

## HIV-1 附属蛋白特异性细胞毒性 T 细胞应答研究\*

黄德东<sup>1</sup>, 孙永涛<sup>1\*\*</sup>, 翟嵩<sup>1</sup>, 赵曙光<sup>1</sup>, 王少扬<sup>1</sup>, 庄严<sup>1</sup>, 李新红<sup>1</sup>,  
康文臻<sup>1</sup>, 余旭<sup>2</sup>, Marcus Altfeld<sup>2</sup>, Bruce D. Walker<sup>2</sup>

(1. 第四军医大学唐都医院全军感染病诊疗中心, 陕西西安 710038; 2. Partners AIDS Research Center, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02129, USA)

## Specific Cytotoxic T Lymphocytes Responses to Human Immunodeficiency Virus Type 1 Accessory Proteins

HUANG De-dong<sup>1</sup>, SUN Yong-tao<sup>1\*\*</sup>, ZHAI Song<sup>1</sup>, ZHAO Shu-guang<sup>1</sup>, WANG Shao-yang<sup>1</sup>,  
ZHUANG Yan<sup>1</sup>, LI Xin-hong<sup>1</sup>, KANG Wen-zhen<sup>1</sup>, Xu G. Yu<sup>2</sup>, Marcus Altfeld<sup>2</sup>, Bruce D. Walker<sup>2</sup>  
(1. The Center of Diagnosis and Treatment for Infectious Diseases of PLA, Tangdu Hospital, The Fourth Military Medical University, Xi'an, 710038, China; 2. Partners AIDS Research Center, Massachusetts General Hospital, Harvard Medical School, Boston, MA 02129, USA)

**Abstract:** The HIV-1 accessory proteins (Nef, Vpu, Vpr and Vif) are essential for viral replication, and may be processed for recognition by CTL. However, only limited data are available to evaluate the CTL responses against these proteins in naturally infected individuals. In this study, CTL responses against the accessory proteins of HIV-1 clade B (HIV-1B) and C (HIV-1C) were analyzed in 61 HIV-1 infected individuals and 10 HIV-1 negative controls by using 142 overlapping peptides according to the consensus sequence spanning the entire accessory proteins. Peptide-specific interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) production was measured by Enzyme-Linked Immunospot (ELISPOT) assay. Either HIV-1B or HIV-1C accessory proteins serve as targets for HIV-1-specific CTL, especially the peptides in Nef region are targeted at higher cumulative magnitude and wider frequency than other accessory proteins ( $P < 0.001$ ). The cumulative magnitude and the frequency of CTL responses between clade B and C are not significantly different ( $P > 0.05$ ), including the immunodominant domains. The cumulative magnitude of HIV-1-specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses to accessory proteins of HIV-1B or HIV-1C contribute nearly 21% of the total HIV-1-specific CTL response. These data indicate that, despite the sizes of these accessory proteins targeted by CTL in natural HIV-1 infection is very small, these proteins contribute considerably to the total HIV-1-specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses. These findings are relevant for the evaluation of the specificity and breadth of immune responses in naturally infected individuals, and will be useful for the design and testing of candidate HIV-1 vaccines.

**Key words:** Human immunodeficiency virus type 1; Cytotoxic T lymphocyte; Enzyme-Linked Immunospot

**摘要:** 人类免疫缺陷病毒 (Human immunodeficiency virus, HIV) 附属蛋白 Nef、Vpu、Vpr 和 Vif 在病毒复制中起着关键作用, 并能被细胞毒性 T 细胞 (Cytotoxic T Lymphocyte, CTL) 识别。然而, 对我国 HIV 感染者体内附属蛋

收稿日期: 2006-05-08, 修回日期: 2006-09-08

\* 基金项目: 国际合作基金 (NIAID Contract NO. N01-AI-30024)

作者简介: 黄德东(1978-), 男, 湖北松滋籍, 医师, 硕士生, 研究方向为 HIV 感染与免疫。  
Tel: (029)84777595; E-mail: hddmy@hotmail.com

\*\* 通讯作者: 孙永涛(1963-), 湖北荆州籍, 教授, 博士, 博士生导师, 研究方向为 HIV 感染与免疫。  
Corresponding author. Tel: (029)84777652, E-mail: yongtaos@hotmail.com

白特异性的 CTL 应答研究比较少。本研究应用覆盖 HIV-1B、C 亚型附属蛋白 (Nef、Vpu、Vpr 和 Vif) 的 142 个肽段作为抗原, 通过酶联免疫斑点实验 (Enzyme-Linked Immunospot, ELISPOT) 检测 61 例中国 HIV/AIDS 患者和 10 例 HIV-1 血清阴性对照的 HIV-1 附属蛋白特异性 CTL 应答。无论对 HIV-1B 亚型还是 HIV-1C 亚型附属蛋白都能产生特异性 CTL 应答, 特别是 Nef 区蛋白的反应频率和累积应答强度都较高 ( $P < 0.001$ ), B、C 亚型间的应答频率和累积应答强度都无显著差别 ( $P > 0.05$ ), 其免疫优势区也大致相同。附属蛋白特异性的累积 CTL 应答强度将近达到总应答的 21%。这些结果表明尽管 HIV-1 附属蛋白的体积小, 但它们在诱导特异性的 CTL 应答中发挥了重要作用, 对评价 HIV-1 免疫应答的幅度和特异性以及研发针对中国人群的 HIV 疫苗有重要的意义。

**关键词:** 人类免疫缺陷病毒 1 型; 细胞毒性 T 细胞; 酶联免疫斑点实验

**中图分类号:** R512.91

**文献标识码:** A

**文章编号:** 1003-5125(2006)06-0529-07

全球艾滋病 (Acquired Immunodeficiency Syndrome, AIDS) 流行趋势日益严重, 由于抗病毒治疗费用高、副作用大、病毒不能完全清除等局限性, 使得人类不得不寻找新的解决途径。近年来对感染猿猴免疫缺陷病毒 (Simian immunodeficiency virus, SIV) 的短尾猿模型的研究, 有力的证实了 CTL 在控制 HIV 感染和病毒复制过程中起着至关重要的作用<sup>[1]</sup>。通过对 HIV-1 自然感染过程的观察发现, 在 HIV-1 感染初期, 甚至在 HIV-1 特异性抗体出现之前, 感染者的外周血中已有大量有活性的 CTL 存在<sup>[2]</sup>。HIV-1 感染后病情进展缓慢或长期无进展者 HIV-1 特异性 CTL 功能强, 抗逆转录病毒治疗有效者 CTL 明显增高, 故而以 CTL 为基础的 HIV 疫苗设计成为当前研究的热点<sup>[3]</sup>。近期对 HIV-1 特异性免疫应答的分析主要集中在 HIV-1 结构蛋白 Gag、Pol 和 Env 以及调节蛋白 Tat、Rev 特异性免疫评估上。然而关于感染中国人群的 HIV-1 附属蛋白的细胞免疫反应的资料比较有限, 本研究以我国流行的 HIV-1B 和 HIV-1C 亚型为基础, 通过 ELISPOT 方法检测附属蛋白 (Nef、Vpu、Vpr 和 Vif) 特异性 CTL 应答, 对其 CTL 应答的免疫特征进行深入探讨。

## 1 材料和方法

### 1.1 研究对象

根据 2002 年国家卫生部制定的 HIV/AIDS 诊断标准, 选取第四军医大学唐都医院感染病科 2003 年 3 月至 2006 年 2 月诊断的 61 例 HIV-1 感染者为研究对象, 年龄  $35.8 \pm 11$  岁; 其中男性 34 例, 女性 27 例;  $CD4^+$  T 细胞计数  $6-815$  cells/ $\mu$ L, 平均  $251$  cells/ $mL$ ; 病毒载量最高达  $1.8 \times 10^7$  copies/ $\mu$ L, 平均  $4.9 \times 10^5$  copies/ $\mu$ L。健康对照 10 例。所有研究对象均签署知情同意书。

### 1.2 主要试剂

RPMI1640 完全培养基及胎牛血清均购于美国

GIBCO 公司。PVDF 膜酶标板购于法国 Millipore 公司。IFN- $\gamma$  ELISPOT 检测试剂盒购于瑞典 Mabtech 公司。CD4/CD8/CD3 三色单抗及 FACS Calibur 均购于 BD 公司。病毒载量检测试剂盒购于 Roche 公司。植物血凝素 (phytohemagglutinin, PHA)、5-溴 4-氯 3-吡啶磷酸 (5-bromo-4-chloro-3-indoly-l-phosphate, BCIP) /氮蓝四唑 (nitroblue tetrazolium, NBT) 底物显色液及淋巴细胞分离液, 购于美国 Sigma 公司。覆盖 HIV-1B、C 亚型附属蛋白 (Nef、Vpu、Vpr 和 Vif) 氨基酸序列全长的 142 个肽段由哈佛大学麻省总医院艾滋病研究中心 Bruce D. Walker 博士惠赠, 其中每个肽段长 15~18 个氨基酸, 相邻肽段间有 10 个氨基酸重叠。

### 1.3 淋巴细胞的分离

抽取枸橼酸钠抗凝新鲜外周静脉血约 40 mL, 应用 Ficoll 密度梯度离心法分离获得外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cells, PBMC)。加入完全 RPMI1640 培养液 (含有 10g/L 谷氨酰胺及 100mL/L 胎牛血清), 用台盼蓝染色计数, 并调整细胞的浓度至  $1.0 \times 10^9$  个/L。

### 1.4 ELISPOT (Enzyme-linked immunospot) 检测<sup>[4]</sup>

用终浓度为 0.5mg/L 抗人 IFN- $\gamma$  的抗体包被 96 孔 PVDF 膜酶标板 4 $^{\circ}$ C 过夜, PBS 洗板后, 每孔加完全 RPMI1640 培养液 30 $\mu$ L 和  $1.0 \times 10^5$  个 PBMC 细胞, 并分别加入合成抗原肽 10 $\mu$ L (200 $\mu$ g/mL), 阳性对照加 PHA (200mg/L) 10 $\mu$ L; 阴性对照加入完全 RPMI1640 培养液 10 $\mu$ L, 于 37 $^{\circ}$ C、5% CO<sub>2</sub> 孵箱中孵育 12~14 h; 洗板后, 加入生物素标记的抗人 IFN- $\gamma$  抗体 (二抗), 室温放置 60min; 洗板后, 加碱性磷酸酶标记的链霉亲和素, 室温避光放置 45min, 洗板后, 加入终浓度为 0.3mg/mL 的 NBT 和 0.15mg/mL 的 BCIP 底物显色液 100 $\mu$ L/孔, 室温放置 15~20min, 至显色。每孔加入 0.5mL/L 的 Tween20-PBS 溶液 200 $\mu$ L, 室温放置 10min, 用自来水冲洗终止反应, 于 ELISOT 读板仪下读取蓝色斑

点数, 每个斑点代表一个特异性的 CD8<sup>+</sup> T 细胞, 用计数点形成细胞数 (Spot-forming cells, SFC) 来表示。阴性对照 < 50 SFC / 10<sup>6</sup> PBMC; 阳性对照孔孔底均为蓝色。每孔的 SFC 减去对照阴性孔的 SFC 为该孔肽段刺激 CTL 应答的强度。

1.5 统计学处理

采用 SPSS10.0 软件对研究结果进行分析, 分别用非参数检验、卡方检验对蛋白间 CTL 应答强度和频率进行比较, P < 0.05 被认为具有统计学意义。

2 结果

2.1 HIV-1 附属蛋白特异性 CTL 应答特征

根据 HIV-1B 亚型的附属蛋白的共有序列, 合成了包括 Nef、Vpu、Vpr 和 Vif 的 71 条肽段, 其中依次有 27、9、11、24 条, 能诱导特性的 CTL 应答的肽段数目依次为 26、4、7、17 条。10 名健康对照者均无应答。61 名研究对象中有 50 名对 HIV-1B 附属蛋白可产生特异性 CTL 应答, 其中 Nef、

Vpu、Vpr 和 Vif 特异性应答频率分别为 73.77% (45/61)、8.20% (5/61)、14.75% (9/61) 和 24.60% (15/61)。在累积应答强度中以 Nef 蛋白区最强, 次之为 Vpr 蛋白区, 如图 1 所示。应答频率以 Nef 蛋白区最高, 如图 2 所示。Nef 蛋白特异性的 CTL 应答频率最高的是 65-82 位氨基酸区的肽段 EVGFPV RPQVPLRPMTYK, 其应答频率为 27.87%, 而且它的累积应答强度也最强; 累积应答强度次之的是位于 112-127 氨基酸区的 LWVYHTQGYFPDWQNY, 其应答频率为 26.23%。Vpu 蛋白区 48-63 位氨基酸区的肽段 ERAEDSGNESEGDTEELSA 的应答频率最高为 4.92%, 其累积应答强度最强。Vpr 蛋白区, 应答频率最高 (8.20%) 的是位于 9-26 氨基酸区的肽段 GPQREPYNEWTLELLEEL, 其累积应答强度也最强。Vif 蛋白区中累积应答强度最强的是位于 114-129 氨基酸区的肽段 CFSESAIRNAILGHIV, 其应答频率也最高 (6.56%)。Nef、Vpu、Vpr、Vif 的应答强度间, 除了 Vpr、Vif 之间外均无显著性差

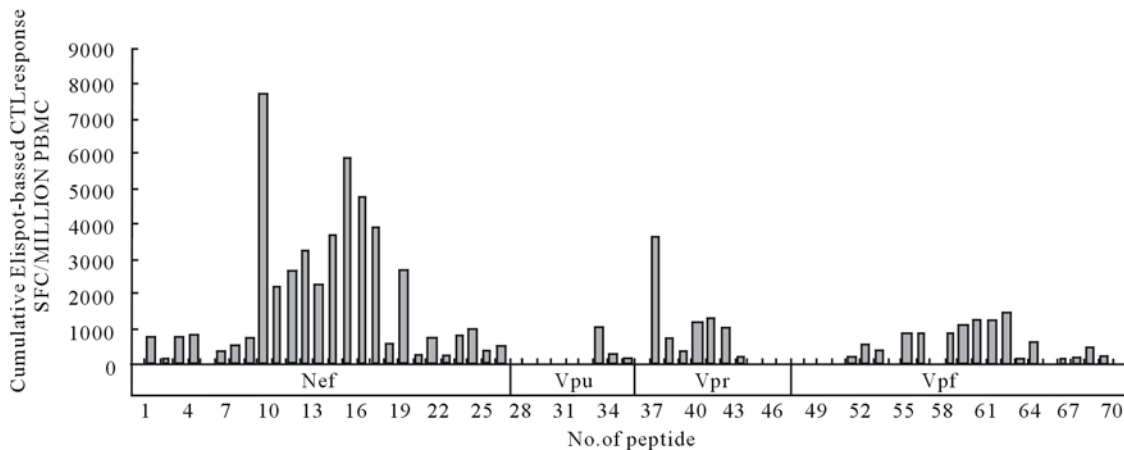


图 1 HIV-1 B 附属蛋白特异性累积 CTL 应答强度

Fig.1 The cumulative magnitude of specific Cytotoxic T-Lymphocyte response to HIV-1B accessory proteins  
The cumulative magnitude of specific Cytotoxic T-Lymphocyte response was defined as the sum of SFCs formed by deferent individual's CTL response to the peptide.

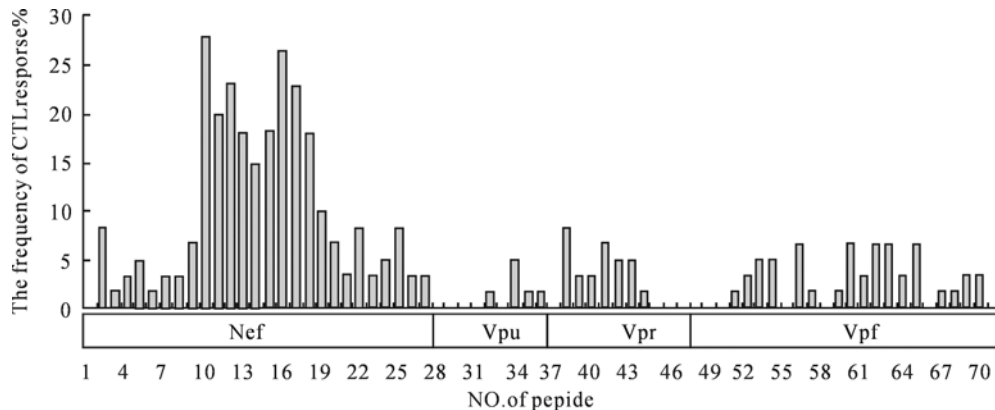


图 2 HIV-1B 附属蛋白特异性 CTL 应答频率

Fig.2 The frequency of specific Cytotoxic T-Lymphocyte response\*\* to HIV-1B accessory proteins  
The frequency of Specific Cytotoxic T-Lymphocyte Response = The number of samples of response to the peptide / The number of samplpes were detected

异 ( $P > 0.05$ ); 而 Nef 蛋白区的应答频率显著高于其它蛋白区 ( $P < 0.001$ ), Vif、Vpu 之间的应答频率也有显著性差异 ( $P = 0.014$ )。

根据 HIV-1C 亚型的附属蛋白的共有序列, 也合成了包括 Nef、Vpu、Vpr 和 Vif 的 71 条肽段, 其中依次有 27、9、11、24 条, 能诱导特性的 CTL 应答的肽段数目依次为 24、5、7、19。10 名健康对照者均无应答。61 名研究对象中有 47 名对 HIV-1C 附属蛋白的肽段可产生特异性的 CTL 应答, 其中 Nef、Vpu、Vpr 和 Vif 特异性应答频率分别为 65.57% (40/61)、6.56% (4/61)、16.39% (10/61) 和 31.15% (19/61)。在累积应答强度中以 Nef 蛋白区最强, 次之为 Vpr 蛋白区, 如图 3 所示。应答频率以 Nef 蛋白区最高, 如图 4 所示。Nef 蛋白特异性的 CTL 应答频率最高为 24.59%, 其肽段是位于 112-127 氨基酸区累积应答强度最强的肽段 LWVYHTQGYFPDWQNY 和位于 118-135 氨基酸区累积应答强度次强肽段 QGYFPDWQNYTPGP-GVRY。Vpu 蛋白区 48-63 氨基酸区的肽段 ERAEDSGNESEGDTEELSA 的应答频率最高 (4.92%), 累积应答强度也最强, 应答次强的是 66-82 氨基酸区的肽段 STMVDMGHLRLLDVNDL, 应答频率也为 4.92%。Vpr 蛋白区, 应答频率最高的是位于 9-26 氨基酸区的肽段 GPQREPYNEWTLELLEEL 为 11.48%, 其累积应答强度也最强。在 Vif 蛋白区中应答频率最高的是位于 120-137 氨基酸区的肽段 IRKAILGHIVIPRCDYQA, 为 8.20%; 累积应答强度最强的是位于 101-115 氨基酸区的肽段 GLADQLIHMHYFDCF。Nef、Vpu、Vpr、Vif 的应答强度间, 除了 Vif 与 Nef、Vpu 之间外均无显著性差异 ( $P > 0.05$ ); 而 Nef 蛋白的应答频率显著高于其它蛋白区 ( $P < 0.001$ ), Vif、Vpu 之间的应答频率也有

显著性差异 ( $P = 0.001$ )。

## 2.2 HIV-1B、C 亚型附属蛋白特异性 CTL 应答特征的比较

HIV-1 B、C 亚型间附属蛋白应答强度如图 1、图 3 所示, HIV-1 B 和 HIV-1C 两个亚型累积 CTL 应答强度最高的均是 Nef 蛋白, 次之为 Vpr 蛋白, Vpu 蛋白最低, Vpr 蛋白同 Vif 蛋白间有显著差异 ( $P = 0.005$ )。CTL 应答在 B、C 亚型附属蛋白单个肽段应答最强的氨基酸区域基本一致, 无论是 B 亚型还是 C 亚型 Nef 蛋白的 112-127、Vpu 蛋白的 48-63、Vpr 的 9-26 氨基酸区的肽段特异性的 CTL 累积应答强度都是所在蛋白区最强的。HIV-1B、C 亚型间附属蛋白应答频率如图 2、图 4 所示, HIV-1B 和 HIV-1C 两个亚型频率最高的均为 Nef 蛋白, 其次为 Vif 蛋白, Vpr 和 Vpu 的应答频率相对较低。B、C 亚型在四个蛋白区的应答频率均无显著差异 ( $P > 0.05$ ), 总的应答频率也无显著性差异 ( $P > 0.05$ )。两个亚型应答频率最高的肽段所在蛋白的氨基酸区域位置是基本一致的。

## 2.3 HIV-1 附属蛋白累积 CTL 应答强度对总应答的作用

对 61 名研究对象进行 HIV-1B 全基因组肽段特异性 CTL 应答检测结果表明 HIV-1B 亚型附属蛋白 (Nef、Vpu、Vpr 和 Vif) 平均应答强度占总应答强度的 20.92% (见图 5), 而且有的研究对象的特异性的 CTL 应答全集中在附属蛋白区, 如 22 号研究对象, 集中在 Nef 与 Vif 蛋白区。因此附属蛋白应答的忽视会造成对全部 CTL 应答的强度和应答频率的低估。8 号研究对象不对 HIV-1B 亚型的肽段产生应答, 只对 HIV-1C 亚型的肽段产生应答。

61 名研究对象进行 HIV-1C 全基因组肽段特异

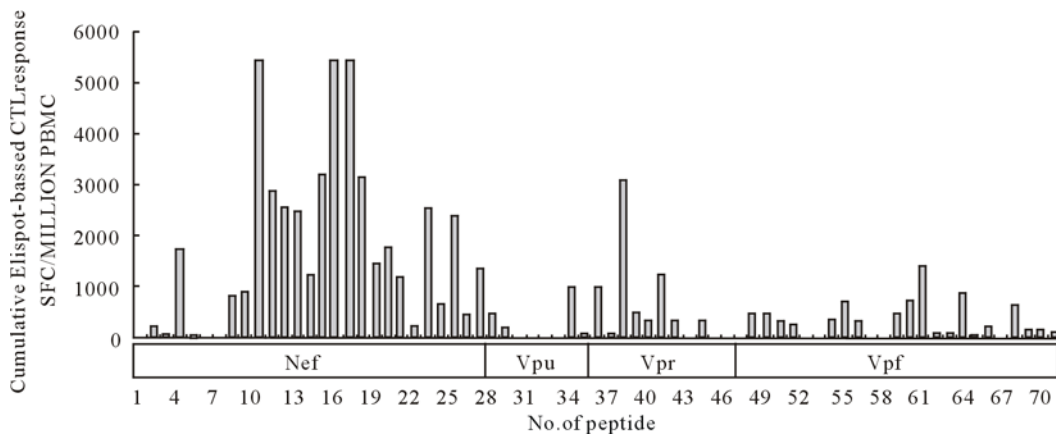


图 3 HIV-1 C 附属蛋白特异性累积 CTL 应答强度

Fig.3 The cumulative magnitude of specific Cytotoxic T-Lymphocyte response to HIV-1C accessory proteins

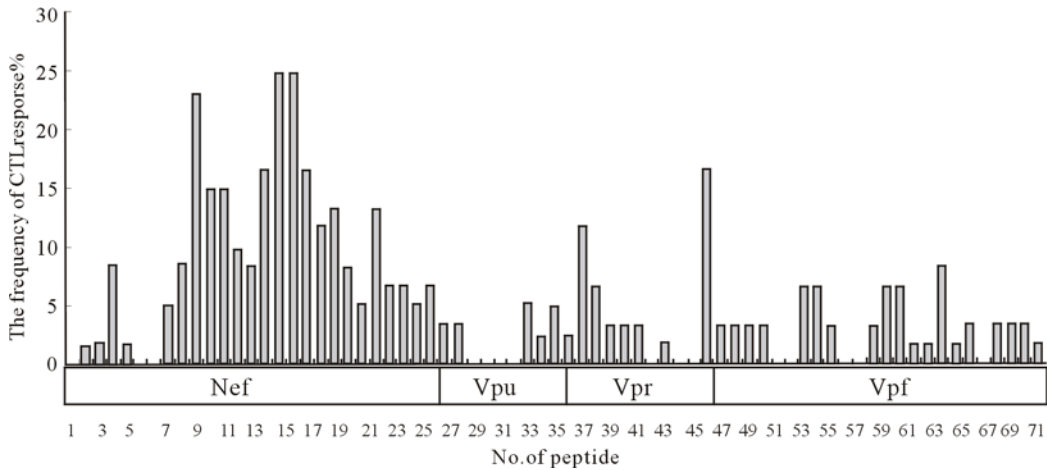


图 4 HIV-1 C 附属蛋白特异性 CTL 应频率

Fig.4 The frequency of specific Cytotoxic T-Lymphocyte response to HIV-1C accessory proteins

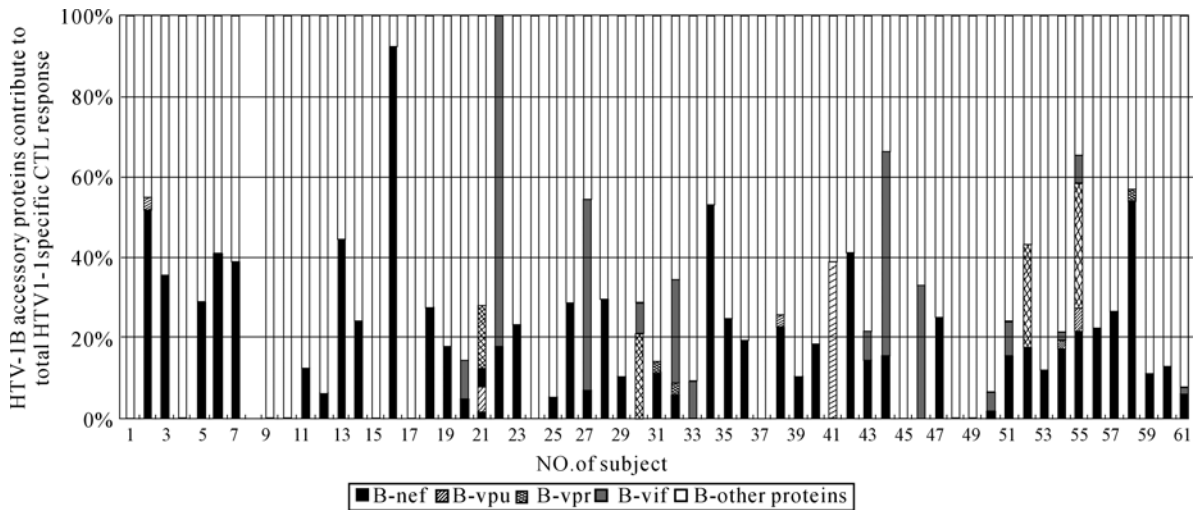


图 5 HIV-1 B 附属蛋白应答强度在总应答的分布

Fig.5 HIV-1B accessory proteins contribute to the total magnitude of HIV-1 specific CTL response

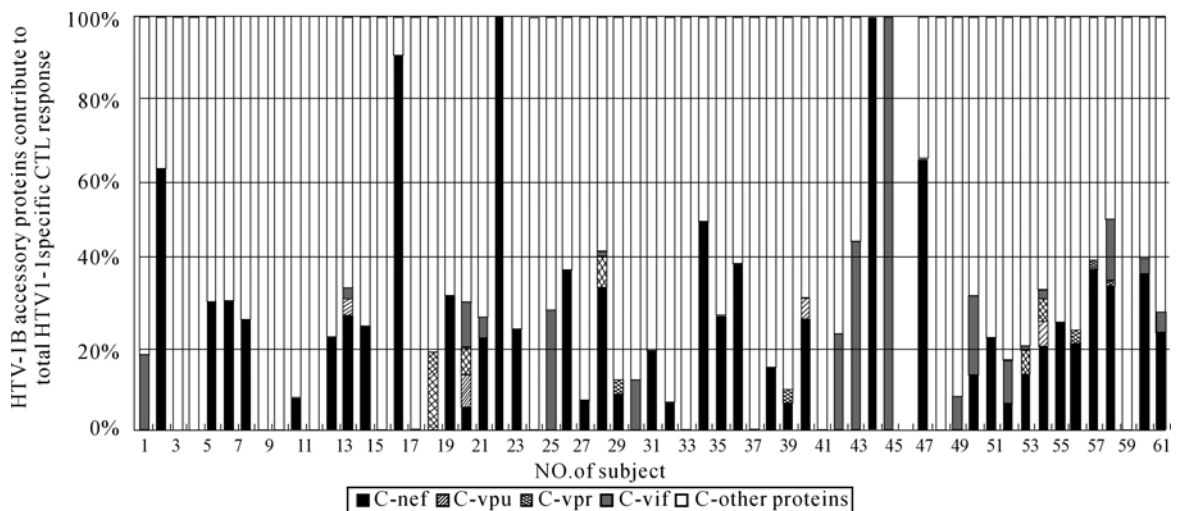


图 6 HIV-1C 附属蛋白应答强度在总应答的分布

Fig.6 HIV-1C accessory proteins contribute to the total magnitude of HIV-1 specific CTL response

性 CTL 应答检测表明 HTV-1C 亚型附属蛋白质(Nef, Vpu, Vpr 和 Vif) 应答强度占总应答强度的 20.82%

(见图 6), 而且有些研究对象的 CTL 应答全集中在附属蛋白区, 如 22、24 号研究对象进行 Nef 蛋白

区肽段应答、45 号研究对象仅对 Vif 区肽段应答。因此 HIV-1 附属蛋白特异性的 CTL 应答, 在 HIV 特异性的 CTL 应答中起重要作用。46 号研究对象中对 HIV-1B 亚型的太段产生应答, 而不对 HIV-1C 亚型的肽段产生应答。

### 3 讨论

目前全球现有 HIV 感染者或 AIDS 患者大约四千万人<sup>[5]</sup>, 高效抗逆转录病毒疗法 (HAART) 虽能降低部分患者的病毒载量, 但因费用高、药物副作用大难被大多数患者接受, 而且 HAART 不能完全清除病毒<sup>[6]</sup>, 故研制安全、有效的 HIV-1 疫苗是目前迫切需要解决的问题。大量证据表明, HIV-1 特异性 CTL 在控制 HIV 感染的发病中起着关键作用<sup>[7]</sup>, 故对其进行深入研究对于开发有效的 HIV-1 疫苗十分重要。目前, 除对白种人群流行的 B 亚型进行多方面研究外, 对其他人群及 HIV-1 其他亚型的 CTL 应答研究甚少。并且大多数关于 HIV-1 特异性免疫应答的分析主要集中在 HIV-1 结构蛋白 Gag、Pol 和 Env 以及调节蛋白 Tat、Rev 特异性免疫评估上<sup>[7-9]</sup>, 在中国人群中对 HIV-1 附属蛋白细胞免疫反应的研究还未见报道。中国部分地区流行 B 亚型, 部分地区流行 C 亚型, 还有部分地区流行 B、C 嵌合型, 并且 HLA-I 基因型的分布频率和白种人群明显不同, 决定其特异性的 CTL 应答规律也不同。所以对中国汉族人群 HIV-1 感染者特异性 CTL 应答的研究对于开发针对中国人群的 HIV 疫苗具有重要的指导意义。

本研究用覆盖 HIV-1B、C 亚型附属蛋白的 142 个肽段诱导 61 名 HIV 感染者 HIV-1 特异性的 CTL 应答显示: 无论是 HIV-1 B 亚型还是 HIV-1C 亚型, 应答频率最高的都是 Nef 蛋白区, 应答频率最低的都是 Vpu 蛋白区。有研究表明肽段诱导特异性 CTL 应答频率的高低可能与该区段的氨基酸的保守程度相关, 这四个蛋白中以 Vpr 的保守性最高, 而 Vif 次之, 再次为 Nef, 变异程度最高的是 Vpu<sup>[3,9,10]</sup>。本研究显示 Nef 蛋白区的应答频率最高, 不与其保守性一致, 其它蛋白区是保守性越好应答频率越高。Nef 蛋白区最长, 分布该区段表位的数目多, Nef 蛋白区的应答频率显得最高。而另一个影响 CTL 对蛋白识别的因素是这些蛋白在病毒感染中表达的量, 蛋白表达越多被 CTL 识别的频率就越大<sup>[7]</sup>。然而, 在 CTL 识别频率和抗原表达水平间存在着一种潜在的关系, 并且被其它因素影响, 比如抗

原处理和相应的蛋白提呈等。

本研究还发现, 无论是 HIV-1B 还是 HIV-1C 的各个附属蛋白都有累积应答强度较强且应答频率较高的免疫优势区和亚免疫优势区, 而且两个亚型的免疫优势区所在附属蛋白的氨基酸区域基本一致。据 V. Novitsky 研究表明这些免疫优势区或亚免疫优势区有一定程度的保守性, 可能在不同亚型间存在交叉应答。即使存在交叉应答, 同亚型的蛋白比不同亚型蛋白诱导的特异性的 CTL 应答强度要强<sup>[11]</sup>。由于这些免疫优势区大都处在保守区, B、C 亚型在该区域的氨基酸序列类似甚至相同, 所以可以诱导亚型间的交叉免疫。但是也有患者仅对 B 亚型的附属蛋白产生应答而不对 C 亚型附属蛋白产生应答; 也有仅对 C 亚型蛋白产生应答而不对 B 亚型附属蛋白产生应答, 这可能是存在高度亚型特异性的 CTL 应答<sup>[12]</sup>, 这也就与众多的候选疫苗只能诱导出对同型病毒的保护性免疫是一致的。本研究初步显示了 B、C 两亚型间的免疫优势区在中国人群中可能也存在交叉应答, 也可能存在亚型特异性的 CTL 应答, 但尚待我们后续病毒分型后进行分析。

附属蛋白在诱导特异性的 CTL 应答方面起着重要作用。附属蛋白诱导的特异性累积 CTL 应答强度高达 20.92%, 而其附属蛋白的长度不到 HIV 蛋白全长的 19%。有趣的是部分患者特异性的 CTL 应答全集中在附属蛋白区, 这可能与这部分人 HLA-I 限制性的表位大多集中在附属蛋白区有关。鉴于部分患者特异性的 CTL 应答仅仅发生在附属蛋白区, 设计疫苗时一定要将附属蛋白区的表位考虑在内。

总之, 我们的研究表明了 HIV-1 感染者无论对 HIV-1B 亚型还是 HIV-1C 亚型的附属蛋白都能产生特异性 CTL 应答, 并且应答在总应答中占有较高的比重。各个附属蛋白的免疫优势区可能处在相对保守的区域, 而且可能存在亚型间的交叉应答, 随着研究的深入, 我们在我国人群中对这些蛋白的最优表位进行筛选。联合多个应答强度强且应答频率高的保守性表位的 CTL 疫苗, 可能是设计安全有效的 HIV/AIDS 疫苗方向。我们将继续对附属蛋白在疾病进展过程中扮演的角色和它们对 HIV-1 疫苗的潜在作用进行深入研究。

### References

- [1] Altfield M, Rosenberg E S, Shankarappa R, *et al.* Cellular immune responses and viral diversity in individuals treated during acute and

- early HIV-1 infection [J]. *Exp Med*, 2001, 193: 169-180.
- [2] Goulder P J, Brander C, Tang Y, *et al.* Evolution and transmission of stable CTL escape mutations in HIV infection [J]. *Nature*, 2001, 412: 334-338.
- [3] Novitsky V, Cao H, Rybak N, *et al.* Magnitude and Frequency of Cytotoxic T-Lymphocyte Responses: Identification of Immunodominant Regions of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype C [J]. *J Virol*, 2002, 76 (20): 10115-10168.
- [4] Yu X G, Lichterfeld Mathias, Perkins B, *et al.* High degree of inter-clade cross-reactivity of HIV-1-specific T cell responses at the single peptide level [J]. *AIDS*, 2005, 19 (14): 1449-1456.
- [5] Joint United Nations Programme on HIV/AIDS (UNAIDS). Report on the global AIDS epidemic, Geneva Switzerland, December 2005. [http://www.who.int/hiv/epi-update2005\\_en.pdf](http://www.who.int/hiv/epi-update2005_en.pdf).
- [6] Allen T M, O'Connor D H, Jing P, *et al.* Tat-specific cytotoxic T lymphocytes select for SIV escape variants during resolution of primary viraemia [J]. *Nature*, 2000, 407: 386-390.
- [7] Addo M M., Yu X G, Rathod A, *et al.* Comprehensive Epitope Analysis of Human Immunodeficiency Virus Type 1 (HIV-1)-Specific T-Cell Responses Directed against the Entire Expressed HIV-1 Genome Demonstrate Broadly Directed Responses, but No Correlation to Viral Load [J]. *J Virol*, 2003, 77: 2081-2092.
- [8] Goulder P J, Brander C, Annamalai K *et al.* Differential narrow focusing of immunodominant human immunodeficiency virus Gag-specific cytotoxic T-lymphocyte responses in infected African and caucasoid adults and children. [J]. *J Virol*, 2000, 74:5679-5690.
- [9] Addo M M, Yu X G, Rosenberg E S, *et al.* Cytotoxic T-Lymphocyte (CTL) Responses Directed against Regulatory and Accessory Proteins in HIV-1 Infection [J]. *DNA and Cell Biology*, 2002, 21: 671-678.
- [10] Addo M M, Altfeld M, Rathod A, *et al.* HIV-1 Vpu represents a minor target for cytotoxic T lymphocytes (CTL) in HIV-1-infection [J]. *AIDS*, 2002, 6:1071-1073.
- [11] Novitsky V, Rybak N, Mclane M F, *et al.* Identification of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtype C Gag-, Tat-, Rev-, and Nef-Specific Elispot-Based Cytotoxic T-Lymphocyte Responses for AIDS Vaccine Design [J]. *J Virol*, 2001, 75: 9210-9229.

## Subscription note of *Virologica Sinica*

*VIROLOGICA SINICA* is an academic journal bimonthly. It is sponsored by Wuhan Institute of Virology, Chinese Academy of Sciences and Chinese Society for Microbiology, and published by Science Press, Beijing in China.

Its guiding principle emphasizes reporting new research result of theory and application of virology spheres on disease control and prevention, manufacture of medicine, plant protection, veterinary medicine, live-stock husbandry, aquatic production, fermentation industry and so on.

This journal publishes mainly academic papers, brief communications and notes which include insect viruses, animal viruses, medical viruses, veterinary viruses, plant viruses, aquatic biologic viruses, phages and viroids, as well as the new techniques methods, the newest advance of virology in China and abroad.

However, it is mainly open to those research workers, teachers, students and other specialists who work in academic institutions, universities and relative departments in virology and relative field.

Being authorized by The General Administration of Press and Publication of China, *Virologica Sinica* will change its publishing language into English in 2007. The journal's registration numbers are ISSN 1003-5125 and CN 42-1760/Q. Fix the price at: 10.0 US\$ / issue, 60.0 US\$ / year.

Welcome To subscribe to *Virologica Sinica*.

Address:

Editorial Office of *Virologica Sinica*  
Xiaohongshan Central 44, Wuchang, Wuhan 430071, China.  
E-mail: [bjb@wh.iov.cn](mailto:bjb@wh.iov.cn)  
[http:// www.virol.cn](http://www.virol.cn)