

- Chinese)
周永昌,郭万学. 超声医学. 5 版. 北京:科学技术文献出版社, 2006:201-313.
- [2] Zhu XW. Composition proportion analysis of congenital heart disease diagnosed by ultrasonography. J Guangxi Med Uni, 1995, 12(6):576-577. (in Chinese)
朱性威. 复合超声诊断先心病构成比分析. 广西医科大学学报, 1995, 12(6):576-577.
- [3] Lai XJ, Li SS, Liu BY, et al. Epidemiology analysis of correlative factors of congenital heart disease in Chengdu regions. Sichuan Med, 2005, 26(12):1384-1386. (in Chinese)
赖小今,李树森,刘宝玉,等. 成都地区先天性心脏病相关因素流行病学研究. 四川医学, 2005, 26(12):1384-1386.
- [4] Zhang ZF, Li Z, Ji CY, et al. Prevalence study of congenital heart disease in children aged 0-2 in Zhejiang province. Chin J Epidemiol, 1999, 20(3):155-157. (in Chinese)
张泽峰,李竹,季成叶,等. 浙江省 0~2 岁儿童先天性心脏病患病率研究. 中华流行病学杂志, 1999, 20(3):155-157.
- [5] Wang HS, Yuan X, Xi YS, et al. Prevalence study of congenital heart disease in 19 432 children aged 0-2. Chin J Child Health, 2001, 9(4):236-238. (in Chinese)
王惠珊,袁雪,奚一生,等. 19 432 名婴幼儿先天性心脏病患病率的调查研究. 中国儿童保健杂志, 2001, 9(4):236-238.
- [6] Garne E. Atrial and ventricular septal defects-epidemiology and spontaneous closure. J Matern Fetal Neonatal Med, 2006, 19(5):271-276.
- [7] Zhong WJ, Yang BA, Jing XX, et al. Ultrasound follow-up of children with atrial septal defect and ventricular septal defect in natural healing. Chin J Ultrasound Med, 2008, 24(11):996-998. (in Chinese)
钟文津,杨炳昂,景香香,等. 超声随访小儿房间隔缺损及室间隔缺损的自然愈合. 中国超声医学杂志, 2008, 24(11):996-998.
- [8] Herrman K, Bose C, Lewis K, et al. Spontaneous closure of the patent ductus arteriosus in very low birth weight infants following discharge from the neonatal unit. Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed, 2009, 94(1):48-50.

(收稿日期:2010-09-27)

(本文编辑:张林东)

广州地区 2009 年乙型流感病毒血凝素基因特征分析

董婉妮 关文达 廖伟娇 罗翌 王玉涛 秦笙 占扬清 张雪 黄群娣
招穗珊 周荣 莫自耀 杨子峰

【关键词】 乙型流感病毒; 血凝素; 基因

Characteristic analyses on hemagglutinin gene of influenza B viruses isolated in Guangzhou, during 2009 DONG Wan-ni¹, GUAN Wen-da², LIAO Wei-jiao¹, LUO Yi³, WANG Yu-tao², QIN Sheng², ZHAN Yang-qing², ZHANG Xue², HUANG Qun-di², ZHAO Sui-shan², ZHOU Rong², MO Zi-yao², YANG Zi-feng². 1 First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College, Guangzhou 510120, China; 2 State Key Laboratory of Respiratory Disease, First Affiliated Hospital of Guangzhou Medical College; 3 Emergency Department of Guangdong Provincial Hospital of Traditional Chinese Medicine

Corresponding author: YANG Zi-feng, Email: jeffyah@163.com
This work was supported by grants from the Scientific and Technological Innovation Key Joint Projects of Higher Education

of Guangdong (No. gxzd0901), the State Key Laboratory of Respiratory Disease Program (No. A10103), the Scientific and Technological Projects of Medical and Health of Guangzhou (No. 2008-YB-146), the Science and Technology Development Fund in Macao Special Administrative Region (No. 058/2009/A2) and the Key Specialized Project of the "Eleventh-Five Year Plan" Research Program for Major Infectious Diseases (No. 2009ZX10602-13).

【Key words】 Influenza B viruses; Hemagglutinin; Gene

根据抗原性和基因特异性的差异,乙型流感病毒可分为 B/Victoria/2/87 系 (Victoria 系) 和 B/Yamagata/16/88 系 (Yamagata 系)^[1]。血凝素 (HA) 基因与该病毒的进化趋势相关^[2], HA 的抗原变异主要发生在 HA1 区域^[3], 该区域 4 个主要的抗原表位 [120-loop (HA1 116~137)、150-loop (HA1 141~150)、160-loop (HA1 162~167) 和 190-helix (HA1 194~202)] 如发生变化, 往往引起变异相关病毒株进化方向的变化^[4]。为了解 2009 年乙型流感病毒进化情况, 本研究分析了 HA1 基因特点。

1. 材料与方法: 选择 2009 年 1—10 月就诊于广州医学院第一附属医院和广东省中医院发热门诊的急性呼吸道感染患者, 采集鼻/咽拭子, 应用免疫荧光法检测乙型流感病毒, 阳性标本经 MDCK 细胞扩增后, 上清液保存在 -80 °C 冰箱内。① PCR 和 DNA 测序: 取每株流感病毒培养物上清

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.05.024

基金项目: 广东省高等学校科技创新重点联合攻关项目 (gxzd0901); 呼吸疾病国家重点实验室开放课题 (A10103); 广州市医药卫生科技项目 (2008-YB-146); 澳门科学技术发展基金 (058/2009/A2); “十一五”国家科技重大专项 (2009ZX10602-13)

作者单位: 510120 广州医学院第一附属医院检验科 (董婉妮、廖伟娇), 呼吸疾病国家重点实验室 (关文达、王玉涛、秦笙、占扬清、张雪、黄群娣、招穗珊、周荣、莫自耀、杨子峰); 广东省中医院急诊科 (罗翌)

通信作者: 杨子峰, Email: jeffyah@163.com

250 μl, 按 TaKaRa MiniBEST Viral RNA/DNA Extraction Kit Ver.3.0的说明书, 在生物安全2级实验室内进行操作, 将提取到的RNA溶解在TE缓冲液中, 存于-80℃冰箱内。HA1引物根据日本国立感染研究所流感病毒室提供的引物序列合成, 采用 TaKaRa PrimeScript™ One Step RT-PCR Kit进行 RT-PCR, 纯化PCR产物后进行测序反应。使用 Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit进行测序反应, 并按照 ABI Prism 3130 XL Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA)提供的说明书操作测序。②序列分析: 采用 Sequencher 软件对测序结果拼接, 使用 MEGA 4.0 软件分析。对 123 株乙型流感阳性病毒株序列, 使用 Neighbor-joining 的 bootstrap 分析(1000 次重复运算)方法构建种系进化树。其中, 用于 HA1 种系进化树比较的序列来自 GenBank 数据库具有代表性的乙型流感病毒株的 HA1 节段序列。将 HA1 基因的核苷酸序列转化为氨基酸序列, 进一步分析 HA1 氨基酸序列变异情况。

2. 结果:

(1) 流行病学分析: 依据 HA1 基因的种系进化树分析, 乙型流感病毒分为 Victoria 和 Yamagata 两系, 表明 2009 年广州地区同时有 Victoria 系和 Yamagata 系流行。在分离到的 123 株乙型流感病毒中, 81 株 (65.8%) 为 Victoria 系, 42 株 (34.2%) 为 Yamagata 系。Victoria 系出现较早, 自 3 月起阳性率逐渐升高, 5 月达到高峰。而 Yamagata 系从 4 月逐渐上升至 7 月达峰值。之后, Victoria 系和 Yamagata 系均大幅度下降, 分别在 9 月和 10 月消失。

(2) HA1 基因种系进化树分析: Victoria 系分为两个分支 (Va 和 Vb), 抗原性分别与 B/Malaysia/2506/04 和 B/Brisbane/60/08 相近。可见, Victoria 系被分为分别与 WHO 推荐疫苗株 B/Malaysia/2506/04 和 B/Brisbane/60/08 相似的 2 个变异分支, 且 B/Malaysia/2506/04 类似株数多于 B/Brisbane/60/08 类似株。而 Yamagata 系表现为所有的病毒株抗原性与 Yamagata 系代表株 B/Florida/4/06 相似 (图 1)。

(3) HA1 基因变异分析: 表 1、2 中列出的 Victoria 系和

Yamagata 系的 HA1 氨基酸变异情况显示, 与 Victoria 系代表株 B/Malaysia/2506/04 和 B/Brisbane/60/08 相比较, Victoria 系广州分离株的 HA1 中共有 13 个氨基酸位点发生变异, 其中发生 L58P 变异的病毒株数最多。此外, 多株病毒还存在 I7V、T37I 和 T182A 位点的变异。与 Yamagata 系代表株 B/Florida/4/06 相比较, Yamagata 系广州分离株的 HA1 共有 10 个氨基酸位点发生变异, 多株病毒存在 S150I、N166Y 和 N203S 变异, 此外还观察到 I11、I14、I141、I146、I171、I173 和 I220 等位点的变异。

表 1 2009 年广州地区乙型流感病毒 Victoria 系 HA1 氨基酸位点变异情况

参考株	氨基酸位点												
	7	37	52	58	121	122	154	182	184	198	221	239	246
B/Brisbane/60/08	I	T	K	L	T	H	A	T	G	E	T	G	I
B/Malaysia/2506/04	I	T	K	L	T	H	A	T	G	E	T	G	I
B/Guangzhou/62/09	V												E
B/Guangzhou/63/09	V								R				
B/Guangzhou/64/09				A			A		D				
B/Guangzhou/68/09		E	P										
B/Guangzhou/80/09	I												
B/Guangzhou/89/09	I						A						
B/Guangzhou/93/09							S			A			
B/Guangzhou/96/09	I												V
B/Guangzhou/103/09 ^a				P									
B/Guangzhou/119/09						N							

注: ^a有 9 株病毒与 B/Guangzhou/103/09 分离株发生相同变异

表 2 2009 年广州地区乙型流感病毒 Yamagata 系 HA1 氨基酸位点变异情况

病毒株	氨基酸位点									
	11	14	141	146	150	166	171	173	203	220
B/Florida/4/06	N	H	G	A	S	N	N	P	N	V
B/Guangzhou/102/09 ^a		Q			I	Y			S	
B/Guangzhou/113/09			R		I	Y			S	
B/Guangzhou/440/09 ^b					I	Y			S	
B/Guangzhou/458/09	K				I	Y			S	
B/Guangzhou/459/09					I	Y	K		S	
B/Guangzhou/461/09					I	Y			S	A
B/Guangzhou/489/09				S	I	Y			S	
B/Guangzhou/492/09					I	Y		S	S	

注: ^a有 3 株病毒与 B/Guangzhou/102/09 分离株发生相同变异; ^b有 7 株病毒与 B/Guangzhou/440/09 分离株发生相同变异

3. 讨论: 根据 WHO 数据, 自 2008—2009 年流感流行季节起, Victoria 系开始取代 Yamagata 系成为主要的流行谱系, 2009—2010 年流行季节的推荐疫苗株为 B/Brisbane/60/08, 2009—2010 年流行季节的主要流行谱系 Victoria 系中的大多数分离株也与 B/Brisbane/60/08 相类似^[5]。本研究进化树分析表明, 2009 年广州地区分离到的乙型流感病毒被分为 Victoria 系和 Yamagata 系, 以 Victoria 系为主流行。进化树分析也发现, Victoria 系分为 B/Malaysia/2506/04 类似株和 B/Brisbane/60/08 类似株 2 个分支, B/Malaysia/2506/04 类似株数多于 B/Brisbane/60/08 类似株。这一结果与 WHO 的数据

注: 斜体字为乙型流感分离株的相似株及数目

图 1 2009 年广州地区 123 株乙型流感病毒 HA1 基因种系进化树

存在差异,广州地区 Victoria 系的流行情况为 B/Malaysia/2506/04 类似株和 B/Brisbane/60/08 类似株共同流行,且以 B/Malaysia/2506/04 类似株为主。这一结果也说明 WHO 的推荐疫苗株 B/Brisbane/60/08 在广州地区可能只起到部分保护作用,要验证这一结果,需要了解广州地区具体的乙型流感流行情况,即通过增加乙型流感的采集样本,进一步进行数据分析来考虑是否将 B/Malaysia/2506/04 和 B/Brisbane/60/08 作为广州地区的共同疫苗株。

本研究对 HA1 的氨基酸序列分析观察到 Victoria 系出现了 HA1 序列与 HA 抗原性相关位点 T121A、H122N 和 E198D 的变异, B/Guangzhou/64/09 出现了 T121A 和 E198D 的变异, B/Guangzhou/119/09 的 H122N 发生了变异。根据 HA1 进化树的原始图可知,发生这些变异的病毒株均为来自 B/Malaysia/2506/04 的类似株。由于只是发现单个毒株发生变异,因此不能排除 PCR 扩增或测序过程所带来的误差。而 Yamagata 系出现了 G141R、A146S、S150I 和 N166Y 等 HA 抗原相关位点的变异。B/Guangzhou/113/09 和 B/Guangzhou/489/09 分别出现了 G141R 和 A146S 位点的变异,即变异存在于 150-loop 上。另外,表 2 所有分离株均存在 S150I 和 N166Y 两个位点的变异,即变异发生在 150-loop 和 160-loop 上, Yamagata 系 HA 抗原性很有可能已发生改变。已有的研究还表明,一个具有代表性的新变种,必须在 HA1 区出现 4 个以上氨基酸序列替换,且替换还必须涉及到 2~3 个抗原表位^[6], Yamagata 系中的多株病毒株均符合该条件。因此,乙型流感的进化方向很可能已发生改变,表 2 中 Yamagata 系分离株中的 B/Guangzhou/102/09、B/Guangzhou/113/09、B/Guangzhou/458/09、B/Guangzhou/459/09、B/Guangzhou/461/09、B/Guangzhou/489/09、B/Guangzhou/492/09 病毒株的类似株均有可能在将来引起流行。

综上所述,2009 年广州地区的乙型流感以 Victoria 系流行为主, Victoria 系的流行株为 B/Malaysia/2506/04 类似株和 B/Brisbane/60/08 类似株, WHO 的推荐疫苗株 B/Brisbane/60/

08 在广州地区可能只起到部分保护作用,需要根据调查广州地区具体的乙型流感的流行情况来考虑是否将 B/Malaysia/2506/04 和 B/Brisbane/60/08 作为广州地区的共同疫苗株。Victoria 系中的 B/Guangzhou/64/09 和 B/Guangzhou/119/09 有可能发生了 HA 相关抗原变异; Yamagata 系分离株中的 B/Guangzhou/102/09 等病毒株的 HA 抗原已经发生了变异,发生这种变异的毒株在未来还会继续流行。因此, Victoria 系的流行主导优势在未来还会持续,而 Yamagata 系变异株在未来的流行更不容忽视。

(本研究得到日本国立感染症研究所流感病毒室小田切孝人博士、岛袋梢博士,香港中文大学徐国荣教授,澳门大学李铭源教授及广州医学院第一附属医院发热门诊梁增伟博士、广东省中医院急诊科李际强博士和郑丹文医生的大力帮助,一并致谢)

参 考 文 献

- [1] Rota PA, Wallis TR, Harmon MW, et al. Cocirculation of two distinct evolutionary lineages of influenza type B virus since 1983. *J Virol*, 1990, 175: 59-68.
- [2] McCullers JA, Wang GC, He S, et al. Reassortment and insertion-deletion are strategies for the evolution of influenza B viruses in nature. *J Virol*, 1999, 73: 7343-7348.
- [3] Wiley DC, Skehel JJ. The structure and function of the hemagglutinin membrane glycoprotein of influenza virus. *Annu Rev Biochem*, 1987, 56: 365-394.
- [4] Wang Q, Cheng F, Lu M, et al. Crystal structure of unliganded influenza B virus hemagglutinin. *J Virol*, 2008, 82: 3011-3030.
- [5] WHO. Recommended composition of influenza virus vaccines for use in the 2009-2010 influenza season. available from http://www.who.int/csr/disease/influenza/recommendations2009_10north/en/.
- [6] Kimberly R, Helen T, Hong Z, et al. Probing the structure of influenza B hemagglutinin in using site directed mutagenesis. *J Virol*, 1995, 206: 787-795.

(收稿日期:2010-11-16)

(本文编辑:张林东)

中国 50 岁以上人群艾滋病疫情特点及流行因素分析

黑发欣 王璐 秦倩倩 丁正伟 王岚

【关键词】 艾滋病; 流行病学分析

Epidemiological analysis on the characteristics and related factors of HIV/AIDS in 50-year and older Chinese population HEI Fa-xin, WANG Lu, QIN Qian-qian, DING Zheng-wei, WANG Lan. *National Center for AIDS/STD Control*

DOI: 10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2011.05.025

作者单位:102206 北京,中国疾病预防控制中心性病艾滋病预防控制中心

通信作者:王璐, Email: wanglu64@chinaaids.cn

and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding author: WANG Lu, Email: wanglu64@chinaaids.cn

【Key words】 HIV/AIDS; Epidemiological analysis

长期以来,15~49 岁人群是 HIV 感染的高危及主要人群,但近年来我国艾滋病疫情报告系统显示 ≥50 岁年龄组 HIV 感染者和艾滋病患者(HIV/AIDS)报告数及构成比有增多趋势。随着全球范围老龄化问题的出现, ≥50 岁年龄组人