

广州市男男性行为 HIV-1 感染者主要流行株 Gp120 序列变异分析

兰芸¹ 胡凤玉¹ 李凌华² 蔡晓莉¹ 蔡卫平² 唐小平¹ 陈伟烈¹

¹广州市第八人民医院传染病研究所 510060; ²广州市第八人民医院感染病中心 510060

通信作者:陈伟烈, Email:gz8hcwl@126.com, 电话:020-83866127

【摘要】 目的 了解广州市男男性行为 HIV-1 主要流行株 Gp120 基因的序列特征。**方法** 收集广州市男男性行为 HIV-1 感染者抗病毒治疗前血浆,提取病毒 RNA,反转录巢式 PCR 扩增获得 HIV-1 膜基因 Gp120 全长,对获得的序列进行系统进化树、长度多态性、V3 环氨基酸、辅助受体预测及特征性氨基酸分析。**结果** 61 例样本分为 4 个亚型,主要流行株为 CRF07_BC (34/61, 55.74%) 和 CRF01_AE 亚型 (24/61, 39.34%)。主要流行株 Gp120 序列长度为 496~515 个氨基酸, V1 和 V3 高变区分别表现出最高和最低的长度多态性。主要流行株 V3 环顶端四肽的主要形式为 GPGQ (56/58, 96.55%), 4 种方法综合预测主要流行株的辅助受体主要为 CCR5 (50/58, 86.21%)。广州市男男性行为 HIV-1 感染者中流行的 CRF01_AE 亚型毒株存在 4 个特征性氨基酸, 出现频率为 0.75~0.83, CRF07_BC 亚型毒株存在 8 个特征性氨基酸, 出现频率为 0.74~0.94。**结论** 广州市男男性行为 HIV-1 感染者主要流行株 Gp120 序列长度有着较高的多态性, V3 环顶端四肽、辅助受体和特征性氨基酸有其自身特点。

【关键词】 人类免疫缺陷病毒 1 型; Gp120; V3 环; 特征性氨基酸

基金项目: 十三五国家科技重大专项 (2017ZX10202102-003-004, 2018ZX10732101-001-014); 国家自然科学基金委员会国际合作项目 (81561128007); 广州市健康医疗协同创新重大专项 (201704020219, 201803040002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.03.014

Analysis on variation characteristics of HIV-1 Gp120 sequences in men who have sex with men in Guangzhou

Lan Yun¹, Hu Fengyu¹, Li Linghua², Cai Xiaoli¹, Cai Weiping², Tang Xiaoping¹, Chen Weilie¹

¹Institute of Infectious Diseases, ²Infectious Diseases Center, Guangzhou Eighth People's Hospital, Guangzhou 510060, China

Corresponding author: Chen Weilie, Email:gz8hcwl@126.com, Tel: 0086-20-83866127

【Abstract】 Objective To analyze the variation characteristics of HIV-1 Gp120 sequences in men who have sex with men (MSM) in Guangzhou. **Methods** Plasma samples were collected from HIV-1 infected MSM before antiretroviral treatment. Viral RNA was extracted from plasma. Gp120 gene sequences were amplified by reverse transcription and nested-PCR using specific primers. Phylogenetic tree, length polymorphism, amino acid characteristics of V3 loop, co-receptors and signature amino acids were analyzed. **Results** The phylogenetic tree were divided into 4 clusters, and the most prevalent subtypes were CRF07_BC (34/61, 55.74%) and CRF01_AE (24/61, 39.34%). Majority of HIV-1 Gp120 sequences had 496-515 amino acids. Among five hypervariable regions, the V1 region had the highest levels of length polymorphism and V3 region had the lowest. The top four peptide of V3 loop were GPGQ (56/58, 96.55%). Most of the co-receptors HIV-1 strains used was CCR5 (50/58, 86.21%) according to four methods of comprehensive prediction. There are four signature amino acids in CRF01_AE subtype strains, and the frequency of occurrence was 0.75-0.83; there are eight signature amino acids in CRF07_BC subtype strains, and the frequency was 0.74-0.94. **Conclusions** The length of Gp120 sequences in MSM in Guangzhou has a high polymorphism. The top four peptide of V3 loop, co-receptor and signature amino acid of V3 ring have formed unique patterns.

【Key words】 HIV-1; Gp120; V3 loop; Signature amino acid

Fund programs: Chinese National Science and Technology Major Project for the 13th Five-Year Plan (2017ZX10202102-003-004, 2018ZX10732101-001-014), International Collaboration Program of Natural Science Foundation of China (81561128007), Health Care Collaborative Innovation Major Project of Guangzhou (201704020219, 201803040002)

DOI:10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2019.03.014

基因多样性是 HIV-1 病毒感染难以控制的主要原因。编码外膜蛋白的 Gp120 基因包含 5 个高变区 (V1~V5), 在 HIV-1 基因组中变异度最大, 它的基因变异性与病毒的生物学特性和表型, 如辅助受体的使用、体外复制能力、疾病进展速率、传播效率及免疫逃逸等关系密切^[1]。研究膜蛋白序列的变异特征在 HIV-1 防控中意义重大。男男性行为 (men who have sex with men, MSM) 中的 HIV-1 流行持续扩大。在美国, 2001—2006 年 MSM 中的 HIV-1 感染率每年增长大约 8%, 2006 年 57% 的新 HIV-1 感染发生在 MSM 中^[2]。在我国, 通过 MSM 传播艾滋病的比率逐年升高, 由 2005 年 0.7% 上升到 2014 年 25.8%^[3]。广州市 MSM 人群的 HIV-1 感染率也从 2008 年 5.0% 快速上升到 2013 年 11.4%^[4]。MSM 人群已成为今后要重点关注和防治的人群。

目前文献报道对于 HIV-1 毒株基因变异特征的研究多基于 Gp120 区 V3 环, 对于 Gp120 全长序列的分析极少, 本研究首次分析广州市 MSM 感染 HIV-1 主要流行株基于 Gp120 全长序列的生物学变异特征, 旨在揭示该人群 HIV-1 流行株的特点及变异规律, 为艾滋病的预防和治疗提供实验室数据参考。

1 材料与方法

1.1 研究对象 从 2015 年经广州市第八人民医院新确证的, 传播途径为 MSM 传播, 现住址为广州的 HIV-1 抗体阳性患者中, 随机抽取 76 例患者进行 PCR 扩增和测序, 获得 61 例序列数据及 HIV-1 基因分型结果。61 例患者年龄平均 28 (17~50) 岁, HIV-1 载量为 4.45 (3.16~5.66) lg 拷贝/ml, CD4⁺ T 淋巴细胞计数为 348 (200~624) 个/ μ l, CD8⁺ T 淋巴细胞计数为 1 005 (354~2475) 个/ μ l, Th/Ts 比值为 0.32 (0.08~0.74), 均未进行抗病毒治疗。所有患者采集抗病毒治疗前 EDTA-K2 抗凝静脉血, 分离血浆-80℃冻存。

1.2 核酸提取和基因扩增 按照 QIAamp Viral RNA Mini Kit (德国 Qiagen 公司) 试剂盒说明书提取血浆中 RNA, 逆转录巢式 PCR 扩增 HIV-1 的 Gp120

基因区目的片段 (HXB2 nt 6225~7758) 含 Gp120 全长 1~511 氨基酸。阳性扩增片段送赛默飞世尔科技 (中国) 有限公司测序。

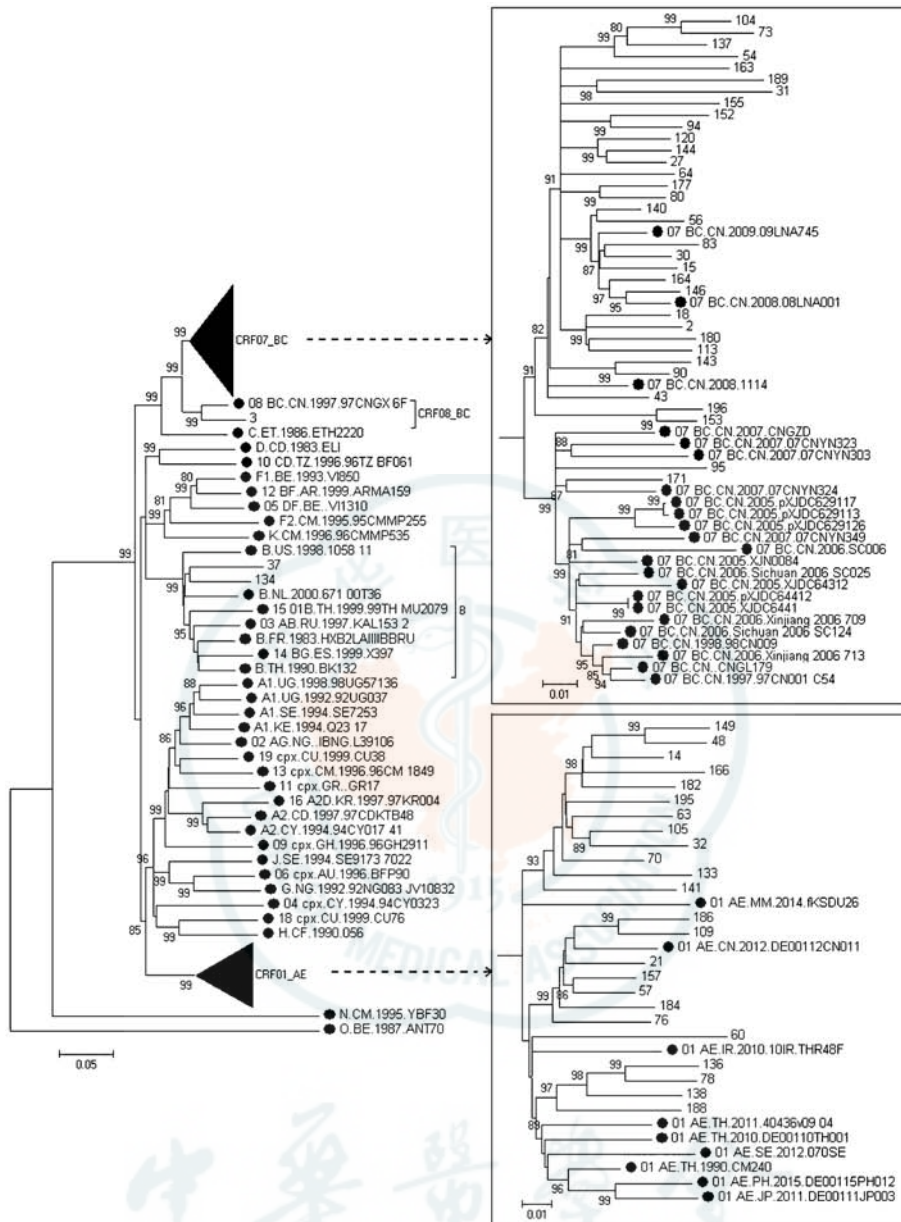
1.3 序列分析 原始测序结果用 Chromas 软件校对, Contig 软件拼接。用 BioEdit 软件进行核苷酸序列比对、翻译及氨基酸序列比对。用 LosAlamos HIV database 的 BLAST 程序进行基因亚型分析, 使用 MEGA 4.1 软件构建系统进化树 (Neighbor-joining 法, Kimura2-参数置换模型, 设置 1000 次 Bootstrap 重复), 计算各基因亚型离散率 (Maximum composite likelihood 法)。

将核苷酸序列转换成氨基酸序列后, 用 BioEdit 软件将氨基酸序列进行比对, 比对后将氨基酸序列长度调整一致。第 3 高变区 (V3 环) 氨基酸序列使用 Geno2pheno 程序法、PSSMX4R5 和 PSSMsinsi 评分法及 11/25 ChargeRule 判定这 4 种方法并结合辅助受体确定规则预测 HIV-1 辅助受体使用情况^[5]。用 LosAlamos HIV database 中 VESPA 程序 (<https://www.hiv.lanl.gov/content/sequence/VESPA/vespa.html>) 进行特征性氨基酸鉴定, 鉴定阈值设为 0.7。

2 结果

2.1 系统进化分析 76 例患者样本获得 61 条序列数据, 将获得的 61 条 HIV-1 毒株和 LosAlamos HIV Database 数据库国际标准亚型 (A-H 及 CRF01-19) 毒株及来自中国不同地区不同年度的 CRF07_BC 亚型代表毒株的核苷酸 Gp120 基因区进行系统进化分析, 分析结果见图 1。结果表明, 61 例样本中 55.74% (34/61) 属于 CRF07_BC 亚型, 组内基因离散率为 (8.32±0.38)%, 39.34% (24/61) 属于 CRF01_AE 亚型, 组内基因离散率为 (10.45±0.48)%, 3.28% (2/61) 属于 B 亚型, 组内基因离散率为 (13.93±1.19)%, 1.64% (1/61) 属于 CRF_08BC 亚型。

2.2 广州市 MSM HIV-1 感染者主要流行株 Gp120 的长度多态性 图 2 A 所示为广州市 MSM HIV-1 感染者主要流行株 Gp120 的长度多态性特征。CRF07_BC 和 CRF01_AE 的 Gp120 长度分别为



注：●为标准株，>80 的节点显示 bootstrap 值

图 1 广州市男男性行为 HIV-1 感染者 Gp120 全长序列进化分析

Note: ● indicates standard reference strains, bootstraps above 80 showed in the node

Fig.1 Phylogenetic analysis of HIV-1 Gp120 sequences in men who have sex with men in Guangzhou

496~524 和 495~516, CRF07_BC 的 79.41% (27/34) 和 CRF01_AE 的 91.67% (22/24) 分布在 496~515 个氨基酸的范围内。图 2B~F 所示为 Gp120 高变区 V1~V5 的长度多态性特征。V3 区长度全部为 35 个氨基酸, V1、V2、V4、V5 的长度大小分别为 28 (13~42)、41 (37~53)、30 (22~42)、12 (10~17) 个氨基酸。

2.3 广州市 MSM HIV-1 感染者主要流行株 V3 环顶端四肽特征

2.3.1 氨基酸多态性: 主要流行株 58 例患者的 V3 环 35 个位点氨基酸序列中, 氨基酸一致的是第 1、第 3、第 4、第 15、第 16、第 17、第 26、第 28、第 31、第 33 及第 35 位这 11 个位点, 其余 24 个位点分别出现 2 个至 8 个不同的氨基酸。

2.3.2 顶端四肽分析及辅助受体使用预测: 主要流行株 58 例患者的 V3 环氨基酸序列中, 共发现 3 种 V3 环顶端四肽类型, 最主要类型为 GPGQ (56 例, 96.55%), 其他类型有 GGR (1 例, 1.72%) 和

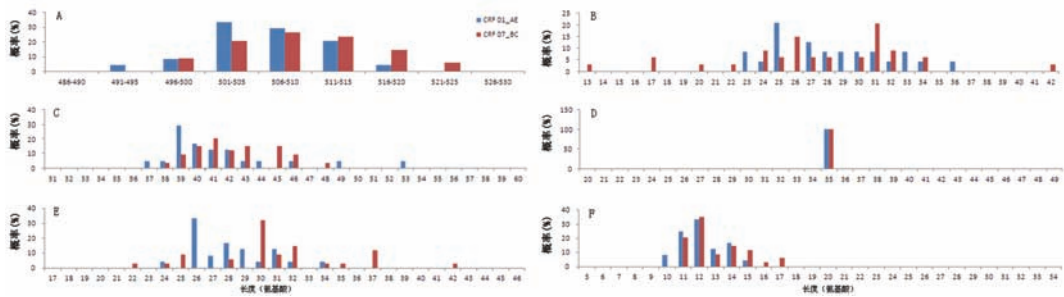


图2 广州市男男性行为 HIV-1 感染者主要流行株 Gp120 及高变区长度多态性分析

Fig.2 Length distribution of HIV-1 Gp120 and its hypervariable regions in men who have sex with men in Guangzhou

表1 广州市 MSM HIV-1 感染者主要流行株 Gp120 蛋白特征性氨基酸

Tab.1 Signature amino acid of HIV-1 Gp120 sequences in men who have sex with men in Guangzhou

亚型/重组株	特征性氨基酸、位置及出现频率								
HXB2	155[K] *	341[T]	345[T]	419[R]					
CRF01_AE (n=24)	0.75[K] **	0.83[T]	0.83[I]	0.79[R]					
参考株 (n=10)	0	0.33	0.33	0.33					
1990-CM240	R	V	T	K					
2012-DE00112CN011	R	V	T	R					
2007-TJ070003	K	T	I	R					
HXB2	7[Q]	161[I]	190[S]	209[S]	244[T]	290[T]	337[K]	440[S]	
CRF07_BC (n=34)	0.79[K]	0.74[T]	0.79[E]	0.85[S]	0.79[S]	0.74[K]	0.77[D]	0.94[A]	
参考株 (n=28)	0.21	0.14	0.07	0.32	0.07	0.11	0.07	0.36	
1997-97CN001	R	A	Y	T	T	C	K	E	
2009-09LNA745	K	T	E	S	S	K	D	A	

注: * 特征性氨基酸在 HXB2 Gp120 蛋白的位置[对应氨基酸] ** 特征性氨基酸出现频率[氨基酸]

Notes. * Location of the characteristic amino acids in HXB2 Gp120 protein [corresponding amino acids]; ** The appearing frequency of the characteristic amino acids

GPGS(1例, 1.72%)。CRF07_BC 亚型顶端四肽全部为 GPGQ (34/34), CRF01_AE 亚型顶端四肽 GPGQ 占 91.66% (22/24), GPGR 和 GPGS 各 4.17% (1/24)。4 种方法综合分析结果显示,广州市 MSM HIV-1 感染者主要流行株的辅助受体主要为 CCR5(50 例, 占 86.21%), 其余为 CXCR4(4 例, 占 6.90%) 和 CCR5/CXCR4(4 例, 占 6.90%)。不同亚型对辅助受体的利用有差异, 66.66% (16/24) 的 CRF01_AE 亚型病毒使用 CCR5 辅助受体, 16.67% (4/24) 的 CRF01_AE 亚型病毒使用 CXCR4 辅助受体, 16.67% (4/24) 的 CRF01_AE 亚型病毒使用 CCR5/CXCR4 辅助受体, 而 100% (34/34) 的 CRF07_BC 亚型使用 CCR5 辅助受体。

2.4 Gp120 蛋白特征性氨基酸 主要流行株的 Gp120 参考序列来自美国 LosAlamos HIV 基因数据库, 其中 CRF01_AE 亚型 9 株, CRF07_BC 亚型 28 株, 参考序列不包含广东毒株。分析结果显示, CRF01_AE 亚型毒株存在 4 个特征性氨基酸, 出现频率 0.75~0.83, 在参考株中特征性氨基酸出现的

频率低于 0.33, 在 24 例 CRF01_AE 亚型毒株中, 具有这 4 个特征性氨基酸的序列占 54.17% (13/24), 有 3 个特征性氨基酸的序列占 25.00% (6/24)。CRF07_BC 亚型毒株存在 8 个特征性氨基酸, 出现频率 0.74~0.94, 在参考株中特征性氨基酸出现的频率低于 0.36, 在 34 例 CRF07_BC 亚型毒株中, 具有这 8 个特征性氨基酸的序列占 41.17% (14/34), 有 7 个特征性氨基酸的序列占 23.53% (8/34)。见表 1。

3 讨论

我国早期 MSM 感染者 HIV-1 主要流行亚型是 B 亚型(100%, 12/12)^[6], 2007 年我国 MSM 感染者中主要的亚型是 CRF01_AE 亚型 (55.84%, 392/702) 和 B 亚型 21.51% (151/702)^[7], 2007—2013 年我国 MSM 感染者中 CRF07_BC 亚型比例升高, 主要亚型变为 CRF01_AE (56.35%, 23971/42537) 和 CRF07_BC (22.53%, 9582/42537)^[8], 2008—2015 年广州市 MSM 人群的 HIV-1 亚型以 CRF07_BC

(38.10%)和 CRF01_AE(34.84%)为主^[9]。本研究中广州市 2015 年新确证 HIV-1 感染的 MSM 中,主要流行株为 CRF07_BC 和 CRF01_AE,与上述研究结果一致。

系统进化树显示,本研究中绝大多数(94.12%, 32/34)CRF07_BC 毒株与 2008 年 1114_08LNA001 及 2009 年 09LAN745 等同性传播代表株聚集成一簇(图 1),并与以 97CN001 为代表的 1997—2007 年吸毒和异性传播代表株相对独立,提示在广州 MSM HIV-1 感染者中传播的 CRF07_BC 毒株可能来自 CRF_07BC 原始簇中新分化出的 MSM 流行簇,该来源毒株是传播过程中的优势毒株。本研究进化树中 CRF01_AE 毒株聚集成 3 簇(图 1)。基于 pol 区基因序列的贝叶斯分析^[10]指出我国 CRF01_AE 毒株主要分为 5 簇,它们的最近共同祖先时间分别是 1993.06、2000.10、2000.09、1994.04 和 2001.05;基于 gag 基因的贝叶斯分析^[11]指出我国南方 CRF01_AE 毒株的传播路径有 3 条,它们的最近共同祖先时间分别是 1998.8、1998.0 和 1997.9。本研究中这 3 簇 CRF01_AE 毒株在我国艾滋病分子传播网络中的位置还需要加大样本量进一步分析。

董万强等^[12]下载并分析了 HIV 序列数据库中亚洲全部 Gp120 序列长度,发现 CRF01_AE 的 91.2%和 CRF07_BC 的 94.49%分布在 496~515 个氨基酸。本研究中,91.67%的 CRF01_AE Gp120 长度为 496~515 个氨基酸,与上述研究一致,而 79.41%的 CRF07_BC Gp120 长度为 496~515 个氨基酸,长度多态性较高。Gp120 可变环的长度是病毒感染性和免疫逃逸的关键决定因素,本研究中长度多态性高的区域为 V1 区(图 2),V1/V2 区是屏蔽膜糖蛋白内部和外部结构域之间的桥联折叠域,参与病毒进入细胞过程中与宿主 CD4 分子和辅助受体的结合^[13],它的长度改变可能是病毒这些功能区受宿主免疫选择而发生适应性进化和免疫逃逸的结果,V3 区由于其功能性保守及与病毒进入细胞关系密切^[14],所以长度最保守,全部为 35 个氨基酸(图 2)。

V3 环顶端四肽是最重要的中和抗体决定簇^[15]。本研究对广州市 MSM HIV-1 感染者主要流行株的 V3 环氨基酸序列进行了分析,结果发现分析人群的 V3 环氨基酸序列多态性高,68.57%(24/35)的位点出现氨基酸多态性。国内其他研究显示,V3 环顶端四肽在不同基因亚型中有着不同的变

异型,除 B 亚型主要为 GPGR 外^[16],GPGQ 在其他各亚型中均占优势^[16-17],本研究结果与之一致。2006—2007 年广州地区 MSM 人群中 CRF01_AE 和 CRF07_BC 亚型的顶端四肽全部为 GPGQ^[18],而本研究发现 2015 年广州地区 CRF01_AE 亚型的 MSM HIV-1 感染者中出现了各 4.17%(1/24)的 GPGR 和 GPGS,由于 V3 环顶端四肽中每个氨基酸的变化都可能影响甚至改变病毒的生物学特征、抗体结合情况^[19],所以各亚型 V3 环顶端四肽的多态性及功能影响都应该得到重视。

V3 环的重要作用还表现为它是决定 HIV-1 细胞嗜性的重要区域。HIV-1 侵入 CD4 细胞的主要辅助受体是 CCR5 和 CXCR4,V3 环由于几乎没有糖基化位点,更容易结合辅助受体^[12]。利用 CCR5 辅助受体的病毒(非合胞体诱导型,NSI)呈巨噬细胞嗜性,复制较慢,利用 CXCR4 辅助受体的病毒(合胞体诱导型,SI)呈 T 细胞嗜性,复制较快。研究表明,HIV-1 感染早期主要利用 CCR5 辅助受体,由 NSI 向 SI 病毒转变与病毒进展有关^[20],本研究中 86.21%的毒株利用 CCR5 辅助受体,提示广州新确证 MSM 人群中大多数可能处于 HIV-1 感染的早期阶段但不同亚型的辅助受体变异情况有一定差异^[21],是否处于感染早期阶段还需结合病情、载量等各方面综合评价。

通过 VESPA 程序可以确定所分析序列的独特氨基酸位点,并计算出特征性氨基酸在待分析序列和参考序列中的频率。根据特征性氨基酸可以追踪可能的流行病学联系^[22],鉴定基因分子特征^[23]。本研究分析发现 CRF01_AE 亚型毒株和 CRF07_BC 亚型毒株分别存在 4 个和 8 个特征性氨基酸。为了进一步了解这些特征性氨基酸的保守性与地区和传播途径的关系,本研究将 CRF01_AE 亚型 4 个特征性氨基酸分别与 1990 年泰国异性传播 CM240 毒株、2012 年中国异性传播 DE00112CN011 代表株、2007 年中国同性传播 TJ070003 代表株相应位点的氨基酸进行比较,发现,CM240 中 4 个位置与分析序列完全不一致,TJ070003 中 4 个位置与分析序列完全一致,DE00112CN011 第 419 位氨基酸与分析序列一致,其余位置全部不一致(表 1)。同时本研究将 CRF07_BC 亚型 8 个特征性氨基酸分别与 1997 年中国吸毒传播 97CN54 和 2009 年中国同性传播 09LNA745 代表株相应位点的氨基酸进行比较,发现这 8 个特征性氨基酸在 09LNA745 序列中

完全一致,而在 97CN001 中只有 244 和 337 位点一致(表 3)。以上结果表明在广州 MSM HIV-1 感染者中出现了与早期流行毒株有较大差异的 CRF01_AE 和 CRF07_BC 亚型毒株,毒株序列特征与其他地区 MSM 患者中流行的毒株有较高的同源性,这一发现提示广州 MSM 患者中的 HIV-1 毒株可能是通过该传播途径由其他地区传入,进一步的研究可以通过加大样本量及样本地区和年代跨度推测毒株的来源和传入时间,以为卫生行政部门提供更多的针对性预防和控制 HIV 感染措施的科学依据。

利益冲突 所有作者均声明不存在利益冲突

作者贡献声明 兰芸、胡凤玉:实验操作、论文撰写;李凌华,蔡晓莉:数据整理、统计学方法;蔡卫平、唐小平、陈伟烈:研究指导;胡凤玉、李凌华、陈伟烈:论文修改、经费支持

参考文献

- [1] Lynch RM, Shen T, Gnanakaran S, et al. Appreciating HIV Type 1 Diversity_ Subtype Differences in Env [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2009, 25 (3): 237-248. DOI: 10.1089/aid.2008.0219.
- [2] Beyrer C, Baral SD, van Griensven F, et al. Global epidemiology of HIV infection in men who have sex with men [J]. *Lancet*, 2012, 380 (9839): 367-377. DOI: 10.1016/S0140-6736(12)60821-6.
- [3] Li Z, Liao L, Feng Y, et al. Trends of HIV subtypes and phylogenetic dynamics among young men who have sex with men in China, 2009-2014 [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 16708. DOI: 10.1038/srep16708.
- [4] Cheng W, Cai Y, Tang W, et al. Providing HIV-related services in China for men who have sex with men [J]. *Bull World Health Organ*, 2016, 94 (3): 222-227. DOI: 10.2471/BLT.15.156406.
- [5] 何瑞英, 廖宝林, 袁小珍, 等. 广东省人类免疫缺陷病毒 1 型 CRF01_AE 毒株膜区 V3 环氨基酸序列多态性分析 [J]. *中国热带医学*, 2018, 18(10): 984-990. DOI: 10.13604/j.cnki.46-1064/r, 2018. 10. 03.
- [6] 姚均, 何忠平, 赵红心, 等. 北京市同性恋 HIV-1 感染者的包膜基因 C2-V3 区序列测定和亚型分析 [J]. *中国艾滋病性病*, 2012, 8(3): 131-133. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2002.03.001.
- [7] He X, Xing H, Ruan Y, et al. A comprehensive mapping of HIV-1 genotypes in various risk groups and regions across China based on a nationwide molecular epidemiologic survey [J]. *PLoS One*, 2012, 7(10): e47289. DOI: 10.1371/journal.pone.0047289.
- [8] Li X, Li W, Zhong P, et al. Nationwide trends in molecular epidemiology of HIV-1 in China [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2016, 32(9): 851-859. DOI: 10.1089/AID.2016.0029.

- [9] 韩志刚, 张亚丽, 吴昊, 等. 广州市 2008-2015 年男男性行为人群 HIV1 亚型分布特征及变化趋势 [J]. *中华流行病学杂志*, 2018, 39(1): 67-71. DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.01.014.
- [10] Wang X, He X, Zhong P, et al. Phylodynamics of major CRF01_AE epidemic clusters circulating in mainland of China [J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 6330. DOI: 10.1038/s41598-017-06573-6.
- [11] Ye J, Xin R, Yu S, et al. Phylogenetic and temporal dynamics of human immunodeficiency virus type 1 CRF01_AE in China [J]. *PLoS One*, 2013, 8(1): e54238. DOI: 10.1371/journal.pone.0054238.
- [12] 董万强, 姚能, 徐庆刚. 亚洲主要流行 HIV_1 Gp120 及其 5 个高变区多态性分析 [J]. *生物学杂志*, 2013, 30(1): 9-13. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1736.2013.01.009.
- [13] Cicala C, Arthos J, Fauci AS. HIV-1 envelope, integrins and co-receptor use in mucosal transmission of HIV [J]. *J Transl Med*, 2011, Suppl 1: S2. DOI: 10.1186/1479-5876-9-S1-S2.
- [14] Bowder D, Hollingsead H, Durst K, et al. Contribution of the Gp120 V3 loop to envelope glycoprotein trimer stability in primate immunodeficiency viruses [J]. *Virology*, 2018, 521: 158-168. DOI: 10.1016/j.virol.2018.06.005.
- [15] Arendrup M, Akerblom L, Heegaard PM, et al. The HIV-1 V3 domain on field isolates: participation in generation of escape virus in vivo and accessibility to neutralizing antibodies [J]. *Arch Virol*, 1995, 140(4): 655-670.
- [16] 李燕, 徐慧芳, 韩志刚, 等. 广州市 2004-2005 年 HIV_1 毒株 env 基因 V3 区特征分析 [J]. *华南预防医学*, 2018, 34(1): 26-29. DOI: 10.3969/j.issn.1671-5039.2008.01.007.
- [17] 王敏连, 梁冰玉, 叶力, 等. 广西 HIV_1 流行株 env 基因 C2V3 区序列特征和亚型研究 [J]. *中华疾病控制杂志*, 2015, 19(12): 1191-1194. DOI: 10.16462/j.cnki.zhjbkz.2015.12.002.
- [18] 韩志刚, 徐慧芳, 李燕, 等. 广州市男男性行为者 HIV-1 分子流行病学研究 [J]. *中国艾滋病性病*, 2009, 15(4): 381-384. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2009.04.018.
- [19] van Gils MJ, Sanders RW. Broadly neutralizing antibodies against HIV-1: templates for a vaccine [J]. *Virology*, 2013, 435(1): 46-56. DOI: 10.1016/j.virol.2012.10.004.
- [20] Meehan CJ, Hedge JA, Robertson DL, et al. Emergence, dominance, and possible decline of CXCR4 chemokine receptor usage during the course of HIV infection [J]. *J Med Virol*, 2010, 82(12): 2004-2012. DOI: 10.1002/jmv.21922.
- [21] Joshi A, Cox EK, Sedano MJ, et al. HIV-1 subtype CRF01_AE and B differ in utilization of low levels of CCR5, Maraviroc susceptibility and potential N-glycosylation sites [J]. *Virology*, 2017, 512: 222-233. DOI: 10.1016/j.virol.2017.09.026.
- [22] 乔晓春, 邢辉, 申俊萍, 等. 山西省 HIV-1 主要流行株外膜蛋白 env 基因 Gp120 区变异特性的研究 [J]. *中国艾滋病性病*, 2008, 14(6): 576-579. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2008.06.007.
- [23] 梁浩, 邢辉, Jonathan Z Li, 等. 我国人类免疫缺陷病毒-1 主要流行株外膜蛋白基因 V3-V4 区及其邻近区域的特征性氨基酸分析 [J]. *中华医学杂志*, 2005, 85(13): 897-902. DOI: 10.3760/j.issn:0376-2491.2005.13.009.

(收稿日期: 2018-11-26)

(本文编辑: 吕新军)