

肠道嗜性和神经嗜性 SIV 毒株 Gp120 序列变异特点的比对分析

徐 珮, 丛 喆, 陈 霆, 王 卫, 薛 婧, 骆 杨, 吴小闲, 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】 目的 研究 SIVmac239 在不同中国恒河猴体内由于免疫压力出现的病毒 Env 区的变异进化情况。比对分析可形成 AIDS 相关肠病和脑病的 SIV 病毒其 Gp120 序列的差异及特点。**方法** 四株 SIVmac239 感染晚期发病恒河猴 PBMC 中分离的病毒及两株神经嗜性 SIVmac251 病毒, 通过有限稀释分离培养病毒单克隆, 提取病毒 RNA 后反转录, PCR 扩增病毒 gp120 序列进行系统进化树分析。同时分析两组不同嗜性毒株 Gp120 氨基酸序列及糖基化位点的变化情况。**结果** SIVmac239 在四只恒河猴体内发生不同的变异进化。肠道嗜性毒株与神经嗜性毒株氨基酸序列的差异集中在 V1 和 V4 区, 肠道嗜性毒株在 V4 区与一个糖基化位点的增加, 而神经嗜性毒株的糖基化位点的变化都发生在保守区 C1、C2 和 C3。**结论** SIV 肠道嗜性和神经嗜性的增强分别与包膜蛋白 Gp120 上 V4 区糖基化位点的增加和 C1 区的糖基化位点缺失相关, 两种嗜性的差异并不表现在与嗜性形成有紧密联系的 V3 区上。

【关键词】 SIV; Gp120; 变异; 肠道嗜性; 神经嗜性; 糖基化位点

【中图分类号】 R33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1671-7856(2014) 10-0001-06

doi: 10. 3969. j. issn. 1671. 7856. 2014. 010. 001

Comparative analysis of Gp120 sequences of enterotropic and neurotropic SIV strains

XU Pei, CONG Zhe, CHEN Ting, WANG Wei, XUE Jing, LUO Yang, WU Xiao-xian, WEI Qiang
(Comparative Medicine Center, Peking Union Medical 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 Disease Animal Models, State administration of Traditional
Chinese medicine, Beijing 100021, China)

【Abstract】 Objective To study the mutations of Env sequence of SIVmac239 after infection of Chinese rhesus monkeys, and compare the differences and characteristics of Gp120 sequences of enterotropic and neurotropic SIV strains.

Methods Six strains of simian immunodeficiency virus were analyzed in this study: four separated from peripheral blood mononuclear cells of SIVmac239-infected monkeys and two neurotropic SIVmac251 strains. Isolated and cultured monoclonal virus was obtained by limiting dilution assay. Gp120 sequences were amplified after the RNA extraction and phylogenetic analysis was processed thereafter. So did the Gp120 amino acid sequence and *N-glycosylation* sites analysis of

[基金项目] 国家十二五科技重大专项课题 (编号: 2012ZX10004-501); 2013ZX10004608。

[作者简介] 徐珮, 女, 硕士研究生, 从事实验动物病毒学研究工作。

[通讯作者] 魏强 (1964-), 男, 研究方向: 实验动物病毒学。E-mail: weiqiang0430@sohu.com。

the enterotropic and neurotropic strains. **Results** SIVmac239 had different mutations in four rhesus monkeys. The diversity in amino acid sequences of the enterotropic and neurotropic strains concentrated in the V1 and V4 regions of Gp120. The enterotropic strains had an addition of glycosylation site in V4 but the glycosylation site changes of neurotropic strains were located in the conservative regions of C1, C2 and C3. **Conclusions** The addition of one glycosylation site in V4 region of GP120 and loss of one glycosylation site in C1 region are associated with enhanced enterotropism and neurotropism. The differences between the enterotropic and neurotropic strains are not depicted in Gp120 V3 region which is closely related with the tropism of strains.

【Key words】 Simian immunodeficiency virus, SIV; Gp120; Sequence variation; Enterotropism; Neurotropism; *N*-glycosylation site; Rhesus monkey

猴免疫缺陷病毒(SIV)在恒河猴体内由于个体的免疫差异不同会形成具有不同组织嗜性的 SIV 准种,如肠道嗜性和神经嗜性病毒等。SIV 的包膜区包含了主要的与细胞嗜性和细胞毒性等相关的基因序列,其中 Gp120 蛋白在病毒与靶细胞之间的结合感染过程中起到关键的作用^[1],因此了解不同嗜性病毒准种的包膜 Gp120 蛋白序列之间的差异特点,将对 SIV 感染形成 AIDS 相关肠病和脑病的分子机制研究起到重大推进作用。

本实验在实验室前期工作基础上从四只接种 SIVmac239 单克隆毒株的晚期发病恒河猴外周血淋巴细胞中分离病毒,比对了一个单克隆毒株在不同猴体内的进化变异情况。同时对比分析肠病嗜性和神经嗜性病毒 Gp120 蛋白的氨基酸序列以及 *N*-糖基化位点变化,以期通过发现有意义的序列变异位点,为 AIDS 相关肠病和脑病的基础研究提供参考。

1 材料和方法

1.1 病毒

4 只中国恒河猴 RM-391、RM-372、RM-409、RM-411 直肠感染 SIVmac239-P12 一年后发病,外周血 CD4⁺ T 细胞绝对数长期减少至 200 个/ μ L 以下,分离 4 只猴外周血淋巴细胞,并与正常猴淋巴细胞共培养,扩增制备病毒,分别命名为 SIVmac239-RM391、SIVmac239-RM372、SIVmac239-RM409 和 SIVmac239-RM411。其中 SIVmac239-RM391 感染猴后可以在短期内引起实验猴急性亚急性胃肠道症状,严重腹泻甚至死亡,是一株典型的艾滋病肠病病毒(数据未显示)。

分离自 SIVmac251 感染晚期恒河猴大脑基底节的 SIVmac251-155p6N 感染恒河猴后出现明显的脑神经病理现象和中枢神经系统病变^[2],本研究从感染猴 R21755 脑脊液和基底节中分离到两株病毒,

分别命名为 SIVmac251-THC-2-CSF 和 SIVmac251-THC-2-J。

1.2 有限稀释法分离病毒单克隆毒株^[3]

将待分离的病毒准种用 10% 牛血清 1640 生长液 10 倍稀释,稀释 8 个滴度,将稀释好的病毒加入 96 孔板中,每个滴度 12 个复孔,每孔 100 μ L。将生长状态良好的 CEMx174 细胞(1×10^5 个/孔)100 μ L 加入 96 孔板。37℃ 5% CO₂ 培养箱培养。4~6 d 后可在显微镜下看到一些稀释度的细胞出现形态变化:多个细胞融合,核膜消失,形成大的空泡。选取出出现融合泡少于四个孔的稀释度(阳性率小于 30% 认为是单克隆),将这些阳性孔中细胞和上清转出并添加正常细胞继续扩大培养。病变程度达到 + + + + 时,收集细胞培养上清分装冻存。

1.3 RT-PCR 扩增及病毒 *env* 基因序列变异分析^[2]

提取病毒 RNA,用 PrimeScript™ 1st Strand cDNA Synthesis Kit (TAKARA, Cat No. 6110A) 反转录成 cDNA,使用高保真酶 Kod-plus (东洋纺公司, Cat No. kod-201) 进行单拷贝 PCR 扩增 *env* 基因中长约 1.6 kb 的片段,对基因序列做变异比对分析。序列经 Vector NTI Suite 8 软件编辑校正后,使用 BioEdit Sequence Alignment Editor 软件进行比对,MEGA4 软件作图。美国 Los Alamos 国家实验室 HIV 核酸序列库网站提供标准序列及糖基化位点分析 <http://www.hiv.lanl.gov/>。

2 结果

2.1 有限稀释法分离病毒单克隆毒株结果

有限稀释法分离的所有病毒单克隆毒株,提取病毒 RNA 后通过逆转录 PCR 比对分析 *env* 基因序列变异情况,共得到 50 株单克隆病毒的 *env* 序列(表 1)。其中外周血来源的病毒准种所含单克隆较多,脑组织来源的病毒准种的单克隆比较少。

表 1 有限稀释法分离病毒单克隆毒株结果
Tab.1 Results of the monoclonal strains isolated from different virus strains by limiting dilution assay

序号 Sequential number	毒株来源 Origin of strains	分离出的病毒 单克隆数量 Isolated monoclonal virus
1#	SIVmac239-RM-391	14
2#	SIVmac239-RM-372	12
3#	SIVmac239-RM-409	8
4#	SIVmac239-RM-411	10
5#	SIVmac251-THC-2-CSF	2
6#	SIVmac251-THC-2-J	4

2.2 SIVmac239-P12 感染猴来源的病毒 gp120 基因的系统进化树分析

系统进化树表示病毒毒株之间的进化关系。通过系统进化树对 4 只感染猴来源的单克隆的 gp120 基因进行分簇,结果表明 SIVmac239 毒株在不同猴体内发生了不同程度的变异进化,来源于同一只猴的病毒单克隆之间差异不是很大,在进化分组上仍属于同一组。在 4 组准种之间,SIVmac239-

RM-372, SIVmac239-RM-391 和 SIVmac239-RM-409 这三组的序列较相近,SIVmac239-RM-411 出现了较不同的变异,基因距离与其他三组较大(图 1)。

2.3 肠道症状感染猴与神经症状感染猴来源毒株 Gp120 氨基酸序列的比对

SIVmac239-RM-391 和 SIVmac251-THC-2 来源的单克隆序列比对结果显示(图 2),肠病毒株与脑病毒株其 Gp120 氨基酸序列在其保守区和可变区均有差异,位于可变区的差异位点较多。这两种来源毒株序列的差别主要集中在 V1 和 V4 区,脑病毒株在 V1 区和 V4 区出现了氨基酸位点的连续改变 TPPT-AKA-STKSI(V1)和 DMRD-TE-R(V4)。在 V3 区,分离毒株与 SIV mac239 标准序列有六处个氨基酸位点有差异,但两种嗜性的毒株之间差异较小,在 312 位点,肠道嗜性毒株中 14 个为赖氨酸(K),1 个是精氨酸(R);神经嗜性毒株中 4 个是精氨酸(R),2 个是赖氨酸(K)。337 位点神经嗜性毒株都是缬氨酸(V),而肠道嗜性毒株只有一个是(V),其余都是异亮氨酸(I)。

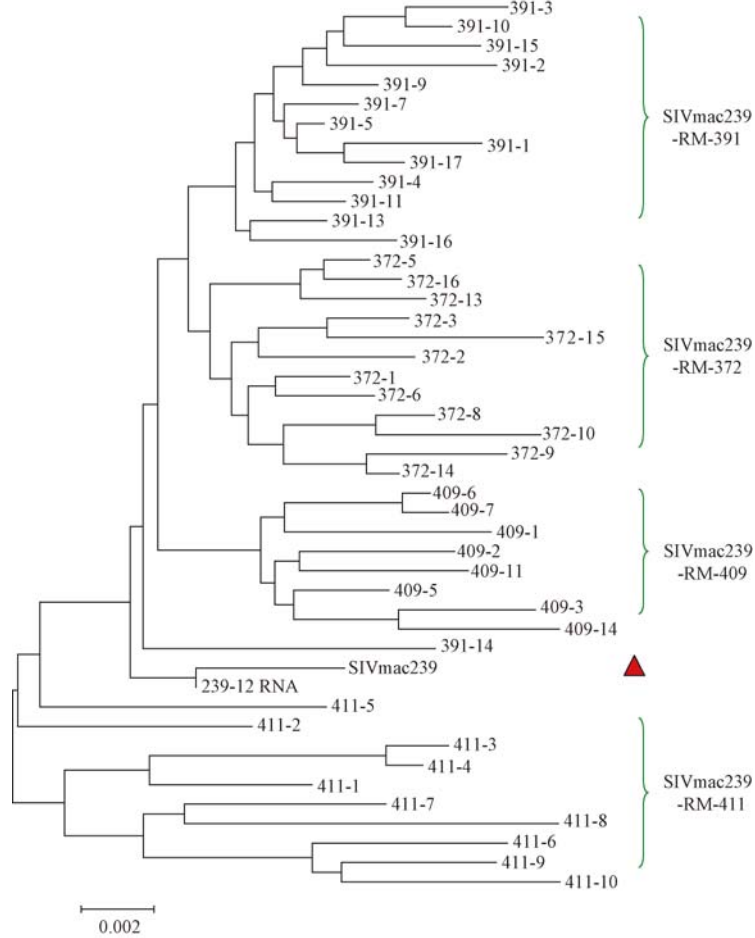
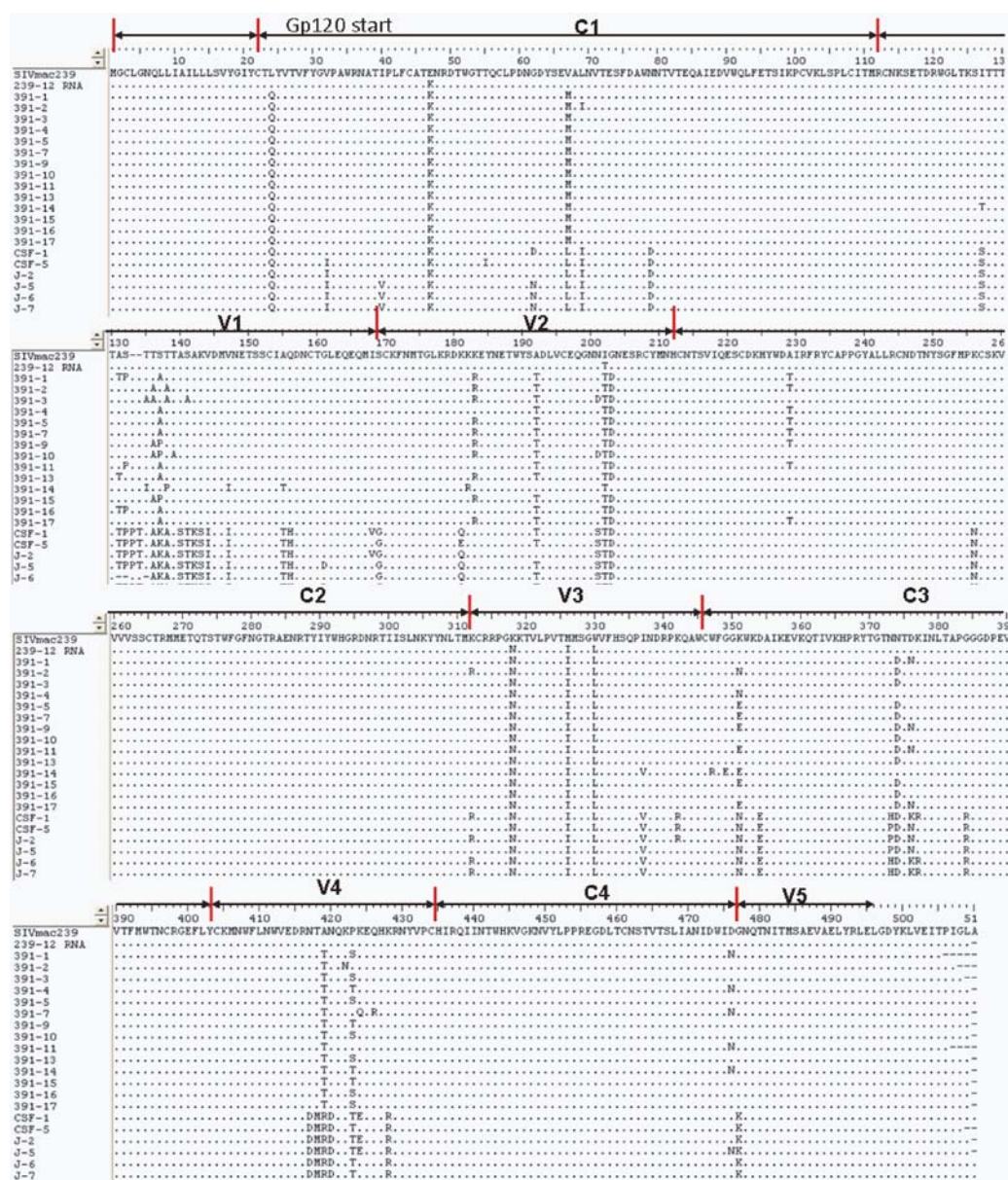


图 1 SIVmac239-P12 感染猴来源病毒 gp120 基因的系统进化树分析

Fig.1 Phylogenetic tree analysis of gp120 nucleotide sequences of several SIVmac239 virus isolated from the infected monkeys



注:391 系列为肠道嗜性毒株,CSF 和 J 系列为神经嗜性毒株

图 2 肠道嗜性和神经嗜性毒株 Gp120 氨基酸序列比对结果

Note. 391 series are enterotrophic strains, CSF and J series are neurotrophic strains.

Fig. 2 Comparison of Gp120 amino acid sequences of enterotrophic and neurotrophic strains

2.4 肠道嗜性和神经嗜性 SIV 毒株 Gp120 区糖基化位点预测

使用美国 Los Alamos 国家实验室 HIV 核酸序列库网站在线工具对肠道嗜性和神经嗜性病毒单克隆 Gp120 区进行 N-糖基化位点 (N-X-S/N-X-T) 的预测。预测结果显示 SIVmac239-RM-391 和 SIVmac251-THC-2 毒株出现了糖基化位点的缺失和增多现象。对比 SIVmac239 标准序列,两组嗜性毒株在 V3 区 317 位点 (K-N) 均有一个糖基化位点的增加。SIVmac239-RM-391 来源的毒株在 V4 区有一

个的糖基化位点的增加 (419A-T)。在 417 位点 SIVmac239 标准序列为丙氨酸 A,肠道嗜性为苏氨酸 T,神经嗜性为精氨酸 R。神经嗜性毒株其糖基化位点的变化则出现在保守的 C1、C2、C3 区,在 C1 和 C3 区出现了糖基化位点的缺失 (79N-D, 373N-H/P), C2 区有一个糖基化位点的增加 (256K-N) (图 3)。

3 讨论

研究表明,在 HIV 自身的高变异特性上,HIV

	C1	C2	V3	C3	V4
	80	260	320	380	420
SIVmac239	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNNTDKINL	NWVEDRNTAN
239-12	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNNTDKINL	NWVEDRNTAN
391-1	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTNKINL	NWVEDRNTTN
391-2	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-3	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-4	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNNTDKINL	NWVEDRNTTN
391-5	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-7	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-9	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTNKINL	NWVEDRNTTN
391-10	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-11	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTNKINL	NWVEDRNTTN
391-13	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-14	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNNTDKINL	NWVEDRNTTN
391-15	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-16	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTDKINL	NWVEDRNTTN
391-17	VTESFDAWNN	SGFMPKCSKV	MKCRPGNKT	GTNDTNKINL	NWVEDRNTTN
CSF-1	VTESFDAWNN	SGFMPNCSKV	MKCRPGNKT	GTHDTKRINL	NWVEDRDMRD
CSF-5	VTESFDAWNN	SGFMPNCSKV	MKCRPGNKT	GTPDTNKINL	NWVEDRDMRD
J-2	VTESFDAWNN	SGFMPNCSKV	MKCRPGNKT	GTPDTNKINL	NWVEDRDMRD
J-5	VTESFDAWNN	SGFMPNCSKV	MKCRPGNKT	GTPDTNKINL	NWVEDRDMRD
J-6	VTESFDAWNN	SGFMPNCSKV	MKCRPGNKT	GTHDTKRINL	NWVEDRDMRD
J-7	VTESFDAWNN	SGFMPNCSKV	MKCRPGNKT	GTHDTKRINL	NWVEDRDMRD

注：391 系列为肠道嗜性毒株,CSF 和 J 系列为神经嗜性毒株

图 3 肠道嗜性和神经嗜性毒株 Gp120 N-糖基化位点对比结果

Note. 391 series are enterotropic strains, CSF and J series are neurotropic strains.

Fig.3 Analysis of N-glycosylation sites of the enterotropic and neurotropic SIV

在体内受到宿主免疫压力的作用会产生一种连续的定向的突变趋势以获得有效的突变株,从而在宿主体内存活繁殖。而在这些有效的突变毒株中,有一些毒株对宿主的组织器官的会产生不同的致病能力,即产生了不同的细胞嗜性和毒性的突变株。在早期的 HIV 基因组分子研究中,已明确了病毒包膜区对病毒的感染和复制的重要性^[1]。包膜糖蛋白 Gp120 对病毒的细胞嗜性和细胞毒性的影响更是受到了关注。本实验通过比对 SIVmac239 感染的四只恒河猴血浆分离病毒的 Gp120 序列,显示同一 SIV 毒株在不同猴体内会产生具有多元化的 Gp120 序列的病毒准种,从我们所对比分析的四组 SIV 单克隆的基因系统进化树结果来看,同一个体来源的单克隆也会有一定的差异,但从整体来看,四个来源的单克隆又分属于自己的小组,并没有出现明显的交叉变异现象,这一点证实了个体免疫压力差异会使 SIV 的变异产生一定的趋向性。

这种病毒变异的趋向性会形成一些特定毒株,可对宿主不同的器官组织产生致病性,现在已证实了一些肠道嗜性和神经嗜性等 HIV 病毒株的存在^[4, 5, 6]。Toshiaki Kodama 等人从同一猴子的肠道和脑内分离 SIV,证实了这两种嗜性病毒变异株的独立进化性^[7]。那么具有肠道嗜性和神经嗜性的 SIV 毒株都有哪些特性呢? SIV 病毒在猴体内复制

繁殖时,在体内复杂的免疫压力下,只有能够有效感染靶细胞,且能逃避中和抗原作用的病毒才能在体内建立稳定的复制。SIV 包膜蛋白 Gp120 是病毒膜表面唯一暴露在外环境中的糖蛋白,它对细胞嗜性和细胞毒性的影响在艾滋病研究中受到广泛关注。Gp120 按其可变性可分为 5 个保守区(C1 ~ C5)和 5 个可变区(V1 ~ V5),5 个保守区构成了 Gp120 的结构核心,CD4、趋化因子受体的结合位点和与 gp41 相互作用的主要位点等^[8]。在病毒的嗜性形成中,氨基酸在这些区域的定向突变起到很大作用,同时突变引起包膜蛋白上的 N-糖基化位点的糖基化程度和排列的变化也会调整包膜蛋白的构象,对病毒的宿主范围有重大影响^[9]。

本实验肠道嗜性毒株和神经嗜性毒株的 Gp120 氨基酸序列结果显示,这两种嗜性毒株在 V1 和 V4 区具有较大差异。有研究表明,V1/V2 区的某些特定氨基酸与小胶质细胞合胞体形成有关,V1 区对病毒在巨噬细胞中进行有效复制具有重要作用,可以为可能出现神经嗜性毒株提供基础^[10]。我们发现神经嗜性的毒株 V1 和 V4 区出现的长且集中的氨基酸位点的突变,这种集中的变异并未在肠道嗜性毒株中观察到,而在蛋白二级结构预测中,只有 V1 区出现了一个 β -片层的差别,故 V1 区的氨基酸巨大差异可能正是与神经嗜性形成相关的重要区

域。在之前的研究中,V4 区一直被推测为仅作为一种掩盖物来帮助病毒逃避机体免疫反应。我们的结果显示,V4 区的氨基酸差异并没有造成蛋白二级结构的变化,但肠道嗜性的毒株在 V4 区 417A-T 的变异使得该区域有一个糖基化位点的增加。在 SIVmac239 原始毒株和突变的神经嗜性毒株上此处没有糖基化位点,说明该糖基化的出现与肠道嗜性有一定的相关性。原始的 SIVmac239 毒株可引起轻微的肠病症状,但 391 毒株可引起严重的肠道症状,所以该位点的 A-T 的变异造成糖基化位点的增加可能使 SIV 毒株的肠道嗜性增强。

先期的病毒嗜性研究中均认为 V3 区与病毒的嗜性高度相关^[11],许多结果表明,要影响病毒的细胞嗜性,一般至少需要 3 个以上的氨基酸发生改变,但在某些情况下,一个氨基酸的变化就会影响对一个细胞系的感染^[12,13]。Takeuchi Y 等人发现改变 HIV-1 的分离株,GUN 毒株,V3 区 311 位点脯氨酸为丝氨酸(P-S)就能使该毒株具备感染脑源性成纤维细胞的能力^[14]。我们发现在 V3 区两种嗜性的毒株 317 位点都有一个 N-糖基化位点的增加,两种嗜性的毒株虽然与 SIV mac239 原始毒株有六处氨基酸位点的变异,但其中 3 处变异两种嗜性毒株完全相同,其余变异位点也具有一定的相似性和交叉性。所以虽然 V3 区的氨基酸变异和糖基化修饰与毒株的嗜性具有很大相关性,但并非是造成肠道嗜性和神经嗜性差异的重要区域。

Gp120 的保守区和可变区多个区域均分布有 N-糖基化位点,而糖基化的改变使 DC-SIGN 在病毒对巨噬细胞的附着中发生变化,从而建立巨噬细胞和小胶质细胞嗜性,导致神经毒性毒株的出现^[15]。本研究中发现,神经嗜性病毒糖基化位点在 C1 和 C3 各出现了一个糖基化位点的缺失,而调控 HIV 对大脑毛细血管内皮细胞嗜性的序列定位恰恰就包括 Env 的 C1 区部分,该功能域被认为与巨噬细胞嗜性和 T 细胞嗜性相关,是病毒通过血管内皮细胞,突破血脑屏障进入中枢神经系统的关键。同时在刘克剑等人的研究中,也观察到脑病毒株在 C1 区的糖基化位点缺失现象^[2]。本实验中神经嗜性毒株在 C1 区同样也出现糖基化位点的缺失,而在肠道嗜性和 SIVmac239 原始序列中均无该现象,进一步证实了 C1 区这一糖基化缺失与神经嗜性形成的相关性。而 C2 和 C3 区出现的糖基化位点变化,在 Fiorella Rossi 等人的研究中提到了 C2 区糖蛋白

对病毒嗜性的影响作用^[16]但 C3 区目前没有提及,所以这两个区域糖基化位点的变化及其功能仍有待进一步的研究。这也提示我们,包膜蛋白保守区的变异可能与具有神经侵袭性和神经嗜性的猴免疫缺陷病毒的形成相关,需要引以重视。

综上所述,SIV 病毒在体内的变异进化具有一定的趋向性,形成的肠道嗜性和神经嗜性毒株其包膜蛋白 Gp120 的序列具有显著差异。两种嗜性毒株 Gp120 氨基酸序列差异集中在 V1 和 V4 区,而 V4 区的糖基化位点增加可能与肠道嗜性的增强相关。神经嗜性毒株在保守区的糖基化位点变化值得注意,尤其是 C1 区的糖基化位点的缺失与神经嗜性的形成密切相关。V3 区作为一个重点与毒株嗜性相关的区域,在本研究中发现它并非是造成肠道嗜性和神经嗜性差异的主要区域。提示我们在今后对病毒嗜性的研究中,不仅要关注 Gp120 可变区发生的较明显的氨基酸变化,也要重视在保守区的个别可引起糖基化修饰位点变化的氨基酸位点。这对今后在 AIDS 相关肠病和脑病分子基础研究中有一定的指导作用。

参考文献:

- [1] Cheng-Mayer C, Quiroga M, Tung JW et al. Viral determinants of human immunodeficiency virus type 1 T-cell or macrophage tropism, cytopathogenicity, and CD4 antigen modulation [J]. J Virol, 1990, 64(9):4390-4398.
- [2] 刘克剑,丛喆,金光,等. 表现神经症状的 SIVmac251 感染猴大脑基底节病毒 gp120 序列变异分析 [J]. 中国实验动物学报, 2014, 4(20):38-44.
- [3] 刘玉磊,刘铁军,徐维四,等. 有限稀释病人 PBMCs 共培养法分离培养 HIV-1 CRF07-BC 生物性克隆病毒 [J]. 中国艾滋病性病, 2012, 18(2):360-364.
- [4] Barnett SW, Barboza A, Wilcox CM, et al. Characterization of human immunodeficiency virus type 1 strains recovered from the bowel of infected individuals [J]. Virology, 1991, 182(2):802-809.
- [5] Cheng-Mayer C, Levy JA. Human immunodeficiency virus infection of the CNS: characterization of neurotropic strains [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 1990, 160: 145-156.
- [6] Power C, McArthur JC, Nath A, et al. Neuronal death induced by brain-derived human immunodeficiency virus type 1 envelope genes differs between demented and nondemented AIDS patients [J]. Virol, 1998, 72(11):9045-9053.
- [7] Kodama T, Mori K, Kawahara T, et al. Analysis of simian immunodeficiency virus sequence variation in tissues of rhesus macaques with simian AIDS [J]. Virol, 1993, 67(11):6522-6534.

(下转第 17 页)

- [5] 廖德祥. 过氧乙酸接触性皮炎 1 例 [J]. 中国皮肤性病学杂志, 1994, 8(2):131-132.
- [6] 王群, 王爽. 急性过氧乙酸中毒致急性肺水肿 1 例 [J]. 中国工业医学杂志, 1997, 10(2):75-126.
- [7] 王俊萍, 申鲁生, 王俊霞. 过氧乙酸中毒 1 例 [J]. 小儿急救医学, 2003, 10(6):394.
- [8] 马红蕾, 孔祥瑞, 马景学. 过氧乙酸引起眼部损伤 1 例报告 [J]. 眼外伤职业眼病杂志, 2003, 25(6):376.
- [9] 张敏, 王京燕, 纪晓光, 等. 过氧乙酸消毒剂的毒性研究 [J]. 中国消毒学杂志, 2004, 21(3):222-224.
- [10] 燕丽, 白志鹏, 高翔, 等. 过氧乙酸消毒剂对人体健康影响的调查 [J]. 职业与健康, 2005, 21(1):14-15.

〔修回日期〕2014-07-24

(上接第 6 页)

- [8] Tongqing Zhou, Ling Xu, Barna Dey, et al. Structural definition of a conserved neutralization epitope on HIV-1 gp120 [J]. Nature, 2007, 445(7129):732-737.
- [9] Feizi T, Larkin M. AIDS and glycosylation [J]. Glycobiology, 1990, 1:17-23.
- [10] Sharpless NE, O'Brien WA, Verdin E, et al. Human immunodeficiency virus type 1 tropism for brain microglial cells is determined by a region of the env glycoprotein that also controls macrophage tropism [J]. Virol, 1992, 66:2588-2593.
- [11] Prosperi MC, Bracciale L, Fabbiani M, et al. Comparative determination of HIV-1 co-receptor tropism by enhanced sensitivity Trofile, gp120 V3-loop RNA and DNA genotyping [J]. Retrovirology, 2010, 7:56.
- [12] Cordonnier A, Montagnier L, Emerman M. Single amino-acid changes in HIV envelope affect viral tropism and receptor binding [J]. Nature. 1989, 340(6234):571-574.
- [13] Shioda T, Levy JA, Cheng-Mayer C. Small amino acid changes in the V3 hypervariable region of gp120 can affect the T-cell-line and macrophage tropism of human immunodeficiency virus type 1 [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1992, 89(20):9434-9438.
- [14] Takeuchi Y, Akutsu M, Murayama K et al. Host range mutant of human immunodeficiency virus type 1: modification of cell tropism by a single point mutation at the neutralization epitope in the env gene [J]. J Virol, 1991, 65(4):1710-1718.
- [15] Moses AV, Bloom FE, Pauza CD, et al. Human immunodeficiency virus infection of human brain capillary endothelial cells occurs via a CD4/galactosylceramide-independent mechanism [J]. Proc Natl Acad Sci U S A, 1993, 90(22):10474-10478.
- [16] Rossi F, Querido B, Nimmagadda M, et al. The V1-V3 region of a brain-derived HIV-1 envelope glycoprotein determines macrophage tropism, low CD4 dependence, increased fusogenicity and altered sensitivity to entry inhibitors [J]. Retrovirology, 2008, 5:89.

〔修回日期〕2014-08-27

(上接第 11 页)

- associated with PTEN down regulation due to promoter hypermethylation [J]. Leuk Res, 2008, 32(5):709-716.
- [8] Omer HY, Valdez R, Brian KT, et al. Pten dependence distinguishes haematopoietic stem cells from leukaemia-initiating cells [J]. Nature, 2006, 441(7092):475-482.
- [9] He WY, Jiang Y, Zhang XB, et al. Anticancer cardamonin analogs suppress the activation of NF-kappaB pathway in lung cancer cells [J]. Mol Cell Biochem 2014, 389(1-2):25-33.
- [10] 秦铀, 胡豫. 小豆蔻明抗多发性骨髓瘤多重效应及其分子机制 [D]. 武汉, 华中科技大学, 2011:1-119.
- [11] Sawa H, Kobayashi T, Mukai K, et al. Bax overexpression enhances cytochrome c release from mitochondria and sensitizes KATOIII gastric cancer cells to chemotherapeutic agent-induced apoptosis [J]. Int J Oncol, 2000, 16(4):745-754.
- [12] 舒向荣, 胡豫. 小豆蔻明诱导骨髓微环境中多发性骨髓瘤细胞 Caspase 依赖性凋亡 [D]. 武汉, 华中科技大学, 2013:1-91.
- [13] 郑炜, 史道华. 小豆蔻明对人脐动脉平滑肌细胞增殖的影响及机制研究 [J]. 中国中药杂志, 2010, 35(17):2318-2323.
- [14] 汤莹. 小豆蔻明基于 mTOR 作用靶标的研究 [D]. 福建, 福建医科大学, 2010:1-61.
- [15] 薛增贵. 基于 mTOR 靶标小豆蔻明抑制肿瘤血管生成及其机制的研究 [D]. 福州, 福建医科大学, 2013:1-43.

〔修回日期〕2014-09-07