

## 中国 HIV 暴露未感者 CD4 + T 淋巴细胞的体外抗 HIV 活性<sup>△</sup>

苏艳丽\*, 尚红#, 刘静, 王树祥\*\*, 耿文清, 崔华露,  
姜拥军, 王亚男, 张子宁, 王亚婷

(中国医科大学 附属第一医院艾滋病研究中心, 沈阳 110001)

**摘要:** **目的** 了解中国经性途径暴露于人类免疫缺陷病毒 (HIV) 而未感染者 (ESN) 的 CD4 + T 淋巴细胞在体外的抗 HIV 活性, 探讨中国 ESN 的抗 HIV 感染机制。 **方法** 采用微量全血法分离培养 HIV 感染者的病毒株, 密度梯度离心法分离 ESN 外周血单个核细胞后用 MACS 磁分选法分选出 CD4 + T 淋巴细胞, 与 HIV 感染者的病毒分离株共培养, 检测共培养上清的 HIV-1 复制动力 (p24 抗原)。 **结果** ESN 组 CD4 + T 淋巴细胞对 M 嗜性分离毒株的复制动力显著低于健康对照组 ( $P < 0.05$ ); ESN 组 CD4 + T 淋巴细胞对 M 嗜性分离毒株的复制动力显著低于 T 嗜性分离毒株 ( $P < 0.05$ ); ESN 组 CD4 + T 淋巴细胞对 T 嗜性分离毒株及实验室毒株的感染能力与健康对照组相比差异无显著性 ( $P > 0.05$ )。 **结论** 中国 ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞对 M 嗜性病毒分离株有一定抵抗作用, 可能是经性接触暴露未感者抗 HIV 感染的主要影响因素。

**关键词:** 人类免疫缺陷病毒; 暴露未感者; M 嗜性; T 嗜性

**中图分类号:** R512.91 **文献标识码:** A **文章编号:** 1000-503X(2006)05-0613-05

## Resistance to HIV-1 Infection of CD4 + T Lymphocytes *in vitro* from Chinese HIV-1 Exposed Seronegative Individuals<sup>△</sup>

SU Yan-li\*, SHANG Hong#, LIU Jing, WANG Shu-xiang\*\*, GENG Wen-qing, CUI Hua-lu,  
JIANG Yong-jun, WANG Ya-nan, ZHANG Zi-ning, WANG Ya-ting

(Center for AIDS Research, the First Affiliated Hospital, China Medical University, Shenyang 110001, China)

**ABSTRACT: Objective** To determine the relative resistance to HIV-1 infection of CD4 + T lymphocytes in HIV-exposed seronegative individuals (ESNs) in China. **Methods** HIV primary isolates were obtained from peripheral whole blood of HIV-infected persons. CD4 + T lymphocytes of Chinese ESNs were separated from peripheral blood mononuclear cells with magnetic cell sorting (MACS). The purified CD4 + T lymphocytes were cocultured with HIV primary isolates. The p24 level was detected and the culture medium was refreshed every 3 days within 2 weeks. **Results** For M tropic HIV strains, p24 level was significantly lower in ESN group than in control group ( $P < 0.05$ ); for some M tropic HIV strains, even no p24 replicated in ESN group. However, T tropic virus strains had no significant difference between these two groups ( $P > 0.05$ ). **Conclusion** CD4 + T lymphocytes of Chinese ESNs may possess relative resistance to M tropic HIV strains, which may be one of the main influencing factors that result in ESN.

**Key words:** human immunodeficiency virus; exposed seronegative individual; M-tropism; T-tropism

*Acta Acad Med Sin*, 2006, 28(5):613-617

△基金项目: 国家自然科学基金 (30271188)、教育部博士点专项 (20040159005) 和辽宁省教育厅科技攻关计划 (2012215112) Supported by the National Natural Sciences Foundation of China (30271188), Fund of Center for Doctors of Ministry of Education (20040159005), and Science & Technology Tackle Project from the Educational Department of Liaoning Province (201225112); \* Medical Laboratory, Zhongshan International Travel Health Center, Zhongshan 528400; \*\* Medical Laboratory, Shunde International Travel Health Center, Shunde 528300; # Corresponding author Tel: 024-23254254, Fax: 024-23254254, E-mail: hongshang100@hotmail.com

已知绝大多数暴露于人类免疫缺陷病毒 (human immunodeficiency virus, HIV) 的人, 如与 HIV 感染者共用注射器的静脉吸毒者、与 HIV 感染者无保护频繁暴露者及 HIV 阳性母亲的新生儿, 均会被 HIV 感染, 但亦发现有个别人长期暴露于 HIV 却未被感染, 称为暴露未感者 (exposed seronegative individuals, ESNs)<sup>[1]</sup>。推测 ESN 的抗 HIV 感染活性可能与以下机制有关: (1) 病毒嗜性、缺陷病毒及病毒载量极低<sup>[2]</sup>; (2) 宿主的遗传因素, 如趋化因子受体 CCR2-64I、CCR5-Δ32 和趋化因子 SDF1-3'A 基因变异<sup>[3]</sup>; (3) 细胞免疫, 如 CD8 + T 淋巴细胞 HIV 特异性细胞毒性 T 淋巴细胞应答及非细胞毒抗 HIV 活性<sup>[4,5]</sup>, CD4 + T 淋巴细胞的抗 HIV 活性<sup>[6]</sup>; (4) 黏膜 IgA 免疫<sup>[7]</sup>, (5) 细胞凋亡等<sup>[8]</sup>。亦有研究认为不同人群外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 对 HIV 感染的敏感程度不同<sup>[9]</sup>。Paxton 等<sup>[10]</sup>报道欧美 ESN 人群的 CD4 + T 淋巴细胞对非合胞体诱导株 (non-syncytium-inducing, NSI, 又称为 M 嗜性) 有一定抵抗作用, 但对合胞体诱导株 (syncytium-inducing, SI, 又称为 T 嗜性) 及实验室毒株无抵抗作用。由于中国人免疫特性和遗传背景以及在中国流行的 HIV 病毒株特性不同于欧美人群, 为探讨中国 ESN 的抗 HIV 感染机制, 本研究检测了 11 例中国长期经性途径暴露于 HIV 的 ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞在体外的抗 HIV 活性。

## 对象和方法

**对象** 11 例 ESN 来自辽宁省及吉林省, 其中男 1 例, 女 10 例, 年龄 25 ~ 45 岁; 血清 HIV 抗体和 p24 抗原检测为阴性, 病毒载量检测不出; 均与其性伴 (HIV 感染者) 近期半年内有频繁 (10 次以上) 无保护性交<sup>[11]</sup>。健康对照组 10 例, 男 1 例, 女 9 例, 年龄 23 ~ 43 岁。

**标本采集** 两组各采集肝素钠抗凝全血 40 ml。

**病毒株来源** 7 株 HIV 病毒株备用, 1 株为中国疾病预防控制中心参比实验室惠赠的实验室毒株 SF33, 6 株为本实验室分离株; 用于病毒分离的 HIV 感染者及 ESN 性伴 (HIV 感染者) 均由中国医科大学附属第一医院艾滋病确认实验室经 Western blot 方法确认为 HIV 感染者。

**主要试剂和仪器** 淋巴细胞分离液 (Ficoll paque™ plus) 购自美国 Amersham Bioscience 公司,

RPMI Medium 1640 培养液、Dulbecco 磷酸盐缓冲液 (phosphate buffered saline, PBS) 和青链霉素购自美国 Gibco Invitrogen 公司, 白介素 2 (interleukin-2, IL-2) 和 HIV 载量试剂盒购自美国 Roche 公司, 胎牛血清购自美国 Hyclone Perbio 公司, Anti-CD4、anti-CD8 磁珠和 MACS 柱子购自德国 Miltenyi Biotec 公司, 核酸提取试剂盒 (QIAamp Blood Mini Kit) 购自德国 Qiagen 公司, CD4 绝对计数管及免洗溶血素购自美国 Becton Dickinson 公司, p24 抗原检测试剂盒购自法国 Dimerieux 公司。主要仪器有 II 级生物安全柜 (NU425-400E, Biogenet, Poland)、离心机 (GR-15S, Beckman, USA)、培养箱 (BB5060 BB16, Forma Scientific, USA)、倒置显微镜 (TMS, Nikon, Japan)、全自动病毒载量测定仪 (Cobas Amplicor, Roche, USA)、紫外凝胶成像系统 (CA 91786, upland, USA)、PCR 扩增仪 (GeneAmp PCR System 9600, Perkin-Elmer, USA) 和流式细胞仪 (FACSCalibur, Becton Dickinson, USA)。

**HIV 感染者病毒分离** 采用微量全血法<sup>[12]</sup>, 用密度梯度离心法分离健康人的外周血单个核细胞 (peripheral blood mononuclear cell, PBMC), 以含浓度为 2.5 μg/ml 植物血凝素 (phytohemagglutinin, PHA) 的 RPMI-1640 预刺激培养 72 h。将 HIV 感染者的肝素抗凝全血在 24 孔板上终点稀释, 加入 PBMC  $1 \times 10^6$  个/ml 进行复孔培养, 再加入含有 100 U/ml 的 IL-2 的 RPMI-1640 至 2 ml, 每 3 d 换液, 每 7 d 加入新鲜预刺激 72 h 的健康人 PBMC。1 周后, 每 3 d 测 1 次 p24, 直至 50 d。p24 阳性的上清收集冻存于液氮中。将分离的病毒株增殖并测定其半数组织培养感染量 (50% tissue culture infective dose, TCID<sub>50</sub>)。

**TCID<sub>50</sub> 检测** 提取 PBMC, 于培养瓶中刺激 1 ~ 3 d。用 RPMI-1640 (含 100 U 的 IL-2) 重悬, 调整浓度为  $4 \times 10^6$  /ml, 放入 37℃ 温箱中待用。在 96 孔板中部选 12 孔, 每孔加入 18 μl RPMI-1640, PBMC 悬液 50 μl, 再加入 200 μl 病毒 (复苏时 10 倍稀释), 在板上做 10 倍系列稀释。3 d 后换液, 第 7 d 测 p24。以 Spearman-Kärber 方法计算 TCID<sub>50</sub>。

**病毒嗜性测定** 单核细胞的分离和培养: 提取健康人的 PBMC 于培养瓶中 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵育 1 h, 粘附于瓶壁的为单核细胞。用冷的含 0.02% EDTA 的 PBS 反复吹打重悬瓶壁上的单核细胞, 调整浓度为  $5 \times 10^5$  个/ml, 加于 24 孔板, 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵育 5 d 为巨噬细胞。MT-2 细胞的培养: 依常规方法,

调整 MT-2 细胞浓度为  $2 \times 10^5$ /ml。将 HIV 病毒株以 100 TCID<sub>50</sub> 分别感染巨噬细胞和 MT-2 细胞, 37℃、5% CO<sub>2</sub> 孵育 2 h。用 RPMI-1640 洗去游离病毒, 每 3 d 测 p24, 并观察细胞病变, 直至 15 d<sup>[13]</sup>。

**病毒载量检测** 采用标准模板制备法提取 200 μl 血浆中 RNA, 用 Roche 公司 HIV-1 Monitor 1.5 Commercial kit 试剂盒在 Cobas Amplicor 全自动载量仪上以 RT-PCR 方法测定病毒载量。检测范围 400 ~ 750 000 拷贝/ml。

**病毒亚型测定** 核酸提取采用德国 Qiagen 公司生产的试剂盒 (QIAamp Blood Mini Kit), 操作步骤参照使用说明书。经套式聚合酶链反应扩增 gag-pol 区后, 将扩增产物进行纯化和测序。使用 Mega 软件的 Neighbor-joining 方法绘制系统进化树, 确定亚型<sup>[14]</sup>。

**CD4 + T 淋巴细胞分选** 用密度梯度离心法分离 PBMC 并计数。每  $1 \times 10^7$  个细胞用 60 μl 缓冲液重悬, 加 20 μl anti-CD4 磁珠, 4 ~ 8℃ 结合 15 min。300 × g 离心 10 min 后, 以 500 μl 缓冲液重悬细胞团。将 LS 柱子置于 MACS 分离器上, 用 3 ml 缓冲液冲洗柱子后, 加 500 μl 的以上悬液, 加 3 次 3 ml 缓冲液冲洗。用 6 ml 缓冲液洗脱柱子上的 CD4 + T 细胞并计数。CD4 + T 细胞用含 2.5 μg/ml PHA 的 RPMI-1640 预刺激 72 h。

**HIV 病毒株与 CD4 + T 细胞共培养** 37℃ 水浴复

苏病毒。准备 15 ml 离心管, 每管分  $5 \times 10^5$  个 CD4 + T 淋巴细胞。用 1 ml 吸管每管加入 600 TCID<sub>50</sub> 的病毒<sup>[10]</sup>, 并轻轻吹打 20 次, 混匀后 37℃ 共培养 4 h。300 × g 10 min 离心 2 次, 洗去游离病毒, 每管加 1 ml RPMI-1640 (含 IL-2 100 U/ml), 培养于 24 孔板。每 3 d 换液, 至 15 d, 测 p24。

**p24 检测** 采用法国 Diomerieux 公司 p24 检测试剂盒, 严格按照操作说明书进行。

**CD4 绝对值计数** 将 20 μl CD4/CD8/CD3 三色单抗加入绝对计数管中, 加入 50 μl 抗凝全血, 室温避光 15 min, 再加入免洗溶血素 450 μl, 室温避光 15 min。FACS Calibur 流式细胞仪检测, Multiset 软件自动分析 CD4 +、CD8 +、CD3 + 淋巴细胞绝对值及 CD4/CD8 比值。

**统计学处理** 采用 SPSS 11.0 统计软件, 以 Mann-Whitney U-test 方法比较两组 HIV-1 复制动力 (p24) 曲线下面积的差异,  $P < 0.05$  表示有统计学意义。

## 结 果

**用于体外感染的病毒分离株特性** 4 株 HIV 分离株为 M 嗜性, 2 株 HIV 分离株为 T 嗜性, 用于分离毒株的 HIV 感染者的一般情况及病毒株特性见表 1。

表 1 HIV 感染者的一般情况及其分离毒株特性

Table 1 General conditions of HIV seroconverters and specific property of HIV strains

HIV seroconverter	Route of transmission	Subtype	CD4 (/μl)	Virus load (copies/ml)	Virus tropism	TCID <sub>50</sub>
JL40	Blood	B'	136	$1.04 \times 10^5$	M	$10^{2.2}$
JL58	Blood	B'	199	$1.73 \times 10^5$	M	$10^{2.9}$
JL69	Blood	B'	323	< 400	M	$10^{2.1}$
JL85	Blood	B'	260	$5.27 \times 10^5$	T	$10^{4.2}$
LN37	Blood	B'	261	$2.02 \times 10^5$	M	$10^{3.2}$
LN48	Blood	B'	163	$1.28 \times 10^6$	T	$10^{4.5}$

TCID<sub>50</sub>: 50% tissue culture infective dose

**ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞对不同嗜性病毒分离株的感染敏感性** ESN 组的 CD4 + T 淋巴细胞与两株 M 嗜性的分离株共培养: 与 JL40 共培养, 2 例 ESN 未被感染; 与 JL58 共培养, 3 例 ESN 未被感染 (23% ESN 未被感染, 77% ESN 可被感染), 但 ESN 组的 HIV-1 复制动力显著低于健康对照组 ( $P < 0.05$ ); ESN 组的 CD4 + T 淋巴细胞与 T 嗜性的分离株及实验室毒株 (SF33) 共培养, 所有的 ESN 均被感染, ESN 组和健康对照组的 HIV-1 复制动力差异无显著性 ( $P > 0.05$ ) (表 2)。ESN 组 CD4 + T 淋巴

细胞与 T 嗜性毒株共培养的 HIV-1 复制显著高于与 M 嗜性分离株共培养的 HIV-1 复制 ( $P < 0.05$ ) (图 1)。

**ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞对其性伴 HIV 分离株的体外感染情况** 成功分离到 4 例 ESN 性伴 (HIV 感染者) 的 HIV 毒株, 并分别与其性伴 (4 例 ESN) 的 CD4 + T 淋巴细胞在体外共培养, 其中 3 例 ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞在体外未被其性伴 HIV 分离株 (M 嗜性) 感染 (图 2), 1 例 ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞被其性伴 HIV 分离株 (T 嗜性) 感染 (图 3)。

表 2 两组 HIV-1 复制动力曲线下面积的比较

Table 2 Comparison of AUCs of duplications of two groups

Treatment factor	Group	Range of AUC	Sum of ranks	Mean rank
M-tropism strain	ESN	0 - 32. 29	370	16. 82 *
	Control	10. 20 - 39. 24	491	25. 84
T-tropism strain	ESN	22. 92 - 35. 61	72	8
	Control	25. 92 - 37. 90	99	10
SF33	ESN	21. 12 - 39. 46	73	7. 3
	Control	20. 13 - 37. 93	80	11. 43

\*  $P < 0.05$  compared with control; AUC: area under the curve; ESN: exposed seronegative individual

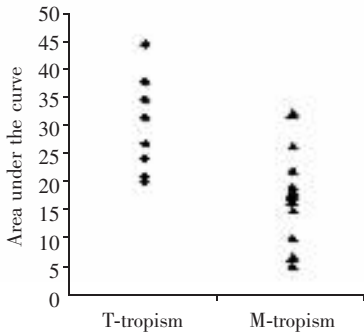


图 1 ESN 组感染 M 嗜性和 T 嗜性病毒株的比较

Fig 1 M-tropic and T-tropic strains coculture with CD4 + T cells of ESN group

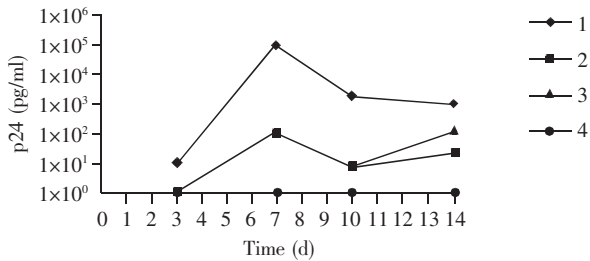


图 2 M 嗜性的 ESN 性伴分离株感染 ESN 与健康对照的比较

Fig 2 M-tropic strains from the sexual partner of ESN cocultured with CD4 + T cells of ESN and controls

1, 2, 3: HIV stains from sexual partner of ESN cocultured with controls; 4: HIV stains from sexual partner of ESN cocultured with ESN

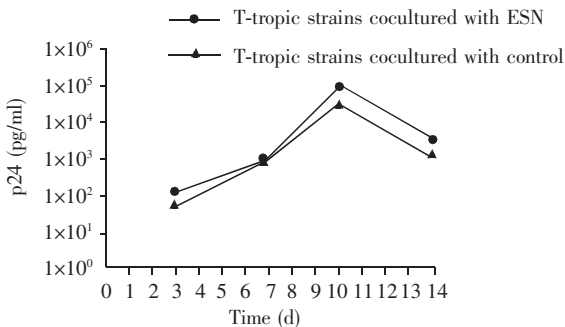


图 3 T 嗜性的 ESN 性伴分离株感染 ESN 与健康对照的比较

Fig 3 T-tropic strain from the sexual partner of ESN cocultured with CD4 + T cells of ESN and control

## 讨 论

CD4 + T 淋巴细胞是 HIV 感染的主要靶细胞，在体外实验中，HIV 是否能在 CD4 + T 淋巴细胞内复制与病毒的特性和 CD4 + T 淋巴细胞的抵抗力有关。本研究所用的 HIV 病毒分离株均为 B' 亚型，病毒特性的差异更多表现为病毒嗜性不同。国外研究认为，在 HIV 感染早期分离到的毒株多为 M 嗜性毒株；在 AIDS 期，分离到的毒株多为 T 嗜性毒株，约 50% 的 HIV 感染者 CD4 + T 细胞的快速下降和进展到 AIDS 与体内病毒从 M 嗜性转换为 T 嗜性有关<sup>[15,16]</sup>，推测 T 嗜性毒株感染细胞后可能有更高的复制能力。本研究结果显示，ESN 组 CD4 + T 淋巴细胞对 T 嗜性 HIV-1 分离株的复制高于对 M 嗜性分离株的复制，ESN 组的 CD4 + T 淋巴细胞对 T 嗜性 HIV-1 分离株没有抵抗作用，证实了 T 嗜性毒株感染细胞后有更高的复制能力。国外学者报道，在性传播中，HIV-1 的表型（包括嗜性）是一个重要影响因素。在 HIV 感染早期，尽管接触到的病毒可能是多种表型的混合，经性传播的 HIV 病毒多为 M 嗜性的毒株<sup>[17]</sup>，本研究结果显示，在体外实验中，对 M 嗜性 HIV 毒株，ESN 的 CD4 + T 细胞内的 HIV 复制显著低于健康对照组，有 23% 的 ESN 甚至不感染，ESN 组的 CD4 + T 细胞对 M 嗜性 HIV 毒株有一定的抵抗活性，可能会阻止 HIV 对几例 CD4 + T 细胞的感染。HIV 病毒能否成功侵入感染 CD4 + T 淋巴细胞，与 CD4 + T 淋巴细胞表达的趋化因子受体密切相关。国外有报道显示 *CCR2-64I* 基因突变可能会阻止 HIV 与 CD4 + T 淋巴细胞的结合<sup>[3]</sup>。

为了进一步说明 ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞对 M 嗜性 HIV 分离株的抵抗活性，对 T 嗜性 HIV 分离株没有抵抗活性，本研究做了 4 例 ESN 能否被其性伴 HIV 分离株在体外感染的实验，结果显示其性伴病

毒株为 M 嗜性的 3 例 ESN 的 CD4 + T 细胞未被感染, 而健康对照被感染, 说明此 3 例 ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞对其性伴的 M 嗜性 HIV 毒株有较强的抵抗作用, 可能是这种抵抗使 ESN 免于感染 (其中 1 例病毒载量 < 400 拷贝/ml, 其未感也可能与接触到的病毒滴度较低有关); 另 1 例 ESN 的 CD4 + T 淋巴细胞可以被其性伴 T 嗜性的 HIV 分离株感染, 被感染程度与健康对照相差不多, 这也说明了 ESN 的 CD4 + T 细胞对 T 嗜性的毒株没有抵抗能力, 其在体内的未感可能是此例 ESN 体内具有其他的抗 HIV 感染的能力, 具体机制有待于进一步研究。

综上所述, CD4 + T 细胞对 HIV 的敏感性可能是影响 HIV 易感性的重要因素。由于在性传播中, M 嗜性病毒为主要的传播病毒, CD4 + T 细胞对 M 嗜性 HIV 分离株的抵抗活性可能是中国经性接触暴露未感的主要影响因素, 其具体抗 HIV 机制尚有待于进一步研究。

### 参 考 文 献

- Montoya CJ, Velilla PA, Chougnet C, *et al.* Increased IFN- $\gamma$  production by NK and CD3 + /CD56 + cells in sexually HIV-1-exposed but uninfected individuals. *Clin Immunol*, 2006, 120 (2):138-146.
- Quinn TC, Wawer MJ, Sewankambo N, *et al.* Viral load and heterosexual transmission of human immunodeficiency virus type 1. Rakai project project study group. *N Engl J Med*, 2000, 342(13):921-929.
- Ioannidis JP, Contopoulos-Ioannidis DG, Rosenberg PS, *et al.* Effect of CCR5- $\Delta$ 32 and CCR2-64I alleles on disease progression of perinatally HIV-1-infected children: an international meta-analysis. *AIDS*, 2003, 17(11):1631-1638.
- Shacklett BL, Means RE, Larsson M, *et al.* Dendritic cell amplification of HIV type 1-specific CD8<sup>+</sup> T cell responses in exposed, seronegative heterosexual women. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2002, 18(11):805-815.
- Trabattoni D, Caputo SL, Maffei G, *et al.* Human alpha defensin in HIV-exposed but uninfected individuals. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2004, 35(5):455-463.
- Jennes W, Vuylsteke B, Borget MY, *et al.* HIV-specific T helper responses and frequency of exposure among HIV-exposed seronegative female sex workers in Abidjan, Coted'Ivoire. *J Infect Dis*, 2004, 189(4):602-610.
- Lo Caputo S, Trabattoni D, Vichi F, *et al.* Mucosal and systemic HIV-1-specific immunity in HIV-1-exposed but uninfected heterosexual men. *AIDS*, 2003, 17(4):531-539.
- Velilla PA, Hoyos A, Rojas M, *et al.* Apoptosis as a mechanism of nature resistance to HIV-1 infection in an exposed but uninfected population. *J Clin Virol*, 2005, 32(4):329-335.
- Williams LM, Cloyd MW. Polymorphic human gene(s) determines differential susceptibility of CD4 lymphocytes to infection by certain HIV-1 isolates. *Virology*, 1991, 184(2):723-728.
- Paxton WA, Martin SR, Tse D, *et al.* Relative resistance to HIV-1 infection of CD4 lymphocytes from persons who remain uninfected despite multiple high-risk sexual exposures. *Nat Med*, 1996, 2(4):412-417.
- Mario C. Questa e quella perm me pari sono. *AIDS*, 2005, 19(3):337-339.
- Shen L, Hober D, Benyoucef S, *et al.* A study of two procedure of HIV-1 isolation from whole blood culture. *Microbiol Immunol*, 1996, 40(3):195-200.
- 孙峥嵘, 尚红, 刘静, 等. 中国 HIV-1 病毒分离株的生物学特征与疾病进展关系的研究. *中华微生物学和免疫学杂志*, 2003, 23(9):703-706.
- 关琪, 魏民, 黄海龙, 等. 中国 HIV-1 B/C 重组病毒的 gag-pol 区基因序列特征分析. *中华医学杂志*, 2004, 84(5):387-391.
- Schuitmaker H, Koot M, Kootstra NA, *et al.* Biological phenotype of human immunodeficiency virus type 1 clones at different stages of infection; progression of disease is associated with a shift from monocytotropic to T-cell-tropic virus populations. *J Virol*, 1992, 66(3):1354-1360.
- Gorry PR, Churchill M, Crowe SM, *et al.* Pathogenesis of macrophage tropic HIV-1. *Curr HIV Res*, 2005, 3(1):53-60.
- Zhu T, Mo N, Wang N, *et al.* Genotypic and phenotypic characterization of HIV-1 in patients with primary infection. *Science*, 1993, 261(5125):1179-1181.

(2006-05-12 收稿)