

# 动物模型在 HIV-1 杀微生物剂有效性和安全性评价中的应用

朱林<sup>1,2</sup>, 张高红<sup>1</sup>, 郑永唐<sup>1,\*</sup>

(1. 中国科学院昆明动物研究所, 中国科学院和云南省动物模型与人类疾病机理重点实验室, 云南 昆明 650223;

2. 中国科学院研究生院, 北京 100049)

**摘要:** HIV/AIDS 的流行趋势没有减弱的迹象, 人们迫切需要新的预防 HIV 传播的手段。杀微生物剂旨在通过局部用药于阴道或直肠, 从而阻止 HIV 的传播。鉴于目前有大量的杀微生物剂候选物, 亟待能够有效评价其有效性及安全性的动物模型。通过比较非灵长类小型动物模型与非人灵长类动物模型在评价 HIV 杀微生物剂的有效性安全性上的重要作用, 该文总结了评价杀微生物剂有效性及安全性的动物模型的优缺点, 同时指出了杀微生物剂研究与发展的方向和建议, 希望能够对杀微生物剂的研发有所帮助。

**关键词:** HIV-1; 性传播; 杀微生物剂; 有效性及安全性; 动物模型

**中图分类号:** R512.91; R965; Q95-33 **文献标识码:** A **文章编号:** 0254-5853-(2010)01-0066-011

## Application Studies of Animal Models in Evaluating Safety and Efficacy of HIV-1 Microbicides

ZHU Lin<sup>1,2</sup>, ZHANG Gao-Hong<sup>1</sup>, ZHENG Yong-Tang<sup>1,\*</sup>

(1. Key Laboratory of Animal Models and Human Disease Mechanisms of the Chinese Academy of Sciences & Yunnan Province, Kunming Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Kunming, 650223, China; 2. Graduate School of the Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China)

**Abstract:** As the HIV/AIDS pandemic continues unabated, novel prophylactic strategy for the spread of HIV are urgently needed. Topical microbicides are designed to prevent transmission of HIV when applied vaginally or rectally. Although there are many microbicide candidates in the pipeline, animal models for evaluating their safety and efficacy are urgently needed. On the basis of comparing the non-primate small animal models and the non-human primate animal models in evaluating safety and efficacy of HIV microbicides, this review summarizes the major advantages and disadvantages of the relevant animal models. The suggested direction of research that would benefit the development of microbicides is also reviewed.

**Key words:** HIV-1; Sexual transmission; Microbicide; Safety and efficacy; Animal model

自 1981 年发现艾滋病病例以来, 艾滋病在全世界的报道急速上升。UNAIDS 发布的《2009 艾滋病流行状况报告》显示 (UNAIDS, 2009), 截至到 2008 年, 全球 HIV 感染者达 3 340 万, 其中女性感染人数为 1 570 万, 占总感染人数的 47%。

以往 HIV-1 的感染范围主要确定为特定的高危人群, 诸如, 静脉吸毒人群和既往采供血人群(Wu et al, 2007; Kaufman & Jing, 2002)。然而, 性传播途

径已成为当前 HIV 传播的主要途径(Han et al, 2009)。截至 2009 年 10 月底, 中国累计报告艾滋病感染者和患者约 32 万例, 其中艾滋病患者约 10.5 万例, 报告死亡病例约 5 万例。截至 2009 年底, 估计中国目前存活艾滋病感染者和患者约 74 万人。性传播感染成为我国艾滋病传播中最主要途径, 在 2009 年当年新发的 4.8 万感染者中, 异性传播占 42.2%, 男性传播占 32.5%。鉴于当前缺乏有效的

收稿日期: 2009-12-05; 接受日期: 2009-12-24

基金项目: 国家科技重大专项“十一五”计划(2008ZX10001-015, 2008ZX10005-005, 2009ZX09501-029); 云南省科技基础条件平台计划(2006PT08); 中国科学院知识创新工程重要方向(KSCX2-YW-R-092, KSCX2-YW-R-185); 国家自然科学基金(30872317, 30800113); “西部之光”人才计划重点项目

\*通讯作者 (Corresponding author): 郑永唐, Tel/Fax: 0871-5195684, E-mail: zhengyt@mail.kiz.ac.cn

第一作者简介: 朱林, 男, 博士研究生, 主要从事 HIV-1 杀微生物剂的研究

HIV 疫苗, 因此, 迫切需要有效的预防 HIV 性传播的新的手段。杀微生物剂 (microbicide) 是局部用药于阴道、宫颈或者直肠内, 能够直接杀灭或中和 HIV-1 等性传播病原体, 人工合成的或天然物质 (van de Wijgert & Coggins, 2002; Wang et al, 2005)。杀微生物剂主要包括凝胶、乳膏、薄膜及阴道环等其他固体储存形式。

利用动物模型评价杀微生物剂候选物的有效性及安全性对于杀微生物剂的临床试验是十分必要的。鉴于当前某些杀微生物剂候选物临床试验的负面结果, 人们认识到, 体外水平评价杀微生物剂候选物是不充分的 (Hillier et al, 2005)。因此, 只有利用动物模型采取更为严谨的有效性及安全性试验, 才能更好地评价杀微生物剂候选物。目前, 对于动物模型在评价 HIV 疫苗及抗 HIV 药物上的重要作用已有较为详实的介绍 (Li et al, 2007a; Zhang et al, 2007), 而动物模型在评价 HIV-1 杀微生物剂的应用研究则鲜有报道。本文主要综述当前利用动物模型手段评价杀微生物剂候选物有效性及安全性方面的研究进展, 结合我们实验室的工作并对今后的发展趋势作一展望。

## 1 利用动物模型评价杀微生物剂的必要性

研究表明, 女性更容易通过性传播的方式感染 HIV (Chakraborty et al, 2001; Pilcher et al, 2004)。生殖道黏膜组织中存在着大量 HIV-1 易感的靶细胞 (Shattock & Moore, 2003), 例如, 树突状细胞、

朗格汉斯细胞、 $CD4^+$ T 淋巴细胞和巨噬细胞等。根据作用机理的不同, 杀微生物剂可分为保持生殖道酸性环境的阴道防御增强剂、靶向于病毒表面脂质成分的表面活性剂、病毒进入/融合抑制剂、病毒复制抑制剂等 (图 1)。截至到 2009 年 10 月, 处于临床前的杀微生物剂候选物共 54 种 (表 1)。目前, 可通过不同水平的实验模型来评价临床前的杀微生物剂候选物的药效作用, 这些模型可分为: 体外细胞模型、离体组织模型、小型动物模型、非人灵长类动物模型 (表 2)。

一般而言, 体外细胞模型依赖于细胞系, 而细胞系缺乏细胞和黏膜组织中的细胞间复杂的相互作用。例如, 外周血单个核细胞 (PBMC) 含有非常少的  $CD4^+CCR5^+$  记忆性 T 细胞, 而此类细胞在阴道和直肠黏膜组织中大量存在。研究表明,  $CD4^+CCR5^+$  记忆性 T 细胞是 HIV-1 复制的主要靶细胞 (Brenchley et al, 2004; Lackner & Veazey, 2007; Mehndru et al, 2004)。总之, 体外细胞模型不能检测到潜在的过敏或炎症反应, 而这两种症状则均可能通过反复给药, 在完好的生殖道或直肠组织中观察到。

诸如阴道或子宫颈这类离体组织模型较体外细胞模型有较大的进步。因为它们很好地代表了完整的组织, 但是也正因为这样, 离体组织模型在评价杀微生物剂有效性和安全性时也有一定的局限性。第一, 离体组织通常来源于切除子宫的女性或者离体组织有炎症或不正常的激素分泌, 这些因素

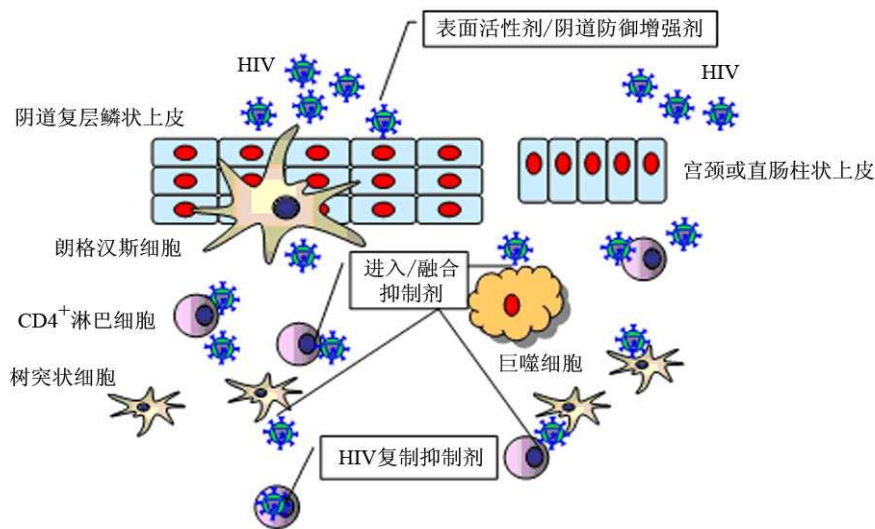


图 1 HIV-1 性传播的机理及杀微生物剂的作用靶点

Fig. 1 The mechanism of HIV sexual transmission and targets of microbicides

表 1 临床前杀微生物剂候选物的分类  
**Tab. 1 The classification of preclinical microbicide candidates**

作用机理 Mechanism	杀微生物剂候选物 Microbicide candidates
阴道防御增强剂 Vaginal defense enhancer	Cyanovirin-N; CS-A; Unipron;x-REPLAB.
表面活性剂 Surfactant	Octylglycerol gel.
进入/融合抑制剂 Entry/fusion inhibitor	Cyanovirin-N; D-peptides; 5P12-RANTES; PEHMB; PPCM; Retrocyclins; CADA; Combination; DS003/BMS-599793; DS004/L-860,872; DS005/L-860,882; EBdpeptides; flavonoids; ISIS5320; K5-N,OS(H), K50SH; L'644peptide; Maraviroc; MIV-150VaginalRing; Nanobodies <sup>TM</sup> ; Novasomes; Optimiseddendrimers; PSC-RANTES; sCD4-17b; Recombinant lactobacilus(LAB); REP9C,REP9AC; Single-chainCAM; SolubleDC-SIGN; Talactoferrin; RNATESpeptides; Sodium rutin sulfate; TATC-D peptides; Opuntia spp (Osp).
病毒复制抑制剂 Replication inhibitor	Opuntia spp(Osp); Combination; KP1,KP17; NcP7 Thioesters(SAMTs).
联合作用 Combination	CAP;mapp66;Nisin; Novasomes;CAP and combinations with NNRTIs and ZFIs; Diterpene; HHA, KRV2110, T20 combination; KP1,KP17; Optimised dendrimers; siRNA;PC-710; x-REPLAB;ZCM (PC-1005); Pyrimidindiones and ISIS 5320; Syndecan; Zinc tetra-ascorbocamphorate derivative "C14".
不明机理 Uncharacterized mechanism	CADA; Glycerol monolaurate; Novasomes;Talactoferrin.
多种机理 Multiple mechanism	SJ-3991; Pyrimidindiones.
抗STI病原体 Anti-STI pathogens	BASANT

数据来源于 <http://www.micribicide.org/>, 截至到 2009 年 10 月。

Date from: <http://www.micribicide.org/>, October of 2009 update.

表 2 用于评价杀微生物剂候选物有效性及安全性的模型  
**Tab. 2 The model for evaluating microbicide candidates safety and efficacy**

模型种类 Model type	特点 Character	局限性 Limitation
体外细胞模型 <i>In vitro</i>	高通量筛选, 快速	不能检测炎症反应
离体组织模型 <i>Ex vivo</i>	完整组织	较易变质
小型动物模型 Small animal	可以评价反复给药的效果, 经济	与灵长类的阴道组织不同
非人灵长类动物模型 Non-human primates	在解剖, 免疫和生殖生理方面与人类相似	价格昂贵; 稀少

都可能会对评价杀微生物剂候选物的安全性带来潜在的影响; 第二, 离体组织缺乏血液供给, 因此局部炎症调节分子不能使细胞汇集于此; 第三, 离体组织变质较快, 特别是上皮, 这使得病毒攻毒和给药较为困难。对于体外细胞模型和离体组织模型而言, 最大的局限性是不能检测在细胞或组织中反

复施药的效果。虽然, 大量的杀微生物剂候选物在体外均能有效地抑制或灭活HIV, 但是只有在动物模型中才能检测反复使用杀微生物剂对黏膜的影响, 只有这样才能有效地评价反复使用杀微生物剂是否能在黏膜组织中诱导炎症或损伤, 而炎症或损伤均会增加HIV感染的几率(Fichorova et al, 2001)。

## 2 非灵长类动物模型在评价杀微生物剂中的应用

啮齿类和兔类动物相对便宜并且容易处理,但是这两类动物均不能感染HIV-1(Shacklett, 2008)。尽管如此,小型动物模型在杀微生物剂安全性的初步评价中仍有重要的作用,特别是评价反复给药或多次给药的效果。Galen et al (2007)用BALB/c小鼠来评价nonoxynol-9与PRO2000是否引起阴道黏膜炎症,结果表明在接受PRO2000的小鼠阴道黏膜中仅发现中性粒细胞,没有引起炎症反应。用C57BL/6J(B6)小鼠评价PRO2000的安全性研究也到得到了相似的结果(Milligan et al, 2005)。研究者利用Swiss Webster小鼠陆续评价了杀微生物剂候选物2RANTES, C31G和PEHMB的安全性(Kish-Catalone et al, 2006; Catalon et al, 2005; Catalone et al, 2004)。此外,也有一些研究者用大鼠来评价杀微生物剂的安全性(Gupta et al, 2008; Ding et al, 2007)。其中, Ding et al(2007)的研究表明, 0.429%的BZK对阴道的刺激较小,不会损坏阴道上皮或引起炎症。兔类动物也能用于临床前评价杀微生物剂的安全性。其中,单独使用Stampidine(D'Cruz & Uckun, 2004)以及PHI-443与Stampidine联合使用(D'Cruz & Uckun, 2007)均对兔的阴道黏膜上皮无毒性。鉴于物种之间在生理和免疫上有很大的不同,因此要谨慎地解释这些实验结果。由于大量的杀微生物剂候选物需要在非人灵长类动物模型上进行评价,因此,可以利用小型动物对杀微生物剂候选物进行初步的安全性评价。

近年来,一些新型人源化小鼠模型用作评价杀微生物剂安全性及有效性的替代模型。Denton et al (2008)通过在hu-BLT小鼠的阴道内攻毒,发现hu-BLT小鼠易感HIV-1。此外,在阴道攻毒前使用含有两种逆转录酶抑制剂(FTI和TDF)的暴露前预防治疗方案可以阻止HIV的阴道传播。因此,hu-BLT小鼠也有望用于临床前的杀微生物剂的有效性及安全性的评价。Mekus et al (2006)将人类胎儿肝CD34干细胞移植入NOD/SCID小鼠。此类小鼠之前已经移入人胎儿胸腺和肝组织,因此,体内有人T和B细胞,单核细胞和巨噬细胞。对杀微生物剂的研究有益的是,这些小鼠体内已有人的直肠(Sun et al, 2007)和阴道黏膜组织(Denton et al, 2008)。Berges et al(2008)通过对RAG-hu小鼠的阴道和直肠

攻毒,发现相比于X4嗜性的HIV毒株,RAG-hu小鼠对R5嗜性的HIV毒株易感,这表明RAG-hu小鼠可以用于杀微生物剂的有效性评价。D'Cruz & Uckun(2005)的研究表明,用PHI-236处理已感染HIV-1<sub>BaL</sub>的人单核细胞与精液可以很好的阻止HIV通过阴道来感染hu-SCID小鼠。TMC-120在hu-SCID小鼠实验中表现出很好的抑制HIV-1阴道黏膜的传播(Di Fabio et al, 2003)。在hu-SCID小鼠基础上改造的hu-PBL-SCID小鼠也成为很好的评价杀微生物剂候选物有效性的动物模型(Di Fabio et al, 2001)。虽然这些小鼠体内因含有鼠MHC抗原而难以模拟真实的人体免疫反应,人源化小鼠模型有着种种不足,但是这种模型因含有人CD4<sup>+</sup>T细胞的特征使得其能够较好地评价杀微生物剂的安全性及有效性,且所需费用相对低廉,试验已证明在评价杀微生物剂的安全性及有效性方面有一定的价值,因此该类模型仍然有较好的使用前景。

## 3 非人灵长类动物模型在评价杀微生物剂中的应用

毋庸置疑,非人灵长类(non-human primates, NHP)动物是研究HIV感染、免疫和病理的首选动物模型(Lackner & Veazey, 2007),在评价杀微生物剂的安全性及有效性方面是十分重要的。虽然大多数NHP不支持HIV-1的复制,但是NHP对诸如SIV/SHIV等相关病毒易感。根据杀微生物剂的作用机理,多种病毒可接种于NHP中。例如,野生型SIV较为适合评价大多数杀微生物剂,因为SIV与HIV在遗传序列、靶细胞及发病机制上十分相似。然而,遗传序列相似性介于SIV和HIV之间的SHIV更为适宜评价杀微生物剂候选物的有效性和安全性。例如,可以利用RT-SHIV在NHP上进行靶向RT的杀微生物剂候选物的有效性评价(Pal et al, 2009)。鉴于R5嗜性的毒株在性传播过程中占据主要地位(Kashuba et al, 1999),因此,在对NHP攻毒时,首选R5嗜性SHIV毒株(例如SHIV<sub>SF162P3</sub>)(Harouse et al, 2001; Hsu et al, 2003)。然而,X4嗜性毒株也能通过性传播的方式传播(Tsai et al, 2007; Agace, et al 2000)。有趣的是,Tsai et al(2007)对恒河猴进行的研究表明,X4-SHIV<sub>SF33A</sub>的传播几率要高于R5-SHIV<sub>SF162P3</sub>。因此,在评价杀微生物剂时,也可考虑X4嗜性毒株。

目前,多使用单次高剂量(single high-dose, SH)

接种病毒的方式使 NHP 通过黏膜途径来感染病毒 (Hu et al, 2000; Tsai et al, 2003; Veazey et al, 2003; Cranage et al, 2008)。通过使用孕酮使阴道上皮组织变薄, 能够增加 NHP 感染病毒的几率 (Marx et al, 1996), 其原因在于易感病毒复制的靶细胞位于阴道黏膜内部而不是上皮表面, 任何可以使上皮变薄或使上皮组织有炎症细胞的物质均能增加 NHP 感染病毒的几率 (Poonia et al, 2006)。虽然仍然存在争议, 但是越来越多的证据表明, 在阴道黏膜上皮中, 激素使得上皮变薄, 损伤或炎症可能与 HIV 在女性中感染 HIV 的几率增加有关 (Quinn & Overbaugh, 2005; Gray et al, 2005)。但是, 这种攻毒方式却与人在生理状态下的通过性传播方式感染 HIV 有所不同 (Hollingsworth et al, 2008; Wawer et al, 2005), 因为性活动中的高危行为在于反复暴露于 HIV。此外, 感染还涉及病毒载量及其它易感因素。而且评价杀微生物剂候选物的有效性时应该考虑到药物反复使用的结果, 而不是某一次用药后对 HIV 的抑制作用 (Ambrose et al, 2008)。与单次高剂量接种病毒的方式相比, 反复低剂量 (repeated low-dose, RL) 接种病毒方式正在得到广泛的应用 (Hessell et al, 2009; Kersh et al, 2009; Otten et al, 2005)。Subbarao et al (2007) 首次比较了 SH 与 RL 攻毒的结果, 研究表明, RL 攻毒的方式能够更为严格的评价药物的有效性, 并且两种方式攻毒得到的病毒载量的峰值没有显著的不同。

总体来说, RL 攻毒方式有如下的优点: 首先, 能够更接近杀微生物剂使用的真实生理状态, 较好地模拟评价杀微生物剂候选物的有效性 (Subbarao et al, 2007; Promadej-Lanier et al, 2008); 其次, RL 攻毒方式中使用的实验组的 NHP 的数量比 SH 攻毒方式所用的数量要少 (Otten et al, 2005)。在某种程度上, RL 攻毒方式缓和了用于实验的 NHP 数量较少的这一缺陷。因此, RL 攻毒方式对于杀微生物剂的研究大有裨益 (Promadej-Lanier et al, 2008)。目前, 人们对于 HIV 黏膜感染的早期过程还不十分明了。然而, 可以利用 NHP 动物模型开展对此过程的研究。我们实验室正在利用 NHP 动物模型开展此类工作的研究。

总之, NHP 动物模型在病毒接种选择, 攻毒剂量和攻毒方式上有较大的灵活性, 这可以很好地解释杀微生物剂的安全性、有效性和作用机制。以下重点介绍在杀微生物剂研究中应用最为广泛的

NHP 动物模型: 恒河猴、豚尾猴和食蟹猴。

### 3.1 恒河猴

由于与人类感染 HIV 的相关性, 恒河猴 (*rhesus macaques*, *Macaca mulatta*) 是用于 AIDS 研究的最广泛的 NHP 物种。恒河猴在杀微生物剂研究中使用最为广泛。目前, 已利用恒河猴模型评价了诸如阴道防御增强剂 (Yu et al, 2009)、表面活性剂 (Weber et al, 2001)、进入/融合抑制剂 (Veazey et al, 2003; Veazey et al, 2005; Lederman et al, 2004)、病毒复制抑制剂 (Cranage et al, 2008; Wallace et al, 2009)、激素类抑制剂 (Smith et al, 2000) 及机理不明的抑制剂 (Li et al, 2009) 等各种作用机理的杀微生物剂候选物的安全性 (Nuttall et al, 2008; Ratterree et al, 2005) 及有效性。

迄今为止, 利用恒河猴模型评价的杀微生物剂候选物中, 进入/融合抑制剂和病毒复制抑制剂在数量上占据绝大多数。Veazey et al (2005) 分别评价了 3 种进入/融合抑制剂, 分别为靶向于 gp120 的 BMS-378806、CCR5 拮抗剂 CMPD167、靶向于 gp41 的 C52L。这 3 种化合物单独或联合给药于阴道均能不同程度地抑制 R5-SHIV<sub>SF162P3</sub> 的感染。在高浓度条件下, 单独给药 5.5 mmol/L 的 BMS-378806、5 mmol/L 的 CMPD167 和 1.5 mmol/L 的 C52L 部分保护了阴道攻毒的恒河猴, 保护率依次分别 6/8、8/10 和 3/5。当 1.5 mmol/L 的 C52L 与 1 mmol/L 的 CMPD167 或 2 mmol/L 的 BMS-378806 联合使用时, 保护率分别为 5/6 和 6/6。进行安全性研究时, 反复给药没有引起阴道刺激或炎症。PSC-RANTES 是趋化因子 RANTES 的类似物, 靶向于 CCR5 辅助受体 (Hartley et al, 2004)。Lederman et al (2004) 的研究表明, PSC-RANTES 能够对 SHIV<sub>SF162P4</sub> 阴道攻毒恒河猴提供有效地保护作用, 并且有较好的安全性。鉴于合成 PSC-RANTES 的花费较高, 不利于大规模生产, Gaertner et al (2008) 合成了 PSC-RANTES 的衍生物 5P12-RANTES 及 6P4-RANTES, 体外实验的结果表明, 这 2 种化合物均能有效地抑制 HIV 的复制, 具有与 PSC-RANTES 类似的效果。为此, Veazey et al (2009) 又利用恒河猴模型比较了 5P12-RANTES 及 6P4-RANTES 与 PSC-RANTES 的有效性。研究表明, 5P12-RANTES 及 6P4-RANTES 均能完全保护 SHIV<sub>SF162P3</sub> 阴道攻毒的恒河猴。

所有抗病毒药物的特性是: 无论哪一类药物, 无论靶向于哪一个靶点, 都会出现选择性的 HIV 耐

药变异。杀微生物剂的局部耐药性问题也浮出水面。Dudley et al(2009)以PSC-RANTES为研究对象,首次研究了杀微生物剂的局部耐药性。当使用低剂量的PSC-RANTES时,虽然在25只阴道攻毒的恒河猴中仅有1只恒河猴体内发现了耐药株,但是耐药性的问题也成为今后杀微生物剂的研究中不可忽视的问题。

除了以NNRTI为代表的RT抑制剂用于第二代杀微生物剂的研究外(Cranage et al, 2008),作用于新靶点的病毒复制抑制剂成为杀微生物剂研究的新的亮点。硫酯基S-乙酰-2-巯基苯丙胺(SAMTs)是一种靶向于NCp7的病毒复制抑制剂,它可以使HIV丧失复制能力,失去感染力(Srivastava et al, 2004)。在阴道攻毒R5-SHIV<sub>SF162P3</sub>和X4-SHIV<sub>SF33A</sub>的恒河猴模型上的实验结果表明, SAMTs有较高的保护率, 6只恒河猴中只有1只感染病毒(Wallace et al, 2009)。上述结果表明, NCp7抑制剂使得杀微生物剂研究具有更大的应用前景。除进入/融合抑制剂和病毒复制抑制剂外,一些作用机理尚不明确的杀微生物剂候选物显示出较好的抑制病毒传播的活性。月桂酸单甘油酯(GML)是天然存在于一些植物中的化合物,提取之后常作为杀菌剂及消炎剂添加到食品和化妆品中。在恒河猴模型上的结果显示,月桂酸单甘油酯可以使雌猴有效地避免SIV感染(Li et al, 2009)。在局部给药于阴道后,不会出现炎症反应,并且还可以促进乳酸杆菌的生长,有较好的安全性(Schlievert et al, 2008)。此外,利用恒河猴模型,研究人员研制出了杀微生物剂凝胶制剂的“万能”安慰剂HEC(Tien et al, 2005),并且发现了有可能用于评价杀微生物剂候选物有效性的生物标记(Hasegawa et al, 2009)。

恒河猴起源于亚洲,主要存在于印度和中国,两种来源的恒河猴差别微小。中国恒河猴在AIDS进程方面略好于印度恒河猴(Ling et al, 2002)。由于在利用恒河猴研究SIV的过程中积累了大量经验,因此,使得恒河猴适用于大规模的评价杀微生物剂的安全性及有效性。

### 3.2 豚尾猴

豚尾猴(pigtail macaques, *Macaca nemestrina*),又称平顶猴或猪尾猴,是另一种广泛用于杀微生物剂安全性及有效性评价的动物模型。豚尾猴的阴道与直肠中的菌群与人类相似,并且易感染性传播疾病(Patton et al, 2001; Patton et al, 2006)。目前,已利

用豚尾猴模型评价了各种作用机理的杀微生物剂候选物的安全性(Patton et al, 2006; Patton et al, 2009)及有效性。例如,进入/融合抑制剂与病毒复制抑制剂。Parikh et al (2009)发现两种RT抑制剂,TFV与FTC能够有效地保护以RL方式阴道攻毒SHIV<sub>SF162P3</sub>的豚尾猴。其中,安慰剂(HEC)组中的6只豚尾猴中有5只感染病毒,分别在攻毒2、4、4、5、11次后被感染。对照组中的2只,分别在攻毒第3、5次后被感染。阴道联合给药TFV-FTC的6只豚尾猴都没有感染病毒,保护率为6/6。单独使用1%TFV的6只豚尾猴也都没有感染病毒,保护率为6/6。Jiang et al(2005)研究了具有多种作用机理的树突状化合物SPL7013的有效性。在以SH方式阴道攻毒SHIV<sub>89.6P</sub>对照组中的8只豚尾猴,只安慰剂组中的7只豚尾猴在攻毒2周后全部感染病毒。相反,分为3组总计18只豚尾猴,在阴道给药5%、3%及1%的SPL7013时,保护率分别依次为6/6、5/6和2/6。与此同时,Patton et al(2006)在豚尾猴模型上的研究表明,1%及3%的SPL7013的安全性好于5%的SPL7013。鉴于3%的SPL7013与5%的SPL7013的有近似的有效性,因此,3%的SPL7013有望进入后续的临床试验。

与恒河猴相比,豚尾猴更易感染SIV。此外,有证据显示,豚尾猴是惟一对HIV易感的旧大陆猴。豚尾猴完全能够支持HIV的复制(Batten et al, 2006)。我们实验室在对抗HIV-1天然免疫分子TRIM5 $\alpha$ 的分子进化与限制HIV-1感染和复制的机制研究中发现了豚尾猴对HIV-1易感的重要分子机制(Liao et al, 2007; Kuang et al, 2009)。一些研究者试图证实基因工程构建的HIV最终可能会在豚尾猴中持续复制,并试图提高豚尾猴感染HIV的几率(Igarashi et al, 2007; Hatzioannou et al, 2009)。其中,Hatzioannou et al(2009)构建的simian-tropic(st)HIV-1能够在豚尾猴模型上很好的复制, stHIV-1有可能作为在豚尾猴模型上评价杀微生物剂的攻毒毒株。关于SIV/SHIV豚尾猴模型是否优于SIV/SHIV恒河猴模型的争论一直没有停息。如前所述,先前的NHP动物模型中,常以SH方式阴道攻毒恒河猴并且在攻毒前使用孕酮。豚尾猴对阴道攻毒SIV/SHIV高度敏感,已成功地建立了RL攻毒方式并用于评价杀微生物剂的有效性安全性。Otten et al(2005)研究发现,通过每周阴道攻毒TCID<sub>50</sub>为10的SHIV<sub>SF162P3</sub>,大多数豚尾猴在几周内感染病毒,

在攻毒前使用杀微生物剂可以阻止病毒的传播。因此,豚尾猴模型在评价杀微生物剂有效性及安全性方面有重要的作用。此外,取代传统杀微生物剂凝胶剂型的新的给药方式——阴道环也同样在豚尾猴及恒河猴模型中也有研究(Promadej-Lanier et al, 2009)。豚尾猴对通过阴道感染SIV/SHIV及其它人性传播疾病十分敏感,加之与人的生殖道相似(Patton et al, 2001),因此,豚尾猴应是评价杀微生物剂的安全性及有效性方面非常适合的动物模型。

然而,用豚尾猴进行病原学、免疫学或疫苗研究远没有恒河猴多,这是因为恒河猴在病毒载量和疾病进程等方面与人类更为相似。数量稀少是豚尾猴模型的最大不足之处。在可预见的将来,还没有充足数量的豚尾猴可供大规模评价杀微生物剂的有效性及其安全性。

### 3.3 食蟹猴

食蟹猴(*cynomolgus macaques, Macaca fascicularis*)是一种广泛用于HIV研究的体形较小的猕猴。目前,利用食蟹猴评价的杀微生物剂候选物主要为进入/融合抑制剂(Tsai et al, 2003; Tsai et al, 2004; Kish-Catalone et al, 2007)。Tsai et al(2004)利用食蟹猴模型评价了Cyanovirin-N的有效性及其安全性。26只食蟹猴分为5组,分别为安慰剂组、对照组以及3个不同浓度Cyanovirin-N的实验组。安慰剂组中的4只及对照组中的4只,共计8只食蟹猴在以SH方式阴道攻毒SHIV<sub>89.6P</sub>后,全部感染病毒。相反,阴道给药0.5%、1%、2%的Cyanovirin-N的共计18只食蟹猴的3个实验组均得到有效的保护,保护率均为5/6。类似实验中,共计18只的食蟹猴分为4组,即安慰剂组、对照组、2个不同浓度Cyanovirin-N的实验组。在以SH方式直肠攻毒SHIV<sub>89.6P</sub>后,安慰剂组及对照组中的食蟹猴均感染了病毒,1%及2%的Cyanovirin-N完全保护了实验组中的食蟹猴,保护率均为6/6(Kish-Catalone et al, 2007)。与此同时Cyanovirin-N也显示出了很好的安全性。

食蟹猴与豚尾猴的比较研究对于验证食蟹猴能够作为评价杀微生物剂的动物模型是十分必要的。Patton et al(2004)的结果表明,食蟹猴的阴道穹窿较小,与豚尾猴相比,在使用阴道镜检查较为困难并且不能进行反复活检。因此,在评价杀微生物剂安全性指标时有一定的局限性。在基础解剖学、阴道pH以及阴道与直肠的正常菌群方面,食蟹猴与人类较为接近,因此,较为适宜作为评价杀微生物

剂有效性的动物模型(Patton et al, 2004; Tévi-Benissan et al, 2005)。食蟹猴的体格较小并且价格低廉,加之对食蟹猴较为广泛的研究,这些因素确保了食蟹猴能够作为评价杀微生物剂有效性及安全性的动物模型。

## 4 展望

作为一种新的有效的预防HIV传播的手段,UNAIDS、CDC、CONRAD以及许多非政府组织都特别重视杀微生物剂的研究,用于杀微生物剂研究的资金逐年递增(图2)。但与此同时,已经完成的一些临床试验的负面结果为杀微生物剂的研究设置了障碍。在杀微生物剂早期研究过程中,由于缺乏合适的评价杀微生物剂有效性及安全性的动物模型,从而导致近年来杀微生物剂临床试验的负面结果。因此,利用动物模型评价杀微生物剂候选物的安全性及有效性对于提高临床试验的成功率是十分必要的。

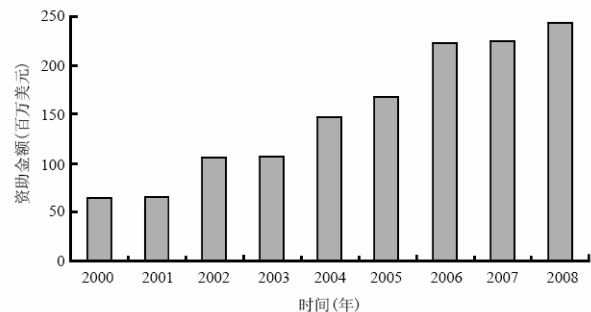


图2 2000—2008年全球杀微生物剂研究资助金额

Fig. 2 Annual investments in microbicide research funding 2000–2008

数据来源于<http://www.hivsourcetracking.org/>.

Date from <http://www.hivsourcetracking.org/>.

目前,杀微生物剂的发展方向逐渐趋向于单独使用ARV药物或者与各种不同作用机理的杀微生物剂联合使用。这是因为,ARV药物在临床上有很好的抑制HIV的活性并且有很好的安全性,例如,tenofovir与maraviroc。此外,不同作用机理的杀微生物剂的联合使用产生的协同作用能够更为有效的阻止HIV的性传播,并且能够减少潜在的局部用药后产生的耐药性风险。给药方式也正在从性活动前使用的凝胶制剂转向不依赖于性活动的可持续释放杀微生物剂的阴道环。利用动物模型找寻新的评价杀微生物剂候选物有效性及安全性的生物标



记也成为热点。然而, 对于有效的评价杀微生物剂的动物模型的争论一直持续(Grant et al, 2008)。目前还没有替代动物模型评价杀微生物剂的方法。即使利用动物模型, 其成本较高, 但是这与临床试验失败所消耗的成本相比而显得微不足道。因此, 在体外筛选大量杀微生物剂候选物后, 应在动物模型中进行严格的评价, 以此来获得有效性及安全性最好的杀微生物剂候选物, 进而提高临床试验的成功率。截至到2009年10月, 不同作用机理的杀微生物剂候选物陆续进入临床阶段(图3)。

即使在当前的动物模型中所获得的数据并不能很好地预测出杀微生物剂候选物在临床试验上的有效性, 至少我们基于最合理和最合乎逻辑的方法来评价杀微生物剂候选物, 而这种方法包含了当前已知的所有知识和信息。我们实验室已经在AIDS灵长类动物模型方面有很好的前期研究基础(Li et

al, 2007b), 在国家科技重大专项“十一五”计划课题“艾滋病生物预防技术与产品研制”资助下, 正在进行建立评价杀微生物剂候选物的动物模型研究, 用于评价体外筛选有效及安全性好的杀微生物剂候选物及HIV阴道黏膜途径感染的机制研究。

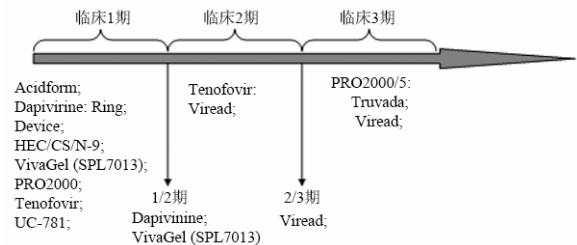


图 3 进入临床试验的杀微生物剂候选物  
Fig. 3 Ongoing microbicide clinical trials

数据来源于<http://www.micribicide.org/>, 截至到2009年10月。  
Date from <http://www.micribicide.org/>, October of 2009 update.

## 参考文献:

- Agace WW, Amara A, Roberts AI, Pablos JL, Thelen S, Uguccioni M, Li XY, Marsal J, Arenzana-Seisdedos F, Delaunay T, Ebert EC, Moser B, Parker CM. 2000. Constitutive expression of stromal derived factor-1 by mucosal epithelia and its role in HIV transmission and propagation [J]. *Curr Biol*, **10**(6): 325-328.
- Ambrose Z, Compton L, Piatak M, Jr, Lu D, Alvord WG, Lubomirski MS, Hildreth JE, Lifson JD, Miller CJ, Kewal Ramani VN. 2008. Incomplete protection against simian immunodeficiency virus vaginal transmission in rhesus macaques by a topical antiviral agent revealed by repeat challenges [J]. *J Virol*, **82**(13): 6591-6599.
- Batten CJ, De Rose R, Wilson KM, Agy MB, Chea S, Stratov I, Montefiori DC, Kent SJ. 2006. Comparative evaluation of simian, simian-human, and human immunodeficiency virus infections in the pigtail macaque (*Macaca nemestrina*) model [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **22**(6): 580-588.
- Berges BK, Akkina SR, Folkvord JM, Connick E, Akkina R. 2008. Mucosal transmission of R5 and X4 tropic HIV-1 via vaginal and rectal routes in humanized Rag2-/-gammac-/- (RAG-hu) mice [J]. *Virology*, **373**(2):342-351.
- Brenchley JM, Schacker TW, Ruff LE, Price DA, Taylor JH, Beilman GJ, Nguyen PL, Khoruts A, Larson M, Haase AT, Douek DC. 2004. CD4+T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract [J]. *J Exp Med*, **200**(6): 749-759.
- Catalone BJ, Kish-Catalone TM, Budgeon LR, Neely EB, Ferguson M, Krebs FC, Howett MK, Labib M, Rando R, Wigdahl B. 2004. Mouse model of cervicovaginal toxicity and inflammation for preclinical evaluation of topical vaginal microbicides [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, **48**(5): 1837-1847.
- Catalone BJ, Kish-Catalone TM, Neely EB, Budgeon LR, Ferguson ML, Stiller C, Miller SR, Malamud D, Krebs FC, Howett MK, Wigdahl B. 2005. Comparative safety evaluation of the candidate vaginal microbicide C31G [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, **49**(4): 1509-1520.
- Chakraborty H, Sen PK, Helms RW, Vernazza PL, Fiscus SA, Eron JJ, Patterson BK, Coombs RW, Krieger JN, Cohen MS. 2001. Viral burden in genital secretions determines male-to-female sexual transmission of HIV-1: a probabilistic empiric model [J]. *AIDS*, **15**(5): 621-627.
- Cranage M, Sharpe S, Herrera C, Cope A, Dennis M, Berry N, Ham C, Heeney J, Rezk N, Kashuba A, Anton P, McGowan I, Shattock R. 2008. Prevention of SIV rectal transmission and priming of T cell responses in macaques after local pre-exposure application of tenofovir gel [J]. *PLoS Med*, **5**(8): e157.
- D'Cruz OJ, Uckun FM. 2004. Stampidine is a potential nonspermicidal broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus microbicide [J]. *Fertil Steril*, **81** Suppl 1: 831-841.
- D'Cruz OJ, Uckun FM. 2005. Discovery of 2,5-dimethoxy-substituted 5-bromopyridyl thiourea (PHI-236) as a potent broad-spectrum anti-human immunodeficiency virus microbicide [J]. *Mol Hum Reprod*, **11**(10): 767-777.
- D'Cruz OJ, Uckun FM. 2007. Mucosal safety of PHI-443 and stampidine as a combination microbicide to prevent genital transmission of HIV-1 [J]. *Fertil Steril*, **88**(Suppl 4):1197-1206.
- Denton PW, Estes JD, Sun Z, Othieno FA, Wei BL, Wege AK, Powell DA, Payne D, Haase AT, Garcia JV. 2008. Antiretroviral pre-exposure prophylaxis prevents vaginal transmission of HIV-1 in humanized BLT mice [J]. *PLoS Med*, **5**(1): e16.
- Di Fabio S, Giannini G, Lapenta C, Spada M, Binelli A, Germinario E, Sestili P, Belardelli F, Proietti E, Vella S. 2001. Vaginal transmission of HIV-1 in hu-SCID mice: a new model for the evaluation of vaginal microbicides [J]. *AIDS*, **15**(17): 2231-2238.
- Di Fabio S, Van Roey J, Giannini G, van den Mooter G, Spada M, Binelli A, Pirillo MF, Germinario E, Belardelli F, de Bethune MP, Vella S. 2003. Inhibition of vaginal transmission of HIV-1 in hu-SCID mice by the non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor TMC120 in a gel formulation [J]. *AIDS*, **17**(11): 1597-1604.
- Ding XC, LI WH, LI JF, Wang QY. 2007. Optimized Benzalkonium Chloride gel :A potential vaginal microbicides [J]. *J Reprod Contra*,



- 18(2): 89-92.
- Dudley DM, Wentzel JL, Lalonde MS, Veazey RS, Arts EJ. 2009. Selection of a simian-human immunodeficiency virus strain resistant to a vaginal microbicide in macaques [J]. *J Virol*, **83**(10): 5067-5076.
- Fichorova RN, Tucker LD, Anderson DJ. 2001. The molecular basis of nonoxynol-9-induced vaginal inflammation and its possible relevance to human immunodeficiency virus type 1 transmission [J]. *J Infect Dis*, **184**(4): 418-428.
- Gaertner H, Cerini F, Escola JM, Kuenzi G, Melotti A, Offord R, Rossitto-Borlat I, Nedellec R, Salkowitz J, Gorochov G, Mosier D, Hartley O. 2008. Highly potent, fully recombinant anti-HIV chemokines: reengineering a low-cost microbicide [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **105**(46): 17706-17711.
- Galen BT, Martin AP, Hazrati E, Garin A, Guzman E, Wilson SS, Porter DD, Lira SA, Keller MJ, Herold BC. 2007. A comprehensive murine model to evaluate topical vaginal microbicides: mucosal inflammation and susceptibility to genital herpes as surrogate markers of safety [J]. *J Infect Dis*, **195**(9): 1332-1339.
- Grant RM, Hamer D, Hope T, Johnston R, Lange J, Lederman MM, Lieberman J, Miller CJ, Moore JP, Mosier DE, Richman DD, Schooley RT, Springer MS, Veazey RS, Wainberg MA. 2008. Whither or wither microbicides [J]? *Science*, **321**(5888): 532-534.
- Gray RH, Li X, Kigozi G, Serwadda D, Brahmbhatt H, Wabwire-Mangen F, Nalugoda F, Kiddugavu M, Sewankambo N, Quinn TC, Reynolds SJ, Wawer MJ. 2005. Increased risk of incident HIV during pregnancy in Rakai, Uganda: a prospective study [J]. *Lancet*, **366**(9492): 1182-1188.
- Gupta SM, Aranha CC, Reddy KV. 2008. Evaluation of developmental toxicity of microbicide Nisin in rats [J]. *Food Chem Toxicol*, **46**(2): 598-603.
- Han L, Lü F, Xu P, Zhang G, Juniper NS, Wu Z. 2009. Microbicide acceptability among female sex workers in Beijing, China results from a pilot study [J]. *J Women's Health*, **18**(9): 1377-1384.
- Harouse JM, Gettie A, Eshetu T, Tan RC, Bohm R, Blanchard J, Baskin G, Cheng-Mayer C. 2001. Mucosal transmission and induction of simian AIDS by CCR5-specific simian/human immunodeficiency virus SHIV(SF162P3) [J]. *J Virol*, **75**(4): 1990-1995.
- Hartley O, Gaertner H, Wilken J, Thompson D, Fish R, Ramos A, Pastore C, Dufour B, Cerini F, Melotti A, Heveker N, Picard L, Alizon M, Mosier D, Kent S, Offord R. 2004. Medicinal chemistry applied to a synthetic protein: development of highly potent HIV entry inhibitors [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **101**(47): 16460-16465.
- Hasegawa A, Liu HN, Ling BH, Borda JT, Alvarez X, Sugimoto C, Vinet-Oliphant H, Kim WK, Williams KC, Ribeiro RM, Lackner AA, Veazey RS, Kuroda MJ. 2009. The level of monocyte turnover predicts disease progression in the macaque model of AIDS [J]. *Blood*, **114**(14): 2917-2925.
- Hatzioannou T, Ambrose Z, Chung NP, Piatak M Jr, Yuan F, Trubey CM, Coalter V, Kiser R, Schneider D, Smedley J, Pung R, Gathuka M, Estes JD, Veazey RS, KewalRamani VN, Lifson JD, Bieniasz PD. 2009. A macaque model of HIV-1 infection [J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, **106**(11): 4425-4429.
- Hessell AJ, Poignard P, Hunter M, Hangartner L, Tehrani DM, Bleeker WK, Parren PW, Marx PA, Burton DR. 2009. Effective, low-titer antibody protection against low-dose repeated mucosal SHIV challenge in macaques [J]. *Nat Med*, **15**(8): 951-954.
- Hillier SL, Moench T, Shattock R, Black R, Reichelderfer P, Veronese F. 2005. *In vivo* and *in vitro*: the story of nonoxynol 9 [J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **39**: 1-8.
- Hollingsworth TD, Anderson RM, Fraser C. 2008. HIV-1 transmission, by stage of infection [J]. *J Infect Dis*, **198**(5): 687-693.
- Hsu M, Harouse JM, Gettie A, Buckner C, Blanchard J, Cheng-Mayer C. 2003. Increased mucosal transmission but not enhanced pathogenicity of the CCR5-tropic, simian AIDS-inducing simian/human immunodeficiency virus SHIV (SF162P3) maps to envelope gp120 [J]. *J Virol*, **77**(2): 989-998.
- Igarashi T, Iyengar R, Byrum RA, Buckler-White A, Dewar RL, Buckler CE, Lane HC, Kamada K, Adachi A, Martin MA. 2007. Human immunodeficiency virus type 1 derivative with 7% simian immunodeficiency virus genetic content is able to establish infections in pig-tailed macaques [J]. *J Virol*, **81**(20): 11549-11552.
- Jiang YH, Emau P, Cairns JS, Flanary L, Morton WR, McCarthy TD, Tsai CC. 2005. SPL7013 gel as a topical microbicide for prevention of vaginal transmission of SHIV89.6P in macaques [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **21**(3): 207-213.
- Kashuba AD, Dyer JR, Kramer LM, Raasch RH, Eron JJ, Cohen MS. 1999. Antiretroviral-drug concentrations in semen: implications for sexual transmission of human immunodeficiency virus type 1 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, **43**(8): 1817-1826.
- Kaufman J, Jing J. 2002. China and AIDS--the time to act is now [J]. *Science*, **296**(5577): 2339-40.
- Kersh EN, Luo W, Adams DR, Srinivasan P, Smith JM, Promadej-Lanier N, Ellenberger D, Garcia-Lerma JG, Butera S, Otten R. 2009. Repeated rectal SHIVSF162P3 exposures do not consistently induce sustained T cell responses prior to systemic infection in the repeat-low dose preclinical macaque model [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **25**(9): 905-917.
- Kish-Catalone TM, Lu WY, Gallo RC, DeVico AL. 2006. Preclinical evaluation of synthetic -2 RANTES as a candidate vaginal microbicide to target CCR5 [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, **50**(4): 1497-1509.
- Kish-Catalone T, Pal R, Parrish J, Rose N, Hocker L, Hudacik L, Reitz M, Gallo R, DeVico A. 2007. Evaluation of -2 RANTES vaginal microbicide formulations in a nonhuman primate simian/human immunodeficiency virus (SHIV) challenge model [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **23**(1): 33-42.
- Kuang YQ, Tang X, Liu FL, Jiang XL, Zhang YP, Gao GX, Zheng YT. 2009. Genotyping of TRIM5 locus in Northern pig-tailed macaques (*Macaca leonina*), a primate species susceptible to human immunodeficiency virus type 1 infection [J]. *Retrovirology*, **6**: 58.
- Lackner AA, Veazey RS. 2007. Current concepts in AIDS pathogenesis: insights from the SIV/macaque model [J]. *Annu Rev Med*, **58**: 461-476.
- Lederman MM, Veazey RS, Offord R, Mosier DE, Dufour J, Mefford M, Piatak M Jr, Lifson JD, Salkowitz JR, Rodriguez B, Blauvelt A, Hartley O. 2004. Prevention of vaginal SHIV transmission in rhesus macaques through inhibition of CCR5 [J]. *Science*, **306**(5695): 485-487.
- Li MH, Zhang GH, Sun T, Zheng YT. 2007a. The value of nonhuman primate animal models in anti-HIV drug studies [J]. *Chin J New Drug*, **16**(16): 1237-1242. [李明华, 张高红, 孙涛, 郑永唐. 2007a. 灵长类动物模型在抗艾滋病病毒药物研究中的应用. 中国新药杂志, 16(16):1237-1242.]
- Li MH, Li SY, Xia HJ, Wang L, Wang YY, Zhang GH, Zheng YT. 2007b. Establishment of AIDS animal model with SIVmac 239 infected Chinese rhesus monkey [J]. *Virol Sin*, **22**(6): 509-516.
- Li QS, Estes JD, Schlievert PM, Duan LJ, Brosnahan AJ, Southern PJ, Reilly CS, Peterson ML, Schultz-Darken N, Brunner KG, Nephew KR, Pambuccian S, Lifson JD, Carlis JV, Haase AT. 2009. Glycerol monolaurate prevents mucosal SIV transmission [J]. *Nature*, **458**(7241): 1034-1038.
- Liao CH, Kuang YQ, Liu HL, Zheng YT, Su B. 2007. A novel fusion gene, TRIM5-Cyclophilin A in the pig-tailed macaque determines its susceptibility to HIV-1 infection [J]. *AIDS*, **21** (Suppl 8): S19-26.
- Ling B, Veazey RS, Luckay A, Penedo C, Xu K, Lifson JD, Marx PA. 2002.

- SIV (mac) pathogenesis in rhesus macaques of Chinese and Indian origin compared with primary HIV infections in humans [J]. *AIDS*, **16**(11): 1489-1496.
- Marx PA, Spira AI, Gettie A, Dailey PJ, Veazey RS, Lackner AA, Mahoney CJ, Miller CJ, Claypool LE, Ho DD, Alexander NJ. 1996. Progesterone implants enhance SIV vaginal transmission and early virus load [J]. *Nat Med*, **2**(10): 1084-1089.
- Mehandru S, Poles MA, Tenner-Racz K, Horowitz A, Hurley A, Hogan C, Boden D, Racz P, Markowitz M. 2004. Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract [J]. *J Exp Med*, **200**(6): 761-770.
- Melkus MW, Estes JD, Padgett-Thomas A, Gatlin J, Denton PW, Othieno FA, Wege AK, Haase AT, Garcia JV. 2006. Humanized mice mount specific adaptive and innate immune responses to EBV and TSST-1 [J]. *Nat Med*, **12**(11): 1316-1322.
- Milligan GN, Young CG, Meador MG, Chu CF, Stanberry LR. 2005. Effects of candidate vaginally-applied microbicide compounds on innate immune cells [J]. *J Reprod Immunol*, **66**(2): 103-116.
- Nuttall JP, Thake DC, Lewis MG, Ferkany JW, Romano JW, Mitchnick MA. 2008. Concentrations of dapivirine in the rhesus macaque and rabbit following once daily intravaginal administration of a gel formulation of [14C]dapivirine for 7 days [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, **52**(3): 909-914.
- Otten RA, Adams DR, Kim CN, Jackson E, Pullium JK, Lee K, Grohskopf LA, Monsour M, Butera S, Folks TM. 2005. Multiple vaginal exposures to low doses of R5 simian-human immunodeficiency virus: strategy to study HIV preclinical interventions in nonhuman primates [J]. *J Infect Dis*, **191**(2): 164-173.
- Pal R, Nuttall J, Galmin L, Weiss D, Chung HK, Romano J. 2009. Characterization of vaginal transmission of a simian human immunodeficiency virus (SHIV) encoding the reverse transcriptase gene from HIV-1 in Chinese rhesus macaques [J]. *Virology*, **386**(1): 102-108.
- Parikh UM, Dobard C, Sharma S, Cong ME, Jia H, Martin A, Pau CP, Hanson DL, Guenther P, Smith J, Kersh E, Garcia-Lerma JG, Novembre FJ, Otten R, Folks T, Heneine W. 2009. Complete protection from repeated vaginal simian-human immunodeficiency virus exposures in macaques by a topical gel containing tenofovir alone or with emtricitabine [J]. *J Virol*, **83**(20): 10358-10365.
- Patton DL, Cosgrove-Sweeney YT, Rabe LK, Hillier SL. 2001. The pig-tailed macaque rectal model: microflora and chlamydial infection [J]. *Sex Transm Dis*, **28**(7): 363-366.
- Patton DL, Sweeney YC, Tsai CC, Hillier SL. 2004. *Macaca fascicularis* vs. *Macaca nemestrina* as a model for topical microbicide safety studies [J]. *J Med Primatol*, **33**(2): 105-108.
- Patton DL, Cosgrove Sweeney YT, McCarthy TD, Hillier SL. 2006. Preclinical safety and efficacy assessments of dendrimer-based (SPL7013) microbicide gel formulations in a nonhuman primate model [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, **50**(5): 1696-1700.
- Patton DL, Sweeney YT, Agnew KJ, Balkus JE, Rabe LK, Hillier SL. 2006. Development of a nonhuman primate model for *Trichomonas vaginalis* infection [J]. *Sex Transm Dis*, **33**(12): 743-746.
- Patton DL, Sweeney YT, Paul KJ. 2009. A summary of preclinical topical microbicide rectal safety and efficacy evaluations in a pigtailed macaque model [J]. *Sex Transm Dis*, **36**(6): 350-356.
- Pilcher CD, Tien HC, Eron JJ Jr, Vernazza PL, Leu SY, Stewart PW, Goh LE, Cohen MS; Quest Study; Duke-UNC-Emory Acute HIV Consortium. 2004. Brief but efficient: acute HIV infection and the sexual transmission of HIV [J]. *J Infect Dis*, **189**(10): 1785-1792.
- Poonia B, Wang X, Veazey RS. 2006. Distribution of simian immunodeficiency virus target cells in vaginal tissues of normal rhesus macaques: implications for virus transmission [J]. *J Reprod Immunol*, **72**(1-2): 74-84.
- Promadej-Lanier N, Srinivasan P, Curtis K, Adams DR, Kim C, Luo W, Jia H, Subbarao S, Otten RA, Butera S. 2008. Systemic and mucosal immunological responses during repeated mucosal SHIV(162P3) challenges prior to and following infection in pigtailed macaques [J]. *Virology*, **375**(2): 492-503.
- Promadej-Lanier N, Smith JM, Srinivasan P, McCoy CF, Butera S, Woolfson AD, Malcolm RK, Otten RA. 2009. Development and evaluation of a vaginal ring device for sustained delivery of HIV microbicides to non-human primates [J]. *J Med Primatol*, **38**(4): 263-271.
- Quinn TC, Overbaugh J. 2005. HIV AIDS in Women An Expanding Epidemic [J]. *Science*, **308**(5728): 1582-1583.
- Ratterree M, Gettie A, Williams V, Malenbaum S, Neurath AR, Cheng-Mayer C, Blanchard J. 2005. Safety and distribution of cellulose acetate 1,2-benzenedicarboxylate (CAP), a candidate anti-HIV microbicide in rhesus macaques [J]. *AIDS*, **19**(15): 1595-1599.
- Schlievert PM, Strandberg KL, Brosnahan AJ, Peterson ML, Pambuccian SE, Nephew KR, Brunner KG, Schultz-Darken NJ, Haase AT. 2008. Glycerol monolaurate does not alter rhesus macaque (*Macaca mulatta*) vaginal lactobacilli and is safe for chronic use [J]. *Antimicrob Agents Chemother*, **52**(12): 4448-4454.
- Shacklett BL. 2008. Can the new humanized mouse model give HIV research a boost [J]. *PLoS Med*, **5**(1): e13.
- Shattock RJ, Moore JP. 2003. Inhibiting sexual transmission of HIV-1 infection [J]. *Nat Rev Microbiol*, **1**(1): 25-34.
- Smith SM, Baskin GB, Marx PA. 2000. Estrogen protects against vaginal transmission of simian immunodeficiency virus [J]. *J Infect Dis*, **182**(3): 708-715.
- Srivastava P, Schito M, Fattah RJ, Hara T, Hartman T, Buckheit RW Jr, Turpin JA, Inman JK, Appella E. 2004. Optimization of unique, uncharged thioesters as inhibitors of HIV replication [J]. *Bioorg Med Chem*, **12**(24): 6437-6450.
- Subbarao S, Ramos A, Kim C, Adams D, Monsour M, Butera S, Folks T, Otten RA. 2007. Direct stringency comparison of two macaque models (single-high vs. repeat-low) for mucosal HIV transmission using an identical anti-HIV chemoprophylaxis intervention [J]. *J Med Primatol*, **36**(4-5): 238-243.
- Sun Z, Denton PW, Estes JD, Othieno FA, Wei BL, Wege AK, Melkus MW, Padgett-Thomas A, Zupancic M, Haase AT, Garcia JV. 2007. Intrarectal transmission, systemic infection, and CD4+ T cell depletion in humanized mice infected with HIV-1 [J]. *J Exp Med*, **204**(4): 705-714.
- Tévi-Benissan C, Makuva M, Morelli A, Georges-Courbot MC, Matta M, Georges A, Bélec L. 2000. Protection of cynomolgus macaque against cervicovaginal transmission of SIVmac 251 by the spermicide benzalkonium chloride [J]. *J Acquir Immune Defic Syndr*, **24**(2): 147-153.
- Tien D, Schnaare RL, Kang F, Cohl G, McCormick TJ, Moench TR, Doncel G, Watson K, Buckheit RW, Lewis MG, Schwartz J, Douville K, Romano JW. 2005. In vitro and in vivo characterization of a potential universal placebo designed for use in vaginal microbicide clinical trials [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **21**(10): 845-853.
- Tsai CC, Emau P, Jiang Y, Tian B, Morton WR, Gustafson KR, Boyd MR. 2003. Cyanovirin-N gel as a topical microbicide prevents rectal transmission of SHIV89.6P in macaques [J]. *AIDS Res Hum Retroviruses*, **19**(7): 535-541.
- Tsai CC, Emau P, Jiang Y, Agy MB, Shattock RJ, Schmidt A, Morton WR, Gustafson KR, Boyd MR. 2004. Cyanovirin-N inhibits AIDS virus infections in vaginal transmission models [J]. *AIDS Res Hum*

- Retroviruses*, **20**(1): 11-18.
- Tsai L, Trunova N, Gettie A, Mohri H, Bohm R, Saifuddin M, Cheng-Mayer C. 2007. Efficient repeated low-dose intravaginal infection with X4 and R5 SHIVs in rhesus macaque: implications for HIV-1 transmission in humans [J]. *Virology*, **362**(1): 207-216.
- UNAIDS. 2009. AIDS Epidemic Update 2009 [M/OL]. Available at <http://www.unaids.org/>.
- van de Wijgert J, Coggins C. 2002. Microbicides to prevent heterosexual transmission of HIV: ten years down the road [J]. *BETA*, **15**(2): 23-28.
- Veazey RS, Shattock RJ, Pope M, Kirijan JC, Jones J, Hu Q, Ketas T, Marx PA, Klasse PJ, Burton DR, Moore JP. 2003. Prevention of virus transmission to macaque monkeys by a vaginally applied monoclonal antibody to HIV-1 gp120 [J]. *Nat Med*, **9**(3): 343-346.
- Veazey RS, Klasse PJ, Schader SM, Hu QX, Ketas TJ, Lu M, Marx PA, Dufour J, Colonna RJ, Shattock RJ, Springer MS, Moore JP. 2005. Protection of macaques from vaginal SHIV challenge by vaginally delivered inhibitors of virus-cell fusion [J]. *Nature*, **438**(7064): 99-102.
- Veazey RS, Ling B, Green LC, Ribka EP, Lifson JD, Piatak M Jr, Lederman MM, Mosier D, Offord R, Hartley O. 2009. Topically applied recombinant chemokine analogues fully protect macaques from vaginal simian-human immunodeficiency virus challenge [J]. *J Infect Dis*, **199**(10): 1525-1527.
- Wallace GS, Cheng-Mayer C, Schito ML, Fletcher P, Miller Jenkins LM, Hayashi R, Neurath AR, Appella E, Shattock RJ. 2009. Human immunodeficiency virus type 1 nucleocapsid inhibitors impede trans infection in cellular and explant models and protect nonhuman primates from infection [J]. *J Virol*, **83**(18): 9175-9182.
- Wang RR, Ge ZM, Ma L, Zheng YT. 2005. Microbicides with contraception action[J]. *Chn J New Drug*, **14**(3): 74-277. [王睿睿, 葛争鸣, 马丽, 郑永唐. 2005. 具有避孕作用的杀微生物剂. 中国新药杂志, **14**(3): 274-277.]
- Wawer MJ, Gray RH, Sewankambo NK, Serwadda D, Li X, Laeyendecker O, Kiwanuka N, Kigozi G, Kiddugavu M, Lutalo T, Nalugoda F, Wabwire-Mangen F, Meehan MP, Quinn TC. 2005. Rates of HIV-1 transmission per coital act, by stage of HIV-1 infection, in Rakai, Uganda [J]. *J Infect Dis*, **191**(9): 1403-1409.
- Weber J, Nunn A, O'Connor T, Jeffries D, Kitchen V, McCormack S, Stott J, Almond N, Stone A, Darbyshire J. 2001. 'Chemical condoms' for the prevention of HIV infection: evaluation of novel agents against SHIV (89.6PD) in vitro and in vivo [J]. *AIDS*, **15**(12): 1563-1568.
- Wu Z, Sullivan SG, Wang Y, Rotheram-Borus MJ, Detels R. 2007. Evolution of China's response to HIV/AIDS [J]. *Lancet*, **369**(9562): 679-90.
- Yu RR, Cheng AT, Lagenaur LA, Huang W, Weiss DE, Treece J, Sanders-Bear BE, Hamer DH, Lee PP, Xu Q, Liu Y. 2009. A Chinese rhesus macaque (*Macaca mulatta*) model for vaginal *Lactobacillus* colonization and live microbicide development [J]. *J Med Primatol*, **38**(2): 125-136.
- Zhang GH, Li MH, Zheng YT. 2007. Application of AIDS macaque animal model in HIV vaccine research [J]. *Zool Res*, **23**(2): 149-154. [张高红, 李明华, 郑永唐. 2007. AIDS 猕猴模型在 HIV 疫苗研究中的应用. 动物学研究, **28**(5): 556-562.]

~~~~~  
 (上接第 65 页)

## 《动物学研究》 诚谢 2009 年度审稿人

- |             |                               |     |                                 |
|-------------|-------------------------------|-----|---------------------------------|
| 韩联宪         | 西南林学院动物学教研室                   | 李兵  | 中国科学院生物物理研究所                    |
| 胡慧建         | 华南濒危动物研究所                     | 李海鹏 | 中国科学院上海生命科学研究院<br>计算生物学研究所      |
| 华田苗         | 安徽师范大学生命科学学院                  | 李家乐 | 上海海洋大学                          |
| 黄乘明         | 中国科学院动物研究所                    | 李劲松 | 中国科学院上海生命科学研究院<br>生物化学与细胞生物学研究所 |
| 黄韧          | 广东省实验动物监测所                    | 李进华 | 安徽大学生命科学学院                      |
| 黄松          | 黄山学院                          | 李明  | 中国科学院动物研究所                      |
| 黄原          | 陕西师范大学生命科学学院                  | 李琪  | 上海海洋大学生命学院                      |
| 计翔          | 南京师范大学生命科学学院                  | 李瑞珍 | 上海交通大学医学院发育生物学研究中心              |
| 江建平         | 中国科学院成都生物研究所                  | 李文鹏 | 云南大学生命科学学院                      |
| 蒋国芳         | 南京师范大学生命科学学院                  | 李相运 | 河北农业大学动物科技学院                    |
| 蒋志刚         | 中国科学院动物研究所                    | 李欣海 | 中国科学院动物研究所                      |
| 金克炜         | 昆明医学院                         | 李雪峰 | 华南师范大学生命科学学院                    |
| 金崑          | 中国林科院森林生态环境与保护<br>研究所         | 李义明 | 中国科学院动物研究所                      |
| Karmegam    | Engineering College, Vinayaka | 李玉春 | 山东大学威海分校海洋学院                    |
| Natchimuthu | Missions University, India    | 梁爱萍 | 中国科学院动物研究所                      |
| 李保国         | 西北大学生命科学学院                    |     |                                 |

(下转第 107 页)