

· 综述 ·

克里米亚-刚果出血热相关生物学研究进展

孙素荣 孟卫卫 张渝疆

【关键词】 克里米亚-刚果出血热; 生物学研究

Progress on the study of biological characteristic of Crimean-Congo hemorrhagic fever SUN Su-rong¹, MENG Wei-wei², ZHANG Yu-jiang². 1 Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering, College of Life Science and Technology, Xinjiang University, Urumqi 830046, China; 2 Center for Disease Control and Prevention of Xinjiang Uygur Autonomous Region

Corresponding author: SUN Su-rong, Email: sr_sun2005@sina.com

This work was supported by grants from the National Natural Science Foundation of China (No. 81060129, 30860255), and the Open Research Fund Program of Xinjiang Key Laboratory of Biological Resources and Genetic Engineering (No. XJDX0201-2011-01).

【Key words】 Crimean-Congo hemorrhagic fever; Biological characteristic study

克里米亚-刚果出血热(CCHF)是一种典型的蜱传自然疫源性疾病,是在特定的生态环境中由病原体(克里米亚-刚果出血热病毒,CCHFV)、宿主媒介、动物(蜱类、大型草食动物和啮齿动物)构成的不依赖于人类而在自然界中可独立存在的传染性疾病,广泛分布于非洲、欧洲、亚洲和中东地区的30多个国家^[1,2]。CCHFV对人类具有较高的致病性,病死率可达50%。1965年在中国发现该病至今,在新疆南部地区有三次局部的暴发^[3,4]。因此,对于构成CCHF疫源地的各种生物要素及其之间关系的生物学及生态学研究,无疑是认识该病发生、发展和流行的重要内容。本研究将从CCHF人间流行现状,疫源地的组成分布,媒介和宿主作用,以及病原体的遗传进化关系等方面阐述近年来的研究进展。

1. CCHF人间流行现状:目前已有30多个国家或地区分离到CCHFV或者有病例报道^[1]。除中国外,20世纪70年代以前报道病例多集中在前苏联地区(克里米亚、罗斯托夫、阿斯特拉罕、哈萨克斯坦、乌兹别克斯坦和塔吉克斯坦等),以及欧洲保加利亚,非洲刚果和乌干达等国家;70年代以后,

CCHF主要流行于非洲(南非、刚果、毛里塔尼亚、布基纳法索、坦桑尼亚和塞内加尔等国家)和中东地区(伊拉克、阿拉伯联合酋长国、沙特阿拉伯、阿曼和巴基斯坦等国家)。2000年以来,中亚、非洲北部和欧洲巴尔干地区也有人类CCHF病例报道,如巴基斯坦、伊朗、塞内加尔、肯尼亚、毛里塔尼亚、阿尔巴尼亚、南斯拉夫、保加利亚和土耳其等国家^[3]。此外,印度、埃及、葡萄牙、匈牙利、法国和贝宁等国家在人群中查出CCHFV抗体,表明在这些国家也可能存在CCHF流行,但未有人类病例报道^[5]。希腊从*Rhipicephalus bursa*中分离得到1株病毒,也从人体上检测到CCHFV抗体,但至今只有1例实验室感染病例的报道^[5,6]。

在中国,CCHF人类病例集中发生新疆南部地区的环塔里木盆地荒漠区域,如巴楚、阿瓦提、伽师、柯坪、库车、轮台、库尔勒和尉犁县等地区^[7]。1965—1999年间新疆累计报告CCHF 320例,其中死亡62例,病死率19.4%^[8]。2001年巴楚县再次发生较大规模流行,报告CCHF 51例,死亡3例^[4]。其后,该地区报告病例减少,2003年巴楚县报告2例^[9],此后无病例报告。此外,云南省1982年发现CCHF 1例^[10];青海、海南、内蒙古、四川、安徽、黑龙江、辽宁、吉林等省(自治区)的动物或人群中检测到CCHFV的抗体^[4,11,12],但至今没有发现人CCHF病例。

从现有的人类CCHF流行病学分析,病例主要是在CCHF疫源地中从事牧业或农业生产活动的人群,感染途径主要是被疫源地蜱类叮咬。刘远恒等^[7]对新疆地区140例人间CCHF病例分析表明,患病人群主要以15~45岁年龄为主,占76.4%;性别以男性为主,占80.0%;职业以农牧民为主,占75.7%。此外,医务人员和病例护理者也是CCHF感染的高危人群,其感染途径主要是接触患者急性期感染血液所致^[7]。其他人群,如学生、牲畜屠宰或从事牲畜加工者也可因被携带CCHFV的蜱叮咬或接触污染血液而感染。

2. CCHF自然疫源地的组成和分布:CCHF是典型的自然疫源性疾病,人类病例的流行病学调查均表现出明显的地方性和季节性^[1-3]。迄今为止,已在亚洲、非洲和欧洲发现存在三大类自然疫源地,其疫源地所处的生态环境为干旱、半干旱荒漠草原或山麓丘陵地理生态景观,疫源地的构成包括病原体的传播和储存媒介宿主-硬蜱类和软蜱类的血源动物-啮齿动物和草食家畜^[1,2,13]。在这些疫源地内,已从大约30种蜱类分离出CCHFV,从山羊、骆驼、鸵鸟等约20余属脊椎动物中检出CCHFV或抗体^[1,2,14,15]。人类CCHF的流行病学调查显示该病的发生与被疫源地的蜱类叮咬或接触疫源动物或感染患者有密切联系^[2,3,16];并通过对一些蜱类和动物的CCHFV传播实验^[17-19];揭示了CCHF在疫源地内的循环保

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.07.021

基金项目:国家自然科学基金(81060129,30860255);新疆生物资源基因工程重点实验室开放课题(XJDX0201-2011-01)

作者单位:830046 乌鲁木齐,新疆大学生命科学与技术学院 新疆生物资源基因工程重点实验室(孙素荣);新疆维吾尔自治区疾病预防控制中心(孟卫卫、张渝疆)

通信作者,孙素荣, Email: sr_sun2005@sina.com

存方式。因此,在特定生态环境中的 CCHF 病原体、病原体赖以传播和保存的媒介宿主及媒介生存必需的血源动物,是构成 CCHF 疫源地的基本要素;三者之间的长期适应性进化发展构成稳定的 CCHF 生态系统。CCHF 疫源地构成的媒介、宿主和病原体等基本要素往往因地理环境的不同而呈现出一定差异性和多样性。

(1) 亚洲地区的 CCHF 自然疫源地组成和分布:在亚洲, CCHF 的分布主要在西亚地区的伊朗、伊拉克、也门、沙特和阿拉伯联合酋长国;中亚地区的哈萨克斯坦、塔吉克斯坦、乌兹别克斯坦、巴基斯坦以及中国的新疆地区^[1,2,20-24]。上述地区位于北纬 30°~45°之间,是亚洲大陆干旱和半干旱荒漠地理生态景观的集中分布区。这一地区动物昆虫的组成具有一定一致性,构成疫源地的媒介宿主具有趋同性。耐旱性动物是该地区主要构成组分,如啮齿动物中,沙鼠类的子午沙鼠,跳鼠类的三趾跳鼠、西伯利亚五趾跳鼠等是该区域分布广、数量多的代表种类;而野生或圈养的草食性大型动物,如骆驼、马鹿、鹅喉羚等也在该区域的动物组成中具有相似的共性。蜱类的组成上,璃眼蜱属的蜱类是主要蜱种,不仅分布广泛,而且数量多^[20-25]。亚洲地区的 CCHF 疫源地虽然在动物区系组成的共性,但还存在一定的差异性。

从亚洲地区分离出 CCHFV 的璃眼蜱组成来说,中亚地区东部的中国准噶尔盆地主要为亚洲璃眼蜱 (*Hyalomma asiaticum asiaticum*),塔里木盆地主要为亚东璃眼蜱 (*Hyalomma asiaticum kozlovi*)^[9,25];中亚地区中西部地区则从亚洲璃眼蜱、边缘璃眼蜱 (*Hyalomma marginatum marginatum*) 和小亚璃眼蜱 (*Hyalomma anatolicum anatolicum*) 等多种璃眼蜱中分离出 CCHFV^[17,21,22];临近中亚地区的西亚则从小亚璃眼蜱、边缘璃眼蜱分离出 CCHFV^[26]。但在中亚地区东部的中国,边缘璃眼蜱并无记载,小亚璃眼蜱也仅限于塔里木盆地的西部局部区域有少量分布^[25]。对于亚洲区域各疫源地 CCHFV 的分子遗传学研究不仅证明了各疫源地 CCHFV 的差异性,也显示出这些疫源地病毒株的遗传关系。基于 S 基因的遗传分析可将来自亚洲、非洲和欧洲的 CCHFV 分为 7 个进化分支,其中亚洲有 2 个进化分支,分别对应着西亚和中亚,并且这两个遗传分支的进化关系最近^[9,14,27]。

在中国, CCHF 又被称为新疆出血热 (Xinjiang hemorrhagic fever, XHF),其自然疫源地集中分布中国西北部塔里木盆地和准噶尔盆地,但两大盆地的 XHF 疫源地的分布形式是不同的^[9,24,27]。在塔里木盆地, XHF 自然疫源地主要分布在塔里木河、叶尔羌河、玉龙喀什河以及克里雅河等河流中下游流域的荒漠绿洲地区,为斑块状分布;而在准噶尔盆地则表现出弥漫性的分布形式。其次,两大盆地的疫源地出血热的流行强度不同,动物及蜱类群落构成形式也有所不同^[24]。在塔里木盆地,璃眼蜱呈聚集性分布,且在高密度蜱类分布区, XHF 的流行强度也较为猛烈,如塔里木河下游的尉犁、轮台等地,游离蜱指数达 200 以上,家畜血清阳性率为 21.5%,璃眼蜱自然界病毒携带率为 12.7%^[9,24];而在准

噶尔盆地璃眼蜱则呈均匀性分布,蜱指数显著低于塔里木盆地,家畜血清阳性率为 6.9%,璃眼蜱自然界病毒携带率为 5.6%^[9],无明显的斑块状聚集分布。造成新疆两大类型出血热疫源地内动物组成和流行程度不同的原因可能是多方面的,但其中显而易见的差别是二者的地理生态环境存在较大的差异。塔里木盆地为山间盆地,气候极为干燥,年降雨量不足 100 mm,植被分布以几大内陆河流域所涉及的区域为主,形成了斑块状的分布格局;准噶尔盆地为中亚荒漠的组成部分,气候为寒温带暖湿气流所控制,气候较为湿润,年降雨量达 100~200 mm,植被以梭梭为建群植物,辅以大量旱生灌木、半灌木和草本植物,构成荒漠草原,期间流动性沙丘极少,多为固定和半固定沙漠。这种气候格局有利于准噶尔盆地内植被的发育和动物昆虫均匀性分布,也是形成出血热疫源地均匀性分布的主要因素。

尽管在中国的其他地区,青海、海南、内蒙古、四川、安徽、黑龙江、辽宁、吉林等省(自治区)的动物或人群中检测到 CCHFV 的抗体^[10-12],但这些区域迄今为止未能从自然界的蜱类或其他动物中分离出 CCHFV,尚不能证实存在 CCHF 自然疫源地。

(2) 欧洲和非洲地区 CCHF 自然疫源地组成与分布:在欧洲, CCHF 主要分布在与亚洲西亚相邻的欧洲东南部的巴尔干半岛及其周边地区,包括希腊、土耳其、科索沃、保加利亚、俄罗斯等^[1,2,13,14,20];其疫源地生态景观是中亚干旱荒漠向西的延续,属于荒漠草原或草原生态类型;疫源地的蜱类及动物构成与西亚基本一致,已发现的媒介蜱类主要为边缘璃眼蜱^[22,28]。该地区 CCHFV 的遗传学分析可独立成为 1 个分支,进化树与西亚地区 CCHFV 较为接近^[14,25,27]。

非洲 CCHF 自然疫源地主要分布在西部、南部及中部的广大干旱或半干旱荒漠地区,包括刚果、乌干达、毛里塔尼亚、南非、坦桑尼亚、尼日利亚、塞内加尔等国家^[1,2,13,14,20,28,29]。已发现的 CCHF 疫源地动物和媒介与欧洲、亚洲有相同的地方,也有不同之处。在三大洲疫源地中,羊、骆驼、牛等草食动物均可自然感染 CCHFV,并产生抗体,但一些本地区特有的动物在疫源地 CCHF 流行中却起着非常重要的传播作用。已发现非洲鸵鸟可自然感染并携带病毒,并有屠宰鸵鸟的工人感染 CCHF 的报道^[10,18]。此外,在非洲的疫源地中麻点璃眼蜱 (*Hyalomma marginatum rufipes*) 和图兰璃眼蜱 (*Hyalomma marginatum turanicum*) 是该区域的主要媒介^[9]。这些动物和昆虫的组成特点不同于亚洲和欧洲的 CCHF 自然疫源地。分子遗传研究显示出非洲地区 CCHFV 具有明显的独立性和复杂性,可分为 3 个进化分支,但 3 个分支的遗传关系明显较欧洲和亚洲的密切^[9,14,27]。

3. CCHF 的媒介和宿主动物:

(1) 媒介:能够传播疾病的媒介种类非常多,包括吸血类的双翅目昆虫,以及蚤类、蜱螨类和蝇类等,但目前仅在 32 种(亚种)蜱类和 1 种蠓中分离到 CCHFV,其中软蜱科 2 个种和硬蜱科的 7 个属 30 个种(亚种)^[3,20,21],其他节肢动物尚未分离出 CCHFV。在这些分离到 CCHFV 的昆虫中,并不是所

有的种类都能够起到传播或保存 CCHFV 的作用;其媒介作用需要通过流行病学调查、实验室病毒复制和传播实验等多种途径加以证实。目前现场调查方面已发现硬蜱科中的璃眼蜱属的蜱类在 CCHF 疫源地中扮演最重要作用,在已分离出病毒的 32 种昆虫中,该属蜱类有 13 种^[9,17];且欧洲、亚洲和非洲 CCHFV 的分布与该属的蜱在这些地区的分布相一致^[1]。实验室研究方面也亦证实约 10 种蜱类具备实验条件下蜱体内 CCHFV 自我复制或水平传播或经卵垂直传播病毒的能力^[17]。对已从非洲、欧洲和亚洲 CCHF 疫源地分离出大量 CCHFV 的麻点璃眼蜱、图兰璃眼蜱、边缘璃眼蜱以及 *Rhipicephalus evertsi* 等的实验室研究表明,CCHFV 在上述蜱类体内中均可完成病毒的复制,通过吸食宿主动物血液可水平传播和经卵垂直传递病毒^[17-19]。

至于其他分离出 CCHFV 的蜱类尚不能确定在传播和保存该病毒中具有媒介作用,如软蜱科的 *Ornithodoros sonrai*,虽已从自然界采获的蜱中分离出 CCHFV,但是研究证实该蜱既不能水平传播病毒,也不能经卵垂直传播病毒^[30]。

在中国的塔里木盆地和准噶尔盆地的 CCHF 疫源地中,分布着璃眼蜱、革蜱、扇头蜱等 10 余种硬蜱,其中在胡杨灌木荒漠林区是璃眼蜱主要分布区,也是 CCHF 的疫源地所在地。自 1965 年新疆巴楚地区首次发现 XHF 病例,1966 年的现场调查即从该地区采获的璃眼蜱中分离出 4 株病毒,蜱类病毒携带率 10.0%^[3];居民血清流行病学调查病毒抗体阳性率 10.2%,绵羊血清阳性率 55.5%;媒介调查显示家畜中亚洲璃眼蜱构成占 43.4%,活动高峰为 5 月,与人类 CCHF 流行时间一致^[3]。以上调查说明新疆塔里木盆地存在以亚洲璃眼蜱为主要媒介的 XHF 自然疫源地。其后,在新疆的塔里木盆地和准噶尔盆地等地区开展过多次调查,证实新疆存在塔里木盆地和准噶尔盆地两大 XHF 自然疫源地;从蜱类标本中分离病毒超过 20 株,且均为亚洲璃眼蜱^[3,9,23,24,27]。亚洲璃眼蜱叮咬吸血 CCHFV 感染羊后,饱血蜱所产卵孵化幼蜱的病毒分离率为 50.0%,幼蜱及稚蜱叮咬家兔血清抗体阳性率为 80.0%^[31],实验确认了亚洲璃眼蜱可水平和垂直经卵传递 CCHFV。本课题组曾从蜱类分离出 CCHFV,且从蜱类形态学角度发现塔里木盆地的主要媒介为亚洲璃眼蜱的 1 个亚种——亚东璃眼蜱,且其分布和数量的构成与疫源地中蜱类的病毒携带量、家畜及人群血清病毒抗体阳性率有一定的相关性^[9]。

(2) 宿主动物:目前已经从约 20 个属的驯养和野生脊椎动物中分离到 CCHFV 或检测到抗体,证实这些动物可自然感染 CCHFV;其中包括家畜类的牛、羊、骆驼、犬等;野生大型草食性动物羚羊、瞪羚、斑马、长颈鹿等;啮齿类的野兔、子午沙鼠、大耳跳鼠、三趾跳鼠等;食虫目的刺猬;翼手目的蝙蝠;犬科的狐狸以及鸟类的鸵鸟、红嘴犀鸟等^[1,9,20,24,31]。此外,有报道在爬行类动物龟、蜥蜴中也检测到 CCHFV 抗体^[1]。这些动物一方面可以自身感染病毒,另一方面可作为媒介蜱类的血源动物,对 CCHF 的流行和病毒的保存都起到十分重要的作用。

羚羊、马鹿、牛、羊、骆驼等野生大型草食性动物或家畜,以及大型鸟类如鸵鸟等往往是 CCHFV 主要媒介璃眼蜱、扇头蜱、革蜱等成虫的主要寄主动物,是蜱类完成生活史必不可少的一环^[20]。据调查,在塔里木盆地羊的体外寄生蜱中,亚洲璃眼蜱成虫寄生指数为 28.16~42.95,扇头蜱寄生指数达 114.79,骆驼的亚洲璃眼蜱成虫寄生指数 19.0^[31]。因此,这些动物对 CCHF 疫源地的构成及其疫源性的维持是必须的,也是十分重要的。同时,CCHFV 对这些动物致病性相对较弱,一般均为不显性或亚临床感染,或只有短暂的症状,但会出现持续数日或一周以上的病毒血症,病毒血症水平可使吸附在其身体上的未感染蜱感染病毒,实现 CCHFV 由宿主动物向媒介传递的过程。其后,大多数动物会产生明显的抗体反应。中国新疆塔里木盆地 CCHF 疫源地的现场调查显示,疫区中羊血清的 CCHFV 抗体阳性率为 20.0%~70.0%,骆驼 20.0%~55.5%、牛 41.9%、马 20.0%^[9,24,27,28,31,32]。在准噶尔盆地的羊 CCHFV 抗体阳性率可达 2.3%~3.6%^[9,23],且大龄羊(5~6 岁)的阳性率显著高于青年羊(2 岁左右)^[20]。在非洲的尼日利亚,牛的血清 CCHFV 抗体阳性率为 57.7%、绵羊 3.5%、山羊 8.0%、骆驼 14.4%^[14]。此外,柴俊杰^[32]自新疆塔里木盆地疫源地的健康绵羊分离出 2 株该病毒。从绵羊、牛和狐狸等的感染实验中证实它们可作为 CCHFV 的宿主^[20,22,31]。

中小型野生动物,特别是小型啮齿动物、刺猬等是媒介蜱类幼虫和若虫的主要宿主,也是蜱类完成生活史必不可少的重要环节^[20]。在这些中小型野生动物中,兔形目的野兔几乎在 CCHF 各疫源地中都参与了 CCHF 的流行。非洲疫源地的非洲草兔,欧洲疫源地的欧洲兔,中亚疫源地,包括中国新疆准噶尔疫源地的蒙古草兔,以及新疆塔里木盆地的塔里木兔均检测出血清 CCHFV 抗体^[2,20,33]。据报道,欧洲兔实验感染 CCHFV 后病毒血症可持续 15 d,第 4 天滴度最高($10^{5.0}$ LD₅₀/0.02 ml),其后可产生抗体。在克里米亚曾从 3 只有蜱寄生的欧洲兔血液和肝脏中分离出病毒^[20];在塔里木盆地,用反间接血凝抑制试验(RPHI)方法自兔肝脏标本中检测出 CCHFV 抗体,阳性率 30.8%^[33]。

除兔形目的野兔之外,啮齿目的鼠类在 CCHF 疫源地中也起着非常重要的作用。现已在亚洲、欧洲及非洲各疫源地中,自子午沙鼠(*Meriones meridianus*)、大沙鼠(*Rhombomys opimus*)、沙黄鼠(*Citellus fulvus*)、斯氏沙鼠(*Merione crassus*)、三趾跳鼠(*Dipus sagitta*)、长耳跳鼠(*Euchoreates naso*)、威氏跳鼠(*Allactaga euphrata*)、柽柳沙鼠(*Meriones tamarisinus*)、小林姬鼠(*Apodemus sylvaticus*)、小家鼠(*Mus musculus*)、细趾黄鼠(*Spermophilopsis leptodactylus*)和多乳鼠 [*Praomys (Mastomys) natalensis*] 中检测到 CCHFV 抗体^[20]。在这些鼠类中,子午沙鼠和长耳跳鼠的宿主作用值得关注。子午沙鼠是亚洲荒漠,特别是中亚区域的广布种类,几乎在各类型的荒漠中均有该鼠的分布,长耳跳鼠则是塔里木盆地最为常见的鼠类^[34]。据调查,塔里木盆地巴楚和阿阿克苏地区子午沙鼠占 27.0%~27.5%,长耳跳鼠占 41.0%~53.0%^[31,33],在准噶尔盆地子午沙鼠占夜行鼠构成比的 64.0%^[35]。1979 年吉杏生^[33]

自塔里木盆地巴楚长耳跳鼠脏器分离出 CCHFV, 检测出病毒抗原, 抗原阳性率 (RPHA) 6.3%, 抗体阳性率 (RPHI) 88.9%, 子午沙鼠血清抗体阳性率 (RPHI) 40.0%。

除哺乳动物之外, 鸟类在 CCHF 疫源地及其流行中的作用也值得关注。一方面很多鸟类是 CCHFV 感染蜱的重要寄生宿主, 不仅可使感染病毒的蜱通过叮咬吸血活动将病毒传染给鸟类, 也可使处于病毒血症的鸟类将病毒传播给寄生在身上的蜱类, 形成鸟-蜱-鸟间的循环, 同时可通过鸟类的迁徙活动推动 CCHF 的远距离传播^[1, 2, 13, 14, 17, 19, 20, 36-38]。在欧洲、亚洲及非洲 CCHF 疫源地中的大多数重要媒介, 如边缘璃眼蜱、图兰璃眼蜱、麻点璃眼蜱、长喙璃眼蜱 (*Yalomma truncatum*)、波斯锐缘蜱 (*Argas persicus*)、刻点血蜱 (*Haemaphysalis punctata*)、篦子硬蜱 (*Ixodes ricinus*)、缤纷花蜱 (*Amblyomma variegatum*) 等的幼虫常常寄生于鸟类, 并可随鸟类的迁徙传播至它处^[1, 2, 13, 14, 20]。另一方面, 鸟类对 CCHFV 的敏感性和抗性呈现出多元性的特征。一些鸟类似乎对 CCHFV 的敏感性较低, 具有抗病毒感染的能力。Berezin 等^[36]在 1971 年进行的白嘴鸭和欧洲野鸽 CCHFV 感染实验中, 未出现病毒血症或者抗体反应, 而且在现场调查中虽然自 600 多只此类鸟身上采集到的蜱中分离出 CCHFV, 但此批鸟类血清 CCHFV 抗体依然呈阴性, 鸟类的血和脏器病毒分离也为阴性。但另一些鸟类却表现出潜在的 CCHF 宿主作用。1984 年在一个南非的农场, 一名工人因屠宰鸵鸟而感染 CCHFV^[16]。随后的调查发现, 该农场的 9 只鸵鸟中有 6 只抗体呈阳性, 且邻近农场中也有 24.0% 的鸵鸟被检测到 CCHFV 抗体^[29, 37]。

4. 病毒分子遗传与进化: CCHFV 属于布尼亚病毒科内罗病毒属, 是一种单股负链 RNA 病毒, 由大 (L)、中 (M)、小 (S) 3 个片段组成, 每一个基因组的 3' 和 5' 末端互补, 可以形成环状或柄状结构。3 个基因组末端 11 个碱基是保守的, 并且除第 9 位核苷酸外均互补, 在随后的 20 个左右碱基显示片段特异性互补。L 片段长约 12 kb, 编码依赖于 RNA 的 RNA 聚合酶蛋白 (L 蛋白); S 片段长约 1172 bp, 编码核衣壳蛋白 (N 蛋白), 是病毒的核心结构, 相对保持比较稳定, 变异性小; M 片段长约 5360 bp, 编码 2 个外膜糖蛋白 Gn 和 Gc, 成熟的糖蛋白能识别易感宿主细胞上的受体并能诱导中和抗体产生。病毒基因组与 2100 个 N 蛋白和 25 个 L 蛋白紧密结合形成核蛋白颗粒^[1, 14, 27]。

自 1992 年中国羊分离株 CCHFV 基因组 S 基因片段序列完成以来^[38], 在世界各类 CCHF 疫源地中大约已完成了 57 株 CCHFV 的 S 基因, 50 株 M 基因, 32 株 L 基因的全长基因组信息测定。一般认为节肢动物虫媒 RNA 病毒由于受限于适应节肢动物和脊椎动物双重适应的选择性压力, 其基因组的多样性明显低于其他虫媒病毒^[39], 但通过对已发表的 CCHFV 基因组信息比较分析, 却发现其在分子遗传学上存在大量的遗传多态性^[9, 14, 27]。Deyde 等^[27]对不同疫源地的 15 株 CCHFV 全基因组序列, 32 株病毒的 S 和 M 基因全长, 及 18 株 L 基因全长的遗传进化分析发现, 其 S、M 和 L 基因核酸差异率分别

为 20.0%、31.0% 和 22.0%, 编码的核蛋白、糖蛋白及多聚酶 L 蛋白氨基酸差异率分别为 8.0%、27.0% 和 10.0%, 明显高于其他虫媒病毒的变异水平, 具有较高的基因组可塑性。此外, 该研究还显示^[27], CCHFV 的 L 基因片段无论是在核酸水平还是氨基酸水平上都比 S 基因片段的差异大, 这与 RNA 病毒的聚合酶序列一般为整个基因组序列中最保守的序列结构不一致。其次, 在 CCHFV 中, M 基因在核酸序列和氨基酸序列均是该病毒 3 个基因组中变异最大的^[14, 21, 27]。此外, 其他一些研究结果也证明了 CCHFV 基因组中存在大量的遗传多样性。1994—1995 年阿拉伯联合酋长国暴发的 CCHF 患者中扩增的 S 片段序列与 C68031 株差别 10.0%~11.8%, 多数核苷酸差异都在密码子的第三位^[40]。希腊株的 S 片段与其他欧洲株相差 25.3%; 我国的 2 株病毒 (BA66019 和 BA8402) S 片段相差 15.0%, M 片段与尼日利亚株相差 22.0%^[41], 2005 年分离的 3 株 (YL05035、YT05099 和 LT05146) S 片段与中国原型株 66019 相差 6.8%, 与尼日利亚的原型株 Ibar10200 的差异性为 13.0%; 乌兹别克斯坦株与我国毒株较为近源^[42]。

CCHFV 基因组表现出复杂的遗传多态性, 不仅仅是选择性突变压力作用结果, 而更多是由于 CCHFV 在复杂多样进化路线中, 导致病毒基因组发生大量的基因组重组和重排所引起的^[27, 43]。Vassiliki 和 Anna^[14]应用分子钟假设对 1956—2003 年分离自不同疫源地的 40 株 CCHFV 的 S、M、L 基因组进化树进行了分析, 发现这 3 个基因组的进化速率是不同的, 找不到一个适用于全球范围 CCHFV 的统一分子进化的时钟。分别对 S、M 和 L 基因进化树的速率分析表明, 非洲地区 CCHFV 的进化要快于其他地区, M 和 L 基因的进化速率快于 S 基因, S 基因的遗传变异与地理环境的关系更为密切^[14]。

此外, 基于 CCHFV 全基因组或 S、M、L 基因全长或部分片段数据建立的种系发生树, 较为完整地显示出各疫源地 CCHFV 的进化关系^[9, 14, 21, 27]。S 和 L 基因进化树较为近似, 与地理分布存在一定的相关性, 而 M 基因建立的进化树则出现地理区域上的错配现象, 即地理区域上相距很远的毒株却表现出相当近的亲缘关系^[14, 21, 27]。比如中国塔里木盆地的 79121 和 7001 病毒株与西非的塞内加尔和刚果病毒株就显示出较为相近的亲缘关系^[27]。上述 CCHFV 基因组遗传多态性及其表现出来的差异性, 与各功能基因组的结构和功能有密切关系。尤其是 CCHFV 在适应不同疫源地大量各种各样的节肢动物和脊椎动物宿主细胞过程中, 必然会在基因组产生大量的重组和重排, 从而导致 M 基因的高变异性^[21]。此外, 造成这种现象的原因与 CCHFV 复杂多样的疫源地分布类型、进化途径及其 M 基因组功能结构有密切关系, M 基因组与地理区域不完全相关可能与糖蛋白逃避哺乳动物免疫压力有关^[21]。同时, 也与远距离贸易往来, 候鸟迁徙等造成感染宿主动物或媒介蜱类的远距离病毒传播有关^[14, 21, 27]。

中国新疆存在天山南部的塔里木盆地和天山北部准噶尔盆地两大 CCHF 自然疫源地, 根据其 S 基因序列建立的进化关系图, 可分为亚洲 1 和亚洲 2 两大进化分支。塔里木盆

地的CCHFV全部归属亚洲2,与中亚地区的乌兹别克斯坦同属一个进化支,并可进一步分为3个进化分支。而分离自准噶尔盆地的Fub90009株则在进化树中划归为亚洲1,与西亚和中亚地区的伊朗、巴基斯坦同属一个进化支^[9]。核苷酸及氨基酸序列比较分析亦发现新疆地区CCHFV的同源性较高,核酸序列同源性在86.0%~99.5%之间,氨基酸序列在89.0%~100.0%^[9],而新疆南部塔里木盆地的CCHFV同源性更高,核酸序列同源性达92.7%~99.8%^[42,43]。预示中国新疆地区的CCHFV可能存在两个不同途径的进化路线。

参 考 文 献

- [1] Chris AW. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Antivir Research*, 2004, 64:145-160.
- [2] Hoogstraal H. The epidemiology of tick-borne Crimean-Congo hemorrhagic fever in Asia, Europe and Africa. *J Med Entomol*, 1979, 15:307-417.
- [3] Feng CH, Chai JJ, Han YY, et al. Report of investigation on hemorrhagic fever in Bachu county, Xinjiang in 1966. II. A preliminary study on etiology of hemorrhagic fever in Bachu. *Endemic Dis Bull*, 2004, 19 Suppl: S6-14. (in Chinese)
冯崇慧, 柴俊杰, 韩砚义, 等. 1966年新疆巴楚县出血热研究报告 II. 新疆巴楚出血热病原学的初步研究. *地方病通报*, 2004, 19 增刊: 6-14.
- [4] Han L, Tang Q, Zhao XQ, et al. Serologic studies of Xinjiang hemorrhagic fever in Bachu county, 2001. *Chin J Epidemiol*, 2002, 2(3): 179-181. (in Chinese)
韩磊, 唐青, 赵秀芹, 等. 巴楚县2001年新疆出血热疫情的血清学证实. *中华流行病学杂志*, 2002, 23(3): 179-181.
- [5] Önder Ergönül. Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Lancet Infect Dis*, 2006, 6: 203-214.
- [6] Antoniadis A, Casals J. Serological evidence of human infection with Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in Greece. *Am J Trop Med Hyg*, 1982, 31: 1066-1067.
- [7] Liu YH, Chai JJ, Xiao CN, et al. The epidemiology analysis of Xinjiang hemorrhagic fever. *Endemic Dis Bull*, 2004, 19 Suppl: S47-49. (in Chinese)
刘远恒, 柴俊杰, 肖成恩, 等. 新疆出血热140例流行病学分析. *地方病通报*, 2004, 19 增刊: 47-49.
- [8] Tang Q, Zhao XQ, Chen HX. Field Investigation on Crimean-Congo hemorrhagic fever viruses in Xinjiang, 1999. *Dis Surveil*, 2000, 15(7): 249-251. (in Chinese)
唐青, 赵秀芹, 陈化新. 新疆1999年克里米亚-刚果出血热现场调查分析. *疾病监测*, 2000, 15(7): 249-251.
- [9] Sun SR, Dai X, Muhetaer A, et al. Epidemiology and phylogenetic analysis of Crimean-Congo hemorrhagic fever viruses in Xinjiang, China. *J Clin Microbiol*, 2009, 47: 2536-2543.
- [10] Hou ZL, Huang WL. Investigation on the antibodies against arboviruses in Sera of Human being in Yunnan province. *Chin J Vector Biol Control*, 1992, 3(3): 173-175. (in Chinese)
侯宗柳, 黄文丽. 云南蜱媒病毒的血清流行病学研究. *中国媒介生物学及控制杂志*, 1992, 3(3): 173-175.
- [11] Cai ZL, Lu ZX, Hu LM, et al. Investigation on the antibody to Xinjiang hemorrhagic fever virus in Sera of Human being in some regions of Northeast China. *Chin J Zoonoses*, 1994, 13: 191. (in Chinese)
蔡增林, 鲁志新, 胡玲美, 等. 东北部分地区人血清中检测出新疆出血热病毒抗体. *中国人兽共患病杂志*, 1994, 13: 191.
- [12] Ma BJ, Tang Q. Epidemiology of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Intern J Epidemiol Infect Dis*, 1999, 26: 149-151. (in Chinese)
马本江, 唐青. 克里米亚-刚果出血热的流行病学. *国外医学流行病学传染病学分册*, 1999, 26: 149-151.
- [13] Maltezos HC, Papa A. Crimean-Congo hemorrhagic fever: risk for emergence of new endemic foci in Europe? *Travel Med Infect Dis*, 2010, 8: 139-143.
- [14] Vassiliki A, Anna P. Evolution of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. *Infect Gen Evolut*, 2009, 9: 948-954.
- [15] Jeffrey CM, John M, Ksiazek TG. Antibody to hemorrhagic fever virus in domestic livestock in Niger: Rift valley fever and Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Am J Trop Hyg*, 1995, 53(3): 217-221.
- [16] Van PJ, Joubert JR, Vande BW, et al. A nosocomial outbreak of Crimean-Congo haemorrhagic fever at Tygerberg Hospital. Part I. Clinical features. *S Afr Med J*, 1985, 68: 711-717.
- [17] Michael JT. Role of ticks in the transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Ergonul, C.A. Whitehouse (eds), *Crimean-Congo hemorrhagic fever*. US Government, 2007: 143-154.
- [18] Swanepoel R, Leman PA, Burt FJ, et al. Experimental infection of ostriches with Crimean-Congo haemorrhagic fever virus. *Epidemiol Infect*, 1998, 121: 427-432.
- [19] Zeller HG, Cornet JP, Camicas JL. Experimental transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus by West African wild ground-feeding birds to *Hyalomma marginatum rufipes* ticks. *Am J Trop Med Hyg*, 1994, 50: 676-681.
- [20] Tang JQ, Wang CJ, Zhang JT. *Disease of natural focus*. Beijing: Scientific and Technological Publishing House, 2005: 108-1210. (in Chinese)
唐家琪, 王长军, 张金桐. *自然疫源性疾病*. 北京: 科学技术出版社, 2005: 108-1210.
- [21] Morikawa S, Saijo M, Kurane I. Recent progress in molecular biology of Crimean-Congo hemorrhagic fever. *Comparative Immunol Microbiol Infect Dis*, 2007, 30: 375-389.
- [22] Wilson ML, Gonzalez JP, Cornet JP, et al. Transmission of Crimean-Congo hemorrhagic fever from experimentally infected sheep to *Hyalomma truncatum* ticks. *Res Virol*, 1991, 142: 395-404.
- [23] Feng CH, Bai XH, Liu HB, et al. Discovery of natural foci of Xinjiang hemorrhagic fever in the southern margin area of Junggar Basin, Xinjiang. *Endemic Dis Bull*, 1991, 6: 52-55. (in Chinese)
冯崇慧, 白旭华, 刘宏斌, 等. 新疆准噶尔盆地南缘地区新疆出血热病病毒自然疫源地的发现. *地方病通报*, 1991, 6: 52-55.
- [24] Dai X, Muhtar, Feng CH, et al. Geography and host distribution of

- Crimean-Congo hemorrhagic fever in the Tarim Basin. Chin J Epidemiol, 2006, 27(12): 1048-1052. (in Chinese)
戴翔, 木盒塔尔, 冯崇惠, 等. 塔里木盆地新疆出血热蜱类及宿主动物感染调查. 中华流行病学杂志, 2006, 27(12): 1048-1052.
- [25] Yu X, Ye RY, Gong ZD. The tick fauna of Xinjiang. Urumqi: Xinjiang Scientific and Technological Publishing House, 1997: 3-8. (in Chinese)
于心, 叶瑞玉, 龚正达. 新疆蜱类志. 乌鲁木齐: 新疆科技出版社, 1997: 3-8.
- [26] Williams RJ, Al-Busaidy S, Mehta FR, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever: a seroepidemiological and tick survey in the Sultanate of Oman. Trop Med Int Health, 2000, 5: 99-106.
- [27] Deyde VM, Khristova ML, Rollin PE, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever virus genomics and global diversity. J Virol, 2006, 80: 8834-8842.
- [28] Zeller HG, Cornet JP, Diop A, et al. Crimean-Congo hemorrhagic fever in ticks (Acari: Ixodidae) and ruminants: field observations of an epizootic in Bandia, Senegal (1989-1992). J Med Entomol, 1997, 34: 511-516.
- [29] Shepherd AJ, Swanepoel R, Shepherd SP, et al. Antibody to Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in wild mammals from Southern Africa. Am J Trop Med Hyg, 1987, 36: 133-142.
- [30] Durden LA, Logan TM, Wilson ML, et al. Experimental vector incompetence of a soft tick, *Ornithodoros sonrai* (Acari: Argasidae), for Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. J Med Entomol, 1993, 30: 493-496.
- [31] Xiao CE. Surveillance on major species of host animals and vectors of Xinjiang hemorrhagic fever. Endemic Dis Bull, 2004, 19 Suppl: S50-54. (in Chinese)
肖成恩. 新疆出血热媒介宿主调查总结. 地方病通报, 2004, 19 增刊: 50-54.
- [32] Chai JJ. Study on naturally infected with Xinjiang hemorrhagic fever virus on sheep in 2004. Endemic Dis Bull, 2004, 19 Suppl: S26-30. (in Chinese)
柴俊杰. 2004 年绵羊中新疆出血热病毒的自然感染. 地方病通报, 2004, 19 增刊: 26-30.
- [33] Ji XS. Investigation on the host animals of Xinjiang hemorrhagic fever in 1979. Endemic Dis Bull, 2004, 19 Suppl: S76-78. (in Chinese)
吉杏生. 1979 年新疆出血热野生动物宿主调查. 地方病通报, 2004, 19 增刊: 76-78.
- [34] Wang SB, Yang GY. Rodents fauna in Xinjiang. Urumqi: Xinjiang People's Publishing House, 1982: 8-20. (in Chinese)
王思博, 杨贻源. 新疆啮齿动物志. 乌鲁木齐: 新疆人民出版社, 1982: 8-20.
- [35] Zhang YJ, Dai X, Abulimiti, et al. Study on the situation of plague in Junggar Basin of China. Chin J Epidemiol, 2008, 29(2): 136-144. (in Chinese)
张渝疆, 戴翔, 阿不力米提, 等. 准噶尔盆地鼠疫调查. 中华流行病学杂志, 2008, 29(2): 136-144.
- [36] Berezin VV, Chumakov MP, Reshetnikov IA, et al. Study of the role of birds in the ecology of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus. Mater Simp Izuch Virus Ekol Svyazan Ptits (Omsk, 1971), 1971a: 94-95.
- [37] Shepherd AJ, Swanepoel R, Leman PA, et al. Field and laboratory investigation of Crimean-Congo haemorrhagic fever virus (Nairovirus, family *Bunyaviridae*) infection in birds. Trans R Soc Trop Med Hyg, 1987, 81: 1004-1007.
- [38] Marriott AC, Nuttall PA. Comparison of the S RNA segments and nucleoprotein sequences of Crimean-Congo hemorrhagic fever, Hazara, and Dugbe viruses. Virology, 1992, 189: 795-799.
- [39] Weaver SC. Evolutionary influences in arboviral disease. Curr Top Microbiol Immunol, 2006, 299: 285-314.
- [40] Petrova ID, Seregin SV, Petrov VS, et al. Genetic characteristics of the S-segment of RNA from two strains of the Crimean-Congo hemorrhagic fever virus isolated in the south of Russia and in Uzbekistan. Vopr Virusol, 2003, 48(2): 8-11.
- [41] Papa A, Ma B, Kouidou S, et al. Genetic characterization of the M RNA segment of Crimean-Congo hemorrhagic fever virus in China. Emerg Infect Dis, 2002, 8(1): 50-53.
- [42] Sun SR, Meng WW, Zhang YJ, et al. Molecular analysis on the S gene of three Crimean-Congo hemorrhagic fever virus strains in China. Chin J Epidemiol, 2006, 27(10): 880-883. (in Chinese)
孙素荣, 孟卫卫, 张渝疆, 等. 新疆克里米亚-刚果出血热病毒株 S 基因分子生物学特性研究. 中华流行病学杂志, 2006, 27(10): 880-883.
- [43] Tang Q, Gao DP, Zhao XQ, et al. Study on the molecular biology of hemorrhagic fever virus in Xinjiang. Chin J Epidemiol, 2002, 23(6): 449-452. (in Chinese)
唐青, 高佃平, 赵秀芹, 等. 5 株新疆出血热病毒分子流行病学研究. 中华流行病学杂志, 2002, 23(6): 449-452.

(收稿日期: 2011-02-19)

(本文编辑: 尹廉)