

湖北省仙桃地区 2012 年鼠类携带汉坦病毒的基因特征研究

彭 延, 邹文菁, 李国明(湖北省疾病预防控制中心传染病防治研究所病原检测中心, 武汉 430079)

【摘要】 目的 研究湖北省仙桃地区 2012 年捕获鼠类种类和携带汉坦病毒情况, 分析汉坦病毒的基因特征。**方法** 在湖北省仙桃地区以夹夜法捕鼠。无菌解剖后取鼠肺提取总 RNA, 荧光聚合酶链反应检测汉坦病毒, 阳性标本进行病毒 S 片段序列测定和进化分析。**结果** 捕获鼠类共 100 只, 其中黑线姬鼠 64 只, 占 64%; 褐家鼠 6 只, 占 6%; 小家鼠 13 只, 占 13%; 黄胸鼠 17 只, 占 17%。共检出汉坦病毒核酸阳性鼠肺 2 只, 分型为汉滩型。**结论** 仙桃地区汉坦病毒宿主以黑线姬鼠为主, 所携带病毒以汉滩型为主, 基因型有明显地域特点, 属于文献报道的新亚型。

【关键词】 汉坦病毒; 基因分型; 序列分析
DOI:10.3969/j.issn.1672-9455.2015.18.028 文献标志码:A 文章编号:1672-9455(2015)18-2720-02

Study on genetic characteristics of Hantavirus carried by murids in Xiantao city of Hubei province during 2012 PENG Yan, ZOU Wen-jing, LI Guo-ming (Hubei Center for Disease Control and Prevention, Wuhan 430079, China)

【Abstract】 Objective To study the species of captured murids in Xiantao area during 2012 and their carrying Hantavirus situation, and to analyze the gene characteristics of Hantavirus. **Methods** The night trapping method was used to capture murines. After sterility dissection, the murine lung was taken for extracting total RNA. Hantavirus was detected by fluorescent PCR. The positive samples were performed the viral S segments sequence determination and evolution analysis. **Results** Altogether 100 murines were captured including 64 cases (64%) of Apodemus agrarius, 6 cases (6%) of Rattus norvegicus, 13 cases (13%) of Mus musculus and 17 cases (17%) of Rattus flavipectu. 2 murine lungs with Hantavirus nucleic acid positive and the virus genotyping was Hantaan virus. **Conclusion** The hosts of Hantavirus in Xiantao in 2012 were mainly Mus musculus, the carrying virus is mainly Hantaanvirus, and the genotype has obvious regional characteristic, which belongs to new subtype reported by literature.

【Key words】 hantavirus; genotyping; sequence analysis

汉坦病毒(HV)在临床上主要引起欧亚大陆的肾综合征出血热和美洲地区的 HV 肺综合征。我国为肾综合征出血热高危流行区, 涉及 26 个省、市、自治区, 约占全球发病总数的 90% 以上^[1]。近年来, 湖北省肾综合征出血热在仙桃等局部地区疫情上升较快, 在地区分布上, 湖北省肾综合征出血热发病呈明显聚集性特征。本研究通过监控流行地区鼠种及 HV 感染情况, 运用分子生物学的方法进行了 HV 的检测和序列分析, 了解本地区 HV 毒株的型别和特征, 为制订有针对性的肾综合征出血热预防控制措施提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 标本来源 2012 年 1~12 月在湖北省仙桃市采用夹夜法捕鼠。现场鉴定鼠种并无菌解剖取鼠肺组织, 置 -70℃ 冰箱保存。

1.2 RNA 的提取 利用组织研磨器均质鼠肺后, 参照 QIA-GEN 公司 Rneasy Mini Kit 提取试剂使用说明书进行。

1.3 HV 的荧光聚合酶链反应(PCR) 使用上海之江公司的 HV 荧光 PCR 试剂盒, 按说明书操作。

1.4 病毒 S 片段的扩增和测序 对 HV 的荧光 PCR 阳性样本的 RNA 使用 Superscrip™ II 逆转录酶和 P14 引物(5'-TAG TAG TAG ACT CC-3'), 按说明书合成 cDNA。S 部分片段扩增方法参考文献[2]。反应产物送生工生物工程(上海)股份有限公司测序。

1.5 系统发生分析和同源性分析 用 BioEidt 软件对测序结

果进行拼接。将结果登陆 GenBank 数据库进行序列比对, 用 MEGA5.2 软件进行同源性分析。研究中用于比较的毒株来源 GenBank, 见表 1。

表 1 研究中相关比较毒株及来源

毒株	基因型	宿主	来源	Gene bank 序列号
WuhanAaJ10	HTNV	黑线姬鼠	中国湖北	JQ665906
HuBeiHu02	HTNV	人	中国湖北	JQ665905
CGHu2	HTNV	人	中国贵州	EU363813
CGRn53	HTNV	褐家鼠	中国贵州	EF990907
84FLi	HTNV	人	中国陕西	AF366568
HV004	HTNV	黑线姬鼠	中国湖北	JQ083395
E142	HTNV	—	中国云南	AF288644
KY	HTNV	实验室大鼠	中国云南	GU140098
RG9	HTNV	—	中国广州	AF288296
Sxhu2012b1	HTNV	人	中国西安	KC844226
Z10	HTNV	人	中国浙江	AF184987
Z5	HTNV	—	中国浙江	EF103195
CA09082007	HTNV	鼠	中国西安	HQ834499
Hu	HTNV	人	中国湖北	AB027111
Bao14	HTNV	黑线姬鼠	中国黑龙江	AB127998
LongquanAa-10-46	HTNV	黑线姬鼠	中国	JQ912754
H5	HTNV	人	中国黑龙江	AB127996
76-118	HTNV	黑线姬鼠	韩国	M14626
NM-H10	SNV	鼠	美国	NC-005216

注:—表示未指明。

2 结 果

2.1 鼠类的构成和带毒情况 2012 年仙桃地区捕获鼠类共 100 只,其中黑线姬鼠 64 只,占 64%;褐家鼠 6 只,占 6%;小家鼠 13 只,占 13%;黄胸鼠 17 只,占 17%。在黑线姬鼠中检出 HV 核酸阳性鼠肺 2 只,编号分别为 XT015、XT016。

2.2 病毒 S 基因片段的序列分析及系统发育分析 Xiantao15、Xiantao16 测序结果提交 NCBI BLAST 进行对比,结果提示其与湖北省地区汉滩型(hantann, HTNV)型病毒毒株序列一致性最高,为 97%。与其他 HTNV 序列一致性为 90%~91%。这表明检测到的病毒分型为汉滩型。系统进化分析用 MEGA 5.2 软件对 GenBank 的其他毒株进行系统进化分析。结果见图 1。

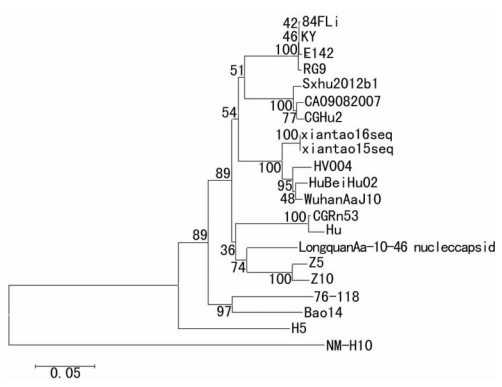


图 1 基于 S 片段部分序列构建的系统发育树

3 讨 论

肾综合征出血热是以鼠类为主要传染途径的自然疫源性疾疾病,鼠密度、宿主动物病毒感染率及与人群接触机会的不同,均能影响该病传播。其中 HV 和宿主间有最为紧密的对应关系,一种宿主一般只携带一种 HV,因此宿主动物的种群类别决定了其携带的 HV 亚型和人间 HV 流行强度。本研究调查发现,湖北省仙桃地区的啮齿动物 HV 携带率为 2%,优势鼠种是黑线姬鼠,也是 HV 的主要传染源。武汉地区肾综合征出血热发病数相对较高的江夏区、新洲区 2009~2011 年携带率是 4.05%^[3]。相比以上地区,仙桃啮齿动物 HV 携带率还处在较低水平。

HV 至少有 40 多种血清型或基因型,每一种血清型或基因型由 1 种或几种密切相关的啮齿动物携带传播,与宿主共进化,并且具有明显的地区聚集现象,许多疫区都存在着各自的优势 HV 基因型或亚型^[4-5]。过去的研究表明,通过病毒基因组核苷酸序列的分子进化分析,HTNV 可分为 9 个亚型^[5-6]。

湖北省肾综合征出血热患者中曾检测到 HTNV 第 7 和第 9 亚型^[7-8]。最新相关文献报道,湖北省存在 1 个 HTNV 新亚型^[9]。本研究中,测序的 Xiantao15/Xiantao16 毒株 S 片段和报道的新亚型 HV004 株明显处于同一分支,序列比对也显示同源性达到 97%。由此可见,Xiantao15/Xiantao16 也属于这一新亚型。研究结果提示,近来湖北 HV 流行毒株以新亚型为主,新亚型的出现是否是引起湖北省局部肾综合征出血热疫情上升到原因,值得进一步研究。

参考文献

[1] 闭福银,谭毅,韦增良,等. 广西汉坦病毒全 S 基因核苷酸序列测定[J]. 应用预防医学,2010,16(6):325-328.

[2] 李恒新,马超锋,左署青,等. 西安地区 2009 年鼠类携带汉坦病毒的基因特征研究[J]. 西安交通大学学报:医学版,2011,32(4):433-435.

[3] 刘东瀛,刘婧,李金林,等. 湖北省武汉地区啮齿动物汉坦病毒 S 基因的特征分析[J]. 中华流行病学杂志,2012,33(8):828-831.

[4] 耿英芝,田疆,刘芸,等. 辽宁省汉城型汉坦病毒基因亚型分析[J]. 中国公共卫生,2012,28(12):1594-1596.

[5] 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(3):211-215.

[6] 程茂玲,乔刚. 青岛地区肾综合征出血热病毒基因分型[J]. 检验医学,2011,26(8):523-525.

[7] Wang H, Yoshimatsu K, Ebihara H, et al. Genetic diversity of hantaviruses isolated in China and characterization of novel hantaviruses isolated from Niviventer confucianm and Apodemus agrarius [J]. Virology, 2000, 278 (2): 332-345.

[8] 丁晓华,杨占秋,肖红,等. 汉滩病毒 M 片段的核苷酸序列变异和系统发生树分析[J]. 病毒学报,2003,19(2): 169-172.

[9] Li JL, Ling JX, Liu DY, et al. Genetic characterization of a new subtype of Hantaan virus isolated from a hemorrhagic fever with renal syndrome (HFRS) epidemic area in Hubei Province, China [J]. Arch Virol, 2012, 157 (10): 1981-1987.

(收稿日期:2015-04-28 修回日期:2015-05-04)

(上接第 2719 页)

[8] Zhou D, Zhang D, Liu Y, et al. The E23K variation in the KCNJ11 gene is associated with type 2 diabetes in Chinese and East Asian population[J]. J Hum Genet, 2009, 54:433-435.

[9] Liu LF, Lei JJ, Liu HY, et al. Identification of susceptibility gene loci associated with type 2 diabetes [J]. Wuhan Univ J Nat Sci, 2010, 15(2):171-175.

[10] 刘茂玲,董涇青. 深圳汉族 K. ir6. 2 基因与 2 型糖尿病关

系的病例对照研究[J]. 中国慢性病预防与控制, 2011, 4(9):123-125.

[11] Hani EH, Boutin P, Durand E, et al. Missense mutations in the pancreatic islet beta cell inwardly rectifying K + channel gene (Kir6. 2/BIR): a meta-analysis suggests a role in the polygenic basis of Type II diabetes mellitus in Caucasians[J]. Diabetologia, 1998, 41(12):1511-1515.

(收稿日期:2015-03-25 修回日期:2015-04-15)