

HIV-1 N348I 耐药突变流行状况及突变模式的研究

李韩平 韩扬 朱新鹏 路新利 郭伟 刘永健 鲍作义 李林
庄道民 刘思扬 李敬云

【摘要】 目的 阐明 HIV-1 耐药相关突变 N348I 在中国艾滋病患者中的流行率及突变模式。方法 用 RT-PCR 从血浆标本中扩增 614 例治疗失败和 619 例未治疗的艾滋病患者的 HIV-1 pol 基因蛋白酶 (PR) 反转录酶 (RT) 全长基因 (2100 bp)。将获得的 1233 条序列提交斯坦福大学 HIV-1 耐药数据库, 根据数据库比对结果, 分析 N348I 出现的频率及模式。结果 N348I 突变在抗病毒治疗失败患者中的流行率为 6.5%, 在未治疗患者中的流行率为 0.8%。使用含齐多夫定 (AZT) 方案治疗的患者, N348I 突变的流行率显著高于使用不含 AZT 方案治疗的患者 (14.1% vs. 4.7%, $\chi^2=10.21, P<0.01$); 在出现 N348I 突变的接受治疗的患者中, N348I 均以与其他突变联合的形式出现, 与胸苷类似物耐药突变 (TAMs) 共同发生占 85.0% (34/40)、与 M184V/I 共同出现占 52.5%。结论 使用一线方案治疗失败的艾滋病患者中, N348I 突变有一定流行, 该突变的发生以特有突变模式出现。

【关键词】 艾滋病毒 1 型; 耐药; N348I

Studying on the prevalence and mutation pattern of N348I which related to the resistance of HIV-1 Li Han-ping¹, HAN Yang², ZHU Xin-peng³, LU Xin-li⁴, GUO Wei¹, LIU Yong-jian¹, BAO Zuo-yi¹, LI Lin¹, ZHUANG Dao-min¹, LIU Si-yang¹, LI Jing-yun¹. 1 The State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Institute of Microbiology and Epidemiology, Academy of Military Medical Science, Beijing 100071, China; 2 Peking Union Medical College Hospital; 3 Henan Provincial Center for Disease Control and Prevention; 4 Hebei Provincial Center for Disease Control and Prevention

Corresponding author: LI Jing-yun, Email: lijy@nic.bmi.ac.cn

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 30800938, 30830088) and the National Science and Technology Support Projects for the "Eleventh Five-Year Plan" of China (No. 2008 ZX 10001-004).

【Abstract】 Objective To elucidate the prevalence and the mutation pattern of N348I that related to the resistance seen in the AIDS patients, in China. Methods Partial pol gene of HIV-1 comprising of full protease (PR) and reverse transcriptase (RT) was obtained from plasma samples of therapy-failure individuals ($n=614$) and therapy-naive individuals ($n=619$) by using reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR). 1233 sequences were then submitted to the HIV-1 drug resistance database of the Stanford University to analyze the prevalence and the emergence pattern of N348I. Results The prevalence of N348I was 6.5% in the therapy-failure patients and 0.8% in the naive individuals, respectively. The prevalence of N348I was more popular among those patients whose ART regimens containing zidovudine (AZT or ZDV) than those without AZT in regimens (14.1% vs. 4.7%, $\chi^2=10.21, P<0.01$). N348I always emerged, and combined with others mutations among patients of ART, whose frequencies were: 85.0% in combination with thymidine analog mutations (TAMs) and 52.5% with M184V/I, respectively. Conclusion N348I was somehow prevalent in the therapy-failure patients when using the first-line antiretroviral drugs, and it emerged as unique patterns. This study laid the ground in improving the technology of drug resistance genotypes detection and providing theoretical basis to study the mechanism of resistance and the law of molecular evolution.

【Key words】 HIV-1; Resistance; N348I

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.09.014

基金项目: 国家自然科学基金 (30800938, 30830088); 国家“十一五”科技重大专项 (2008ZX10001-004)

作者单位: 100071 北京, 军事医学科学院微生物流行病研究所病原微生物生物安全国家重点实验室 (李韩平、郭伟、刘永健、鲍作义、李林、庄道民、刘思扬、李敬云); 北京协和医院感染科 (韩扬); 河南省疾病预防控制中心 (朱新鹏); 河北省疾病预防控制中心 (路新利)

通信作者: 李敬云, Email: lijy@nic.bmi.ac.cn

HIV 耐药是由于病毒基因发生突变,使得药物作用靶点的生化或结构特征发生改变,导致病毒对药物不敏感或敏感性下降。同时,耐药基因突变改变了关键的病毒蛋白,对病毒蛋白的功能产生负面影响,使病毒的复制能力和感染性下降,病毒可能发生补偿突变弥补复制适应性的损失,这些因素导致病毒复制和传播能力的改变^[1-4]。目前已经确定的与 6 类艾滋病抗病毒药物耐药有关 HIV 基因突变有 200 多个^[5]。最初 HIV 耐药突变研究主要关注药物作用的靶基因。近年来发现,药物压力对病毒产生整体性的影响,在药物作用靶基因以外,也可发生耐药相关基因突变^[6,7]。如使用核苷类反转录酶抑制剂(NRTIs)治疗,在反转录酶(RT)的连接区和 RNase H 区也可选择出耐药突变,常与其他突变联合使耐药程度增加^[4,8,10]。

N348I 是近几年被认识耐药相关基因突变,在使用齐多夫定(AZT/ZDV)或去羟肌苷(DDI)治疗的患者中流行率大约为 12.5%,且严重削弱病毒的复制能力^[10,11]。N348I 突变位于 HIV-1 RT 的连接区,在标准 HIV-1 耐药基因型检测覆盖的区域以外,使用我国目前自建(In House)和国外商品化的 HIV-1 耐药基因型检测试剂均无法检测 N348I 突变,对该突变在我国艾滋病患者中流行状况及发生的特点尚不明确。本研究拟通过对我国治疗和未治疗艾滋病患者 HIV-1 RT 基因全长序列的分析,阐明 N348I 突变在我国的流行状况及发生模式。

对象与方法

1. HIV-1 血浆标本:为 2008—2010 年河南、河北省疾病预防控制中心及北京协和医院李太生教授提供的 7 省市(北京、福建、广东、河南、云南、陕西、上海)12 个艾滋病治疗中心接受和未接受抗病毒治疗的艾滋病患者的血浆标本。抗凝血标本在采集后 24 h 内分离血浆并保存于 -80 °C 冰箱,3 个月内完成 HIV-1 基因型耐药检测。在采集血液样本的同时,了解患者相关的背景信息,包括开始抗病毒治疗的时间、服药依从性及抗病毒治疗方案等。

2. 主要试剂及分析软件:HIV-1 RNA 的纯化分离使用 Qiagen 公司 QIAamp® Viral RNA 试剂盒,按照说明书操作,RT-PCR 使用的试剂均为 TaKaRa 公司产品;序列分析使用 Vector NTI 软件,用于序列的拼接和编辑。

3. 耐药基因突变分析:为确保 HIV-1 耐药性检测的准确性,待检标本要求病毒载量(VL)拷贝数 >

1000 IU/ml。为了提高检测效率,在提取 RNA 之前取 500 μl 血浆低温超速离心,对病毒浓缩富集^[12]。使用本实验室自建的方法,扩增 HIV-1 pol 基因 2100 bp 的片段,含蛋白酶(protease)全长(1~99 位密码子)和 RT 全长(1~560 位密码子)。使用的引物见表 1。第一轮反应体系为 10× One Step RT-PCR Buffer 5 μl、MgCl₂ (25 mmol/L) 10 μl、dNTP Mixture 5 μl、RNase Inhibitor (40 U/μl) 1 μl、AMV RNaseXL (5 U/μl) 1 μl、AMV-Optimized Taq (5 U/μl) 1 μl、PLA-1 (20 μmol/L) 1 μl、PLA-2 (20 μmol/L) 1 μl、RNA 模板 5 μl、RNase Free ddH₂O 20 μl,反应条件为 50 °C 30 min、94 °C 2 min,1 个循环;94 °C 30 s、55 °C 30 s、72 °C 150 s,30 个循环;72 °C 10 min。第二轮反应体系为 TaKaRa Ex Taq 25 μl、PLA-3 (20 μmol/L) 1 μl、PLA-4 (20 μmol/L) 1 μl、第一轮 PCR 产物 5 μl、ddH₂O 18 μl,反应条件为 94 °C 5 min,1 个循环;94 °C 30 s、63 °C 30 s、72 °C 150 s,30 个循环;72 °C 10 min。

表 1 HIV-1 耐药检测使用引物

PCR 引物	序列(5' ~ 3')	位置
外侧引物		
PLA-1	TGGAAATGTGGAAAGGAA GGAC	2027 ~ 2050
PLA-2	TGACTTTGGGGATTGTAGGGA ATA	4650 ~ 4673
内侧引物		
PLA-3*	CAGAGC CAACAGCCCCACCA	2147 ~ 2166
PLA-4*	TAAATCACTAGCCATTGCTCTCC	4285 ~ 4308
测序引物		
PLA-5*	CTTCTGTATATCATTGACAGTCCAGCT	3300 ~ 3326
PLA-6*	CCTAGTATA AACAAAT GAGACAC	2946 ~ 2967
PLA-7*	CTTTGGATGGGTTATGAA CT	3231 ~ 3250

注:*测序引物

将扩增产物直接送公司测序,序列用 Cexpress 软件编辑、拼接和校正,提交美国斯坦福大学 HIV 耐药数据库 (<http://hivdb.stanford.edu>) 进行在线 HIV 耐药基因突变分析。其中 HIV 亚型的判定利用 pol 区基因进行分析^[13]。

4. 统计学分析:使用 SAS 9.1.3 Service Pack 3 软件。N348I 突变位点在两组人群中发生概率的比较使用 Fisher 精确检验;其中突变 N348I 在不同 HIV-1 亚型及治疗方案中的比较采用 R×C 表 χ^2 检验。

结 果

1. 研究对象特征:获得完整 pol 区基因序列的 1233 例艾滋病患者中,治疗与未治疗的比例相当 (50.2% vs. 49.8%),年龄 19~65 岁,以青壮年为主 (43.5 岁)。来自河南、河北省的患者,通过既往有偿

献血感染所占比例较大(56.2%),治疗时间多数(94.3%)在3年以上,且VL>1000 IU/ml,可认为该部分患者抗病毒治疗失败^[14];北京协和医院提供的来自不同治疗中心未治疗的患者中,性传播途径占32.0%(男男同性性接触为14.3%,异性性接触为17.8%),其次为静脉吸毒(11.3%)。接受抗病毒治疗的患者以使用一线抗病毒治疗方案为主(表2)。

表2 研究对象的社会人口学特征

调查内容	例数	构成比(%)
总人群	1233	
治疗	614	49.8
未治疗	619	50.2
性别		
男	723	58.6
女	510	41.4
传播途径		
有偿献血/婚内性传播	693	56.2
男男同性性接触	176	14.3
异性性接触	219	17.8
静脉吸毒	139	11.3
不确定	6	0.5
抗病毒治疗方案		
AZT/DDI/NVP	195	31.8
3TC/D4T/EFV	139	22.6
D4T/DDI/NVP	125	20.3
DDI/3TC/NVP	117	19.1
AZT/3TC/NVP	4	0.7
Combivirivir/EFV	20	3.3
Combivirivir/NVP	14	2.3
抗病毒治疗时间(月)		
0~12	14	2.3
~24	21	3.4
~36	107	17.4
~48	145	23.6
~60	183	29.8
~72	109	17.8
>72	35	5.7

注:NVP(奈韦拉平);3TC(拉米夫定);D4T(司他夫定);EFV(依非韦仑);Combivirivir(拉米夫定和齐多夫定合剂)

2. N348I突变的流行情况:1233例患者中,45例基因序列存在N348I突变。N348I突变在抗病毒治疗失败患者中的流行率为6.5%,在未治疗患者中的流行率为0.8%。在抗病毒治疗失败人群出现N348I突变的40例患者中,不同HIV-1亚型间(B、CRF_01AE、CRF_08BC)该突变发生频率的差异无统计学意义($\chi^2=1.16, P>0.05$);使用含AZT治疗方案(AZT/DDI/NVP和AZT/3TC/NVP)的患者,N348I突变的流行率为14.1%(28/199);使用不含AZT治疗方案(DDI/3TC/NVP和D4T/3TC/EFV)的患者,

N348I的流行率为4.7%(12/256),使用含AZT治疗方案的患者N348I突变的流行率显著高于使用不含AZT方案的患者($\chi^2=10.21, P<0.01$)。治疗时间<12个月的患者,N348I的流行率为35.7%,治疗>24个月的患者,N348I的流行率为2.9%~7.5%(表3)。

表3 N348I突变的流行情况

项目	例数	流行率(%)
治疗情况		
治疗	40	6.5(40/614)
未治疗	5	0.8(5/619)
HIV-1亚型(治疗人群)		
B	365	7.4(27/365)
CRF_01AE	213	5.2(11/213)
CRF_08BC	36	5.6(2/36)
治疗方案		
AZT/DDI/NVP	24	12.3(24/195)
AZT/3TC/NVP	4	4/4
DDI/3TC/NVP	6	5.1(6/117)
D4T/3TC/EFV	6	4.3(6/139)
治疗时间(月)		
0~12	5	35.7(5/14)
~24	1	4.8(1/21)
~36	8	7.5(8/107)
~48	9	6.2(9/145)
~60	10	5.5(10/183)
~72	6	5.5(6/109)
>72	1	2.9(1/35)

3. N348I突变与其他耐药突变同时出现的情况:已知的NRTIs和非核苷类反转录酶抑制剂(NNRTIs)24个位点的26个耐药相关突变在治疗患者中的流行率均显著高于未治疗患者(P 值均<0.01)(表4)。治疗失败患者中突变K103N、Y181C、M184V/I、G190A、L210W、T215F/Y的流行率均>20%,N348I流行率为6.5%,位居26个突变的第23位。

分析流行率>10%的14个突变与N348I共同出现的情况(表5),这14个突变未与N348I共同出现的比例均显著高于其与N348I共同出现的比例。在14个突变中的8个(M41L、D67N、T69D、K70R、V118I、L210W、T215F/Y、K219Q)与N348I共同出现的比例>10%。

4. N348I突变的出现模式:在出现N348I突变的接受治疗患者中,N348I均以与其他突变联合的形式出现,与NNRTIs或NRTIs主要耐药相伴随。与胸苷类似物耐药突变(TAMs)共同发生的有34例,占85.0%(34/40);与M184V/I共同出现的有21例,占52.5%(21/40);N348I与K65R、Q151M共同出现的比例较小(均为2.5%),见表6。

表 4 治疗患者(n=614)与未治疗患者(n=619) HIV-1 耐药突变流行率(%)的比较

突变	流行率(发生例数)		χ^2 值	P值
	未治疗	治疗失败		
M41L	0.32(2)	16.45(101)	104.71	<0.01
E44D	0(0)	8.31(51)	53.63	<0.01
A62V	0.48(3)	3.42(21)	13.92	<0.01
K65R	0.16(1)	2.44(15)	12.53	<0.01
D67N	0.32(2)	16.29(100)	103.52	<0.01
T69D	0(0)	13.03(80)	86.25	<0.01
K70R	0.64(4)	17.43(107)	102.37	<0.01
L74V	0.16(1)	5.53(34)	32.30	<0.01
V75I	1.45(9)	6.68(41)	21.62	<0.01
V90I	1.29(8)	5.37(33)	15.98	<0.01
K103N	0.81(5)	56.84(35)	473.47	<0.01
V106A	0(0)	12.70(78)	83.95	<0.01
V108I	0.48(3)	9.93(61)	55.94	<0.01
V118I	5.33(33)	11.24(69)	14.17	<0.01
Q151M	0.16(1)	3.91(24)	21.79	<0.01
Y181C	0.65(4)	36.48(224)	262.64	<0.01
M184V/I	0(0)	40.22(247)	311.39	<0.01
Y188L	0(0)	7.65(47)	49.26	<0.01
G190A	0.16(1)	25.24(155)	175.48	<0.01
L210W	0.32(2)	22.64(139)	151.56	<0.01
H221Y	0(0)	17.10(105)	115.71	<0.01
T215F/Y	0.16(1)	44.79(275)	353.34	<0.01
K219Q	0.16(1)	19.71(121)	132.08	<0.01
N348I	0.81(5)	6.51(40)	28.55	<0.01

表 5 治疗失败患者中已知耐药突变与 N348I 同时出现的情况

突变	流行率 (%)	与 N348I 同时出现比例(%)		χ^2 值	P值
		否	是		
M41L	16.45	75.25	24.75	51.50	<0.01
D67N	16.29	87.00	13.00	109.52	<0.01
T69D	13.03	85.00	15.00	78.40	<0.01
K70R	17.43	89.72	10.28	135.05	<0.01
K103N	56.84	91.69	8.31	485.28	<0.01
V106A	12.70	91.03	8.97	105.03	<0.01
V118I	11.24	86.96	13.04	75.39	<0.01
Y181C	36.48	90.63	9.37	295.75	<0.01
M184V/I	40.23	90.69	9.31	327.13	<0.01
G190A	25.24	95.48	4.52	106.85	<0.01
L210W	22.64	88.49	11.51	164.73	<0.01
H221Y	17.10	90.48	9.52	137.62	<0.01
T215F/Y	44.79	89.82	10.18	381.89	<0.01
K219Q	19.71	89.26	10.74	149.17	<0.01

表 6 N348I 突变发生模式

突变模式	例数	构成比(%)
N348I/M184V/I/Key NNRTI mutations	5	12.5
N348I/TAMs/Key NNRTI resistance mutations	19	47.5
N348I/K65R/Q151M Complex/M184V/I/TAMs/Key NNRTI mutations	1	2.5
N348I/K65R/M184V/I/Key NNRTI mutations	1	2.5
N348I/M184V/I/TAMs/Key NNRTI mutations	14	35.0

注: Key NNRTI mutations 包括 K103N, V106A, V108I, Y181C/I, G190A/S

讨 论

病毒在不断变异及进化过程中,新的耐药突变不断产生以增加自身的复制适应性。N348I 能同时导致 NRTIs 和 NNRTIs 耐药的突变,在经过抗病毒治疗的艾滋病患者中流行率可达 12% 以上^[15]。本研究结果显示, N348I 突变在抗病毒治疗失败患者中显著高于未治疗的患者(6.5% vs. 0.8%),并且在不同治疗方案中突变发生概率有所不同,使用含 AZT 治疗方案的患者 N348I 突变的流行率为 14.1%,显著高于不含 AZT 方案的患者,说明 N348I 与使用 AZT 相关^[6,16]。

有文献报道^[16], N348I 与 41、67、70、103、108、181、184、190、210、215、219 位点的突变具有高度关联性,这些位点的突变与 N348I 一起发生的概率较高。本研究发现, N348I 与 M41L、D67N、T69D、K70R、V118I、L210W、T215F/Y、K219Q 共同出现的比例较高,而 M41L、D67N、K70R、L210W、T215F/Y、K219Q 都属于 TAMs 突变,在突变模式上, N348I 与 TAMs 共同发生的占 85.0%,说明 N348I 多数是与 TAMs 突变合并出现的。

N348I 与 TAMs 突变出现之前经常与 NNRTIs 耐药突变同时出现, N348I 单独发生的概率较小。此外, N348I 与 M184V 也有明显相关性,同时出现可显著降低病毒对 3TC 的敏感性^[14]。本研究所有 N348I 突变都与 NNRTIs 主要耐药突变位点一起出现,但 N348I/TAMs/Key NNRTI resistance mutations 为主要突变模式,其次为 N348I/M184V/I/Key NNRTI resistance mutations 模式。

本研究发现 N348I 突变在我国抗病毒治疗失败的艾滋病患者中有一定的流行,并具有特殊的发生模式,在特定的抗病毒治疗方案中发生概率较高,提供了我国 N348I 耐药突变的基础数据。随着艾滋病抗病毒治疗时间的延长及在非 B 亚型毒株流行地区开展大规模的抗病毒治疗,对 HIV-1 耐药突变的认识不断深入,发现有很多“老药”的新型耐药突变及毒株亚型相关的耐药基因突变。本研究结果提示,

我国长期使用 AZT 治疗的患者,有必要改进基因型耐药检测方法,增加 pol 区基因扩增和测序的长度,不仅关注药物作用靶点的耐药突变,还应注意非药物结合位点的突变,对新型耐药突变的耐药机制及与其他突变的相互作用也应深入

研究。

参 考 文 献

- [1] Martinez-Picado J, Martínez MA. HIV-1 reverse transcriptase inhibitor resistance mutations and fitness: a view from the clinic and ex vivo. *Virus Res*, 2008, 134(1-2): 104-123.
- [2] Imamichi T, Berg SC, Imamichi H, et al. Relative replication fitness of a high-level 3'-azido-3'-deoxythymidine-resistant variant of human immunodeficiency virus type 1 possessing an amino acid deletion at codon 67 and a novel substitution (Thr→Gly) at codon 69. *J Virol*, 2000, 74(23): 10958-10964.
- [3] Julias JG, Boyer PL, McWilliams MJ, et al. Mutations at position 184 of human immunodeficiency virus type-1 reverse transcriptase affect virus titer and viral DNA synthesis. *Virology*, 2004, 322(1): 13-21.
- [4] Nikolenko GN, Palmer S, Maldarelli F, et al. Mechanism for nucleoside analog-mediated abrogation of HIV-1 replication: balance between RNase H activity and nucleotide excision. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(6): 2093-2098.
- [5] Bennett DE, Camacho RJ, Otelea D, et al. Drug resistance mutations for surveillance of transmitted HIV-1 drug-resistance: 2009 update. *PLoS One*, 2009, 4(3): e4724.
- [6] Gupta S, Fransen S, Paxinos EE, et al. Combinations of mutations in the connection domain of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase: assessing the impact on nucleoside and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitor resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(5): 1973-1980.
- [7] Nikolenko GN, Delviks-Frankenberry KA, Palmer S, et al. Mutations in the connection domain of HIV-1 reverse transcriptase increase 3'-azido-3'-deoxythymidine resistance. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2007, 104(1): 317-322.
- [8] Betancor G, Puertas MC, Nevot M, et al. Mechanisms involved in the selection of HIV-1 reverse transcriptase thumb subdomain polymorphisms associated with nucleoside analogue therapy failure. *Antimicrob Agents Chemother*, 2010, 54(11): 4799-4811.
- [9] Hachiya A, Shimane K, Sarafianose SG, et al. Clinical relevance of substitutions in the connection subdomain and RNase H domain of HIV-1 reverse transcriptase from a cohort of antiretroviral treatment-naive patients. *Antiviral Res*, 2009, 82(3): 115-121.
- [10] Biondi MJ, Beilhartz GL, McCormick S, et al. N348I in HIV-1 reverse transcriptase can counteract the nevirapine-mediated bias toward RNase H cleavage during plus-strand initiation. *J Biol Chem*, 2010, 285(35): 26966-26975.
- [11] Schuckmann MM, Marchand B, Hachiya A, et al. The N348I mutation at the connection subdomain of HIV-1 reverse transcriptase decreases binding to nevirapine. *J Biol Chem*, 2010, 285(49): 38700-38709.
- [12] Steegen K, Demecheleer E, De Cabooter N, et al. sensitive in-house RT-PCR genotyping system for combined detection of plasma HIV-1 and assessment of drug resistance. *J Virol Methods*, 2006, 133(2): 137-145.
- [13] Zhong P, Pan Q, Ning Z, et al. Genetic diversity and drug resistance of human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) strains circulating in Shanghai. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2007, 23(7): 847-856.
- [14] Jordan MR, La H, Nguyen HD, et al. Correlates of HIV-1 viral suppression in a cohort of HIV-positive drug users receiving antiretroviral therapy in Hanoi, Vietnam. *Int J STD AIDS*, 2009, 20(6): 418-422.
- [15] Yap SH, Sheen CW, Fahey J, et al. N348I in the connection domain of HIV-1 reverse transcriptase confers zidovudine and nevirapine resistance. *PLoS Med*, 2007, 4(12): e335.
- [16] Hachiya A, Kodama EN, Sarafianos SG, et al. Amino acid mutation N348I in the connection subdomain of human immunodeficiency virus type 1 reverse transcriptase confers multiclass resistance to nucleoside and nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors. *J Virol*, 2008, 82(7): 3261-3270.

(收稿日期: 2011-04-02)

(本文编辑: 张林东)