

計畫編號：DOH90-DC-1058

行政院衛生署疾病管制局九十年度委託研究計畫

台灣地區 HIV-1 亞型之鑑定

研究報告

執行機構：國立台灣大學醫學院

計畫主持人：李君男

研究人員：盧伊虹

執行期間：90年1月1日至90年12月31日

** 本研究報告僅供參考，不代表本署意見 **

目 錄

| | |
|---------------------------------|----|
| 目錄 | i |
| 中文摘要 | ii |
| 英文摘要 | iv |
| 前言 | 1 |
| 材料及方法： | 6 |
| 檢體 | 6 |
| DNA 之萃取 | 6 |
| PCR 反應 | 6 |
| 核酸定序實驗(DNA Sequencing)與分析 | 7 |
| 結果： | 8 |
| <i>vpu</i> 基因亞型分析..... | 8 |
| 台灣地區流行之病毒亞型分析..... | 8 |
| 各年代中各愛滋病毒亞型分佈之狀況..... | 9 |
| 討論 | 10 |
| 結論與建議 | 12 |
| 參考文獻 | 13 |
| 圖、表 | 16 |

摘 要

HIV-1 病毒株之遺傳變異性很顯著，為瞭解台灣地區流行之 HIV-1 遺傳因子之差異情形，有必要研究本地 HIV-1 病毒株之基因差異性。亞型之分析有助於瞭解本地 HIV-1 流行與變化之狀況，亦有助於瞭解本地 HIV-1 感染之來源，這些資料可做為愛滋病防治之參考，與未來採用疫苗之依據。本研究由 HIV-1 感染者之血液分離出單核血球細胞，由中萃取 DNA，再以雙重聚合酶連鎖反應，擴增 HIV-1 之部分基因；經 PCR 反應擴增之產物，可直接進行核酸定序試驗，再利用電腦分析各病毒株之間的差異，並與國外之參考病毒株之核酸定序或氨基酸序列比對，以判斷各個病毒屬於何種亞型。

由於過去曾分析 *vpu* 基因所得之亞型與 *env* 基因、*gag* 基因分析所得亞型之結果比較，一致性甚佳，故本年度之計畫以 *vpu* 基因之分析為主。此次分析著重在不同亞型在各年代流行的狀況，以了解各亞型流行的趨勢。以感染者被發現之年代為準，從 1990 年開始至 2000 年這 11 年當中，總共分析了 1006 名感染者所帶病毒之 *vpu* 基因之核酸序列，所鑑定出之亞型以 B 亞型最多，佔了 82.9%，E 亞型次之，佔了 14.9%，亦有少數的 A 亞型、C 亞型、F 亞型、G 亞型與 A/G 亞型重組病毒。在男性中，仍以 B

亞型為主，而在女性中，則以 E 亞型佔多數，如果女性感染者的亞型盛行率反應的是異性戀者之情況，則異性戀者之間傳佈的仍以 E 亞型較多。已知在同性戀者之間傳佈的以 B 亞型為主，因此，B 亞型在男性中之高盛行率顯示本地的男性感染者仍以同性戀者居多數。由各亞型的年代流行趨勢分析，發現 B 亞型與 E 亞型在各年所佔有比例呈互為消長之現象，此與兩型仍是最主要盛行之病毒亞型有關。我們分析之檢體絕大多數來自男性，故此部份之分析主要反應的應與男性較為相關。由 B 亞型在 1994 年後佔有比例持續攀高，此與無法有效遏止男性同性戀感染者間盛行之 B 亞型之傳佈，應有所關聯。

關鍵詞：人類免疫缺乏病毒、亞型、*vpu* 基因、核酸序列分析

ABSTRACT

Prominent genomic heterogeneity is found among different HIV-1 isolates. The viruses have been differentiated into different genetic subtypes by sequence analysis. The information on the genetic subtypes of HIV-1 is important for understanding the epidemiology of HIV-1 infection in Taiwan, the possible origin of these viruses and for future vaccine development.

In this study DNA was extracted from the peripheral blood mononuclear cell of HIV-1 infected individual. The *vpu* gene was amplified by nested polymerase chain reaction (PCR). The amplicons were sequence analyzed. The *vpu* genes were compared with those of the reference strains with known subtypes. The *vpu* genes have been analyzed for 1006 samples collected from the period 1990 to 2000. Subtype B constituted 82.9% of these strains, subtype E constituted 14.9%. A few strains with subtype A, C, F, G, or A/G were also found. However, subtype E was the most prevalent subtype in female group. Subtype E was possible the most prevalent subtype in the heterosexual group. In the male group, subtype B is the most prevalent subtype. The analysis of the trend of subtype distribution revealed that the percentage of subtype B infection was increasing from 1994 to 2000. And it is noted that subtype B is the predominant subtype in homosexual male group. These results may imply that the HIV transmission in homosexual male group may not be controlled efficiently.

Key Words: human immunodeficiency virus, subtype, *vpu* gene, sequence analysis

前 言

愛滋病(AIDS)是由人類免疫缺乏病毒(Human immunodeficiency virus, HIV)引起的。HIV 已造成世界各地的流行,亞洲地區之感染人數直線上升。台灣地區的 HIV-1 感染人數亦是持續在增加,我們應加強對於 HIV 感染者疾病之發展深入之研究。

愛滋病毒是一種反錄病毒(Retrovirus),其外形呈球狀,在電子顯微鏡下觀察它的直徑約在 80-100nm 之間。它的外套膜上有兩個醣蛋白質 gp120 及 gp41,它們是由 *env* 基因生成之前驅蛋白質 gp160,經細胞之蛋白酶切割而來(1-3)。gp41 穿透外套膜而嵌於膜中,其膜外之部份以非共價鍵之方式與 gp120 結合在一起。HIV 感染細胞的第一步是經由 gp120 和細胞表面的受體 CD4 產生高度親和性的結合(4-6),進而病毒和細胞膜融合在一起而進到細胞內,此步驟與 gp120 和 gp41 均有關連(7-9)。除了 CD4 受體外,近來亦發現 CXCR4、CCR5 等 β -chemokine receptors 是 HIV-1 進入細胞主要的輔助受體(10-12)。gp120 是目前已知醣化最厲害之病毒蛋白質,它使得病毒之表面覆蓋了一層醣膜,有保護病毒以躲過中和抗體之作用。緊貼著外套膜之內,有一層 p17 蛋白質,再內層是一個正十二面體之核殼(Nucleocapsid),主要是由 p24 蛋白質所組成。病毒的核心部份含有兩條單股正向的 RNA(各約

9.2kb) , 與 p9 及 p7 蛋白質緊密的結合在一起。上述幾種結構蛋白質是由 *gag* 基因所生成。與基因結合在一起的還有三種酵素 , 它們是由 *pol* 基因所生成 , 分別為反轉錄酶(Reverse transcriptase)、 嵌入酶(Integrase) 及蛋白酶(Protease) (13)。

HIV 之基因體結構與同屬南提病毒屬(Lentivirus)之病毒相似 , 除了與一般反錄病毒一樣 , 均含有 *gag*、 *pol*、 *env* 基因 , 兩端各有長重覆序列(LTR)之外 , 尚有一些輔助性之基因 , 它們具有調控之功能 , 如 *tat*、 *rev*、 *nef*、 *vif*、 *vpu*(在第二型愛滋病毒則為 *vpx*) , 及 *vpr* 等六個基因 , 其中功能最顯著者為 *tat* 及 *rev* , *tat* 是一很強的轉活化因子 , *rev* 可以調控結構蛋白之表現 (14)。 *Vpr* 是一較弱之轉錄活化因子 , *vif* 有增強游離病毒感染力之作用 , 而 *vpu* 是病毒苞出所必需 , 並與 CD4 在細胞內之分解有關 , *nef* 與病毒之複製與致病力有關 (13,15,16)。

HIV-1 病毒株之間遺傳因子差異很大 , 尤以外套膜蛋白質基因之差異最為顯著 , 美國的 Los Alamos Laboratory 根據外套膜蛋白質基因的核酸序列 , 將 HIV-1 分成 M (major)與 O (outlier)兩群 , M 群之下又可分成至少十種亞型 (A-J) (17)。最近在非洲又發現新的變異株 , 與 M 或 O 群均相差很大 , 而被歸類為另一個群 , 被稱為 N(new)

群 (18)。各種亞型在世界各地之分佈情形不一，歐美仍以 B 亞型最多，非洲地區則有各種亞型，亞洲地區 HIV-1 的流行在印度和泰國極為嚴重，印度之病毒以 C 亞型為主，泰國則以 E 亞型為主。HIV-1 之變異性除了因點突變 (Point mutation) 的累積之外，基因的重組 (Recombination) 亦是造成變異之一大因素 (19, 20)。近來之報告指出有為數不少的感染者所帶之 HIV-1 病毒是重組病毒 (21)，這種病毒應是同時感染兩種以上病毒所產生的，分析這些病毒不同之基因而發現具有不同之亞型。譬如有些病毒的 *gag* 為 G 亞型，而 *env* 為 A 亞型，泰國盛行之 E 亞型，最早是以 *env* 基因鑑定為 E 亞型，繼而發現其 *gag* 基因為 A 亞型 (22, 23)。

另外在測定 HIV-1 病毒量 (Viral load) 時，不同亞型測定之效果不一 (24)，有必要在測定病毒量之前瞭解感染者所帶之 HIV-1 為何種亞型。此外，將可評估不同亞型對藥物治療之效果及不同亞型之疾病發展是否有所不同。

為瞭解本地 HIV-1 之流行狀況，有必要長期研究本地 HIV-1 病毒各亞型流行之變化，有助於瞭解本地 HIV-1 感染之來源，這些資料可作為愛滋病防治之參考。

在 HIV-1 的複製過程中，其遺傳因子會嵌入受感染細胞之 DNA

內 (Proviral DNA) , 利用此特性可由愛滋病感染者之血液分離出單核血球細胞 , 由中淬取 DNA , 再以雙重聚合酶連鎖反應 (Nested PCR) , 擴增 HIV-1 之部分基因 ; 或由血漿中直接抽取病毒之 RNA , 再以 RT-PCR 擴增 HIV-1 之基因。經 PCR 反應擴增之產物 , 可直接進行核酸定序試驗 , 或經擇殖後再進行核酸定序試驗。核酸定序以自動核酸定序儀定出 , 在利用電腦分析各病毒株之間的差異 , 並與國外之參考病毒株之核酸序列或氨基酸序列比對 , 以判斷各個病毒屬於何種亞型及可能之來源。鑑定亞型之方法現亦有利用 DNA 異股泳動試驗 (Heteroduplex mobility assay, HMA) (26-28) 及 PCR 結合雜交之方法 (29 , 30) 。這些方法都是屬於基因分型之方法 , 另亦有利用血清分型之方法 (31 , 32) , 此乃利用 gp120 之 V3 部位之合成勝太 (synthetic peptide) 與感染者之血清進行酶連免疫反應試驗 (ELISA) , 以測定抗體反應來分析亞型。血清分型屬間接的分型方式 , V3 部位變異性很大 , 因此常會產生錯誤之結果。

vpu 基因全長 246 bp , 與 *env* 基因在基因體上十分靠近 , 其 3'端 83 bp 與 *env* 基因之 5'端重疊 , 由本實驗室過去之經驗 , 此段基因之 PCR 較其他基因容易做出 , 或許與此段基因較短及所設計之引子部位之保守性較高有關 , 由分析 *vpu* 基因之核酸序列所鑑定出之亞型

與 *env* 基因一致性很高。

因 HIV-1 之流行會不斷的變化，本計畫分析由 1990 年以來本地流行之 HIV-1 亞型變化，以 *vpu* 之基因分析為主。

材料及方法

檢體：HIV-1感染者的血液主要來自台北市立性病防治所及台大醫院慢性病房，收集的血液所加之抗凝劑為 EDTA，經由 Ficoll-Paque 分離出單核白血球(PBMC),並將其保存在 -80 冰箱。

DNA 之萃取：在 PBMC 內加入 200 μ l RBC lysis buffer (0.32M Sucrose , 10mM Tris pH 7.5 , 5 mM MgCl₂ , 1% Triton X-100) , 靜置一段時間，待紅血球全部溶血，離心倒掉懸浮液。再加入 200 μ l Cell lysis buffer (10mM Tris pH 8.3 , 50mM KCl , 2.5mM MgCl₂ , 0.45% NP-40 , 0.45% Tween-20) 和 1 μ l Proteinase K (20mg/ml) , 置於 56 一小時，再用 Phenol / Chloroform 純化、酒精沈澱，最後將 DNA 溶於 100 μ l 二次水中，測 OD₂₆₀以估計 DNA 濃度。

PCR 反應:取 1-2 μ g 的 DNA 進行 PCR 反應 反應溶液中包括(10 mM Tris-HCl , pH 9.0 , 50 mM KCl , 1.5 mM MgCl₂ , 0.1%(w/v) gelatin , 1% Triton X-100 , 0.2 mM dNTPs , 15 pmole primer 以及1 unit Tag DNA polymerase)。在進行第一次 PCR 反應後，再取其產物 1 μ l 進行第二次 PCR反應以增幅 *vpu* 基因。第一次PCR反應所使用的引子是 TAT-1 (5'-CCTAAACTAGAGCCCTGGAACCATCC -3') 以 及 EN70

(5'-GGTACACAGGCATGT GTGGCCC-3')，而第二次 PCR 反應所使用的引子則是 154.1 (5'GTATGAATTCAA CTGCTGTAAATGGCAGT-3') 以及 KPN (5'-ACACAGGTACCCCATAATAGA CTGT-3')，用於區分 *vpu* 基因中 E 亞型的第二次 PCR 引子則是 VPUEN-1 (5'-TAGTGCAAT AGTAGGACTGATAGTAGCG-3') 以及 VPUEN-2 (5'-CACAAGTTTGGCCAATTCATCTGT-3')，擴增 *vpu* 基因及區分 *vpu* E 亞型的兩次 PCR 反應的溫度則都是 94 30 sec, 54 30 sec, 72 30 sec. 共 35 次。

核酸定序實驗(DNA Sequencing)與分析：利用 PCR 純化試藥組(例如：QIAGEN Kit)純化第二次 PCR 反應產物，並測 OD₂₆₀ 以估計 DNA 量，繼而進行核酸定序反應。反應主要採用 ABI 的 Dye Terminator 試藥組，再加入適當之引子以定序 *vpu* 基因。而其定序反應是利用 Sanger's dideoxynucleotide chain termination 之原理，以 Taq enzyme 利用 PCR 反應來進行。最後，使用 ABI 373 DNA Sequencer System 來收集結果。再將 DNA 序列資料輸入電腦，利用 Gene Works 軟體與各種亞型之參考序列比對，及利用種系分析 (MEGA 軟體) 以判斷病毒屬於何種亞型。

結 果

vpu 基因亞型分析

由 HIV-1 感染者周邊血液單核細胞中萃取 DNA, 利用雙重 PCR 反應擴增出 *vpu* 基因之片段, 在經核酸序列分析, 得到各個 *vpu* 基因之序列。經與 GenBank 中各亞型的參考病毒株之 *vpu* 基因以 Gene Works 軟體比對, 大多數之序列可以清楚的分辨亞型, 僅少數必須利用種系分析之方法方可確定亞型。B 亞型、C 亞型、E 亞型、F 亞型、G 亞型之病毒株均可清楚的分辨差異, 由之前之研究得知有三個病毒株之 *env* 基因屬 A 亞型, 其 *vpu* 基因之核酸序列相差達 20% 以上, 經由種系分析發現此三病毒株僅有一個病毒株之 *vpu* 基因是屬於 A 亞型, 一個屬於 G 亞型, 另一個仍無法確定亞型, 此一無法確定亞型之病毒株其 *gag* 基因屬 G 亞型, 故綜合以上之分析, 如有類似核酸序列之病毒株, 在不同的基因分屬 A 亞型或 G 亞型, 則其亞型被定為 A/G 亞型。

台灣地區流行之病毒亞型分析

累計分析了 1006 名感染者所帶病毒之 *vpu* 基因之核酸序列, 所鑑定出之亞型以 B 亞型最多, 有 834 個, 佔了 82.9%, E 亞型次之, 有 150 個, 佔了 14.9%, A 亞型、C 亞型、F 亞型、G、A/G 亞型分別佔了 0.1%、0.9%、0.1%、0.8%、0.3% (表一)。如將男性與女性分別來看 B 亞型與 E 亞型之

盛行率，在男性中，B 亞型佔了 87.5%，E 亞型佔了 11.0%，而在女性中，B 亞型只佔 19.1%，E 亞型佔了 69.1%（表一、圖一）。

各年代中各愛滋病毒亞型分佈之狀況

以發現之年代為準，分析由 1990 年至 2000 年各愛滋病毒亞型於各年分佈之狀況，見表二與圖二，B 亞型在 1990 年佔有所分析當年愛滋病毒感染者總數之 90.9%，逐年此比例下降，至 1993 年佔有 75.0%，次年開始此比例又逐漸回升，至 1999 年、2000 年回升至 90.0%、88.6%。而 E 亞型在 1990 年佔有所分析當年愛滋病毒感染者總數之 9.1%，逐年此比例上升，至 1993 年佔有 21.1%，次年開始此比例又逐漸下降，至 1999 年、2000 年下降至 7.9%、10.5%。

討 論

因 *vpu* 基因鑑定亞型之效果佳，故本研究以 *vpu* 基因之分析為主，經分析了 1006 名感染者所帶病毒之 *vpu* 基因之核酸序列，所鑑定出之亞型以 B 亞型最多，E 亞型次之，另亦有少數的 A 亞型、C 亞型、F 亞型、G 亞型與 A/G 亞型重組病毒株。

男性與女性在 B 亞型與 E 亞型之盛行率有明顯的差異，在男性中，仍以 B 亞型為主，超過 87%，E 亞型只佔了 11%，而在女性中，則以 E 亞型佔多數，超過 69%，B 亞型只佔了約 19%。如果女性感染者的亞型盛行率反應的是異性戀者之情況，則異性戀者之間傳佈的仍以 E 亞型較多，已知在同性戀者之間傳佈的以 B 亞型為主，因此，B 亞型在男性中之高盛行率顯示本地的男性感染者仍以同性戀者居多數。

以發現之年代為準，經分析由 1990 年至 2000 年各愛滋病毒亞型於各年分佈之狀況，發現 B 亞型與 E 亞型在各年所佔有比例呈互為消長之現象，此與兩型仍是最主要盛行之病毒亞型有關。而 E 亞型在 1990 年佔有所分析當年愛滋病毒感染者總數之 9.1%，至 1993 年 E 亞型佔有比例曾高達 21.1%，此可能與當時許多男性喜好前往泰國嫖妓，而感染了當地最盛行的 E 亞型有關。我們分析之檢體絕大多數來自男性，女性僅佔有 6.8%，故此部份之分析主要反應的年代分佈趨勢應與男性較為相關。E 亞型在 1994 年

開始佔有比例又逐漸下降，此與有效遏止男性前往泰國嫖妓可能有所關聯，再者與無法有效遏止男性同性戀感染者間盛行之 B 亞型之傳佈，亦可能有所關聯。

本實驗室至今已發現 8 個 G 亞型病毒株，都是在年輕的異性戀者之間傳佈，他們多半是在十多歲時就感染了 HIV-1。可以說的是，除了 B 亞型外，其他的亞型如 A 亞型、C 亞型、E 亞型、F 亞型、G 亞型與 A/G 亞型重組病毒株也幾乎都是在異性戀者中發現。特別值得一提的是在發現 A/G 重組病毒株之三位女性感染者，由分析 *vpu*、*env*、*gag* 基因發現其中兩位感染的是很相似的病毒，而此兩人之間並無相關，是否此種重組病毒株已在本地散佈開來，此仍有待後續之研究。這些 AG 重組病毒株與 GenBank 中之參考病毒株有明顯之差異，未來應將全長的基因體進行完整而仔細的分析。這些其他亞型病毒之感染者多未出過國門，而相似的病毒又在流行病學上無關聯的人身上發現，此暗示了這些病毒株已在本地散佈開來。

我們累積已分析的病毒株總數約佔報告病例總數之四分之一，這些檢體多來自性病防治所，於我們收集之各年檢體中，已完成亞型鑑定者超過 80%，我們分析的結果應具有代表性。

結論與建議

男性與女性在 B 亞型與 E 亞型之盛行率有明顯的差異，在男性中，仍以 B 亞型為主，而在女性中，則以 E 亞型佔多數。如果女性感染者的亞型盛行率反應的是異性戀者之情況，則異性戀者之間傳佈的仍以 E 亞型較多，已知在同性戀者之間傳佈的以 B 亞型為主，因此，B 亞型在男性中之高盛行率顯示本地的男性感染者仍以同性戀者居多數。

分析由 1990 年至 2000 年各愛滋病毒亞型於各年分佈之狀況，發現 B 亞型與 E 亞型在各年所佔有比例呈互為消長之現象，此與兩型仍是最主要盛行之病毒亞型有關。我們分析之檢體絕大多數來自男性，故此部份之分析主要反應的應與男性較為相關。由 B 亞型佔有比例持續攀高，此與無法有效遏止男性同性戀感染者間盛行之 B 亞型之傳佈，應有所關聯。

愛滋病的防治應加強同性戀此一高危險群之宣導工作，以預防同性戀者之間快速的傳佈。亞型的分析對於了解愛滋病之流行病學極具重要性，應長期監測研究，以確實掌控流行的狀況。

參 考 文 獻

1. Robey WG, Safai B, Oroszan S, et al.: Characterization of envelope and core structural gene products of HTLV-III with sera from AIDS patients. *Science* 1985;228: 593-595.
2. Veronese FD, DeVico AL, Copeland TD, et al.: Characterization of gp41 as the transmembrane protein coded by the HTLV-III/LAV envelope gene. *Science* 1985;229: 1402-1405.
3. Wiley RL, Bonifacino JS, Potts BJ, et al.: Biosynthesis, cleavage, and degradation of the human immunodeficiency virus 1 envelope glycoprotein gp160. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 1988;85: 9580-9584.
4. Dalglish AG, Beverley PC, Clapham PR, et al.: The CD4 (T4) antigen is an essential component of the receptor for the AIDS retrovirus. *Nature* 1984;312: 763-767.
5. Klazmann D, Champagne E, Chamaret S, et al.: T-lymphocyte T4 molecule behaves as the receptor for human retrovirus LAV. *Nature* 1984;312:767-771.
6. McDougal JS, Kennedy MS, Slich JM, et al.: Binding of HTLV- III/LAV to T4+ T cells by a complex of the 110K viral protein and T4 molecule. *Science* 1986;231:382-385.
7. Kowalski M, Polz J, Baasiripour L, et al.: Functional regions of the envelope glycoprotein of human immunodeficiency virus type 1. *Science* 1987;237:1351-1355.
8. Lifson JD, Feinberg MB, Reyes GR, et al.: Induction of CD4-dependent cell fusion by the HTLV-III/LAV envelope glycoprotein. *Nature* 1986;323:725-728.
9. Stein BS, Gowda SD, Lifson JD, et al.: pH-dependent HIV entry into CD4-positive T cells via virus envelope fusion to the plasma membrane. *Cell* 1987;49: 659-668.
10. Berger EA. HIV entry and tropism: the chemokine receptor connection. *AIDS* 1997; 11:S3-16.
11. Broder CC and Dimitrov DS: Chemokine receptors and HIV. *Pathobiology*. 1996; 64:171-179.
12. Doranz BJ, Berson JF, Rucker J, and Domes RW: Chemokine receptors as fusion cofactors for human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1). *Immunol. Res.* 1997; 16:16:15-28.
13. Luciw PA. 1996. Human immunodeficiency viruses and their replication. In *Fields Virology*, 3rd edn, pp.1881-1952. Edited by B. N. Fields, D. M. Knipe, P. M. Howley, R. M. Chanock, J. L. Melnick, T. P. Monath, B. Roizman & S. E. Straus. Lippincott-Raven.
14. Levy JA. 1995. *The Retroviridae*. Volume 4 p.5-7. Plenum Press.
15. Strebel K: Structure and function of HIV-1 Vpu. *Human Retroviruses and AIDS 1996: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1996.

16. Deacon NJ, Tsykin A, Solomon A, Smith K, Ludford-Menting M, Hooker DJ, McPhee DA, Greenway AL, Ellett A, Chatfield C, Lawson VA, Crowe S, Maerz A, Sonza S, Learmont J, Sullivan JS, Cunningham A, Dwyer D, Dowton D and Mills J: Genomic structure of an attenuated quasi species of HIV-1 from a blood transfusion donor and recipients. *Science* 1995;270:988-991.
17. Korber B, Hahn B, Foley B, Mellors JW, Leitner T, Myers G, McCutchan F, and Kuiken C: *Human Retroviruses and AIDS 1997: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1997.
18. Simon F, Mauclore P, Roques P, Loussert-Ajaka I, Muller-Trutwin MC, Saragosti S, Georges-Courbot MC, Barre-Sinoussi F and Brun-Vezinet F: Identification of a new human immunodeficiency virus type 1 distinct from group M and group O. *Nature Med* 1998;4:1032-1037.
19. Li WH, Tanimura M, and Sharp PM: Rates and dates of divergence between AIDS virus nucleotide sequences. *Mol Biol Evol* 1988;5:313-330.
20. Hu WS and Temin HM: Retroviral recombination and reverse transcription. *Science* 1990;250:1227-1233.
21. Robertson DL, Gao F, Hahn BH, and Sharp PM: Intersubtype recombinant HIV-1 sequences. *Human Retroviruses and AIDS 1997: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1997.
22. Carr JK, Salminen MO, Albert J, Sanders-Buell E, Gotte D, Birx DL, and McCutchan FE: Full genome sequences of human immunodeficiency virus type 1 subtypes G and A/G intersubtype recombinants. *Virology* 1998;247:22-31.
23. Carr JK, Salminen MO, Koch C, Gotte D, Artenstein AW, Hegerich PA, St. Louis D, Burke DS, and McCutchan FE: Full-length sequence and mosaic structure of a human immunodeficiency virus type 1 isolate from Thailand. *J Virol* 1996;70:5935-5943.
24. Todd J, Pachl C, White R, Yeghiazarian T, Johnson P, Taylor B, Holodniy M, Kern D, Hamren S, Chernoff D, and Urdea M: Performance characteristics for the quantitation of plasma HIV-1 RNA using branched DNA signal amplification technology. *Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes and Human Retrovirology* 1995;10 (Suppl. 2):S35-S44.
25. Hammond J, Larder BA, Schinazi RF, and Mellors JW: Mutations in retroviral genes associated with drug resistance. *Human Retroviruses and AIDS 1997: A Compilation and Analysis of Nucleic Acid and Amino Acid Sequences*. Theoretical Biology and Biophysics Group, Los Alamos National Laboratory, Los Alamos, New Mexico, 1997.
26. Delwart EL, Shpaer EG, Louwagie J, McCutchan FE, and Grez M: Genetic relationships

- determined by a DNA heteroduplex mobility assay: analysis of HIV-1 env genes. *Science* 1993; 262:1257-61.
27. Bachmann MH, Delwart EL, Shpaer EG, Lingenfelter P, Singal R, and Mullins JI: Rapid genetic characterization of HIV type 1 strains from four World Health Organization-sponsored vaccine evaluation sites using a heteroduplex mobility assay. *WHO Network for HIV Isolation and Characterization. AIDS Research & Human Retroviruses.* 1994;10(11):1345-53.
 28. Buonaguro L, Del Guadio E, Monaco M, Greco D, Corti P, Beth-Giraldo E, Buonaguro FM, and Giraldo G: Heteroduplex mobility assay and phylogenetic analysis of V3 region sequences of human immunodeficiency virus type 1 isolates from Gulu, northern Uganda. *Journal of Virology* 1995; 69(12):7971-81.
 29. Engelbrecht S and Rensburg EJ: Detection of Southern African Human Immunodeficiency Virus Type 1 Subtypes by Polymerase Chain Reaction: Evaluation of Different Primer Pairs and Conditions. *Journal of Virological Methods* 1995; 55:391-400.
 30. Kalish ML, Baldwin A, Raktham S, et al: The evolving molecular epidemiology of HIV-1 envelope subtypes in injecting drug users in Bangkok, Thailand: implications for HIV vaccine trials. *AIDS* 1995; 9: 851-856 .
 31. Veronique RH, Stephane E, Mariana R, Frederic J, and Christina D: Subtyping of Human Immunodeficiency Virus Isolates with a Panel of Monoclonal Antibodies: Identification of Conserved and Divergent Epitopes on p17 and p25 Core Proteins. *Molecular Immunology* 1992; 29:1175-1183.
 32. Kimdar S, Anders S, Juris S, and Matti S: Rapid Grouping of a HIV-1 Infection in Subtypes A to E by V3 Peptide Serotyping and its Relation to Sequence Analysis. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 1994; 205:1658-1664.

圖 表

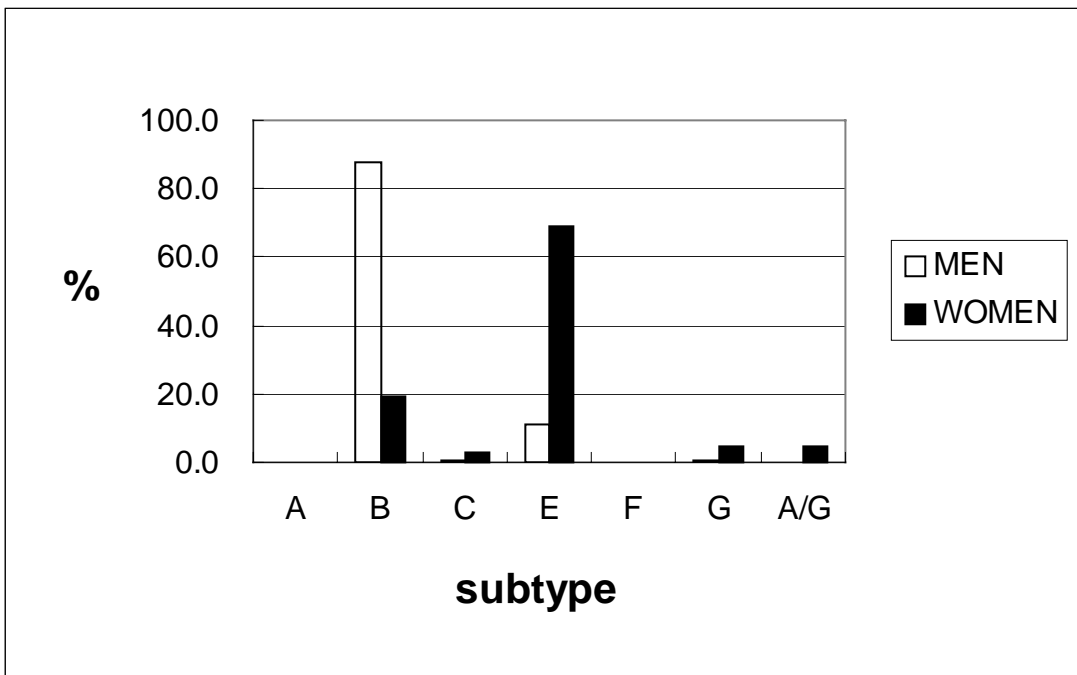
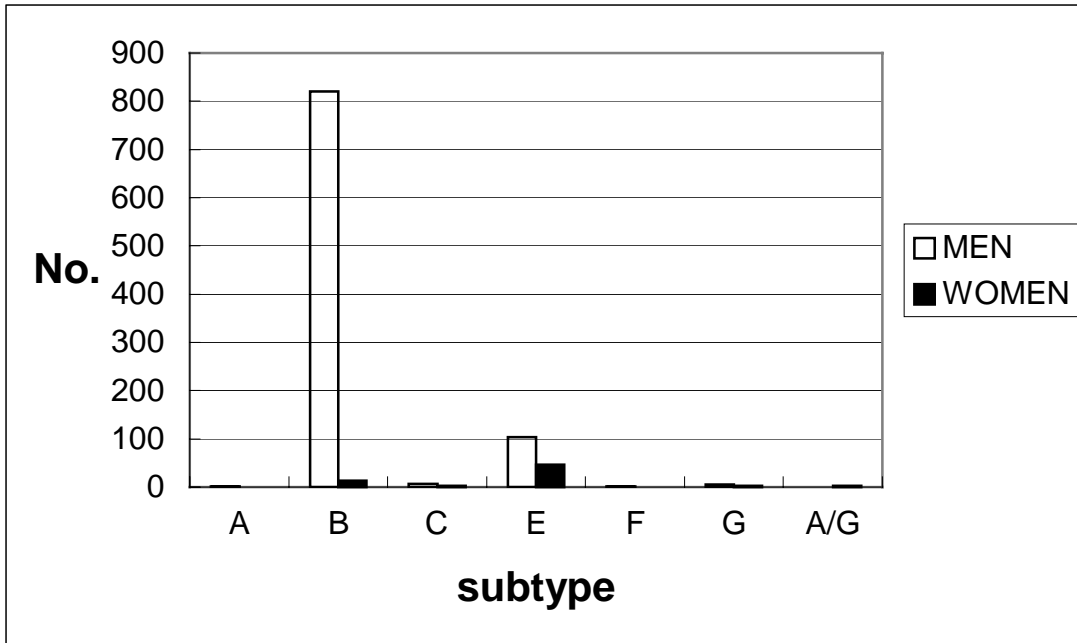
表一、愛滋病毒亞型於男性與女性分佈之狀況

| Gender | Subtype | | | | | | |
|--------|-------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|-------------|
| | A | A/G | B | C | E | F | G |
| MEN | 1 (0.1%) | 0 | 821 (87.5%) | 7 (0.7%) | 103 (11%) | 1 (0.1%) | 5 (0.5%) |
| WOMEN | 0 | 3 (4.4%) | 13 (19.1%) | 2 (2.9%) | 47 (69.1%) | 0 | 3 (4.4%) |
| Total | 1 (0.1%) | 3 (0.3%) | 834 (82.9%) | 9 (0.9%) | 150 (14.9%) | 1 (0.1%) | 8 (0.8%) |

表二、愛滋病毒亞型於 1990 年至 2000 年分佈之狀況

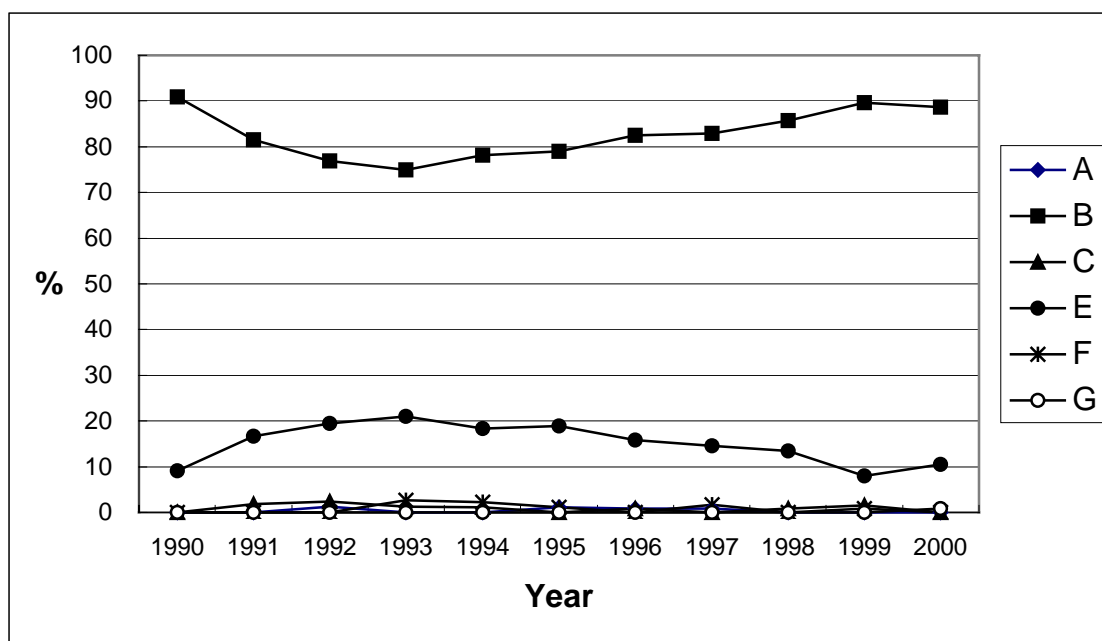
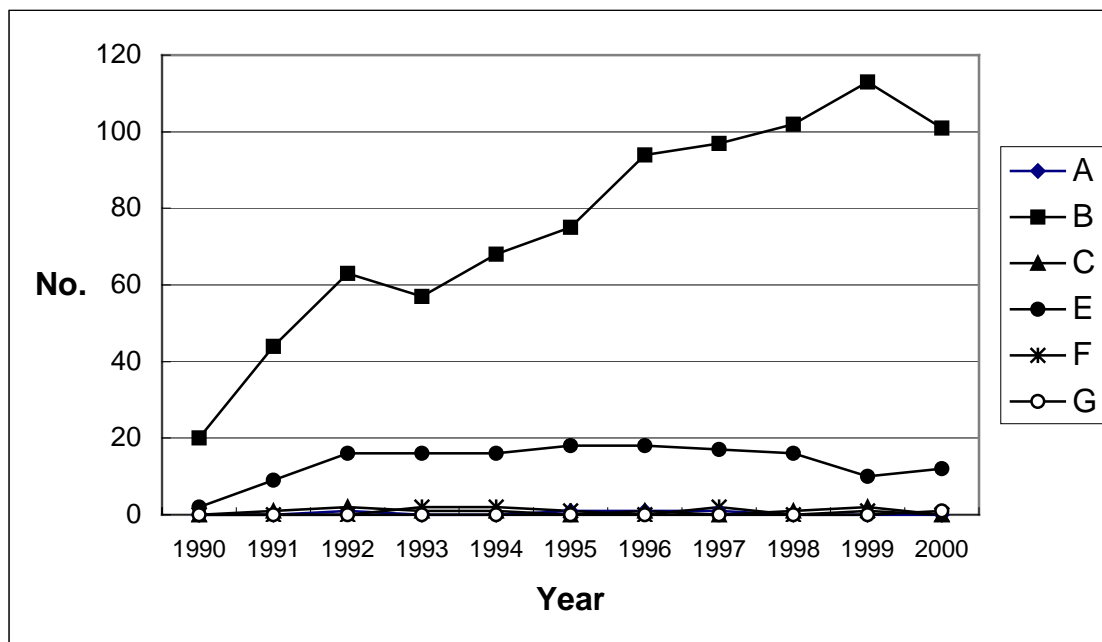
| Year | Subtype | | | | | | | Total No. |
|-----------|-------------|-------------|----------------|-------------|----------------|-------------|-------------|-----------|
| | A | A/G | B | C | E | F | G | |
| 1990 | 0 | 0 | 20 (90.9%) | 0 | 2 (9.1%) | 0 | 0 | 22 |
| 1991 | 0 | 0 | 44 (81%) | 1 (1.9%) | 9 (16.7%) | 0 | 0 | 54 |
| 1992 | 0 | 1 (1.2%) | 63 (76.8%) | 2 (2.4%) | 16 (19.5%) | 0 | 0 | 82 |
| 1993 | 0 | 0 | 57 (75%) | 1 (1.3%) | 16 (21.1%) | 0 | 2 (2.6%) | 76 |
| 1994 | 0 | 0 | 68 (78.2%) | 1 (1.1%) | 16 (18.4%) | 0 | 2 (2.3%) | 87 |
| 1995 | 0 | 1 (1.1%) | 75 (79%) | 0 | 18 (18.9%) | 0 | 1 (1.1%) | 95 |
| 1996 | 1 (0.9%) | 0 | 94 (82.5%) | 1 (0.9%) | 18 (15.8%) | 0 | 0 | 114 |
| 1997 | 0 | 1 (0.9%) | 97 (83%) | 0 | 17 (14.5%) | 0 | 2 (1.7%) | 117 |
| 1998 | 0 | 0 | 102 (85.7%) | 1 (0.8%) | 16 (13.4%) | 0 | 0 | 119 |
| 1999 | 0 | 0 | 113 (90%) | 2 (1.6%) | 10 (7.9%) | 0 | 1 (0.8%) | 126 |
| 2000 | 0 | 0 | 101 (88.6%) | 0 | 12 (10.5%) | 1 (0.9%) | 0 | 114 |
| Total No. | 1 (0.1%) | 3 (0.3%) | 834 (82.9%) | 9 (0.9%) | 150 (14.9%) | 1 (0.1%) | 8 (0.8%) | 1006 |

圖一、各愛滋病毒亞型於男性與女性愛滋病毒感染者分佈之狀況



附註：上圖為愛滋病毒感染者之個數，下圖為各愛滋病毒亞型於各性別中所佔之百分比例。

圖二、由 1990 年至 2000 年各愛滋病毒亞型於各年分佈之狀況



附註：以愛滋病毒感染者發現之年代為準。上圖為愛滋病毒感染者之個數，下圖為愛滋病毒感染者個數在當年所佔之百分比。