

9-16

15948(2)

第11卷第1期
1996年3月中国病毒学
VIROLOGICA SINICAVol. 11 No. 1
Mar. 1996

HIV-1 感染初始阶段的分子机制

项秉懿

(第四军医大学分子生物学研究所, 西安 710032)

R512.9/10.2

The Molecular Mechanism of HIV-1 Infection in the Initial Step

Xiang Bingyi

(Institute of Molecular Biology, 4th Military Medical University, Xi'an 710032)

关键词 艾滋病, 人类免疫缺陷病毒-I型, 包膜糖蛋白 gp120, CD4 受体, 感染

艾滋病

Key words Acquired immune deficiency syndrome, Human immunodeficiency virus type I, Envelope glycoprotein gp120, CD4 receptor, Infection

人类免疫缺陷病毒-I型 (Human immunodeficiency virus type 1, HIV-1) 是复杂逆转录病毒科的慢病毒 (Lentiviruses) 亚科的一个成员。其显著特点是基因组结构非常复杂, 而且变异性大, 并且病毒颗粒本身带有逆转录酶, 经过逆转录后的病毒基因组可整合到宿主 DNA 上, 随细胞的增殖而繁衍, 因此, 一旦被该病毒感染, 就可能终生带毒。许多研究表明, HIV-1 必须进入对其敏感的靶细胞才能造成感染, 这是引发艾滋病的先决条件, 也是 HIV-1 感染的初始阶段。然而, 感染是有条件的, 首先, HIV-1 必须被其敏感的靶细胞所吸引, 也就是说对宿主细胞 (或组织) 的向性; 接着便是病毒与细胞的接触, 然后才是病毒进入细胞、脱壳、反转录直至整合而造成感染。HIV-1 对细胞的向性及其与细胞的结合, 都是在病毒和细胞本身的特定分子的介导或参与下进行的, 由于分子生物学的快速发展, 人们了解了与之相关的分子结构, 并对它们的功能进行了研究, 从而得知 HIV-1 感染初始阶段与其受体 CD4 相互作用的分子机制, 这就为人们从分子水平去认识 HIV-1 感染的机理问题打下了基础, 进而为防治艾滋病提供了坚实的理论基础。

1 HIV-1 包膜糖蛋白及 CD4 的分子结构与功能

1.1 HIV-1 包膜糖蛋白的分子结构与功能

HIV-1 基因组的显著多样性多位于编码包膜糖蛋白的 env 基因上。该基因位于第四开放读码框架之内, 共含 2589bp, 位于 5781~8369 位核苷酸之间, 共编码 863 个氨基酸, 分子量为 160kD, 是包膜糖蛋白的前体 gp160, 在其 N-末端 17~37 位氨基酸残基之间为疏水性序列, 相当于信号肽, 在成熟过程中被剪切下来, 其余部份经蛋白酶裂解成 gp120 和 gp41, 两者以非共价键相连^[1,2], 分别形成成熟病毒颗粒的表面棘突和跨膜部份。这样的结构为病毒进入细胞

本文于 1995 年 2 月 13 日收到, 7 月 5 日修回

提供了可能。

gp120 的分子量为 120kD, 在 38~518 位残基之间, 构成了 gp120 的多肽骨架, 具有高度亲水性, 并含有特异的 β 片层结构, 利于形成空间构象。Ho 等人用单克隆抗体鉴定了 gp120 中的构象表位, 该表位在与 CD4 的结合及中和作用中具有重要作用^[3]。其实, gp120 多肽骨架只有 60kD, 其余全是 N-连接的寡糖链, 约含 24 个 N-糖基化位点, 在 Asn-X-Ser/Thr 的 Asn 残基上, 寡糖链广泛地覆盖在病毒颗粒表面, 决定着毒粒的表型和抗原性; 同时也是一种重要的信息分子。研究表明 gp120 的高甘露糖型(含有 7~9 个甘露糖残基)和复合型 N-连接的寡糖来源于哺乳类, 很可能是宿主细胞的成份。1993 年, Shilatifard 等人发现, gp120 的复合型 N-连接的寡糖含有硫化的 N-乙酰氨基葡萄糖^[4], 这种糖的糖基化发生在 Ser 或 Thr 的羟基上, 既可糖基化, 又可去糖基化。一些事实提示这种糖链在 HIV-1 与 CD4 结合中具有重要作用。在 HIV-1 与靶细胞接触时, gp120 通过一个多价的糖结合蛋白(甘露糖结合蛋白)与 CD4 结合而相互作用。若 gp120 的某些 N-糖基化位点因突变而缺失, 使糖链减少, 并不影响与 CD4 的结合, 但能影响病毒感染效果, 这是因为 N-糖基化位点有助于抗原表位的构型和线性表位结构的遮盖, 还影响病毒对细胞的向性和宿主范围。可见, N-糖基化位点在 gp120 与 CD4 的结合中具有显著作用。上述寡糖链的结构微观上有高度不均一性, 即所说的糖形(glycoform)。特异性的糖链结构在 HIV-1 感染过程中是否产生影响, 尚需进一步研究。在 gp120 的 C-末端紧接一段富含精氨酸的疏水区, 在此与 gp41 断裂。gp41 共含 350 个氨基酸残基, 4~6 个糖基化位点, 具有三个功能区: 与 gp120 结合区、跨膜区和 c-末端的胞浆区^[1,2,5]。跨膜区的主要功能是促使病毒成份穿入宿主细胞。

- 包膜糖蛋白分子的 Cys 之间能形成二硫键, 这对于维持蛋白质的空间构象很重要。Starcich 研究证明, 这些 Cys 残基具有保守性, 他们借助于计算机对 HIV-15 个毒株的全部 env 基因的核苷酸序列及其编码的氨基酸序列进行分析, 发现 gp120 中所有的 18 个 Cys 残基在这 5 个毒株中都存在, 在 gp41 中, 除 C-末端的一个 Cys 外, 其它 Cys 也是保守的^[6]。这就提示 Cys 残基对包膜糖蛋白具有重要作用^[7]。Willey 等人根据 4 个不同毒株的 env 基因推导了氨基酸的变异性, 他们把 HIV-1 的包膜糖蛋白分为 4 个保守区和 4 个易变区, gp120 中含 3 个易变区, 而 gp41 中只含一个^[8]。在 gp120 中含有 5 个超变(hypervariable)^[1,2]区。在超变区中不同毒株间氨基酸的可变率达 15%, 在第三易变区中, 有一个由两个相邻 Cys 形成的环状结构, 称为 V3 环, 虽然在 HIV-1 不同毒株之间 V3 环的一级结构是高度变异的, 但在其顶部的 G-P-G-R 序列却是高度保守的^[9~12]。该序列含有典型的 II 型 β 片层结构的肽元件^[13,14], 很符合用作抗原决定簇的条件。许多研究证实, V3 环是激发产生中和抗体的主要部位, 针对该部位的中和抗体能阻止 HIV-1 感染, 虽然这种中和抗体并不抑制病毒与 CD4 的结合。可见, V3 环在 HIV-1 的感染过程中具有重要作用^[15,17]。总之, 由于包膜糖蛋白分子结构上的诸多特点, 致使它含有许多与 HIV-1 感染过程相关的重要功能区^[6,18], 从 N-C 端起, 它们分别是: T 细胞向性主要决定簇(位于 gp120 的 124~445 位残基)、单核吞噬细胞向性主要决定簇(位于 gp120 的 207~369 位残基)、V3 环、与 CD4 结合区(位于 420~463 位残基)、gp120 与 gp41 切割区、融合区(位于 518~527 位残基)以及跨膜区, 这些功能区在 HIV-1 与其受体 CD4 的结合乃至感染细胞的过程中均发挥出各自的重要作用, 它们是 HIV-1 与 CD4 结合及感染的分子基础。

1.2 CD4 的分子结构与功能

早在第一株 HIV-1 被分离和鉴定的第二年——1984 年就证明了 CD4 分子是 HIV-1 感染淋巴细胞群的主要受体^[19]。由于 CD4 分子作为 HIV-1 的受体, 在 HIV-1 与之结合及病毒感染过程中起着关键作用, 所以对其分子结构、功能及生物学意义等研究较多。CD4 是在利用 MHC II 识别抗原的细胞上发现的一种膜糖蛋白, 也称 T4 抗原, 它是免疫球蛋白超家族 (immunoglobulin superfamily) 或称免疫球蛋白超基因家族 (immunoglobulin supergene family) 中单基因家族 (single-gene family) 中的一个成员。最早是在 T 淋巴细胞 (包括辅助性 T 细胞和诱导性 T 细胞) 表面发现的 CD4, 后来发现胸腺细胞、淋巴结树突网状细胞及巨噬细胞也表达 CD4。此外, 在一些 B 淋巴细胞、单核吞噬细胞、某些脑细胞及皮肤郎罕氏细胞中也有少量 CD4 分子^[20]。1985 年 Maddon 等人分离了 T 细胞表面的 T4 蛋白 (即 CD4) 的 mRNA, 将其反转录成 cDNA, 并且将 cDNA 进行了克隆测序和表达的研究^[21]。结果得知 CD4 分子的基因是个单一的开放读框, 共含有 1374bp, 编码 458 个氨基酸, 分子量为 55kD, 其分子结构从 N-C 末端依次为: 先导序列 (也称信号肽)、易变样区域 (variable-like regions, 简称 V)、连接样区、跨膜区和细胞浆区, 整个多肽链中含有两个 N-糖基化位点: Asn-Len-Thr, 其一在 233~235 位残基, 另一个在 302~304 位残基, CD4 与 Ig 在分子结构上具有很大的相似性, 含有 Ig 的可变区 (V) 和稳定区 (C) 相似的同源结构。将 CD4 分子 N-末端 1~94 位残基与 Ig 轻链可变区相应的序列作比较, 结果表明, 14 个恒定的氨基酸残基中就有 8 个是保守的, 两者的同源性为 32%。研究表明 CD4 分子的 V 样区域是由两个分开的外显子编码, 这两个外显子之间有一段长的内含子, 为调节 CD4 基因在不同组织中的表达所必须。CD4 分子的 V 区和 Ig 的 V 区在结构上虽然相似, 但它们的基因构成却不一样, 前者是由一个完整的基因决定了整个 V 区, 而后者却是由基因重排而产生的。目前对这些进化过程尚未完全搞清楚, 只是在一些原始脊椎动物的抗体基因中发现了这类完整的基因, 由此推测重排抗体的 V 基因很可能是从这种基因进化而来, 现在普遍认为, Ig 相关序列均由基因复制和变异衍生而来。

按照 CD4 分子的功能可将其划分成细胞外结构域、跨膜区和细胞内结构域三个部分。第一部分, 细胞外结构域共含 372 个氨基酸残基, 由它们构成 4 个 Ig 样结构, 第一 Ig 样结构在 N-端, 由 109 个残基组成, 其中第 16 位和 84 位上的 Cys 能形成链内二硫键, 从而构成该结构域中特有的环状结构, 这种结构是通过二硫键形成稳定的发夹样反向平行 β 折叠而构成的。X 射线晶体衍射分析表明, 这结构类似椭圆形, 与 β 折叠方向平行的横经约为 4 nm, 纵经约 2.5nm, 推测这样的结构可能有利于与配体作用。实验证明 CD4 分子与 HIV-1 的结合部位就在该结构内, Jameson 等人 1988 年研究指出 CD4 分子的第 37~53 位残基之间就是 HIV-1 结合的位点^[22]。另外, 还发现在第一 Ig 样结构中含有三个与 Ig 互补决定区 (complementarily-determining region, CDR) 相关的区域, 分别称作 CDR1 (位于 17~28 位残基)、CDR2 (位于 42~49 位残基) 及 CDR3 (位于 85~97 位残基)^[2,3]。这些 CDR 结构为 CD4 分子的生物功能所必需, 它们在 HIV-1 的感染和由 HIV-1 诱导的合胞体形成中起了至关重要的作用, 第二个 Ig 样结构位于 109~179 位残基之间, 其中第 130 和 159 位残基是 Cys, 它们形成的链内二硫键构成了第二个特有的环状结构。第三个 Ig 样结构在 179~295 位残基之间, 此序列也是回旋成环状结构, 但不是由 Cys 通过二硫键构成的, 前面所提及的第一个糖基化位点就在该序列中, 至于该糖基化位点的生物功能以及在 CD4 分子中起什么作用, 还有待进一步研究。第四个 Ig 样结构在第 295~372 位残基之间, 其中第 303 位和 345 位残基也是 Cys, 它们之间形成的链内二硫键构成了第四个 Ig 样结构, 称为 C2, 上述第一、

二、四 Ig 样环状结构中参与链内二硫键形成的 Cys 都是保守性的, 由于它们的存在和作用使细胞外结构域具有二级结构的特征, 并且具备了一定的生物功能。在此应该指明何谓可溶性 CD4 (soluble CD4, sCD4), 即由 N-末端的信号肽和上述的 4 个 Ig 样结构而构成。通过对 sCD4 的突变分析已经证明, 被 gp120 初始结合的位点就在 CDR2 相关区内的 43~49 位残基之间^[24]。许多研究表明, 在 HIV-1 感染及其诱导的合胞体形成的过程中均涉及到 CDR3 相关区。第二部分是跨膜区, 由 21 个氨基酸组成, 位于 375~395 残基之间, 该区富含疏水性氨基酸, 是为其生物功能所必需, 该区跨过细胞膜, 是连接膜内、外侧结构域的桥梁, 也是外来物进入细胞的必经关口。第三部分是细胞内结构域, 由 40 个氨基酸残基组成, 位于细胞质膜的胞浆侧, 通过对人、小鼠及大白鼠的该区氨基酸的序列分析和比较发现, 该区的氨基酸组成具有较强的保守性, 在 N-端的 32 个残基中人和小鼠就有 29 个残基完全相同, 而组成小鼠和大鼠整个胞浆区的氨基酸仅有一个不相同。如此高的序列保守性, 是 CD4 分子的功能所必需。该区具有酪氨酸蛋白激酶活性。胞浆区尾部的 KKTCQCPHRFQKT(位于 419~431 残基之间) 序列中的氨基酸残基存在着保守性替换, 并且含有替代 α 螺旋任何面的疏水序列的 5 个碱性氨基酸残基, 该序列是激酶结合的关键部位, 因而使 CD4 分子具有传递跨膜信息的功能^[25,26]。CD4 分子的主要功能像 Ig 超家族的其它成员一样, 主要是通过 Ig 相关分子间的同种亲和(homophilic)或异种亲和(heterophilic)相互作用, 从而介导细胞间的识别, 由此可以推测 CD4 分子与 HIV-1 之间的作用就是依靠这些亲和作用的。

现已确定, HIV-1 感染细胞的受体除 CD4 受体外, 至少还有三种: 半乳糖神经酰胺(galactosyl ceramide, Gal-c), 该物质存在于脑和肠细胞上^[27,28], Fc 及补体受体^[29,30], 随着研究的广泛深入, 一些与 HIV-1 感染有关的其它受体可能会被鉴定出来, 这无疑将为研究 HIV-1 感染的分子机制增添新内容。

2 HIV-1 感染靶细胞向性的分子基础

HIV-1 对细胞的向性(tropism), 也称嗜性或亲嗜性, 是决定病毒感染的前奏, 也就是说靶细胞必须把病毒招来才能相互作用, 从而导致感染的一系列过程的发生。HIV-1 细胞向性的生物学特征主要表现在两个方面, 被 HIV-1 感染的细胞和子代病毒产生的频率, 几个试验室利用重组 HIV-1 克隆已经证明 env 基因对于决定细胞向性的范围很重要。这是因为 gp120 中含有各种细胞向性的主要决定簇。Shioda 等人的研究进一步证明, 在 V3 环中少数几个氨基酸的变化, 就能影响 HIV-1 的 T-细胞系和巨细胞的向性^[31], 这是因为 V3 环被包含在决定这两种细胞向性的表位的序列之中。Brien 等提出靶细胞与 gp120 的 202~358 位残基之间相互作用, 对于有效进入单核吞噬细胞非常重要^[32]。感染某类型细胞的活性可能与体内疾病的发生有关, 例如: HIV-1 感染血液与血中的 T 细胞优势相关, 其中 CD4⁺ T 细胞又表达 CD4 受体, 因而招致 HIV-1 感染这种细胞, 以致造成这种 CD4⁺ T 细胞的耗损, 使之成为艾滋病的一大特点; 而组织的感染则与单核吞噬细胞的优势相关, 从而使这种细胞成为 HIV-1 贮存库。HIV-1 具有双重向性(double tropism), 除感染 CD4⁺ T 细胞、单核吞噬细胞及其它抗原提呈细胞(antigen presenting cell, APC)外, 还感染诸如脑组织的小胶质细胞、淋巴结滤泡的树突状细胞、组织中郎罕氏细胞等, 由于这些细胞比 CD4⁺ T 细胞寿命长, 而且能游走, 因此有利于 HIV-1 的播散, 已证明 HIV-1 能以游离的形式播散及感染细胞, 这些吞噬细胞的 HIV-1 感染可能就是 HIV-1 的广泛组织分布及 AIDS 的多种临床症状的原因。Dubois-Dalcq 等人通过一些实例提

示, HIV-1 进入小神经胶质细胞, 并在这些细胞中传播时, 需要这些细胞膜上的 CD4 受体, 这可能是 HIV-1 通过脑传播的机制^[33]。但是近来报道 HIV-1 除感染 CD4⁺ 细胞外, 也感染一些 CD4⁻ 细胞。1994 年 Cook 等报道, 抗 glycosphingolipid, galactosylceramide (Gal β 1-1' Cer, Galcer) 的抗体能阻止几种 CD4⁻ 细胞系的感染^[34]。Kimura-kurota 等人的研究结果表明 gp120 能引起少突神经胶质细胞的功能失调^[35], 证明如前所叙述的 HIV-1 的受体不只 CD4 分子一种。此外 HIV-1 的细胞宿主范围或向性并不是一成不变的。Cloyd 等人 在研究中得到的病毒分离物于体外就能改变它们的细胞向性和宿主范围^[36]。

3 HIV-1 与其受体 CD4 相互作用的分子机制

HIV-1 的生命周期可分为早期和晚期两个阶段, 病毒的吸附和进入、基因组 RNA 的逆转录和整合为早期阶段。该阶段包括了病毒感染细胞的三个主要步骤: 吸附、融合及进入^[37,38]。gp120 与 CD4 分子的结合是 HIV-1 感染的第一步, 前面已提到两者相互作用的功能域, 与 CD4 结合的 gp120 含有 5 个 s-s 的环状结构, 它们具有高度亲和性, 在一个多价糖结合蛋白的介导下使 gp120 和 CD4 分子相互结合, 由于 gp120 与 gp41 是通过非共价作用而固定在病毒颗粒的表面。因此病毒和细胞之间的初始复合物便是 CD4-gp120-gp41。Lasky 等人证明, 在 gp120 与 CD4 结合的表位内, 利用体外致突变 (mutagenesis) 法, 发现从这个表位内删除 12 个氨基酸, 就会导致结合的完全消失; 另外, 在该区内单个氨基酸的更替便会导致结合的显著减弱, 表明该区内的氨基酸数目及种类直接与结合相关^[39]。gp120 和 CD4 在靶细胞表面结合, 诱导包膜糖蛋白发生构象变化^[40]; 同时激活包埋在脂质双层膜中的 gp41 的一段疏水区 (即融合功能域), 使其暴露出来, 与邻近的细胞膜相互作用, 接着便启动由 HIV-1 包膜介导的病毒颗粒的进入, 或在原生质膜上, 或在内吞的液泡中脱壳, 然后进行一系列生命活动。Cys 在 HIV-1 包膜糖蛋白的构象方面具有关键作用, 为了验证 Cys 功能的重要性, Tschachler 等人构建了一系列 HIV-1 包膜突变体^[7], 在这些突变体中, Cys 被其它氨基酸所替代, 然后用重组 sCD4 进行检测, 发现这些突变体中的 Cys296、Cys331、Cys296/Cys331、Cys418 和 Cys418/445 不与 sCD4 结合, 又用型特异的中和性抗体来识别这些突变体。结果表明, 这些突变体不具有感染性, 它们阻断了 HIV-1 生活周期的早期阶段, 这是因为这些突变体中的 Cys 被取代后, 使结构发生改变, 由此影响了突变体的构象, 结果失去了结合功能。由此可见, 包膜的结构和构象与 HIV-1 的生物功能密切相关。Ohki 等人于 1994 年通过色氨酸残基荧光光谱分析 (fluorescence spectrum analysis of tryptophan residues) 发现 CD4 的 CDR3 相关代表物能使 gp120 发生构象变化, 从而影响 gp120 与 CD4 的相互作用^[41]。有报道表明, 通过重复感染 (superinfection) 可以使感染性缺损转变成持续感染的细胞克隆, 并且用 CDR3 相关肽能够特异地阻断这种重复感染, 并证明重复感染病毒的 gp120 能直接与 CD4 的 CDR3 相关区接触^[42]。HIV-1 包膜糖蛋白的融合功能还涉及到合胞体的形成 (syncytium formation)。Freed 等人为了验证是否涉及到由 HIV-1 包膜糖蛋白所介导的合胞体的形成, 并且鉴定了该过程中所涉及的残基, 他们利用寡核苷酸定向突变 (oligonucleotide-directed mutagenesis), 在 V3 环中导入了单个改变的氨基酸, 结果表明这样的突变体减少或完全丧失了融合活性。Stephens 等人在制取表达于 CHO 细胞的重组 gp120 时, 发现在 V3 环顶部的 Arg 和其相邻的 Ala 残基之间能够发生断裂, 由此可引起构象改变, 从而可使结合于 CD4 的病毒与细胞膜融合^[43], 因此可以推测, V3 环的

断裂可能是 HIV-1 感染所必需的。也就是说 V3 环具有诱导细胞融合的功能。这种功能不仅涉及到合胞体的形成,而且也涉及到病毒包膜和细胞原生质膜的融合,已知融合功能的激活需要 gp160 的切割以及 gp41 的疏水性 N-末端所起的作用^[2,3,5,6]。Moore 等人利用重组 sCD4 与 gp120 结合,致使 gp120-gp41 分离,他们提示这种现象可能是病毒-细胞融合和细胞-细胞融合的初始阶段^[44]。许多研究表明不仅游离的 HIV-1 包膜糖蛋白与 CD4 分子的相互作用导致合胞体的形成和单个靶细胞的溶解,而且在感染细胞中表达的 HIV-1 包膜糖蛋白也介导某些伴随病毒感染而产生的致细胞病变作用。Dimitrov 等人研究了 sCD4 与细胞表面表达的 gp120-gp41 结合的动力学,发现 sCD4 的结合是依赖于 sCD4 的浓度和结合时的温度,并且展现了双分子(bimolecular)的反应动力学^[45],他们得到的结果对于了解病毒进入细胞的初始阶段的机制、感染细胞和非感染细胞之间的相互作用、以及由 sCD4 来抑制病毒感染的机理都十分重要。

CD4 功能的分子基础是人们发现了 CD4 分子能够与蛋白酪氨酸激酶(Protein-tyrosine kinase)P56^{Lok}结合而形成复合物 CD4-P56^{Lok},该复合物在 T 细胞增殖与分化的信号转导中起关键性作用。P56^{Lok}是蛋白酪氨酸激酶家族的一个成员^[26],其基因定位于人淋巴瘤及神经母细胞瘤中常发生结构异常的染色体的 p32~35 位点,由 12 个不同的外显子编码,507 个氨基酸组成。该酶具有一个高度保守的催化结构域,其中第 273 位的 Lys 是 ATP 结合位点,394 位的 Tyr 是自身磷酸化位点,临近 C-末端的第 505 位残基 Tyr 是调控激酶活性的决定部位,已知大多数激酶的自身磷酸化能增强自身的催化活性,可能以此来调节激酶与底物的作用能力。除上述结构外,Shaw 等人证实 P56^{Lok} N-末端的 10~32 位残基是与 CD4 或 CD8 相互交联所必需的序列^[23],该区富含带负电荷的氨基酸,据报道 90% 的细胞内 p56^{Lok}是与 CD4 相互交联的(前面已指出 CD4 与 p56^{Lok}交联的序列),当 CD4 与 p56^{Lok}结合后,p56^{Lok}便被激活,从而导致 505 位上的 Tyr 发生自身磷酸化,由此介导各种调控因子的生物效应,这是 CD4 受体信号转导的重要环节。HIV-1 与 CD4-p56^{Lok}复合体结合后,信号转导的起始表现为 CD4 胞浆区内的 Tyr 磷酸化和 p56^{Lok}的活性增强,这样就可能通过 p56^{Lok}发出细胞内信号,促进 HIV-1 进入细胞后的一系列生命活性;而与 CD4-p56^{Lok}结合的 gp120 能够以一种 CD4 与其抗体相结合的方式增强 p56^{Lok}的活性,所以它们之间的作用是相互促进的,可见 p56^{Lok}在 HIV-1 的生命活动中具有重要作用。研究表明经受体介导的信号转导过程是极其复杂的,目前有些机制问题还有待研究和阐明。

如前所述,已经知道了 gp120 和 CD4 的特异性结合部位,就可以对 HIV-1 进行两面夹攻:一方面封闭 gp120 与 CD4 结合的位点,另一方面阻断 CD4 受体与 gp120 的接触;并已知能封闭 gp120 的是 sCD4,能阻断 CD4 受体与 gp120 接触的是抗 CD4 的单克隆抗体,沿着这个思路,许多防治艾滋病的新生物制剂应运而生,除了一些合成肽类之外,多用基因工程的办法来研制生物制剂,用于防治 HIV-1 感染的研究,毫无疑问,这是在对 HIV-1 感染的分子机制有一定了解的基础上进行的。目前,尽管有些问题还未彻底弄清,还存在这样或那样的问题,但还是给人们防治艾滋病带来了很大希望。随着时间的推移,科学的发展,在了解 HIV-1 与其受体 CD4 相互作用的分子机制的基础上,人们将会对 HIV-1 感染的分子机制越来越明了,从而得到防治艾滋病的有利武器,这就是研究 HIV-1 感染的分子机制的重大意义所在。

参 考 文 献

- 1 Kowalski M, Potz J, Basiripour L, *et al.* Functional regions of the human immunodeficiency virus envelope glycoprotein. *Science*, 1987;237:1351~1355
- 2 Helseth E, Olshevsky U, Furman C, *et al.* Human immunodeficiency virus type 1 gp120 envelope glycoprotein regions important for association with the gp41 transmembrane glycoprotein. *J Virol*, 1991;65:2119~2123
- 3 Ho DD, McKeating JA, Lingle X, *et al.* Conformational epitope on gp120 important in CD4 binding and human immunodeficiency virus type 1 neutralization identified by a human monoclonal antibody. *J Virol*, 1991;65(1):489~493
- 4 Shalatifard A, Merkle RK, Helland DE, *et al.* Complex-type N-linked oligosaccharides of gp120 from human immunodeficiency virus type 1 contain sulfated N-acetylglucosamine. *J Virol*, 1993, 67(2):943
- 5 Freed EO, Myers DJ, Risser R. Characterization of the fusion domain of the human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein gp41. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1990;87:4650~4654
- 6 Starrich BR, Hahn BH, Shaw GM, *et al.* Identification and characterization of conserved and variable regions in the envelope gene of HTLV-III/LAV, the retrovirus of AIDS. *Cell*, 1986;45:637~648
- 7 Tschachler E, Buchow H, Gallo RC, *et al.* Functional contribution of cysteine residues to the human immunodeficiency virus type 1 envelope. *J Virol*, 1990;64(5):2250~2259
- 8 Willev RL, Rutledge RA, Dias S, *et al.* Identification of conserved and divergent domains within the envelope gene of the acquired immunodeficiency syndrome retrovirus. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1986;83:5038~5042
- 9 Braun, AV, Brand M, Reichhuber C, *et al.* Principal neutralizing domain of HIV-1 is highly immunogenic when expressed on the surface of hepatitis B core particles. *Vaccine*, 1993;11(8):817~824
- 10 Larosa GJ, Davide JP, Weinkold K, *et al.* Conserved sequence and structural elements in the HIV-1 principal neutralizing determinant. *Science*, 1990;249:932~935
- 11 Freed EO, Myers DJ, Risser R. Identification of the principal neutralizing determinant of human immunodeficiency virus type 1 as a fusion domain. *J Virol*, 1991;65(1):190~194
- 12 Conley AJ, Conard P, Bondy S, *et al.* Immunogenicity of Synthetic HIV-1 gp120 V3-loop peptide-conjugate immunogenes. *Vaccine*, 1994;12(5):445~451
- 13 Chandrasekar K, Profy AT, Dyson HJ. Solution conformation preferences of immunogenic peptides derived from the principal neutralizing determinant of the HIV-1 envelope glycoprotein gp120. *Biochemistry*, 1991;30:9187~9194
- 14 Tolman RL, Bednarek M, Johnson B, *et al.* Cyclic V3-loop-related HIV-1 conjugate vaccines: synthesis, conformation and immunological properties. *Int J Peptide Protein Res*; 1993;41:455~466
- 15 Billaud JN, Yagello M, Gluckman C. Primary *in vitro* sensitization of human T-helper lymphocytes by peptides derived from the V3 loop of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) envelope glycoprotein. *Vaccine*, 1994;12(1):46~55
- 16 Kameoka M, Nishino Y, Matsuo K, *et al.* Cytotoxic T lymphocyte response in mice induced by a recombinant BCG vaccination which produces an extracellular α antigen that fused with the human immunodeficiency virus type 1 envelope immunodominant domain in the V3 loop. *Vaccine*, 1994;12(2):153~158
- 17 Emini EA, Schleif WA, Nunberg JH, *et al.* Prevention HIV-1 infection in chimpanzees by gp120 V3 domain-specific monoclonal antibody. *Nature*, 1992;355:728~730
- 18 Cheng Mayer C. Biological and molecular features of HIV-1 related to tissue tropism. *AIDS*, 1990;4(suppl 1):s49~s56
- 19 Dalglish A, Beverley P, Clapham P, *et al.* The CD4(T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature*, 1984;312:763~766
- 20 Gallo RC. Human retroviruses: a decade of discovery and link with human disease. *J Infect Dis*, 1991;164(2):235~243
- 21 Maddon PJ, Littman DR, Godfrey M, *et al.* The isolation and nucleotide sequence of a cDNA encoding the T cell surface protein T4: A new member of the immunoglobulin gene family. *Cell*, 1985;42:93~104

- 22 Jameson BA, Rao PE, Kong LI, *et al*. Location and chemical synthesis of a binding site for HIV-1 on the CD4 protein. *Science*, 1988;240:1335~1339
- 23 Arthos J, Deen KC, Chaikin MA, *et al*. Identification of the residues in human CD4 critical for the binding of HIV. *Cell*, 1989;57:469~481
- 24 Sattentau QJ, Arthos J, Deen K, *et al*. Structural analysis of the human immunodeficiency virus-binding domain of CD4. *J Exp Med*, 1989;170:1319~1334
- 25 Shaw AS, Amrein KE, Hammond C, *et al*. The tyrosine protein Kinase interacts with the cytoplasmic tail of the CD4 glycoprotein through its unique amino-terminal domain. *Cell*, 1989;59:627~636
- 26 Rudd CE. CD4, CD8 and the TCR-CD3 complex: a novel class of protein-tyrosine kinase. *Immunology Today*, 1990;11(11):400~410
- 27 Harouse JM, Bhat S, Spitalnik SL, *et al*. Inhibition of entry of HIV-1 in neural cell lines by antibodies against galactosyl ceramide. *Science*, 1991;253:320~323
- 28 Yahi N, Baghdiguian S, Moreau H, *et al*. Galactosyl ceramide (or a closely related molecule) is the receptor for human immunodeficiency virus type 1 on human colon epithelial HT29 cells. *J Virol*, 1992;66:4848~4854
- 29 Homsy J, Meyer M, Tateno M, *et al*. The FC and not the CD4 receptor mediates antibody enhancement of HIV infection in human cells. *Science*, 1989;244:1357~1360
- 30 Robinson WE JR, Montefiori DC, Mitchell WM. Complement-mediated antibody-dependent enhancement of HIV-1 infection requires CD4 and complement receptors. *Virology*, 1990;175:600~604
- 31 Shiota T, Levy JA, Cheng-Mayer C. Small amino-acid changes in the V3 hypervariable region of gp120 can affect the T-cell and macrophage tropisms of human immunodeficiency virus type 1. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1992;89:9434~9438
- 32 Brien WA, Zack JA, Chen LSY. Molecular Pathogenesis of HIV-1. *AIDS*, 1990;4(suppl 1):s41~s48
- 33 Dubois-Dalq ME, Jordan CA, Kelly WB, *et al*. Understanding HIV-1 infection of the brain: a challenge for neurobiologists. *AIDS*, 1990;4(suppl 1):s67~s76
- 34 Cook DG, Fantini J, Spitalnik SL, *et al*. Binding of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) gp120 to galactosylceramide (Galcer); relationship to the V3 loop. *Virology*, 1994;201:206~214
- 35 Kimura-Kuroda J, Nagashima K, Yasui K. Inhibition of myelin formation by HIV-1 gp120 in rat cerebral. *Arch Virol*, 1994;137:81~99
- 36 Cloyd MW, Moore BE. Spectrum of biologic properties of human immunodeficiency virus (HIV-1) isolates. *Virology*, 1990;174:103~116
- 37 Levy JA. HIV pathogenesis and long-term survival. *AIDS*, 1993;7:1401~1410
- 38 Levy JA. Pathogenesis of human immunodeficiency virus infection. *Microbiol Rev*, 1993;57:183~289
- 39 Lasky LA, Nakamura GM, Smith DH, *et al*. Delineation of a region of the human immunodeficiency virus type 1 gp120 glycoprotein critical for interaction with the CD4 receptor. *Cell*, 1987;50:975~985
- 40 Sattentau QJ, Moore JP. Conformational changes induced in the human immunodeficiency virus envelope glycoprotein by soluble CD4 binding. *J Exp Med*, 1991;174:407~415
- 41 Ohki K, Kimura T, Jones IM, *et al*. Multiple effects of CD4 CDR3-related peptide derivatives showing anti-HIV-1 gp120 functions. *Vaccine*, 1994;12(4):343~350
- 42 Yimoki M, Maotani-Imai K, Kusuda H, *et al*. Production of infectious particles from defective human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) producing cell clones by superinfection with infectious HIV-1. *Arch Virol*, 1991;116:143~158
- 43 Stephens PE, Clements G, Yarranton GT. A Chink in HIV's armour? *Nature*, 1990;343(6255):219
- 44 Moore JP, McKeating JA, Weiss RA, *et al*. Dissociation of gp120 from HIV-1 virions induced by soluble CD4. *Science*, 1990;250:1139~1142
- 45 Dmitrov DS, Hillman K, Manishevitz J, *et al*. Kinetics of soluble CD4 binding to cells expressing human immunodeficiency virus type 1 envelope glycoprotein. *J Virol*, 1992;66:132~138