次流行的分子流行病学分析[J]. 中华流行病学杂志, 1999, 20(2): 74~77
[15] 关琪, 王素芬, 冯晓光, 等. 沈阳市人类免疫缺陷病毒的基因序列分析[J]. 中国病毒学, 2005, 20(4): 370~373.
[16] 陈曦, 邢辉, 贺健梅, 等. 湖南省 HIV-1 分子流行病学研究[J]. 实用预防医学, 2005 12(3): 483~485
[17] 刘建芳, 严延生, 林勋. 福建省 HIV-1 流行毒株基因分型与流行特征分析[J]. 中国人兽共患病学报, 2006, 22(7): 601
[18] 温冷. PCR 结合洋地黄毒苷标记的 RNA 探针及酶联免疫测定法检测 HIV-1 前病毒 DNA[J]. 国外医学. 预防. 诊断. 治疗用生物制品分册; 1994 (01): 128.
[19] 黎志东, 徐志凯, 宋建华. 三种人类免疫缺陷病毒-1 亚型分析方法的比较研究[J]. 中华检验医学杂志, 2003 26(5): 306~307
[20] 陈轲, 郑兆双, 严延生, 等. HIV-1 病毒基因分型研究: 异源双链泳动分析法的建立[J]. 海峡预防医学, 2000 6(1): 1~3.

收稿日期: 2007-10-09

[研究进展]

胰岛素及胰岛素类似物的研究进展*

Advance in the research of insulin and insulin analogues. XU Hui-jian. (Beihai Municipal People's Hospital, Beihai 536000, Guangxi, P. R. China)

许慧健

关键词: 糖尿病; 胰岛素; 胰岛素类似物; 进展

中图分类号: R589.1 文献标识码: B 文章编号: 1009-9727(2008)2-311-04

糖尿病(Diabetes Mellitus DM)是由于体内胰岛素绝对或相对缺乏或靶组织对胰岛素不敏感而引起的慢性高血糖为特征的代谢性疾病,常引起心脑血管、肾、眼、神经等脏器并发症,严重影响了患者生活质量,据 WHO 最新数据预测,到 2010 年全

世界将会有 2.4 亿 DM 患者。胰岛素(INS)是一多功能的蛋白质激素,除了对糖、脂肪和蛋白质的代谢起着重要的调节作用外,还具有刺激 DNA 和蛋白质的合成,促进细胞生长的作用,INS 结构与功能关系的研究长期以来吸引着人们从不同的角

* 作者单位: 北海市人民医院药剂科, 广西 北海, 536000
?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net