

云南省2个边境地区新报告艾滋病病毒感染者HIV-1基因亚型分析

韦焘 杨朝军 陈敏 贾曼红 马艳玲 罗红兵 陆林

650500 昆明医科大学公共卫生学院(韦焘、陆林); 650022 昆明, 云南省疾病预防控制中心(杨朝军、陈敏、贾曼红、马艳玲、罗红兵); 650200 昆明, 云南省卫生和计划生育委员会(陆林)

通信作者: 陆林, Email: lulin@yncdc.cn

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2018.12.015

【摘要】目的 了解云南省2个边境地区新报告HIV感染者HIV-1基因亚型分布特征。**方法** 2015年11月至2016年10月在云南省德宏傣族景颇族自治州(德宏州)和红河哈尼族彝族自治州(红河州)边境地区,连续纳入年龄 ≥ 18 岁新报告HIV感染者共233例,提取病毒RNA,扩增 pol 和 env 基因区,进行基因分型检测和序列分析。**结果** 233份标本共有146份获得HIV-1基因亚型。德宏州有8种HIV-1基因亚型,以独特重组型(URFs)为主(52.8%, 57/108),其中中国籍的URFs占56.8%(21/37),缅甸籍的占50.7%(36/71);红河州有4种HIV-1基因亚型,以CRF01_AE为主(71.1%, 27/38),其中越南籍的占81.0%(17/21),中国籍的占58.8%(10/17)。2个州HIV-1基因亚型总体分布的差异有统计学意义($\chi^2=61.072, P<0.001$)。**结论** 云南省2个边境地区新报告HIV感染者HIV-1基因亚型分布差异较大,应对中国籍和外国籍HIV感染者采取有针对性的防治措施。

【关键词】 艾滋病病毒感染者; 基因亚型; 边境地区

基金项目: 云南省公共卫生与疾病防控协同创新中心项目(2015YNPHXT03)

HIV-1 gene subtypes among newly reported HIV/AIDS cases in two border areas of Yunnan province Wei Tao, Yang Chaojun, Chen Min, Jia Manhong, Ma Yanling, Luo Hongbing, Lu Lin
School of Public Health, Kunming Medical University, Kunming 650500, China (Wei T, Lu L); Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China (Yang CJ, Chen M, Jia MH, Ma YL, Luo HB); Health and Family Planning Commission of Yunnan Province, Kunming 650200, China (Lu L)

Corresponding author: Lu Lin, Email: lulin@yncdc.cn

【Abstract】 Objective To explore the features of distribution on HIV-1 gene subtypes among newly reported HIV/AIDS cases in the border areas of Yunnan province. **Methods** A total of 233 newly reported HIV/AIDS cases aged 18 or more were consecutively included in the border counties of Dehong Dai and Jingpo autonomous prefecture (Dehong prefecture), Honghe Hani and Yi autonomous prefecture (Honghe prefecture) of Yunnan province from November 2015 to October 2016. HIV-1 RNA was extracted with pol and env genes amplified. HIV-1 gene subtypes were determined through phylogenetic analysis. **Results** A total of 146 out of 233 specimens were genotyped successfully. HIV-1 was found to have had 8 gene subtypes in Dehong prefecture, with the unique recombinant forms (URFs) as the predominant (52.8%, 57/108) type, including 56.8% (21/37) of the cases with Chinese ethnicity and another 50.7% (36/71) were Myanmar citizens. Four HIV-1 gene subtypes were detected in Honghe prefecture, with CRF01_AE as predominant (71.1%, 27/38), including 81.0% (17/21) Vietnamese and 58.8% (10/17) Chinese. Differences on the distribution of HIV-1 gene subtypes were seen statistically significant between Dehong prefecture and Honghe prefecture ($\chi^2=61.072, P<0.001$). **Conclusions** The distribution of HIV-1 gene subtypes showed big difference in the two border areas of Yunnan province, suggesting that both Chinese or non-Chinese citizens living in the area should be taken good care of, in terms of HIV/AIDS prevention and control.

【Key words】 HIV/AIDS cases; Gene subtypes; Border areas

Fund program: Yunnan Provincial Collaborative Innovation Projects for Public Health and Disease Control and Prevention (2015YNPHXT03)

云南省边境地区的艾滋病疫情较重且艾滋病流行时间长,近年来边境地区的大量外籍务工人员跨境往来频繁,给艾滋病防控工作带来挑战。云南省每年报告外籍HIV感染者近1 000例^[1],德宏傣族景颇族自治州(德宏州)与缅甸接壤,红河哈尼族彝族自治州(红河州)与越南接壤,2个州累计报告外籍HIV感染者例数在云南省占比>80.0%。本研究分析了云南省德宏州和红河州边境地区新报告HIV感染者HIV-1基因亚型分布特征,为加强云南省边境地区艾滋病防控工作提供参考依据。

对象与方法

1. 研究对象:以云南省德宏州(芒市、瑞丽市和盈江县)和红河州(河口县)为研究现场,研究对象纳入标准为2015年11月1日至2016年10月31日年龄≥18岁的新报告HIV感染者,连续纳入233例。排除标准为不愿意参加本研究,或者未获得目的基因片段。研究对象经过知情同意后,由统一培训的当地CDC专业人员采集其血液标本,并接受面对面问卷调查,调查内容包括国籍、性别等人口学信息、感染途径等HIV感染相关信息。

2. 基因分型检测:

(1)HIV-1 RNA提取:使用Qiagen公司QIAamp Viral RNA试剂盒,根据标准操作程序从140 μl中提取HIV-1 RNA。

(2)巢式PCR扩增*pol*和*env*基因区:使用TaKaRa公司One Step RNA PCR Kit (AMV)试剂盒,进行反转录及第1轮PCR扩增,反应体系25 μl。使用天根生化科技(北京)有限公司2×Taq PCR MasterMix试剂盒,进行第2轮PCR扩增反应,反应体系50 μl。引物序列和反应条件见参考文献[2]。

(3)PCR扩增产物电泳鉴定和测序:使用1%琼脂糖凝胶电泳观察PCR产物条带,阳性标本送北京诺赛基因组研究中心有限公司纯化和测序。

3. 序列分析:使用Gene Codes公司Sequencher 5.0软件进行序列拼接,Bioedit 7.0软件进行多序列比对和序列整理。用Mega 5.1软件构建Neighbor-joining (NJ)系统进化树,Bootstrap=1 000。利用HIV database的RIP 3.0分析工具进行重组分析(<http://www.hiv.lanl.gov>)。

4. 统计学分析:应用SPSS 19.0软件进行统计学分析,率的比较采用 χ^2 检验或Fisher精确概率法,检验水准 $\alpha=0.05$,双侧检验。

结 果

1. 人口学特征:233份标本进行检测后,获得*pol*区片段128条,*env*区片段160条,结合2个基因区的进化分析,146份标本获得基因亚型。146例研究对象中男性(67.1%,98/146)、年龄≤30岁(48.6%,71/146)、已婚(48.0%,70/146)、异性性接触感染(67.8%,99/146)比例较大,2个地区HIV感染者在国籍、性别、年龄、婚姻、感染途径等人口学特征的差异无统计学意义($P>0.05$)。

2. HIV-1基因分布特征:德宏州和红河州HIV-1基因亚型总体分布的差异有统计学意义($\chi^2=61.072, P<0.001$)。

(1)德宏州:HIV-1基因型种类复杂,有8种HIV-1基因亚型,以独特重组型(unique recombinant forms, URFs)为主(52.8%,57/108),是中国籍和缅甸籍的主要基因型,其中,中国籍的URFs占56.8%(21/37),缅甸籍的URFs占50.7%(36/71),详见表1。中国籍有8种基因亚型,缅甸籍只有4种基因亚型。德宏州HIV-1基因型在国籍($\chi^2=18.498, P=0.002$)、性别($\chi^2=14.532, P=0.015$)和感染途径($\chi^2=17.034, P=0.003$)的差异有统计学意义。男性HIV感染者的基因亚型种类多于女性,且男性URFs比例高于女性。在HIV感染途径方面,同性性接触的感染例数少,仅比较了异性性接触和静脉注射吸毒的差异,异性性接触的基因型复杂,静脉注射吸毒的基因亚型只有URFs、C亚型和CRF01_AE。见表1。

(2)红河州:有4种HIV-1基因亚型,以CRF01_AE为主(71.1%,27/38),其中越南籍的占81.0%(17/21),中国籍的占58.8%(10/17)。在感染途径上的差异无统计学意义($\chi^2=4.747, P=0.174$),国籍上的差异有统计学意义($\chi^2=12.246, P=0.002$)。越南籍的基因亚型以CRF01_AE为主(81.0%,17/21),中国籍的基因亚型以CRF01_AE(58.8%,10/17)和CRF08_BC(41.2%,7/17)为主,见表1。

讨 论

本研究发现,德宏州和红河州HIV感染者HIV-1基因型分布差异较大,德宏州以URFs为主(52.8%,57/108),有8种基因亚型,在国籍、性别和感染途径上的分布有差异;红河州以CRF01_AE为主(71.1%,27/38),有4种HIV-1基因亚型,种类相对较少,在国籍上的分布有差异,感染途径的分布差

表1 云南省2个边境地区HIV感染者HIV-1基因亚型及人口学特征

地区 ^a	人口学特征	合计	HIV-1 基因亚型							χ^2 值	P值	
			B	C	CRF01_AE	CRF07_BC	CRF08_BC	CRF55_01B	CRF64_BC			URFs
德宏	国籍										14.532	0.015
	中国	37	1(2.7)	4(10.8)	3(8.1)	2(5.4)	2(5.4)	3(8.1)	1(2.7)	21(56.8)		
	缅甸	71	2(2.8)	17(23.9)	16(22.5)	0	0	0	0	36(50.7)		
	性别										17.034	0.003
	男	75	2(2.7)	10(13.3)	9(12.0)	2(2.7)	2(2.7)	3(4.0)	1(1.3)	46(61.3)		
	女	33	1(3.0)	11(33.3)	10(30.3)	0	0	0	0	11(33.3)		
	感染途径 ^b										4.747	0.174 ^a
	异性性接触	71	3(4.2)	14(19.7)	18(25.4)	2(2.8)	2(2.8)	2(2.8)	1(1.4)	29(40.8)		
	注射吸毒	36	0	7(19.4)	1(2.8)	0	0	0	0	28(77.8)		
	同性性接触	1	0	0	0	0	0	1(100.0)	0	0		
合计	108	3(2.8)	21(19.4)	19(17.6)	2(1.9)	2(1.9)	3(2.8)	1(0.9)	57(52.8)			
红河	国籍										1.375	0.912
	中国	17	0	0	10(58.8)	0	7(41.2)	0	0	0		
	越南	21	0	0	17(81.0)	1(4.8)	0	0	0	3(14.3)		
	性别										4.747	0.174 ^a
	男	23	0	0	15(65.2)	1(4.3)	5(21.7)	0	0	2(8.7)		
	女	15	0	0	12(80.0)	0	2(13.3)	0	0	1(6.7)		
	感染途径 ^b										4.747	0.174 ^a
	异性性接触	28	0	0	20(71.4)	1(3.6)	6(21.4)	0	0	1(3.6)		
	注射吸毒	8	0	0	6(75.0)	0	0	0	0	2(25.0)		
	同性性接触	2	0	0	1(50.0)	0	1(50.0)	0	0	0		
合计	38	0	0	27(71.1)	1(2.6)	7(18.4)	0	0	3(7.9)			

注：^a2个边境地区HIV-1基因亚型总体比较： $\chi^2=61.072, P<0.001$ ；^b仅比较异性性接触和注射吸毒

异无统计学意义。

1980年代末到1990年代初,德宏州注射吸毒人群主要流行的HIV-1亚型是泰国B亚型和印度C亚型^[3-5]。B亚型和C亚型的共同存在,产生了重组亚型,回顾性进化分析提示一些流行重组株(circulating recombinant forms, CRFs)就起源于这个时期^[6],此外还产生大量的URFs^[7],因此,中缅边境地区被认为是HIV-1基因重组的热点地区^[8-9]。本研究中,德宏州的URFs仍具有较高的比例(52.8%),中国籍URFs包括B/C 16例、CRF01_AE/B 2例、CRF01_AE/B/C 2例和CRF01_AE/C 1例,缅甸籍的URFs包括B/C 17例、CRF01_AE/B 3例、CRF01_AE/B/C 8例和CRF01_AE/C 8例。这与德宏州相邻的缅甸URFs的原因占比相似^[9]。造成德宏州仍有较高比例URFs的原因,一方面可能是长期流行导致的HIV-1基因库的复杂性,另一方面导致多重感染的高危因素可能持续存在。

本研究发现,德宏州的中国籍HIV-1基因亚型种类多于缅甸籍,检测到流行于深圳、广州市等地MSM人群的CRF55_01B亚型^[10-11],原因是该基因亚型可能由国内其他地区输入。不同传播途径的HIV-1基因亚型分布也有差异,异性性传播的HIV感染者包括了HIV-1基因亚型的所有种类,说明了

异性性传播的复杂性。

红河州的HIV-1基因亚型一般以CRF08_BC为主^[12],但是,本研究发现,红河州的HIV-1基因亚型以CRF01_AE为主,越南籍CRF01_AE的比例达到81.0%,这与越南以CRF01_AE为主要流行株的研究结果相一致^[13]。但中国籍的感染者中,除CRF01_AE外,还有一定比例的CRF08_BC,这在一定程度上表明,红河州边境地区除受国内艾滋病疫情的影响外,也在受到外来疫情的影响。

本研究存在不足。纳入的HIV感染者样本偏少,分层分析受到样本数的限制。另外,有必要通过后续研究HIV感染者的社会网络和HIV-1基因亚型的关系,帮助发现更多的HIV感染者。

综上所述,云南省2个边境地区艾滋病流行受到了跨境外籍感染者的影响,新报告HIV感染者HIV-1基因亚型分布差异较大,应对中国籍和外国籍HIV感染者采取有针对性的防治措施。

志谢 本研究得到云南省德宏州CDC王继宝、瑞丽市CDC李洲林、红河州CDC张维义、河口县CDC朱志斌以及他们的同事和各项点志愿者的支持和帮助

利益冲突 无

参 考 文 献

[1] 李发兴,薛丹. 云南艾滋病疫情总体平稳 新报告感染者连续四

- 年下降 [EB/OL]. 人民网云南频道. (2017-11-29) [2017-12-20]. <http://yn.people.com.cn/n2/2017/1129/c3784399-30977967.html>.
- Li FX, Xue D. Yunnan's HIV epidemic remains generally stable with newly reported infections declined for four years [EB/OL]. People's Daily Online Yunnan Channel. (2017-11-29) [2017-12-20]. <http://yn.people.com.cn/n2/2017/1129/c378439-30977967.html>.
- [2] 杨朝军, 陈敏, 李俊杰, 等. 昆明市 VCT 人群中的 HIV-1 亚型和耐药基因型调查 [J]. 现代预防医学, 2015, 41 (22): 4165-4167, 4189.
- Yang CJ, Chen M, Li JJ, et al. The survey of HIV-1 subtypes and drug resistance mutations among people who seeking VCT service in Kunming [J]. Mod Prev Med, 2015, 41 (22): 4165-4167, 4189.
- [3] Graf M, Shao Y, Zhao Q, et al. Cloning and characterization of a virtually full-length HIV type 1 genome from a subtype B' - Thai strain representing the most prevalent B-clade isolate in China [J]. AIDS Res Hum Retroviruses, 1998, 14 (3): 285-288. DOI: 10.1089/aid.1998.14.285.
- [4] Luo CC, Tian CQ, Hu DJ, et al. HIV-1 subtype C in China [J]. Lancet, 1995, 345 (8956): 1051-1052. DOI: 10.5555/uri: pii: S0140673695907920.
- [5] 管永军, 陈钧, 邵一鸣, 等. 云南瑞丽人免疫缺陷病毒感染 gp120 基因 C2-V3 区的序列测定和亚型分析 [J]. 中华实验和临床病毒学杂志, 1997, 11 (1): 8-12.
- Guan YJ, Chen J, Shao YM, et al. Subtype and sequence analysis of the C2-V3 region of gp120 genes among human immunodeficiency virus infected IDUs in Ruili epidemic area of Yunnan province of China [J]. Chin J Experim and Clin Vir, 1997, 11 (1): 8-12.
- [6] Feng Y, Takebe Y, Wei HM, et al. Geographic origin and evolutionary history of China's two predominant HIV-1 circulating recombinant forms, CRF07_BC and CRF08_BC [J]. Sci Rep, 2016, 6: 19279. DOI: 10.1038/srep19279.
- [7] Wei HM, Xing H, Hsi JH, et al. The sexually driven epidemic in youths in China's southwestern border region was caused by dynamic emerging multiple recombinant HIV-1 strains [J]. Sci Rep, 2015, 5: 11323. DOI: 10.1038/srep11323.
- [8] Chen M, Ma YL, Duan S, et al. Genetic diversity and drug resistance among newly diagnosed and antiretroviral treatment-naive HIV-infected individuals in western Yunnan: a hot area of viral recombination in China [J]. BMC Infect Dis, 2012, 12: 382. DOI: 10.1186/1471-2334-12-382.
- [9] Pang W, Zhang CY, Duo L, et al. Extensive and complex HIV-1 recombination between B', C and CRF01_AE among IDUs in south-east Asia [J]. AIDS, 2012, 26 (9): 1121-1129. DOI: 10.1097/QAD.0b013e3283522c97.
- [10] Han XX, An MH, Zhang WQ, et al. Genome sequences of a Novel HIV-1 circulating recombinant form, CRF55_01B, Identified in China [J]. Genome Announc, 2013, 1 (1): e00050-12. DOI: 10.1128/genomeA.00050-12.
- [11] 吴昊, 张亚丽, 高凯, 等. 广州市 2015 年男男性行为者 HIV-1 感染者亚型和耐药研究 [J]. 中国艾滋病性病, 2018, 24 (6): 569-572. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2018.06.10.
- Wu H, Zhang YL, Gao K, et al. Subtypes distribution and drug resistance among HIV-1 infected MSM in Guangzhou in 2015 [J]. Chin J AIDS STD, 2018, 24 (6): 569-572. DOI: 10.13419/j.cnki.aids.2018.06.10.
- [12] Chen M, Jia MH, Ma YL, et al. The changing HIV-1 genetic characteristics and transmitted drug resistance among recently infected population in Yunnan, China [J]. Epidemiol Infect, 2018, 146 (6): 775-781. DOI: 10.1017/S0950268818000389.
- [13] Liao HN, Tee KK, Hase S, et al. Phylodynamic analysis of the dissemination of HIV-1 CRF01_AE in Vietnam [J]. Virology, 2009, 391 (1): 51-56. DOI: 10.1016/j.virol.2009.05.023.

(收稿日期: 2018-07-08)

(本文编辑: 斗智)