

云南省1977—2010年流行性乙型脑炎病毒分子流行病学研究

冯云 张海林 杨卫红 章域震 黄丽娟 邓淑珍 孙玉杰 杨杜鹃 周济华
671000 大理, 云南省地方病防治所 云南省自然疫源性疾病预防技术重点实验室
通信作者: 冯云, Email: ynfy428@163.com
DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2016.11.017

【摘要】 目的 阐明1977—2010年分离自云南的63株流行性乙型脑炎(乙脑)病毒的基因型和分子流行病学特点。方法 病毒株常规接种乳小白鼠,取发病濒死的乳鼠脑组织经研磨制成上清液,提取病毒核酸,通过RT-PCR扩增乙脑病毒E基因序列,采用Clustal X、DNASTAR和Mega 5.0等生物学软件进行核苷酸和氨基酸序列分析及系统进化树分析。结果 云南乙脑病毒分离株均可引起乳鼠发病和死亡。经RT-PCR和序列测定获得63株乙脑病毒的E基因序列,进化树和同源性分析表明,47株属基因1型,16株为基因3型。基因1型可分为2个进化群,其中云南最早的基因1型分离株(M28, 1977; BN82215, 1982)与泰国早期基因1型分离株(U70416, 1982; DQ084229, 年代不详)同处一个进化群;2007—2010年基因1型分离株分布于两个次级进化分支;16株基因3型分布于3个进化群中,其中20世纪70—90年代分离株分布于两个进化群,2004年分离株处于另一进化群。此外,无论基因1或3型乙脑病毒的抗原性、致病性和毒力等主要氨基酸位点均未发生明显改变。结论 云南省存在基因1和3型乙脑病毒流行,1型为近期主要流行型。云南省不同年代和地域的乙脑病毒分离株存在明显差异并具有遗传多样性特点。本研究还提示基因1型乙脑病毒可能起源于中国云南省及相邻东南亚地区。

【关键词】 流行性乙型脑炎病毒; E基因; 基因型; 分子流行病学

Molecular epidemiology of Japanese encephalitis viruses isolated in Yunnan province, 1977–2010 Feng Yun, Zhang Hailin, Yang Weihong, Zhang Yuzhen, Huang Lijuan, Deng Shuzhen, Sun Yujie, Yang Dujuan, Zhou Jihua
Yunnan Institute of Endemic Diseases Control and Prevention, Yunnan Provincial Key Laboratory for Zoonosis Control and Prevention, Dali 671000, China
Corresponding author: Feng Yun, Email: ynfy428@163.com

【Abstract】 **Objective** To understand the genetic and molecular epidemiologic characteristics of 63 strains of Japanese encephalitis virus (JEV) isolated in Yunnan province, China during 1977–2010. **Methods** Suckling mice were inoculated with viruses continuously and the viral nucleic acid were extracted from the brain-grinding supernatants of the infected and moribund mice, then the gene fragments of E region were amplified by RT-PCR. Bioinformatics (Clustal X, DNASTAR, Mega 5.0 and other software) was used to analyze the nucleotide and deduced amino acid sequences and phylogenetic trees. **Results** Yunnan strains of JEV could cause illness and deaths in suckling mice. The results of virus nucleic acid detection and sequencing indicated that nucleotide sequences of E gene of the 63 virus strains were obtained. Phylogenetic tree and homology analyses based on E genomes showed that 47 strains of the experimental virus belonged to genotype 1 (G-1) and 16 strains belonged to genotype 3 (G-3). The 47 isolates of G-1 were divided into 2 clades, of them, the earliest isolates of G-1 (M28, 1977 and BN82215, 1982) in Yunnan of China and the early isolates of G-1 (U70416, 1982; DQ084229, the year is unknown) in Thailand were in one clade, and the isolates of G-1 from 2007–2010 in Yunnan could be divided into 2 subgroups. The 16 isolates of G-3 from Yunnan were divided into 3 clades, among them, the isolates from 1970–1990s in Yunnan were in two clades, and the isolates from 2004 in Yunnan were in one clade. In addition, their main amino acid sites of antigenicity, pathogenic, virulence of both G-1 and G-3 had no significant change. **Conclusion** JEV G-1 and G-3 co-circulated in Yunnan, and G-1 was predominant. The JEV strains isolated in different years and areas in Yunnan had different molecular epidemiologic characteristics and genetic diversity. The results of this study suggested that JEV G-1 might originate from Yunnan of China and adjacent

Southeast Asia region.

【Key words】 Japanese encephalitis virus; E gene; Genotype; Molecular epidemiology

流行性乙型脑炎(乙脑)是由乙脑病毒(JEV)引起经蚊媒传播的一种中枢神经系统感染的急性传染病。我国各地几乎都有流行^[1-2]。云南省是我国乙脑高发地区,为当地分布最广、危害较大的一种虫媒病毒病^[3-4]。此前,我们已从云南省不同地区患者及蚊虫、蠓、鸟类和蝙蝠中分离出 100 多株 JEV^[4-9],但大多数分离株仅进行了 C/PrM 区序列测定和分析,缺少系统的基因分型和分子流行病学研究。本研究对 1977—2010 年分离自云南省的 63 株 JEV 进行包膜蛋白(envelope protein, E)全编码区基因序列测定与分析,以期阐明云南省 JEV 基因型变化及其与其他省区和国外流行株的进化关系。

材料与方法

1. 病毒株:选择本室分离自云南的 63 株乙脑病毒,其中 20 世纪 70 年代 2 株,80 年代 10 株,90 年代 3 株,2004 年 3 株,2007 年 20 株,2009 年 9 株,2010 年 16 株。

2. 病毒株的复苏:从低温冰箱中取出冻干管,每管加入 0.5 ml 的基础培养基(MEM),10 000 rpm/min 冷冻离心 10 min,取上清液,颅内接种乳小白鼠(昆明种小白鼠,大理大学实验动物中心提供),每只接种 0.02 ml,每天观察发病状况,如乳鼠发病处于濒死症状时,解剖取脑组织制成接种液,再传代一次,乳鼠规律发病者剖取脑组织制备病毒悬液,−20 °C 冰箱备用。每株病毒接种乳鼠一窝(8~10 只),其中 4 只乳鼠用于制备病毒样本,其余乳鼠用于观察发病死亡状况。

3. RT-PCR 和序列测定:取病毒分离物上清液,用 QIAamp Viral RNA Mini Kit(美国 QIAGEN 公司)按说明书提取病毒 RNA,用 Amersham Bioscience Ready-to-Go™ You First-Strand Beads(美国 Amersham Pharmacia Biotech 公司)制备 cDNA。取 2 μl cDNA 做反应模板,用 JEV E 基因引物进行 PCR 扩增(表 1)。依次加入 10× Buffer 5 μl、2.5 mmol/L dNTP 5 μl、上下游引物各 1.25 μl、ExTaq 酶 0.75 μl、去离子水 31.75 μl,充分混匀,94 °C 预变性 5 min,94 °C 30 s,55 °C 30 s,72 °C 60 s,35 个循环,72 °C 延伸 10 min,反应结束后,取 2 μl 产物进行 1% 琼脂糖凝胶电泳检测扩增效果。所有扩增产物的测序均在生工生物工程(上海)股份有限公司完成。

4. 序列分析:使用 DNASTar 软件包中的

SeqMan 对序列片段进行拼接、编辑、校正。Clustal X 1.83 和 DNASTar 软件包中的 Megalign、Alignment 等生物学软件进行核苷酸和氨基酸序列分析。采用 Mega 5.0 软件邻接法(neighbor-joining)进行 JEV 基因核苷酸序列系统发生树分析。本研究引用 GenBank 中来自不同国家和地区、不同年代的 42 株 JEV 的 E 区段核苷酸序列,其中基因 1 型 20 株,2 型 5 株,3 型 14 株,4 型 2 株,5 型 1 株,外群为墨累山谷脑炎病毒(MVE-1-51 株)。

结 果

1. 病毒传代:63 株 JEV 均能在乳鼠脑内增殖,并引起乳鼠发病和死亡,潜伏期 2~3 d,主要表现为拒乳、震颤、抽搐、昏迷、瘫痪等,接种乳鼠的病死率为 100%,一般于接种后 70~80 h 死亡,乳鼠接种到死亡时间的间隔中位数为 73 h;大多于发病后 10~20 h 死亡,乳鼠发病到死亡时间的间隔中位数为 16 h。结果表明这些病毒株在低温保存状态下仍然保持其较强的致病性和毒力。

2. 序列测定:经 E 基因序列测定,获得这 63 株 JEV 的 E 蛋白编码区全基因组序列,长度为 1 500 bp,位于病毒基因组第 978~2 477 位。

3. 进化分析:云南 63 株 JEV 与来自 GenBank 中 42 株不同基因型 JEV 的 E 基因核苷酸序列构建系统进化树,其中云南 47 株 JEV 与基因 1 型同为一个进化分支,云南 16 株 JEV 与基因 3 型同处一个进化分支,所有云南株与基因 2、4 和 5 型 JEV 的进化关系稍远,与外群病毒 MVE-1-51 株差异较大(图 1)。云南省 47 株基因 1 型 JEV 中,分离自 1977 年 1 株,1982 年 1 株,2007 年 20 株,2009 年 9 株,2010 年 16 株;16 株基因 3 型 JEV 中,分离自 1978 年 1 株,1981 年 1 株,1982 年 2 株,1983 年 1 株,1986 年 1 株,1987 年 1 株,1989 年 3 株,1990 年 2 株,1997 年 1 株,2004 年 3 株。

表 1 本研究中使用的 JEV E 基因引物信息

引物名称	扩增区段	序列信息	扩增大小(bp)
JE-955F	E	TGYTGCTCGCTCCGGCTTA	1 581
JE-2536R		AAGATGCCACTTCCACAYCTC	
JE-E1-868F	E	AYCCTGGYTAYGCTTTCCT	700
JE-E1-1568R		GTTTCAGTCCACTCCTTGGYTCACA	
JE-E2-1478F	E	TACWGTAACWCCMAATGCTC	1 031
JE-E2-2509R		TTTCTGTGATGTCAATGGC	

注: F 代表正向引物; R 代表反向引物; Y: C/T; W: A/T; M: A/C

本次获得的63株JEV的E基因序列已提交GenBank,其中47株基因1型接受号为KU295054~KU295100,16株基因3型接受号为KU295101~KU295116。

基因1型JEV进化树显示,47株云南基因1型大致可分为2个进化群(图2),其中2007—2010年分离自云南省东、南、西和中部共45株病毒同为一个进化群,但分布于两个次级进化分支,其中40株与我国四川、广西、河南、甘肃、辽宁、上海和台湾地区以及韩国、越南流行株亲缘关系较近,同处一个进化支;2007年分离自滇西的5株病毒聚集为一个进化支,与山东(SD0810)、云南(YN05155、YN05124)、日本(Ishikawa)和辽宁(LN02102)、上海(SH80)以及韩国(K94P05)流行株亲缘性较近。1977和1982年分离自云南的M28和BN82215与泰国早期分离株(U70416,1982;DQ084229,年代不详)同处一个进化支,亲缘关系最为接近。图2还显示,泰国1979年基因1型分离株(U70401)与云南M28和BN82215以及其他基因1型均有明显差异。

基因3型JEV进化树显示,16株云南基因3型可分为3个进化群(图3),20世纪80和90年代分离自云南南部和西部的9株病毒为同一进化群,并与日本、斯里兰卡和Beijing-1病毒株高度同源;2004年分离自滇西南的5株与同期分离自广东(GZ042,2004)、黑龙江(HLJ02134,2002)和福建(FJ0394,2003)为一个进化群;20世纪70和80年代分离自滇西南的4株病毒与韩国(K87P39,1987)、印

度尼西亚(JKT1724,1979)和尼泊尔(B2524,1985)分离株同为一个进化群。

4. 同源性分析:根据进化树分析结果,选择云南基因1型和3型JEV不同时期代表株各10株并与来自GenBank的19株不同基因型JEV的E基因进行核苷酸和氨基酸同源性分析。结果显示,云南基因1型间的核苷酸(氨基酸)同源性为94.9%~100.0%(98.8%~100.0%),与7株基因1型参考株的核苷酸(氨基酸)同源性为94.4%~99.1%(98.6%~100.0%),与基因2、3、4和5型参考株依次为88.8%~89.0%(98.2%~98.6%)、85.0%~87.2%(95.0%~98.4%)、81.1%~82.2%(94.8%~95.2%)、76.2%~77.4%(91.0%~91.6%);云南基因3型间的核苷酸(氨基酸)同源性为96.1%~99.7%(97.6%~99.8%),与6株基因3型参考株的核苷酸(氨基酸)同源性为95.4%~99.8%(96.4%~99.8%),与基因1、2、4和5型分别为87.5%~88.6%(96.0%~96.8%)、87.8%~88.9%(97.2%~97.8%)、83.0%~83.8%(94.0%~96.0%)、77.1%~77.7%(90.8%~91.6%)。虽然基因1型或3型JEV的核苷酸和氨基酸间均存在一定差异,但与其他型别的JEV株存在明显差异。

5. 氨基酸抗原和毒力位点:选择云南不同时期分离的JEV基因1型(8株)和基因3型(16株)与我国广泛使用的乙脑减毒活疫苗SA14-14-2株进行比较,所有云南株与SA14-14-2株在E蛋白重要抗原表位相关的结构域I(E1~E51)、II(E52~E137、

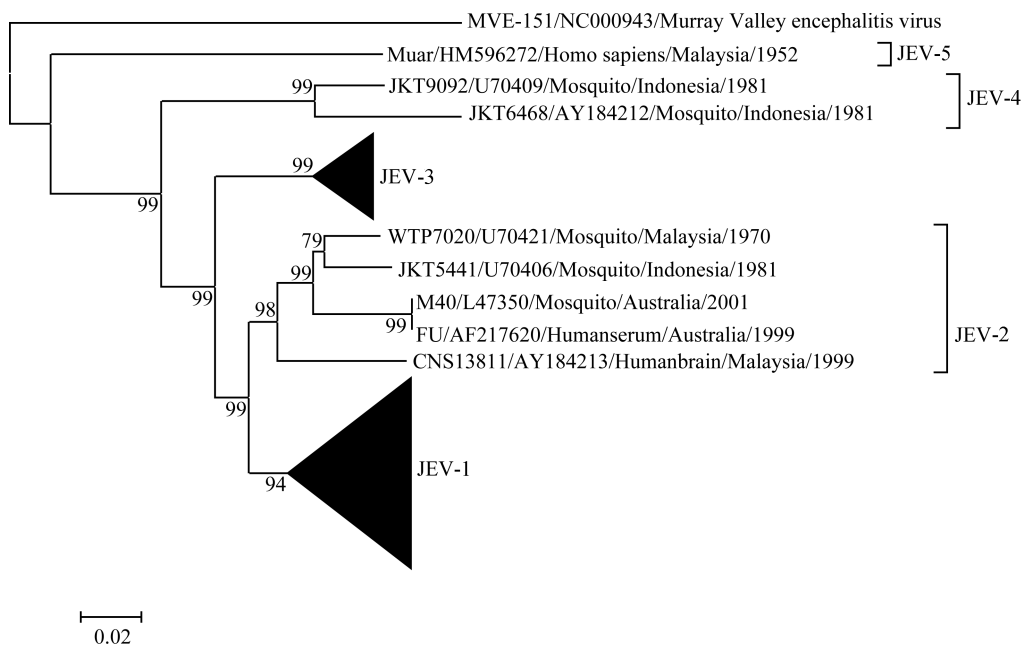
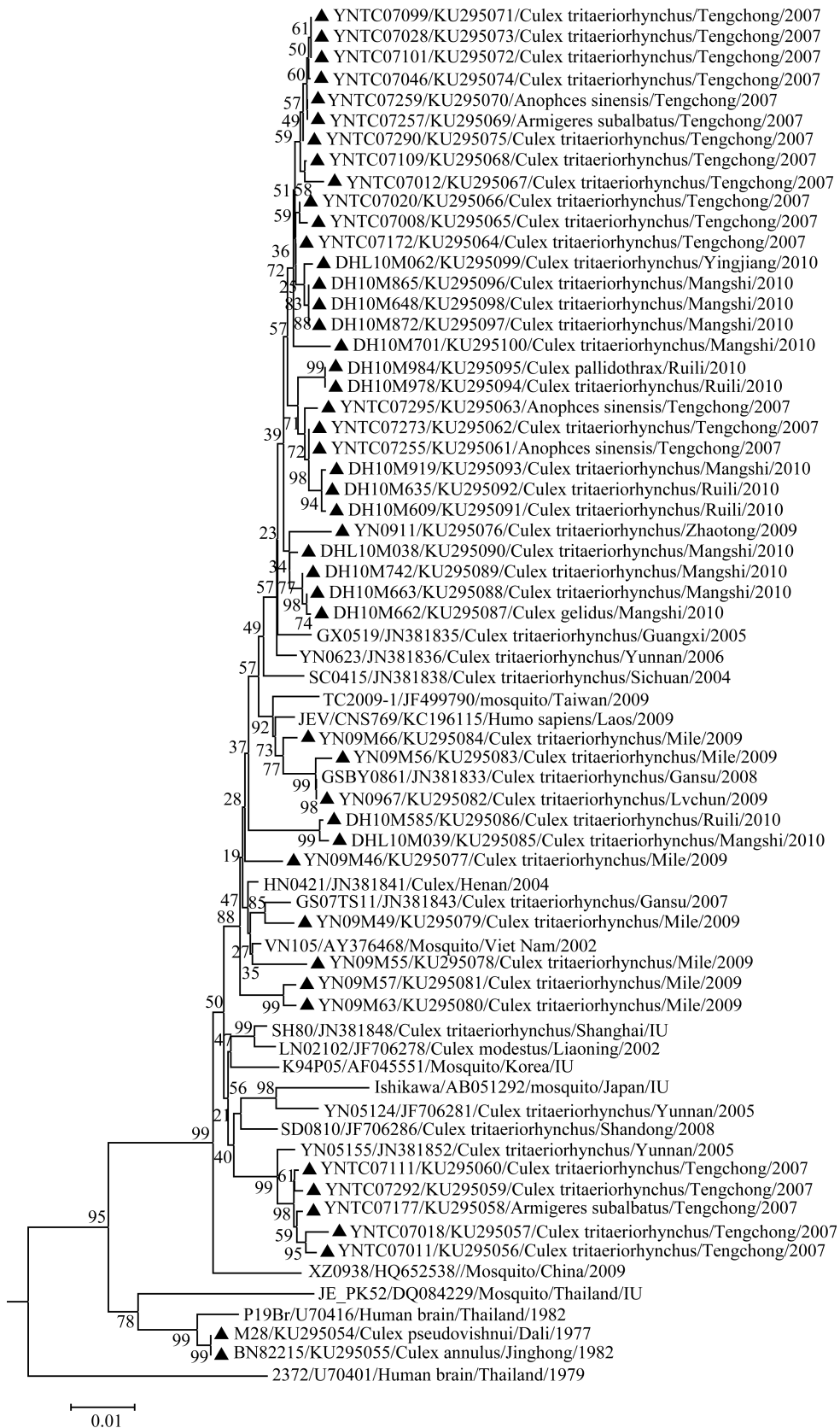


图1 云南省63株JEV与GenBank中42株乙脑1~5基因型病毒的E区核苷酸序列系统进化分析

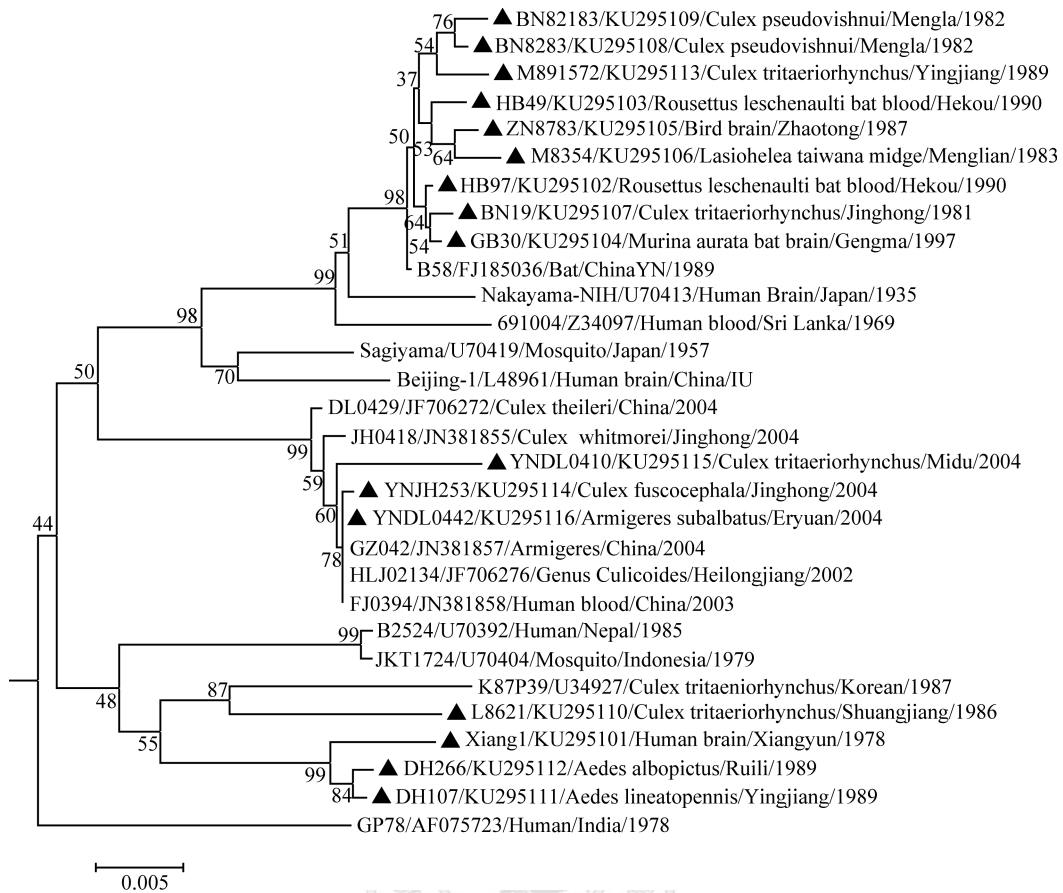


注: ▲为云南分离株

图2 云南省 47 株基因 1 型 JEV 与来自 GenBank 中 20 株基因 1 型 JEV 的 E 区核苷酸序列系统进化分析

E197 ~ E292) 和 III (E310 ~ E411) 的位点相同, 仍然保持其抗原特性。所有云南株与 SA14-14-2 株在 E

蛋白毒力相关的 8 个重要位点 (E107、E138、E167、E177、E264、E279、E315、E439) 中存在 7 个位点差



注:▲为云南分离株

图3 云南省16株基因3型JEV与GenBank中14株基因3型JEV的E区核苷酸序列系统进化分析

异,仅E167位点同为F。

讨论

JEV基因型研究对阐明该病毒的遗传进化和流行病学特征均有重要意义。起初,Chen等^[10]根据JEV C/PrM区段的240个核苷酸将JEV分为4个基因型;随后,为避免因较短的核苷酸序列分析可能导致结果的不准确性,Solomon等^[11]采用E基因的1500个核苷酸对JEV进行基因分型,将JEV分为5个基因型,并得到国际公认。其中1和3型分布较广,2,4和5型分布较局限。我国广泛存在1和3型^[12-15],5型仅在西藏林芝地区蚊虫中分离到^[14]。以往,我们曾采用C/PrM区段对早期分离自云南省的19株JEV进行分型^[15],其中17株为基因3型,2株为基因1型。本研究采用E基因对时间跨度长达34年(1977—2010年)的云南63株JEV进行基因型研究,无论是系统进化树或同源性分析,两法分型结果一致,阐明了云南省存在基因1和3型JEV的流行,但不同基因型病毒在时间和地域分布上存在明显差异。云南基因1型最早分离于1977和1982年,在随

后25年间未再分离到该型病毒,直至2007年再次分得,此后分离的均为基因1型;1978—2004年的分离株几乎均为基因3型(仅1982年分离到1株基因1型)。这些结果表明,云南省JEV具有基因1型替换基因3型成为主要流行型的趋势。

国外研究认为,东南亚热带地区是JEV的重要起源地,最早JEV可能起源于印度尼西亚及马来西亚地区,伴随着乙脑基因型的遗传进化,该病毒在亚洲及其周边地区不断蔓延扩散^[11]。JEV基因型研究和进化分析表明,1970年代之前,亚洲流行的JEV均为基因3型,随后出现1、2、4、5型^[10-11],近10年1型已成为主要流行型^[13]。高晓艳等^[16-17]研究认为,亚洲南端是JEV基因1型的起源地。云南省南部和西部与乙脑主要流行区的越南、泰国、老挝和缅甸相邻,北部和东部与我国乙脑主要流行区四川、贵州、广西相连,自然环境较为特殊,加之三带喙库蚊等乙脑传播媒介广泛分布^[6-9],养猪较普遍,也是候鸟迁徙地,适于JEV传播和扩散。本研究发现,云南基因1型病毒株间存在明显差异,如云南最早(1977和1982年)分离的基因1型病毒与泰国1982年分离株

(U70416)和DQ084229株(分离年代不详)基因1型病毒同处一个进化群,并与2007—2010年云南分离株存在明显差异,还发现2007—2010年的基因1型云南分离株大多为同一进化群。根据GenBank中的JEV序列,云南1977年分离的基因1型M28株(KU295054)属亚洲最早分离的基因1型JEV,之后为泰国分离株(U70401,1979),至1982年中国云南省和泰国再次分离到该型病毒。2001年王环宇等^[18]从捕自上海奉贤的蚊虫中分离到基因1型JEV,2003—2005年泰国和我国其他省区相继也分离到该型病毒^[2,19-20]。由此推测,中国云南省及相邻的泰国等地可能是基因1型JEV的起源地,并逐渐扩散至我国及亚洲其他地区。有关基因1型JEV扩散和演变机制尚需进一步研究。

云南基因3型JEV同样存在差异,如20世纪70、80和90年代的病毒株可分为两个进化群,并均与亚洲其他国家流行株亲缘性较近,而2004年云南基因3型分离株则自成一个进化群并与同期我国其他省区流行株具有较近的亲缘关系,提示该进化群可能为我国后期基因3型的主要流行病毒株。综合云南基因1和3型JEV的进化分析,认为在自然界中,JEV随着时间的推移并与宿主的共进化,该病毒发生某些改变,以至云南省JEV流行株具有多样性特点,并发现云南株不同进化群具有时间和地域分布特点。

我国现在使用的乙脑减毒活疫苗株和灭活疫苗株均为基因3型病毒,而基因1型的广泛流行是否会带来疫苗免疫保护问题,是当前人们关注的问题。由于JEV仅有一个血清型^[2],加之本研究证实,云南JEV流行株中,无论是基因1型还是3型,或不同进化群,它们的抗原性重要功能位点均未发生明显改变,从理论上提示该乙脑疫苗的免疫能保护基因1型病毒的感染。JEV的减毒机制研究认为^[21],E138位的谷氨酸(E)替换成赖氨酸(K)后病毒的毒力会有较明显的降低,但本研究中所有云南株的E138位仍为谷氨酸(E),由此认为,云南不同时期流行的基因1型或3型JEV均具有较强的致病性和毒力。为进一步阐明这些问题,尚需深入开展致病性、抗原性、免疫原性及免疫效果等研究。

利益冲突 无

参 考 文 献

- [1] Wang HY, Li YX, Liang XF, et al. Japanese encephalitis in mainland China[J]. Jpn J Infect Dis, 2009, 62(5):331-336.
- [2] 张海林. 流行性乙型脑炎//曹务春. 流行病学:第二卷[M]. 3版. 北京:人民卫生出版社,2015:798-810.
- [3] 邓淑珍,张海林,刘晓强,等. 1976—2007年云南省流行性乙型脑炎流行病学特征分析[J]. 地方病通报,2009,24(3):1-4,7. DOI:10.13215/j.cnki.jbyfkzbt.2009.03.061.
- [4] Deng SZ, Zhang HL, Liu XQ, et al. Analysis of epidemiological characteristics of Japanese encephalitis in Yunnan Province from 1976 to 2007[J]. Endem Dis Bull, 2009, 24(3):1-4,7. DOI:10.13215/j.cnki.jbyfkzbt.2009.03.061.
- [5] Feng Y, Fu SH, Zhang HL, et al. High incidence of Japanese encephalitis, Southern China[J]. Emerg Infect Dis, 2013, 19(4):672-673. DOI:10.3201/eid1904.120137.
- [6] Feng Y, Fu SH, Zhang HL, et al. Distribution of mosquitoes and mosquito-borne viruses along the China-Myanmar Border in Yunnan Province[J]. Jpn J Infect Dis, 2012, 65(3):215-221. DOI:10.7883/yoken.65.215.
- [7] 邓淑珍,张海林,李金梅. 云南省蚊虫分布特点及自然感染乙型脑炎病毒的研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2009,20(4):344-348.
- [8] Deng SZ, Zhang HL, Li JM. Distribution characteristics of mosquito and their natural infection with Japanese encephalitis virus in Yunnan province[J]. Chin J Vector Biol Control, 2009, 20(4):344-348.
- [9] 杨杜鹃,付士红,张海林,等. 云南省东北等地区蚊虫及蚊媒病毒调查研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志,2011,22(4):304-308,312.
- [10] Yang DJ, Fu SH, Zhang HL, et al. Investigation of mosquitoes and mosquito-borne viruses in northeast Yunnan province[J]. Chin J Vector Biol Control, 2011, 22(4):304-308,312.
- [11] Zhang HL, Zhang YZ, Yang WH, et al. Mosquitoes of western Yunnan province, China: seasonal abundance, diversity, and arbovirus associations[J]. PLoS One, 2013, 8(10):e77017. DOI:10.1371/journal.pone.0077017.
- [12] 冯云,张海林,付士红,等. 云南省德宏州2007年和2010年蚊虫及蚊媒病毒调查[J]. 中华流行病学杂志,2014,35(5):528-532. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.05.013.
- [13] Feng Y, Zhang HL, Fu SH, et al. Investigation on mosquitoes and mosquito-borne viruses in Dehong prefecture, Yunnan province, 2007 and 2010[J]. Chin J Epidemiol, 2014, 35(5):528-532. DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2014.05.013.
- [14] Chen WR, Tesh RB, Rico-Hesse R. Genetic variation of Japanese encephalitis virus in nature[J]. J Gen Virol, 1990, 71(12):2915-2922. DOI:10.1099/0022-1317-71-12-2915.
- [15] Solomon T, Ni HL, Beasley DWC, et al. Origin and evolution of Japanese encephalitis virus in Southeast Asia[J]. J Virol, 2003, 77(5):3091-3098. DOI:10.1128/JVI.77.5.3091-3098.2003.
- [16] Wang HY, Takasaki T, Fu SH, et al. Molecular epidemiological analysis of Japanese encephalitis virus in China[J]. J Gen Virol, 2007, 88(3):885-894. DOI:10.1099/vir.0.82185-0.
- [17] Pan XL, Liu H, Wang HY, et al. Emergence of genotype I of Japanese encephalitis virus as the dominant genotype in Asia[J].

J Virol, 2011, 85(19):9847-9853. DOI: 10.1128/JVI.00825-11.

[14] Li MH, Fu SH, Chen WX, et al. Molecular characterization of full-length genome of Japanese encephalitis virus genotype V isolated from Tibet, China [J]. Biomed Environ Sci, 2014, 27(4):231-239. DOI: 10.3967/bes2014.046.

[15] 王静林, 张海林, 周济华, 等. 云南省乙型脑炎病毒基因分型研究[J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 2008, 22(2):87-90. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2008.02.003.

Wang JL, Zhang HL, Zhou JH, et al. Genotyping of Japanese encephalitis viruses isolated in Yunnan [J]. Chin J Exp Clin Virol, 2008, 22(2):87-90. DOI: 10.3760/cma.j.issn.1003-9279.2008.02.003.

[16] Gao XY, Liu H, Wang HY, et al. Southernmost Asia is the source of Japanese encephalitis virus (Genotype 1) diversity from which the viruses disperse and evolve throughout Asia [J]. PLoS Negl Trop Dis, 2013, 7(9):e2459. DOI: 10.1371/journal.pntd.0002459.

[17] 高晓艳, 周海卫, 刘红, 等. 乙脑病毒的空间播散及迁徙事件研究[J]. 病毒学报, 2015, 31(3):264-268. DOI: 10.13242/j.cnki.bingduxuebao.002694.

Gao XY, Zhou HW, Liu H, et al. Study on spatial dispersal and migration events of Japanese encephalitis virus [J]. Chin J Virol, 2015, 31(3):264-268. DOI: 10.13242/j.cnki.bingduxuebao.002694.

[18] 王环宇, 付士红, 李晓宇, 等. 我国首次分离到基因 I 型乙型脑炎病毒[J]. 中华微生物学和免疫学杂志, 2004, 24(11):843-849. DOI: 10.3760/j.issn.0254-5101.2004.11.001.

Wang HY, Fu SH, Li XY, et al. Isolation and identification of genotype I Japanese encephalitis virus in China [J]. Chin J Microbiol Immunol, 2004, 24(11):843-849. DOI: 10.3760/j.issn.0254-5101.2004.11.001.

[19] Nitatpattana N, Dubot-Pérès A, Gouilh MA, et al. Change in Japanese encephalitis virus distribution, Thailand [J]. Emerg Infect Dis, 2008, 14(11):1762-1765. DOI: 10.3201/eid1411.080542.

[20] Chen YY, Fan YC, Tu WC, et al. Japanese encephalitis virus genotype replacement, Taiwan, 2009-2010 [J]. Emerg Infect Dis, 2011, 17(12):2354-2356. DOI: 10.3201/eid1712.110914.

[21] Ni HL, Chang GJJ, Xie H, et al. Molecular basis of attenuation of neurovirulence of wild-type Japanese encephalitis virus strain SA14 [J]. J Gen Virol, 1995, 76(2):409-413. DOI: 10.1099/0022-1317-76-2-409.

(收稿日期:2016-05-20)

(本文编辑:斗智)

中华流行病学杂志第七届编辑委员会成员名单

(按姓氏汉语拼音排序)

名誉总编辑	郑锡文(北京)					
顾问	曲成毅(山西)	王滨有(黑龙江)	乌正赉(北京)	张孔来(北京)	赵仲堂(山东)	庄辉(北京)
总编辑	李立明(北京)					
副总编辑	曹务春(北京)	冯子健(北京)	顾东风(北京)	何耀(北京)	贺雄(北京)	姜庆五(上海)
	汪华(江苏)	徐建国(北京)	詹思延(北京)			
编辑委员	毕振强(山东)	蔡琳(福建)	曹广文(上海)	曹务春(北京)	陈峰(江苏)	陈坤(浙江)
	陈可欣(天津)	陈维清(广东)	程锦泉(广东)	杜建伟(海南)	段广才(河南)	方向华(北京)
	冯子健(北京)	龚向东(江苏)	顾东风(北京)	郭志荣(江苏)	何耀(北京)	何剑峰(广东)
	贺雄(北京)	胡东生(广东)	胡国良(江西)	胡永华(北京)	胡志斌(江苏)	贾崇奇(山东)
	姜宝法(山东)	姜庆五(上海)	阚飙(北京)	康德英(四川)	李丽(宁夏)	李群(北京)
	李敬云(北京)	李俊华(湖南)	李立明(北京)	廖苏苏(北京)	刘静(北京)	刘民(北京)
	刘殿武(河北)	刘天锡(宁夏)	卢金星(北京)	陆林(云南)	栾荣生(四川)	罗会明(北京)
	吕繁(北京)	吕筠(北京)	马文军(广东)	孟蕾(甘肃)	米杰(北京)	潘凯枫(北京)
	祁禄(美国)	乔友林(北京)	邱洪斌(黑龙江)	仇小强(广西)	沈洪兵(江苏)	施榕(上海)
	施小明(北京)	时景璞(辽宁)	苏虹(安徽)	谭红专(湖南)	唐金陵(香港)	汪华(江苏)
	汪宁(北京)	王蓓(江苏)	王岚(北京)	王鸣(广东)	王定明(贵州)	王建华(天津)
	王全意(北京)	王素萍(山西)	吴凡(上海)	吴先萍(四川)	吴尊友(北京)	夏洪波(黑龙江)
	项永兵(上海)	徐飏(上海)	徐爱强(山东)	徐建国(北京)	许汴利(河南)	闫永平(陕西)
	严延生(福建)	杨维中(北京)	叶冬青(安徽)	于普林(北京)	于雅琴(吉林)	余宏杰(北京)
	俞敏(浙江)	詹思延(北京)	张瑜(湖北)	张博恒(上海)	张建中(北京)	张顺祥(广东)
	张作风(美国)	赵方辉(北京)	赵根明(上海)	赵亚双(黑龙江)	周宝森(辽宁)	周晓农(上海)
	朱谦(河南)	庄贵华(陕西)				