

# 我国汉坦病毒的基因进化与起源的分析

赵晋丰, 曹广文\*

(第二军医大学卫生勤务学系流行病学教研室, 上海 200433)

**[摘要]** **目的:**推测汉坦病毒在我国的起源时间和地点。**方法:**从 GenBank 中获得部分在我国分离的汉坦病毒 M 片段序列, 未及登录的序列通过联系文献报道的作者获得。用 MEGA3.1 程序对这些序列进行比对并做种系发生分析。用同一地区间隔 5 年以上分离的同一亚型病毒株对作为姐妹序列推算汉坦病毒在我国的进化速率, 结合各病毒株的分离时间和地点计算其在我国的起源时间和地点。**结果和结论:**汉坦病毒的地理分布具有聚集性, 贵州地区的亚型最多, 支持关于我国汉坦病毒起源于贵州省的推断。从安徽地区发现了一种可能为新型的病毒, 提示安徽地区可能容易促进汉坦病毒发生变异。Gou3 株与祖先病毒株分离最早, 推测我国汉坦病毒可能起源于 315 年前左右。

**[关键词]** 汉坦病毒; 进化, 分子; 地理分布; 起源时间

**[中图分类号]** R 373.32 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 0258-879X(2007)04-0360-04

## Analysis of hantaviruses origin and molecular evolution in China

ZHAO Jin-feng, CAO Guang-wen\* (Department of Epidemiology, Faculty of Medical Services, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China)

**[ABSTRACT]** **Objective:** To investigate the first appearance and geographic distribution of hantaviruses in China. **Methods:** Some sequences of M segment of hantaviruses isolated in China were retrieved from GenBank. Some recently sequenced viruses which have not been registered in GenBank were obtained from authors who reported them. Program MEGA 3.1 was employed for the phylogenetic analysis of the above virus sequences. Nucleotide divergence rates were estimated by comparing the closely related sister sequences isolated in the same geographical region at no less than a 5-year interval. Based on these calculated divergence rates, together with their isolating time and region, we explored the first appearance and geographic distribution of hantaviruses in China. **Results and conclusion:** The distribution of hantaviruses was in cluster, with Guizhou Province having the most subgenotypes, which supports the previous hypothesis that hantaviruses first appeared in Guizhou Province of China. A novel subgenotype virus was found in Anhui Province, indicating that it might be easier for the virus to have mutation in Anhui Province. We also found that Gou3 strain might be the earliest one to separate from a common ancestral strain; it is speculated that hantaviruses migrated in China about 315 years ago.

**[KEY WORDS]** hantaan virus; evolution, molecular; geographic distribution; original time

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2007, 28(4): 360-363]

汉坦病毒(hantavirus, HV), 属于布尼亚病毒科, 汉坦病毒属, 是单股负链 RNA, 由 L、M 和 S 3 个片段组成, 其中 M 片段变异较大, 常作为分型和基因进化分析比较的标准。目前世界范围内存在有 23 个基因型<sup>[1]</sup>。HV 感染人可以引起肾综合征出血热(hemorrhagic fever with renal syndrome, HFRS)和汉坦病毒肺综合征(HPS), 在我国主要是引起肾综合征出血热(流行性出血热), 最早发现于 1931~1932 年黑龙江沿岸的中苏交界地区<sup>[2]</sup>, 病死率为 2%~10%。我国是受危害最为严重的国家, 全国有 29 个省有出血热的报道, 占世界发病总数的 90% 以上。其中 I 型汉坦病毒(HTNV, 野鼠型)和 II 型汉城病毒(SEOV, 家鼠型)的人类感染绝大多数发生

在我国。

Wang 等<sup>[3]</sup>于 2000 年对来自贵州、安徽、河北、北京、浙江、黑龙江、海南等十多个省市的 50 多株汉坦病毒进行了基因进化分析, 将 HTN 型分为 9 个亚型, SEO 型分为 5 个亚型, 并分析认为汉坦病毒由南亚地区最先传入我国中部的贵州省, 然后传播向全国各地。王世文等<sup>[4]</sup>2002 年报道, 我国的汉坦

**[基金项目]** 军队医学杰出人才基金(04J08); 军队“十一五”科技攻关项目(06G05)。Supported by Foundation for Outstanding Personnel of PLA(04J08) and Project of the “11th Five-Year Plan” for Tackling Scientific Program of PLA(06G05)。

**[作者简介]** 赵晋丰, 硕士生。E-mail: zjf0605@126.com

\* Corresponding author. E-mail: gcao@smmu.edu.cn

病毒 HTN 型分为 10 个亚型,SEO 型分为 6 个亚型,各亚型的分布不尽相同,有的省是 HTN 型疫区,有的省是 SEO 型疫区,还有的省为混合性疫区,三者所占比例相近。

本研究收集近年所测得汉坦病毒序列,试推测汉坦病毒在我国的起源时间,现报告如下。

## 1 材料和方法

1.1 汉坦病毒基因序列 所用序列为汉坦病毒 M 片段部分序列。大部分从 GenBank 中直接下载,小部分从国内相关文献中获得并联系作者进行了核对。所用的基因序列见表 1。

表 1 本研究所用汉坦病毒 M 片段序列  
Tab 1 Sequences of M segment of hantaviruses used in the present study

Viral strain	Isolated location	Accession number in GenBank	Isolating year	Viral strain	Isolated location	Accession number in GenBank	Isolating year
NC167	Anhui	AB027115	1999	L99	Jiangxi	AF035833	1984
A3	Zhejiang	AB027055	1999	R22	Henan	AF035834	1998
B78	Shandong	AB027056	1999	Wan	Jiangshu	AB027081	1999
Q36	Guizhou	AB027057	1999	Henan94	Henan	AB027283	1999
Q7	Guizhou	AB027058	1999	Shanxi	-*	AB027085	1999
Q20	Guizhou	AB027059	1999	HN71-L	Hainan	AB027084	1999
Niongxia-A	Ningxia	AB027060	1999	Guang199	Guangdong	AB027086	1999
Q32	Guizhou	AB027061	1999	Beijing-RN	Beijing	AB027087	1999
Q10	Guizhou	AB027062	1999	C3	Hebei	AB027088	1999
A16	Shanxi	AB027063	1999	Hebei4	Hebei	AB027089	1999
Q37	Guizhou	AB027064	1999	10a	Hebei	AB027090	1999
84fli	Shanxi	AF345636	2001	SD227	Shandong	AB027091	1999
Q33	Guizhou	AB027065	1999	SD10	Shandong	AB027092	1999
Bao9	Heilongjiang	AB027066	1999	Hubei1	Hubei	S72343	1994
Bao14	Heilongjiang	AB027068	1999	Seou 80-39	Korea	S47716	1992
Bao10	Heilongjiang	AB027069	1999	Tchoupitoulas	North America	U00473	1993
Jiang13	Heilongjiang	AB027067	1999	SR11	Japan	M34882	1990
HTN76-118	Korea	M14627	1986	Girard Point	Japan	U00464	1990
Lee	Korea	D00376	1988	Gou3	Zhejiang	AB027521	1993
HoJo	Korea	D00377	1988	AH09	Anhui	AF285265	2000
62HTN	-*	AB027070	1999	CH302	Beijing	AY725990	2004
H2	DPRK	AB027073	1999	DC501	Beijing	AY725995	2004
<b>GM04-38**</b>	Shandong	DQ469397	2006	CP211	Beijing	AY725993	2004
ZB8	Shandong	DQ469396	2006	Liu	Shandong	AF288648	2000
Jun5-14	Shandong	DQ217790	2004	NH2	Shanghai	LI Yan-ting <sup>[5]***</sup>	2004
Bjft01	Beijing	AY645717	2004	NH3	Shanghai	LI Yan-ting <sup>[5]***</sup>	2004
S85-46	Sichuan	AF288658	2000	QP34	Shanghai	LI Yan-ting <sup>[5]***</sup>	2004
ZT11	Zhejiang	DQ496249	2006				
SN7	Sichuan	AF288656	2000	SNV <sup>△</sup>	North America	L25784	1994
Cjilin93	Jilin	AY748307	2004	Thailand <sup>△</sup>	Thailand	L41916	1993

Note: \* the isolating place of this strain is unclear; \*\* bold-faced strain is newly-added in this study for phylogenetic tree; \*\*\* has not been accessed in GenBank; <sup>△</sup> reference viral strain

1.2 方法 用 MEGA 3.1 软件进行基因序列比对和进化树分析。用 Solomon 等<sup>[6]</sup>所用的方法计算汉坦病毒的进化速率并推测起源时间。取同一省份或地区分离的间隔 5 年以上且为同一亚型的一对病毒株作为姐妹序列,计算它们的同一位点非同义替代

距离,再除以所间隔的分离时间得到速率,然后取所有姐妹序列的速率均值作为进化速率。计算进化树上与作为外参照的根系病毒株 SNV 株距离最近的几个病毒株与 SNV 株的非同义替代距离,值最小的一个病毒株作为最先传播到中国的病毒株,用它与

SNV 株的进化距离除以进化速率得到我国汉坦病毒的起源时间。

### 2 结果

我国汉坦病毒的进化分析见图 1。

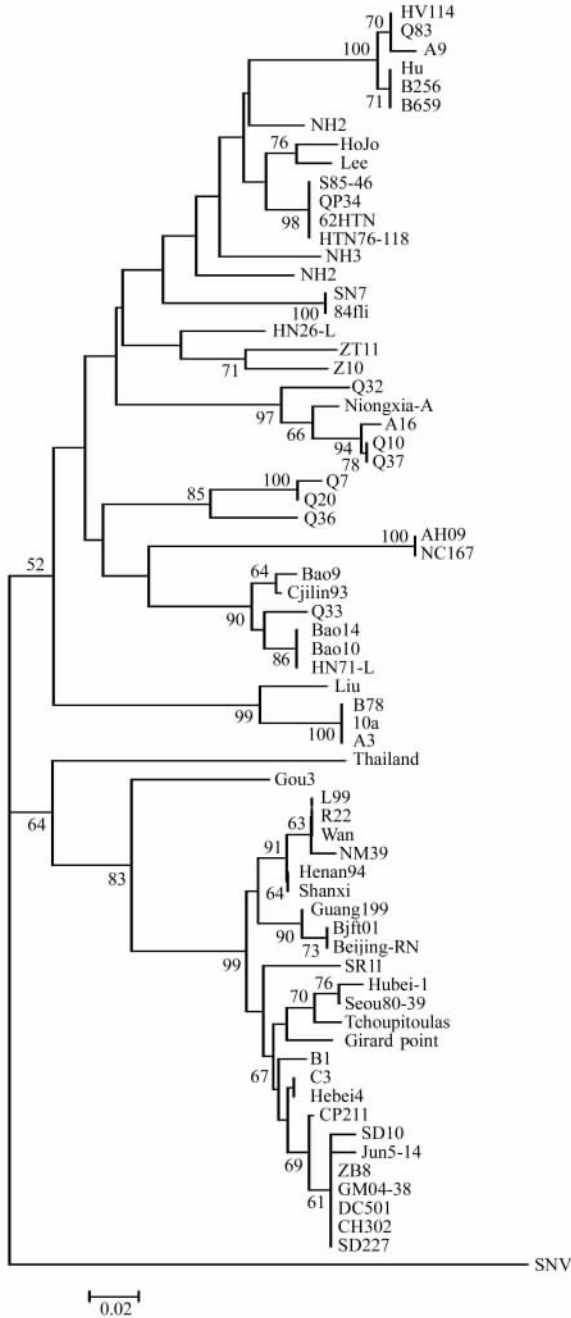


图 1 汉坦病毒 M 片段部分序列 (2 002~2 302 nt) 种系发生树

Fig 1 Phylogenetic tree for partial M segment (2 002-2 302 nt) of hantaviruses

按 2002 年王世文等<sup>[4]</sup>的分型标准,安徽分离株 AH09 与 NC167 为同一亚型——NC 型,北京分离株 CH302 与 DC501 为 S3 型,Bjft01 与北京分离株 Beijing-RN 同为 S2 型。山东分离株 GM04-38、ZB8 与 Jun5-14 均为 S3 型,与山东分离株 SD227、SD10 为同一亚型。浙江分离株 ZT11 与浙江的 Z10 同为 H7 型,吉林分离的 Cjilin93 与黑龙江的 Bao9、Bao10 等亚型同为 H4 型。四川分离株 SN7 为 H3 型。

姐妹序列的非同义替代距离用 MEGA 3.1 程序计算,结果见表 2。并由此得出平均进化速率为 0.000 86 非同义替代/(位点·年)。我国较先分离株与作为根系的参考株(SNV 株)的非同义替代距离结果见表 3。从表 3 得到 Gou3 株与 SNV 株距离最近,可能是我国最先从祖先序列分离的毒株,推测我国汉坦病毒分离于 315 年前左右。

### 3 讨论

从 HV 的种系发生情况来看,各型的分布具有明显的地区聚集性,各地区具有自己的优势基因型或亚型,如东北地区以 HTN 型为主,这可能是汉坦病毒与当地自然宿主共同进化的结果<sup>[7]</sup>。新分析的几个病毒株,基本都与原地区的优势亚型相同或相近,如北京的 DC501、CP211、CH302 均为 S3 型, Bjft01 为相近的 S2 型。

Wang 等<sup>[3]</sup>在推测我国汉坦病毒的起源地时指出,需要对全国更大范围内的毒株进行分析才能明确起源地。结合王世文等<sup>[4]</sup>的研究和本研究结果,HTN 各亚型的分布,与 Wang 等报告的结果类似。贵州地区增加了 H9 型,共有 H2、H4、H9 三型;四川有 H9 型分布;福建有 H3、H2 型分布。仍然是贵州地区的亚型最多,而且其 H2、H4 型从祖先毒株的分离早于其他亚型,支持 Wang 等有关我国汉坦病毒是源于贵州山区,即从南亚地区传入我国,并最先进入贵州地区的推断。研究认为安徽省的 NC167 株与其他毒株的进化距离较大,可能是新型病毒,2000 年又从安徽省发现了与 NC167 株距离很近的 AH09 株,提示安徽地区可能容易促进汉坦病毒发生变异。

病毒的变异较快,有研究认为日本乙型脑炎 IV

型分离于350年前左右,其他三型分离更早。本研究计算的汉坦病毒的进化速率,各姐妹序列的进化速率比较接近,因而最后的进化速率比较可信,结合

日本乙型脑炎的分离时间,认为我国汉坦病毒源于315年前左右是很可能的。但是本方法比较粗略,只能给出一个近似而非精确的起源时间。

表2 姐妹序列的进化距离

Tab 2 Phylogenetic distances of sister sequences(Nonsynonymous substitioun/site)

Viral strain	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1															
2	0.176														
3	0.176	0.009													
4	0.176	0.000	0.009												
5	0.176	0.000	0.009	0.000											
6	0.024	0.163	0.170	0.163	0.163										
7	0.033	0.167	0.174	0.167	0.167	0.009									
8	0.033	0.167	0.174	0.167	0.167	0.009	0.000								
9	0.176	<b>0.000</b>	0.009	0.000	0.000	0.163	0.167	0.167							
10	0.033	0.170	0.174	0.168	0.168	<b>0.009</b>	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>	0.170						
11	0.017	0.167	0.172	0.167	0.167	0.013	0.017	0.017	0.167	0.018					
12	0.017	0.167	0.172	0.167	0.167	0.013	0.017	0.017	0.167	0.018	<b>0.000</b>				
13	<b>0.009</b>	0.166	0.170	0.166	0.166	0.013	0.022	0.022	0.166	0.022	0.009	0.009			
14	0.172	0.004	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>	0.165	0.169	0.169	0.004	0.170	0.167	0.167	0.166		
15	0.172	0.004	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>	<b>0.004</b>	0.165	0.169	0.169	0.004	0.170	0.167	0.167	0.166	0.000	

Bold-faced letter represents the phylogenetic distance between sister sequences. 1:ZT11; 2:Bjft01;3:Jun5-14;4:ZB8;5:GM04-38;6:Bao9; 7:Bao10;8:Bao14;9:Beijing-RN;10:CJilin93;11:Hu;12:HV114;13:Z10;14:SD10;15:SD227

表3 部分毒株与SNV株的进化距离

Tab 3 Phylogenetic distances between some virus strains and SNV(Nonsynonymous substitioun/site)

Viral strain	1	2	3	4
1				
2	0.060			
3	0.172	0.160		
4	<b>0.281</b>	<b>0.288</b>	<b>0.271</b>	

Bold-faced letter represents the phylogenetic distance between other virus strains and SNV. 1:A3;2:NC167;3:Guo3;4:SNV

[参考文献]

[1] Plyusnin A. Genetics of hantaviruses: implications to taxonomy [J]. Arch Virol,2002,147: 665-682.  
 [2] 唐家琪. 自然疫源性疾病[M]. 北京:科学出版社,2005:58-60.

[3] Wang H, Yoshimatsu K, Ebihara H, et al. Genetic diversity of hantaviruses isolated in China and characterization of novel hantaviruses isolated from Niviventer confucianus and Rattus rattus[J]. Virology, 2000, 278:332-345.  
 [4] 王世文,杭长寿,王 华,等. 我国汉坦病毒基因型和基因亚型的分布研究[J]. 病毒学报, 2002,18: 211-216.  
 [5] 李燕婷,周 妍,周 欣,等. 上海地区汉坦病毒基因分型和序列分析[J]. 中国自然医学杂志,2004,6:216-218.  
 [6] Solomon T, Ni H, Beasley D W, et al. Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in Southeast Asia[J]. Virology, 2003,77:3091-3098.  
 [7] Dekonenko A, Yakimenko V, Ivanov A, et al. Genetic similarity of Puumala viruses found in Finland and western Siberia and of the mitochondrial DNA of their rodent hosts suggests a common evolutionary origin[J]. Infect Genet Evol, 2003, 3:245-257.

[收稿日期] 2006-09-08 [修回日期] 2007-03-21  
 [本文编辑] 尹 茶