

HIV-1 超感染的研究进展

童 骁¹, 张晓燕², 钟卫州¹, 沈 弢², 邵一鸣^{2**}

(1.中国科学院武汉病毒研究所, 湖北武汉 430071; 2.中国疾病预防控制中心, 北京 100050)

Research Progress on HIV-1 Superinfection

TONG Xiao¹, ZHANG Xiao-yan², ZHONG Wei-zhou¹, SHEN Tao², SHAO Yi-ming^{2**}

(1. Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan 430071, China; 2. Center for Disease Control of China, Beijing 100050, China)

关键词: HIV, 艾滋病, 超感染

中图分类号: R512.91

文献标识码: A

文章编号: 1003-5125 (2004) 06-0642-05

人类免疫缺陷病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)超感染(Superinfection) 的案例在近两年被陆续报道, 到目前共有 5 个超感染的病例被确定^[1-4]。与共感染(Coinfection)不同, HIV 超感染指的是一株 HIV 在机体内已经建立稳定感染之后的另外 HIV 毒株的感染, 共感染则是两株病毒同时或几乎同时对机体的感染。超感染发生的背景是宿主已经存在 HIV 特异性的免疫反应并且免疫系统在某种程度上受到初次感染病毒的损伤, 提示 HIV 的初次感染所激发的机体免疫反应不足以完全抵御另外 HIV 毒株的再次感染。

虽然仅有 5 例确定的超感染病例报道, 但超感染可能不是一个个别现象。HIV-1 的重组病毒在世界各地被频繁鉴定^[5-16], 目前共有 15 株流行重组病毒 (Circulating recombinant form, CRF) (见表 1), 然而重组病毒的产生前提就是两种毒株在一个机体内同时存在, 虽然没有直接观察到正在发生重组的个体, 但重组病毒的产生必然是超感染或者是共感染的结果。然而在具体病例被报道之前, 超感染发生的可能性没有引起足够重视, 这种对超感染的忽视可能源于之前的几项非人体的试验结果。

1 体外研究和动物实验研究

在观察到人体 HIV 超感染之前, 体外的重复感染 (Reinfect) 实验报道见于 1996 年, Kim 报道被 HIV-1 慢性感染的 T 淋巴细胞能够被另外的 HIV-1

毒株感染并且感染频率随时间延长而增加^[17], 然而细胞水平的这种重复感染实验是在没有机体免疫反应的情况发生的, 不能明确的证明 HIV 超感染的存在。

表 1 HIV-1 的流行重组毒株

TABLE 1 Current Circulating recombinant forms of HIV-1*

重组毒株(CRF)	重组亚型(Subtypes)	流行地区 (Regions)
CRF01_AE	A, E	Asia, Central Africa
CRF02_AG	A, G	West and Central Africa, Taiwan
CRF03_AB	A, B	Russia, Ukraine
CRF04_cpx	A, G, H, K, U	Cyprus, Greece
CRF05_DF	D, F	Democratic Republic of Congo
CRF06_cpx	A, G, J, K	Mali, Burkina Faso
CRF07_BC	B', C	China
CRF08_BC	B', C	China
CRF09_cpx	Unpublished	West Africa
CRF10_CD	C, D	Tanzania
CRF11_cpx	A, CRF01_AE, G, J	Democratic Republic of Congo
CRF12_BF	B, F	Argentina, Uruguay
CRF13_cpx	A, CRF01_AE, G, J, U	Cameroon
CRF14_BG	B, G	Spain
CRF15_01B	CRF01_AE, B	Thailand

*Adapted from the HIV Sequence Database(<http://hiv-web.lanl.gov/content/hiv-db/CRFs.html>).

在动物体内的试验能很好的模拟人类 HIV 超感染进程, 而且可以充分的考虑剂量、感染途径和感染毒株等参数。Otten 对短尾猴的 HIV-2 的超感染试验得到比较明确的结果^[18], 18 只短尾猴在初次感染 HIV-2 之后的 2~72 周之间不同的时间点分别接种了

收稿日期: 2004-07-04, 修回日期: 2004-08-24

作者简介: 童骁(1969-), 男, 湖北省籍, 博士生, 主要从事艾滋病病毒学研究。

** 通讯作者: 邵一鸣(1957-), 男, 山东省籍, 研究员, 主要从事医学病毒学研究。

Corresponding author. Tel:010-63166184, E-mail:

另外的HIV-2毒株。虽然超感染发生数量在第二周达到4/4,但在第4周降低到1/4,并且在8周以后被完全阻断。这样一个窗口期的存在反映的正是机体的免疫保护反应和病毒清除机制的建立过程,在机体建立对病毒的体液免疫反应、细胞免疫反应和病毒清除机制的不同阶段得到相应的超感染的结果,并且在建立了免疫保护和病毒清除机制的8周之后,没有观察到超感染的发生。这样的试验结果,让人们乐观的认为HIV的初次感染可以激发有效的免疫保护反应,能防止超感染的发生,并且期待具有交叉保护效果的HIV疫苗诞生。然而早期的一项对黑猩猩的重复感染试验却得到相反的结果,由于实验初期技术条件限制,当时并没有观察到预期的免疫缺陷反应和相应的病毒载量数据^[19],但在试验的10年之后,在试验的黑猩猩体内却检测到当时进行超感染的两株病毒以及它们的重组病毒株^[20]。这种重组病毒的产生正是超感染的结果,这一结果让人们不能不怀疑现在流行的HIV-1重组毒株的真实来源更有可能源于HIV-1的超感染而不是共感染,因为从感染的时间上看,超感染的发生几率远大于共感染。

2 人体内 HIV 的超感染

2.1 人体HIV超感染的发生背景

机体在HIV-1急性感染之后的几个星期内,会建立起针对该病毒的免疫保护反应,使得病毒载量从 $10^7/\text{mL}$ 下降到 $10^4/\text{mL}$,已经证明这种免疫保护反应和病毒清除机制与 CD8^+ -T淋巴细胞反应密切相关^[21,22],这样的免疫反应对以后的超感染具有保护作用,然而最近的HIV超感染的报道证明了这样的保护作用是不完全的。

人免疫缺陷病毒分为HIV-1和HIV-2两类,HIV-1又可以被分为三个组:M组(Major)、O组(Outlier)和N组(Non-M, non-O),而M组下面又可以进一步分为亚型。所以人HIV的超感染可以分为不同的层面:HIV-1和HIV-2之间、HIV-1组之间、HIV-1亚型间的以及亚型内的超感染。

关于HIV-1和HIV-2间的超感染有几例报道^[23,24],然而对于HIV-1和HIV-2在超感染中的相互影响还不太明确。虽然HIV-2的感染能够对其后的HIV-1感染产生部分的保护作用,但保护是不完全的,尽管HIV-2对HIV-1的复制干扰被认为是保护机制的一种^[25],但明确的保护原理还没有得到阐明。这些数据显示,HIV的超感染是存在的,但是超感染的发生肯定会受到初次感染病毒的干扰,至于在

初次感染中产生的免疫学反应,哪些在超感染中起到保护作用,目前尚未有明确结果。目前世界上流行的毒株绝大部分是HIV-1型的,对HIV-1的超感染的讨论将更具有现实意义,这种超感染包括亚型间的和亚型内的。

2.2 HIV-1 的亚型间超感染

HIV-1的M组中,依据env和gag蛋白氨基酸残基的变异情况,分为9个亚型(A,B,C,D,F,G,H,J,K),此外还有15个流行的重组病毒株(CRF),病毒亚型间的氨基酸差异在env基因是30%以上而在gag基因是15%以上。最先报道的HIV-1超感染就是两例亚型毒株间的超感染^[4],Ramos报道了两例来自泰国曼谷的吸毒者,第一例是在感染CRF01_AE亚型毒株1-2个月后再感染了B亚型毒株,第二例是在感染B亚型毒株5-8个月之后再次感染了CRF01_AE亚型毒株,在两例超感染者血清中可以持续检测到两种毒株,通过检测亚型特异性的抗体和T细胞免疫反应,发现两种毒株间的免疫交叉反应几乎没有或者非常微弱,而且免疫反应只针对首次感染的毒株^[4]。另外Jost报道的一例^[21]也有类似情况,一名CRF01_AE毒株的感染者在感染后第27个月,暂停药物治疗后的第3个月感染了B亚型HIV-1病毒,免疫反应主要针对首次感染毒株,针对后感染毒株的细胞免疫反应非常微弱,而血清中的病毒主要是后感染的病毒亚型,没有提供抗体反应的相关数据^[2]。

从以上3例报道可以看出,HIV-1的初次感染所激发的免疫反应,没有给宿主提供对其他亚型病毒的完全交叉保护,从而导致超感染的发生。疫苗的动物试验结果已经显示,要在亚型间产生交叉保护是非常难以达到的目标^[26],可能需要多价的疫苗才有可能实现。虽然有部分的研究观察到对不同的亚型病毒或者抗原存在一些抗体和T细胞的交叉免疫反应^[27-29],但是这样的交叉反应在抵抗感染中实际的保护作用到目前还没有任何的证明。HIV的多样性程度和其抗原性保守程度构成了矛盾的主体,HIV能逃避宿主的免疫反应,快速的变异是HIV的重要特征之一,实际上HIV-1的变异程度超过了流感,而流感的疫苗事实上每年都在根据毒株的变异特点作出更改,可以认为HIV-1超感染的出现给免疫学研究提出了新的课题,也为HIV-1的疫苗研究提出了更多的挑战。

2.3 HIV-1 亚型内的超感染

HIV亚型间的超感染的出现,还是比较容易理解和接受的事实,毕竟感染的病毒基因差异有30%以上,然而亚型内的超感染的发现增加了问题的

复杂性。目前仅有两例同亚型毒株的超感染的报道^[1,3]，其中有一例作了比较细致的免疫学分析^[1]，一名感染了 HIV-1 B 亚型毒株的感染者，参加了药物间歇疗法，在第二次停药期间，病毒载量一直维持在 <1000/mL 的水平，在感染了新的 HIV-1 B 亚型病毒后，病毒载量上升 (>50000/mL) 而且 CD4 细胞计数突然急剧降低到 515，通过毒株特异性的引物扩增检测，发现后来的主导病毒在超感染之前并不存在，经过几乎全序列的测定和比较，两个毒株的氨基酸差异只有 12%。毒株间 12% 的序列差异以及毒株特异的 PCR 检测证明是两种 B 亚型的毒株，而不是一个毒株的体内变异株。

这 12% 的序列差异导致了引起 CD8⁺-T 细胞反应的 25 个抗原表位中的一半表位的丢失，然而最主要的 P24 抗原表位得到了保留，体液免疫（抗体）的交叉反应几乎完全丧失，病毒特异性的 CD4⁺-T 细胞交叉反应得到较好的保持。虽然 CD8⁺-T 细胞免疫反应在体内能够控制初次感染的 HIV 病毒的复制，但在缺乏抗体免疫反应的情况下，较高水平的 CD4⁺ 和 CD8⁺ 细胞免疫交叉反应未能使机体有效抵抗同亚型病毒的超感染发生。与初次感染病毒相比，超感染毒株只保留了几个主要 CD8⁺-T 细胞免疫反应表位，如果其他次要 CD8⁺-T 细胞免疫反应表位产生作用，也许会有不同的免疫效果。对导致体液免疫丧失交叉反应的原因的进一步探索，也将使我们更明确激发体液免疫反应的 HIV 抗原表位的作用情况，并将这些发现应用到新型疫苗的研究中，使 HIV 疫苗更加具有效率和针对性。

3 HIV-1 超感染与临床病程和疫苗免疫

3.1 HIV 超感染和病毒重组

前面我们列出了主要的流行 HIV-1 重组病毒，而重组病毒的流行速度正变得越来越快^[6,30,31]，重组的发生必须以两株病毒同时感染一个机体为前提，不论这种感染是超感染或者共感染。越来越多的重组病毒的流行以及超感染病例的逐渐被报道，目前更倾向于认为超感染是重组发生的主要原因^[32]。以前产生的重组病毒到底来自于超感染还是共感染，现在无法考证，而最近的一个报道明确给出了超感染病例体内产生重组病毒的实例^[33]。重组可以发生在同亚型和不同亚型之间，由于技术条件的限制，不同亚型间的重组更容易被人们发现，其原因在于序列差异和免疫差异更加明显。然而从流行病的角度看，HIV 携带者接触同亚型的可能性更高，特别是对于高危人群，产生亚型内的重组病毒的机

会更高。

发生超感染和病毒重组之间的对应频率目前还没有确切的数据证明，但是有研究显示一个被感染细胞平均有 3-4 个前病毒的存在^[34]，而每个病毒复制周期内会有不止一次的重组发生^[35,36]，实际上 HIV 复制过程中发生重组的频率已经超过了点突变的频率^[37]。所以，当被 HIV 感染的细胞暴露于超感染毒株的时候，重组病毒的产生将会是高频率事件。重组的发生很大程度上提高了 HIV 的变异性，给 HIV 的变异引入了毒株之间序列交叉，使得 HIV 的变异频率和变异的幅度同时得以增加，而当重组在超感染个体中发生时，更加会导致亚型间重组毒株的产生。

3.2 超感染和疾病进程

从近期报道的全部 5 例 HIV-1 超感染病例中观察到，患者都伴随有一个病毒载量急剧上升而 CD4 细胞计数明显下降的病理反应，显示感染者在发生超感染之后，疾病进程发生了转折。然而这种急剧的变化会随着机体免疫反应的产生而逐步稳定，但是超感染对疾病进程的加速作用看来是不可避免^[1]。

在超感染的个体内，首先，超感染的病毒成为主要繁殖的病毒，其病毒载量远超过初次感染的毒株，仅仅依赖宿主的免疫反应难以控制病毒的复制；其次，两种病毒在体内的共存会加快病毒的重组和变异速度，加速的变异必然会导致毒株对免疫系统的逃避；并且，病毒的重组会导致更多的耐药株的出现，使得病毒的控制和疾病治疗更加困难^[39]。而另一方面，超感染不仅加速耐药毒株的产生，而且耐药毒株还可以通过超感染的方式传播，增加了抗药毒株的流行速度^[38]。目前的高效抗逆转录病毒的治疗是非常有效的治疗方法，成功的控制了病毒在体内的复制，然而超感染的出现，将会增加耐药株的产生和传播速度，使得艾滋病的治疗和控制会更加困难和复杂。

3.3 超感染和疫苗研究

超感染的发生改变了人们对 HIV 免疫保护的认知，HIV 病毒对人体的初次感染所激发的病毒特异性的免疫反应不能有效的保护人体抵抗 HIV 毒株的再次感染。而这种免疫反应的保护作用正是疫苗设计的原理和基础。当然仅就目前发现的几例超感染来看，还不能认为超感染是一个普遍现象，特别是对亚型内的超感染而言。从已经报道的亚型内超感染看来，机体还是能产生比较强烈的免疫交叉反应，至于什么程度的免疫反应能起到有效的保护作用，以及什么程度的病毒变异能逃避免疫保护，

目前都还是没有明确的因素, 这些因素的阐明将会有利于 HIV 疫苗的研究, 以取得具有更广泛和更有效的免疫保护效果。当然超感染的出现也会让现有的部分疫苗研究计划希望更加渺茫, 从现在正在进行的 HIV 疫苗研究看来, 大部分的疫苗计划并没有期望对不同亚型 HIV 病毒的感染起到很好的交叉保护作用^[40]。

缺乏交叉免疫保护导致 HIV 超感染在一些个体发生, 但是我们还不能完全确定这些超感染病例是个别现象还是普遍的存在。亚型间的和亚型内的超感染频率都缺乏流行病学数据支持, 对于这个问题的充分认识将导致 HIV 的疫苗研究策略的重大调整。另外, 还要注意到正常人和 HIV 携带者对 HIV 病毒的感染会有不同的免疫反应效果, 也就是说超感染过程中的免疫反应不能代表经过疫苗接种的正常人的免疫反应。毕竟 HIV 携带者体内的 HIV 病毒会持续感染和破坏病毒特异性的 CD4⁺ 细胞, 而 CD4⁺-T 细胞的免疫反应对于病毒特异性的 T 淋巴细胞杀伤反应起着关键作用, 或许正常人的 CD8⁺-T 淋巴细胞反应就能起到有效的免疫保护作用。可以这样认为, 超感染的出现提出了许多挑战性问题, 人类 HIV 疫苗的研究需要作出战略性调整, 而疫苗成功的希望也不并是那么的渺茫。

4 超感染揭示的问题与挑战

超感染病例的出现, 反映了机体不完全的免疫保护反应, 对目前的疫苗研究策略也提出了重要的警示, 除此之外, HIV 超感染的许多相关问题还有待阐明, 将会对 HIV 的治疗、行为干预和疾病控制等一系列策略产生重要影响。

我们仅见到了 5 例超感染发生的报道, 但是超感染的发生频率还有待调查, 超感染发生频率和毒株基因距离的关系需要更多的数据来说明, 甚至抗原表位的差异程度对超感染发生的影响也需要深入了解。在欧美地区, HIV 携带者大部分都是感染的同一亚型病毒, 发生亚型内超感染的机会将远远大于亚型间的超感染, 而亚型内超感染的检测难度大的多, 这也是超感染病例较少发现的原因之一。在中国, HIV 携带者的亚型分布比较分散, 主要的亚型就有 B、C、E 以及 B/C 重组毒株, 发生超感染的情况将会比欧美地区更加复杂, 超感染导致的后果可能更加严峻, B/C 病毒重组在中国发生或许就部分说明了这种情况的严峻性。

已经发现的超感染病例中, 既有通过血液传播的也有通过体液的传播的, 然而我们并不了解不同

传播途径对超感染发生的影响有多大。虽然一般的推测认为, 体液传播要经过更多的免疫屏障, 通过这个途径发生超感染的几率要小, 但是超感染是在机体已经对初次感染建立了免疫反应的情况下发生的, 不同途径的感染几率也有可能发生变化, 要得到确实结论和证据还需要更深入的研究。

超感染的出现, 显示 HIV 初次感染所激发的免疫反应不能有效抵抗另外 HIV 毒株对机体的再次感染, 但是超感染发生的个体免疫背景和经过疫苗免疫的正常人是不一样的, 超感染的发生毕竟是在一个免疫系统被伤害的个体中发生的, 而这种免疫系统的损伤是一个持续的过程, 因此, 有必要了解超感染与初次感染的时间间隔对超感染频率的影响, 也需要探索什么样的免疫损伤程度和损伤类型与超感染的发生频率有关, 这些免疫机理的探索, 不仅有助于对超感染的防范与控制, 对整个 HIV/AIDS 的研究和控制而言也具有重要的意义。

HIV 超感染是一个新的挑战, 却关联了 HIV/AIDS 研究的许多方面, 超感染给 HIV 的治疗和控制增加了困难, 然而对其中机理的研究将增进我们对 HIV 感染的了解, 也将有力的促使研发的 HIV 疫苗更加有效。

参考文献

- [1] Altfeld M, Allen T M, Yu X G, *et al.* HIV-1 superinfection despite broad CD8⁺-T-cell responses containing replication of the primary virus[J]. *Nature*, 2002, 420:434-439.
- [2] Jost S, Bernard M C, Kaiser L, *et al.* A patient with HIV-1 superinfection[J]. *N Engl J Med*, 2002, 347:731-736.
- [3] Koelsch K K, Smith D M, Little S J, *et al.* Clade B HIV-1 superinfection with wild-type virus after primary infection with drug-resistant clade B virus[J]. *AIDS*, 2003, 17: F11-16.
- [4] Ramos A, Hu D J, Nguyen L, *et al.* Intersubtype human immunodeficiency virus type 1 superinfection following seroconversion to primary infection in two injection drug users[J]. *J Virol*, 2002, 76: 7444-7452.
- [5] Gao F, Robertson D L, Carruthers C D, *et al.* A comprehensive panel of near full length clones and reference sequences for non-subtype B isolates of human immunodeficiency virus type 1[J]. *J Virol*, 1998, 72: 5680-5698.
- [6] Kuiken C, Foley B, Hahn B, *et al.* HIV Sequence Compendium 2000[M]. Los Alamos, N M: Los Alamos National Laboratory; 2000.
- [7] Dowling W E, Kim B, Mason C J, *et al.* Forty-one near full-length HIV-1 sequences from Kenya reveal an epidemic of subtype A and A-containing recombinants[J]. *AIDS*, 2002, 16:1809-1820.
- [8] Sabino E C, Shpaer E G, Morgado M G, *et al.* Identification of human immunodeficiency virus type 1 envelope genes recombinant

- between subtypes B and F in two epidemiologically linked individuals from Brazil[J]. *J Virol*, 1994, 68:6340-6346.
- [9] Lole K S, Bollinger R C, Paranjape R S, Novak N G, *et al.* Full-length human immunodeficiency virus type 1 genomes from subtype C-infected seroconverters in India, with evidence of intersubtype recombination[J]. *J Virol*, 1999, 73:152-160.
- [10] Robertson D L, Sharp P M, McCutchan F E, *et al.* Recombination in HIV-1[J]. *Nature*. 1995, 374:124-126.
- [11] Salminen M O, Carr J K, Robertson D L, Hegerich P, *et al.* Evolution and probable transmission of intersubtype recombinant human immunodeficiency virus type 1 in zambian Couple[J]. *J virol*, 1997, 71: 2647-2655.
- [12] Diaz R S, Sabino E C, Mayer A, *et al.* Dual human immunodeficiency virus type 1 infection and recombination in a dually exposed transfusion recipient. The Transfusion Safety Study Group[J]. *J Virol*, 1995, 69: 3273-3281.
- [13] Kampinga G A, Simonon A, van de Perre P, *et al.* Primary infections with HIV-1 of women and their offspring in Rwanda: findings of heterogeneity at seroconversion, coinfection, and recombinants of HIV-1 subtypes A and C[J]. *Virology*, 1997, 227:63-76.
- [14] Thomson M M, Perez-Alvarez L, Najera R. Molecular epidemiology of HIV-1 genetic forms and its significance for vaccine development and therapy[J]. *Lancet Infect Dis*, 2002, 2:461 - 471.
- [15] Najera R, Delgado E, Perez-Alvarez L, *et al.* Genetic recombination and its role in the development of the HIV-1 pandemic[J]. *AIDS*, 2002, 16:S3-S16.
- [16] Xin K Q, Ma X H, Crandall K A, *et al.* Dual infection with HIV-1 Thai subtype B and E[J]. *Lancet*, 1995; 346: 1372-1373.
- [17] Kim J H, McLinden R J, Mosca J D, *et al.* Transcriptional effects of superinfection in HIV chronically infected T cells: studies in dually infected clones[J]. *J Acquir Immune Defic Syndr Hum Retrovirol*, 1996; 12:329-42.
- [18] Otten R A, Ellenberger D L, Adams D R, *et al.* Identification of a window period for susceptibility to dual infection with two distinct human immunodeficiency virus type 2 isolates in a *Macaca nemestrina* (pigtailed macaque) model[J]. *J Infect Dis*, 1999; 180: 673-684.
- [19] Fultz P N, Srinivasan A, Greene C R, *et al.* Superinfection of a chimpanzee with a second strain of human immunodeficiency virus[J]. *J Virol*, 1987; 61:4026-4029.
- [20] Wei Q, Fultz P N. Extensive diversification of human immunodeficiency virus type 1 subtype B strains during dual infection of a chimpanzee that progressed to AIDS[J]. *J Virol*, 1998; 72: 3005-17.
- [21] Jin X, Bauer D E, Tuttleton S E, *et al.* Dramatic rise in plasma viremia after CD8(+) T cell depletion in simian immunodeficiency virus-infected macaques[J]. *J Exp Med*, 1999;189:991-998.
- [22] Schmitz J E, Kuroda M J, Santra S, *et al.* Control of viremia in simian immunodeficiency virus infection by CD8+ lymphocytes[J]. *Science*, 1999;283:857-860.
- [23] Sarr A D, Sankale J L, Gueye-Ndiaye A, *et al.* Genetic analysis of HIV type 1 in onotypic and dual HIV infections[J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2000; 16:295-8.
- [24] Andersson S, Norrgren H, Dias F, *et al.* Molecular characterization of human immunodeficiency virus (HIV)-1 and -2 in individuals from Guinea-Bissau with single or dual infections: predominance of a distinct HIV-1 subtype A/G recombinant in West Africa[J]. *Virology*, 1999; 262:312-20.
- [25] Dern K, Rubsamen-Waigmann H, Unger R, Inhibition of HIV type 1 replication by simultaneous infection of peripheral blood lymphocytes with human immunodeficiency virus types 1 and 2[J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2001; 17:295-309.
- [26] Wyand M S, Manson K, Montefiori D C, *et al.* Protection by live, attenuated simian immunodeficiency virus against heterologous challenge[J]. *J Virol*, 1999; 73: 8356-63.
- [27] Cao H, Mani I, Vincent R, *et al.* Cellular immunity to human immunodeficiency virus type 1(HIV-1) clades: relevance to HIV-1 vaccine trials in Uganda[J]. *J Infect Dis*, 2000;182:1350-6.
- [28] Fukada K, Tomiyama H, Wasi C, *et al.* Cytotoxic T-cell recognition of HIV-1 cross-clade and clade-specific epitopes in HIV-1-infected Thai and Japanese patients[J]. *AIDS*, 2002;16:701-711.
- [29] Dorrell L, Willcox B E, Jones E Y, *et al.* Cytotoxic T lymphocytes recognize structurally diverse, clade-specific and cross-reactive peptides in human immunodeficiency virus type-1 gag through HLA-B53[J]. *Eur J Immunol*, 2001; 31:1747-1756.
- [30] Najera R, Delgado E, Perez-Alvarez L, *et al.* Genetic recombination and its role in the development of the HIV-1 pandemic[J]. *AIDS*, 2002, 16:S3-S16.
- [31] Malim M H, Emerman M. HIV-1 sequence variation: drift, shift, and attenuation[J]. *Cell*, 2001, 104:469-472.
- [32] Goulder P J R, Walker B D, HIV-1 Superinfection-A Word of Caution[J]. *N Engl J Med*, 2002;347:756-758
- [33] Fang G, Weiser B, Kuiken C, *et al.* Recombination following superinfection by HIV-1[J]. *AIDS*, 2004, 18:153-159.
- [34] Jung A, Maier R, Vartanian J P, *et al.* Multiply infected spleen cells in HIV patients[J]. *Nature*, 2002;418:144.
- [35] McCutchan F E. Understanding the genetic diversity of HIV-1 [J]. *AIDS*, 2000;14:S31-44.
- [36] Jetzt A E, Yu H, Klarmann G J, *et al.* High rate of recombination throughout the human immunodeficiency virus type 1 genome [J]. *J Virol*, 2000, 74:1234-40.
- [37] Peeters M. Recombinant HIV Sequences: Their Role in the Global Epidemic[A]. Korber B T, Brander C, Walker B D, *et al.* Molecular immunology compendium reviews[C]. Los Alamos, NM: Los Alamos National Laboratory, Theoretical Biology and Biophysics, 2000,
- [38] Bikram C, Patti K, Hector R R, *et al.* Can HIV-1 superinfection compromise antiretroviral therapy? [J]. *AIDS*, 2004, 18: 132-134.
- [39] #Jason T B, Daniel E C, Kenneth H M. Human Immunodeficiency Virus Superinfection and Recombination: Current State of Knowledge and Potential Clinical Consequences[J]. *Clinical Infectious diseases*, 2002, 34:1108-1114.
- [40] 40, Allen T M, Altfeld M, HIV-1 superinfection[J]. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 2002, Volume112(5) :829-835.