

昆明市静脉注射吸毒人群丙型肝炎病毒基因型分析

陈敏 马艳玲 罗红兵 陈会超 卢冉 戴洁 宋丽军 杨朝军 梅静远 贾曼红

【摘要】 目的 研究云南省昆明市静脉注射吸毒人群(IDUs)中丙型肝炎病毒(HCV)基因型的流行特点。方法 2014年4—7月在昆明市连续收集276份IDUs的血浆,其中199份样品为HCV抗体阳性,提取RNA后用巢式PCR对E1E2基因和NS5B基因的部分片段进行扩增。扩增产物经基因序列测定,所得序列通过构建系统进化树确定HCV的分子亚型。结果 结合2个基因片段,共有125份样品获得了分型结果,3b为主要的亚型,占48.8%(61/125);其他亚型按照比例依次为3a(30.4%,38/125)、6n(14.4%,18/125)、6a(3.2%,4/125)和1b(3.2%,4/125)。各HCV亚型按性别、婚姻、民族和HIV-1抗体是否阳性差异无统计学意义,按年龄分布差异有统计学意义,45岁以下组亚型多样化。分别计算不同亚型在E1E2和NS5B基因区的基因距离,结果显示3a、3b和6a亚型的基因距离大于1b和6n亚型的基因距离。3a、3b、6a 3种亚型中3b亚型毒株的基因距离大于3a亚型毒株。结论 昆明市IDUs人群中HCV存在5种亚型,3b和3a是主要毒株且在该人群中具有较长的流行时间。

【关键词】 丙型肝炎病毒;基因型;静脉注射吸毒者;昆明

Analysis on genotypes of hepatitis C virus among intravenous drug users in Kunming, Yunnan

Chen Min, Ma Yanling, Luo Hongbing, Chen Huichao, Lu Ran, Dai Jie, Song Lijun, Yang Chaojun, Mei Jingyuan, Jia Manhong. Institute of AIDS/STD Control and Prevention, Yunnan Provincial Center for Disease Control and Prevention, Kunming 650022, China

Corresponding author: Jia Manhong, Email: jiamanhong@hotmail.com

【Abstract】 Objective To investigate the distribution of hepatitis C virus (HCV) subtypes among intravenous drug users (IDUs) in Kunming, Yunnan province, in 2014. **Methods** A total of 276 plasma samples were collected from IDUs in Kunming during April 2014 – July 2014, in which 199 plasma samples were tested to be HCV antibody positive. For the HCV antibody positive samples, HCV E1E2 genes and NS5B genes were amplified by using nested-polymerase chain reaction (PCR). After sequencing, the HCV subtypes were determined through phylogenetic analysis. **Results** Based on the phylogenetic trees of E1E2 gene and NS5B gene fragments, a total of 125 samples were genotyped. 3b was the predominant subtype (48.8%, 61/125), followed by 3a (30.4%, 38/125), 6n (14.4%, 18/125), 6a (3.2%, 4/125) and 1b (3.2%, 4/125). The distributions of HCV subtypes by sex, marital status, ethnic group and HIV-1 infection status showed no statistical differences. However, the distribution of HCV subtypes by age showed statistical difference, the diversity of HCV subtypes was found in age group <45 years. The genetic distances of 3a, 3b and 6a on E1E2 and NS5B were larger than those of 1b and 6n. For genotype 3, the genetic distances of 3b on E1E2 and NS5B were larger than those of 3a. **Conclusion** Five HCV subtypes were found among IDUs in Kunming, HCV subtypes 3b and 3a were predominant, which have circulated in this population for long time.

【Key words】 Hepatitis C virus; Genotype; Intravenous drug user; Kunming

丙型肝炎病毒(HCV)是造成慢性肝炎、肝硬化及肝癌的重要原因之一。HCV的传播途径和HIV类似,静脉注射吸毒是一个重要的传播途径。云南

省处在从东南亚“金三角”毒品基地通往中国内地的陆上毒品运输线路上,由于贩毒和自身吸毒的存在,有大量的注射吸毒人员。相关研究显示云南省静脉注射吸毒人群(intravenous drug users, IDUs)中HCV的感染率接近80%。HCV基因组为单股正链RNA,易变异,目前可分为7个基因型及不同亚型。HCV基因型的研究对于了解HCV的疫情发展和地区分

DOI:10.3760/cma.j.issn.0254-6450.2015.09.018

作者单位:650022 昆明,云南省疾病预防控制中心性病艾滋病预防所

通信作者:贾曼红, Email: jiamanhong@hotmail.com

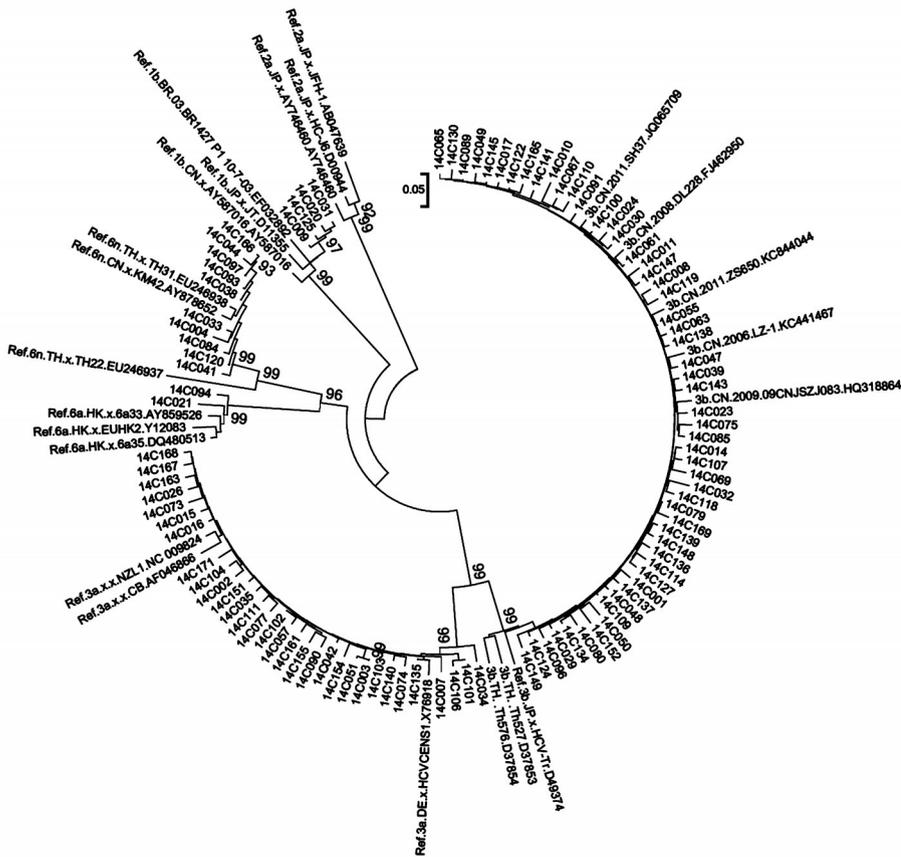


图2 NS5B 基因区系统进化树

主要为 1b 和 2a; 静脉注射吸毒人群中除 1b 和 2a 外, 3a、3b 和 6a 也占一定比例。

本研究在昆明市静脉注射吸毒人群中检测到 HCV 的 3 种基因型中的 5 种亚型。其中以 3 型为主, 3b 和 3a 两种亚型合计占 79.2%; 其次为 6 型, 6n 和 6a 两种亚型合计占 17.6%; 另外一种亚型 1b 占 3.2%。以往研究报道, 3a 和 3b 亚型主要流行于云南省和新疆维吾尔自治区的静脉注射吸毒者中, 6 型也主要流行于云南省静脉注射吸毒人群人员中^[7]。本研究中, 3b 亚型的毒株的基因距离最大, 其次是 3a; 而 1b 和 6n 的基因距离较小, 提示该亚型在人群中流行时间较长, 存在多次进入的可能; 也说明了 3 型是该人群中的传统毒株, 而 1b 和 6n 在该人群中的传播较晚。

性别、婚姻、民族和 HIV-1 抗体是否阳性的分布差异无统计学意义(表 1)。年龄分组以中位数来划分, 分成了两组, 结果显示两组间差异有统计学意义, 在 < 45 岁组中 HCV 的亚型多样化, 包括了所有检测到的 5 种亚型, 而 ≥ 45 岁组中仅 3 种亚型(3b、3a 和 6n)。

分别计算不同亚型在 *E1E2* 和 *NS5B* 两个基因区的基因距离(表 2), 结果显示 3a、3b 和 6a 亚型的基因距离大于 1b 和 6n 亚型的基因距离。3a、3b 和 6a 3 种亚型中 3b 亚型毒株的基因距离大于 3a 亚型毒株。

讨 论

从全球流行情况来看, HCV 基因型的分布存在着地区差异。总体上, 1a、1b、2a、2b 和 3a 成全球分布, 而 4 型主要局限在北非和中东地区, 5a 主要分布在南非, 6 型主要分布在东南亚和来自该地区的静脉注射吸毒人群及移民中^[2-5]。我国 HCV 基因型以 1b 和 2a 亚型多见, 但不同区域 HCV 基因型的构成具有较大差异。一些地区的基因型分布较为特殊, 如云南省以 3b 为主, 广西壮族自治区以 6a 为主, 在广东省及香港特别行政区 6a 亚型取代 2a 成为第二亚型^[6]。HCV 基因型在不同人群中的分布也存在差异, 有偿献血人群和透析人群 HCV 基因型较单一,

相关的 HCV 基因进化分析提示, 3a 在国内可能有 3 个独立的起源, 一个是在西北的新疆维吾尔自治区, 一个是在西南的云南省, 还有一个是在中南地区^[8]。在西北地区, 3a 可能是通过静脉注射吸毒人群从巴基斯坦进入我国新疆维吾尔自治区, 再从新

表 1 研究对象的人口学特征和 HCV 亚型分布

人口学特征	例数 (构成比, %)	HCV 亚型					χ^2 值	P 值
		1b	3a	3b	6a	6n		
性别							1.097	0.952
男	93(74.4)	3	29	46	3	12		
女	32(25.6)	1	9	15	1	6		
年龄(岁)							12.890	0.006
<45	68(54.4)	4	22	25	4	13		
≥45	57(45.6)	0	16	36	0	5		
婚姻状况							13.048	0.067
未婚	45(36.0)	3	18	18	3	3		
已婚或同居	56(44.8)	0	16	29	1	10		
离异或丧偶	24(19.2)	1	4	14	0	5		
民族							5.703	0.170
汉	114(91.2)	3	32	57	4	18		
其他	11(8.8)	1	6	4	0	0		
HIV-1 抗体							4.995	0.240
阴性	112(89.6)	3	34	57	3	15		
阳性	13(10.4)	1	4	4	1	3		
合计	125	4	38	61	4	18		

表2 昆明市IDUs中HCV不同亚型的基因距离

基因区	基因距离 ($\bar{x} \pm s$)				
	1b	3a	3b	6a	6n
E1E2	0.058 3 ± 0.006 5	0.088 5 ± 0.000 9 ^{a,b}	0.095 0 ± 0.000 8 ^{a,b,c}	0.104 7 ± 0.007 6 ^{a,b}	0.073 6 ± 0.002 1
NS5B	0.019 5 ± 0.001 4	0.032 8 ± 0.000 5 ^a	0.035 4 ± 0.000 3 ^{a,b,c}	-	0.029 4 ± 0.001 7

注:^a与1b亚型的同一基因区比较, $P < 0.05$; ^b与6n亚型的同一基因区比较, $P < 0.05$; ^c与3a亚型的同一基因区比较, $P < 0.05$

疆地区向国内其他地区传播^[9];但3a在云南地区的起源,可能直接来源于巴基斯坦,也可能从巴基斯坦通过我国云南周边国家进入,因为中亚的毒品基地“新月湾”和东南亚的毒品基地“金三角”存在着人员往来,但目前还没有明确的证据。而基因进化分析表明3b在国内的起源比较单一,即从西南地区向西北和国内其他地区传播^[8],这与国内陆上毒品运输路线一致,也与IDUs中HIV-1的CRF07_BC的传播方向一致^[10]。最近的研究提示,6a可能起源于越南,分别进入我国云南省和广西壮族自治区,云南省6a主要在IDUs中传播,经广西壮族自治区6a进入了周边省份,由于尚未明确的原因在广东地区形成了流行^[11]。针对6n的进化分析表明,6n可能起源于泰国和缅甸,通过IDUs经云南省向国内其他地区传播^[12]。基因距离在一定程度上可以提示某亚型的流行时间长短,本研究中昆明地区IDUs中3a、3b和6a亚型的基因距离大于1b和6n亚型的基因距离,提示3a、3b和6a在该人群中流行时间较长,而1b和6n可能较晚进入。

HCV基因型与丙型肝炎的预后和治疗密切相关。根据2009年美国肝病研究学会(AASLD)的《丙型肝炎的临床实践指南》,HCV感染者在开始抗病毒治疗前应检测HCV的基因型^[13]。在以干扰素为基础的疗法中,不同的基因型治疗效果有较大的差异。1型的持续病毒学应答最差,4型次之;而2、3型的持续病毒学应答较好。此外,HCV基因型对抗病毒治疗的疗程和药物剂量的选择也有指导作用。相比1型,2和3型的治疗疗程较短,利巴韦林的剂量较小。在昆明市IDUs中,3型是主要的基因型,相对来说属于治疗效果比较好的,积极开展筛查和治疗可收到很好的效果。

综上所述,IDUs推动了HCV在云南省的传播,由于特殊的地理位置,使得流行于周边国家的HCV基因型进入我国云南省,形成明显区别于其他地区的HCV基因型分布特征。今后,还需在云南省其他人群中监测HCV基因型的分布及变化特征,进一步明确HCV的传播趋势,找到控制HCV传播的有效途径。

参 考 文 献

- [1] Tian D, Li L, Liu YJ, et al. Different HCV genotype distributions of HIV-infected individuals in Henan and Guangxi, China [J]. PLoS One, 2012, 7(11): e50343.
- [2] Gower E, Estes C, Blach S, et al. Global epidemiology and genotype distribution of the hepatitis C virus infection [J]. J Hepatol, 2014, 61(1 Suppl): S45-57.
- [3] Pybus OG, Barnes E, Taggart R, et al. Genetic history of hepatitis C virus in East Asia [J]. J Virol, 2009, 83(2): 1071-1082.
- [4] Pybus OG, Markov PV, Wu A, et al. Investigating the endemic transmission of the hepatitis C virus [J]. Int J Parasitol, 2007, 37(8/9): 839-849.
- [5] Smith DB, Pathirana S, Davidson F, et al. The origin of hepatitis C virus genotypes [J]. J Gen Virol, 1997, 78 (Pt 2): 321-328.
- [6] Su YY, Liu HX, Wang N. Hepatitis C virus genotypes in China: a systematic review [J]. Chin J Epidemiol, 2013, 34(1): 80-84. (in Chinese)
苏迎盈, 刘慧鑫, 汪宁. 中国丙型肝炎病毒基因型分布 [J]. 中华流行病学杂志, 2013, 34(1): 80-84.
- [7] Liu J, Yang Y, Gong JL, et al. The prevalence of hepatitis C virus (HCV) subtypes in Chinese HIV-1/HCV co-infected individuals [J]. Chin J Epidemiol, 2009, 30(7): 663-667. (in Chinese)
刘静, 杨洋, 宫菊丽, 等. HIV-1/HCV合并感染者中HCV基因亚型流行情况调查 [J]. 中华流行病学杂志, 2009, 30(7): 663-667.
- [8] Lu L, Wang M, Xia WJ, et al. Migration patterns of hepatitis C virus in China characterized for five major subtypes based on samples from 411 volunteer blood donors from 17 provinces and municipalities [J]. J Virol, 2014, 88(13): 7120-7129.
- [9] Liu J, Zhang CY. Phylogeographic analyses reveal a crucial role of Xinjiang in HIV-1 CRF07_BC and HCV 3a transmissions in Asia [J]. PLoS One, 2011, 6(8): e23347.
- [10] Meng ZF, Xin RL, Zhong P, et al. A new migration map of HIV-1 CRF07_BC in China: analysis of sequences from 12 provinces over a decade [J]. PLoS One, 2012, 7(12): e52373.
- [11] Fu YS, Qin WB, Cao H, et al. HCV 6a prevalence in Guangdong province had the origin from Vietnam and recent dissemination to other regions of China: phylogeographic analyses [J]. PLoS One, 2012, 7(1): e28006.
- [12] Zhang CY, Wu NN, Liu J, et al. HCV subtype characterization among injection drug users: implication for a crucial role of Zhenjiang in HCV transmission in China [J]. PLoS One, 2011, 6(2): e16817.
- [13] Puoti C, Guarisco R, Bellis L, et al. Diagnosis, management, and treatment of hepatitis C [J]. Hepatology, 2009, 50(1): 322.

(收稿日期: 2015-02-23)

(本文编辑: 王岚)