

# 湖北省 2014—2023 年登革病毒包膜蛋白基因特征分析

彭延, 蔡昆, 李静, 邹文菁

湖北省疾病预防控制中心, 湖北 武汉 430079

**摘要:**目的 分析 2014—2023 年湖北省登革热感染病例包膜蛋白(envelope, E)基因特征并进行生物学溯源 方法 收集疑似登革热病例血清标本, 对本标本进行核酸检测及血清分型, 核酸阳性标本采用 RT-PCR 扩增 E 基因并进行测序分型, 获得基因序列用 MEGA 11.0 软件进行基因特征分析。结果 2014—2023 年湖北省共检测登革热核酸阳性病例 78 份, 成功获得 44 份标本的登革病毒(dengue virus, DENV)E 基因序列, 其中血清 I 型(DENV-I)39 份, 血清 II 型(DENV-II)5 份; 进化分析显示, DENV-I 中 37 例为基因 I 型(G I), 分布在三个不同分支上, 主要与中国广州、新加坡、印度尼西亚、泰国和缅甸等东南亚国家流行株进化距离较近, 2 例为基因 V 型(G V)与中国广州和印度流行株进化距离较近; DENV-II 中 5 例均为混合型(cosmopolitan 型)与输入地流行株进化距离较近。结论 2014—2023 年湖北省存在多型登革病毒感染, 主要流行株为 DENV-I 的 G I 亚型, 与中国广州和东南亚国家亲缘关系较近, 提示湖北省应加强登革热跨省、跨境传播的防控, 同时谨防登革重症及死亡病例的出现。

**关键词:**登革病毒; 包膜蛋白基因; 序列分析

中图分类号: R373.33 文献标志码: A 文章编号: 1003-8507(2024)05-916-05

DOI: 10.20043/j.cnki.MPM.202310262

## Analysis of envelope protein gene characteristics of dengue virus in Hubei Province from 2014 to 2023

PENG Yan, CAI Kun, LI Jing, ZOU Wen-jing

Hubei Center for Disease Control and Prevention, Wuhan, Hubei 430079, China

**Abstract: Objective** To analyze the characteristics of envelope protein (envelope, E) gene in dengue fever cases in Hubei Province from 2014 to 2023 and to trace the biological origin. **Methods** Serum samples of suspected dengue fever cases were collected, and nucleic acid detection and serum typing were carried out. Nucleic acid positive samples were amplified by RT-PCR and sequenced, and the gene sequences were obtained and analyzed by MEGA11.0 software. **Results** A total of 78 dengue nucleic acid positive cases were detected in Hubei Province from 2014 to 2023, and the E gene sequence of dengue virus (DENV) was successfully obtained in 44 samples, including 39 cases of serum type I (DENV-I) and 5 cases of serum type II (DENV-II). Evolutionary analysis showed that 37 cases of DENV-I were of gene type I (G I), distributed in three different branches, mainly close to the epidemic strains of Southeast Asian countries such as Guangzhou, Singapore, Indonesia, Thailand, and Myanmar, 2 cases were of gene type V (G V) were close to the epidemic strains of Guangzhou and India, and 5 cases of DENV-II were of mixed type (Cosmopolitan type). **Conclusion** There was multitype dengue virus infection in Hubei Province from 2014 to 2023. The main epidemic strain was G I subtype of DENV-I, which was closely related to Guangzhou, China, and Southeast Asian countries. It is suggested that Hubei Province strengthen the prevention and control of cross-provincial and cross-border transmission of dengue fever and guard against the occurrence of severe dengue and death cases.

**Keywords:** Dengue virus; Envelope protein gene; Sequence analysis

登革热(dengue fever)是由登革病毒(dengue virus, DENV)引起在世界上传播范围最广的蚊媒传染病<sup>[1-2]</sup>。在过去 50 年间,发病率增加了 30 倍,并最终导致约 2.5 万人死亡<sup>[3-4]</sup>。目前登革热已成为全球范

围内最严峻的公共卫生问题之一,同时造成极大经济负担。初步估算,我国在 2019 年登革热经济负担约为 32 亿元,占国内生产总值的 0.04%<sup>[5-7]</sup>。DENV 属黄病毒科黄病毒属,基因组主要由三种结构蛋白(包膜、衣壳、膜)和 7 种非结构蛋白(NS1、NS2A、NS2B、NS3、NS4A、NS4B、NS5)组成。包膜蛋白(envelope, E)是 DENV 的主要结构蛋白,影响病毒的进化过程及宿主间的传播<sup>[8]</sup>,因此常选择 E 基因进行病毒进化分析。

**基金项目:**国家自然科学基金区域创新发展联合基金重点项目(U21A20423)

**作者简介:**彭延(1976—),男,硕士,副主任技师,研究方向:病原微生物的检测及研究

**通信作者:**邹文菁, E-mail:3345780@qq.com

湖北省夏季高温潮湿,人口密度大,对外交流日益增多,自 2014 年开始湖北省登革热输入病例逐年增多,在 2019 年发生了首起登革热本地感染疫情,登革热防控形势日趋严峻。但湖北省一直缺乏 DENV 纵向研究报告,本研究从基因水平分析湖北省 2014—2023 年 DENV 血清型及基因型特征,为湖北省登革热疫情防控提供科学依据。

## 1 材料与方法

**1.1 资料及标本来源** 收集 2014—2023 年湖北省报告的疑似登革热病例急性期血清标本。病例资料来源于湖北省各市州疾控中心流行病学调查信息。

**1.2 DENV 检测和血清分型** 用西安天隆科技有限公司病毒 DNA/RNA 提取试剂盒(磁珠法)提取总核酸,用上海伯杰医疗科技股份有限公司登革热通用及 I—IV 型分型荧光定量检测试剂盒进行 DENV 核酸检测及血清型别鉴定,筛选核酸阳性标本。核酸提取和 real-time RCR(RT-PCR)检测严格参照试剂说明书进行。

**1.3 E 基因全长扩增及测序** 将核酸阳性标本

RNA 用大连宝生物工程有限公司 PrimeScript® One Step RT-PCR Kit Ver.2 (Dye Plus) 一步法试剂盒进行 DENV E 基因片段全长扩增,扩增引物及反应条件均参照文献<sup>[9]</sup>。引物合成、序列测定和拼接均委托武汉天一辉远生物科技有限公司完成。

**1.4 序列分析** 从美国国家生物技术信息中心(National Center for Biotechnology Information,NCBI)的基因库(GenBank)下载不同年代和地区流行的代表性毒株,涵盖 DENV 血清 I、II 型的所有基因亚型。其中 DENV-I 参考株 33 株,DENV-II 参考株 18 株。用 MEGA 11.0 软件进行序列比对,并用邻接法构建 E 基因系统进化树,Bootstrap 值取 1 000。采用 MegAlign 软件进行核苷酸同源性分析。

## 2 结果

**2.1 基本情况** 2014—2023 年共收集登革热疑似病例血清标本 239 份,其中 DENV 核酸阳性 78 份,阳性率为 32.6%,DENV 分型 RT-PCR 检测鉴定为 DENV I—III 型,其中 DENV I 型 68 份,DENV-II 型 9 份,DENV-III 型 1 份。见表 1。

表 1 湖北省 2014—2023 年 DENV 血清型分布

Table 1 Distribution of DENV serotypes in Hubei, 2014—2023

年份(年)	标本数	DENV 核酸阳性		DENV 血清分型结果			
		阳性数	阳性率(%)	I	II	III	IV
2014	48	6	12.5	6	0	0	0
2015	17	4	23.5	4	0	0	0
2016	12	5	41.7	3	2	0	0
2017	12	3	25.0	1	2	0	0
2018	20	7	35.0	4	2	1	0
2019	124	50	40.3	48	2	0	0
2023	6	3	50.0	2	1	0	0
合计	239	78	32.6	68	9	1	0

注:湖北省 2020—2022 年无登革热病例报告。

**2.2 确诊病例流行病学概况** 确诊的 78 份病例输入性病例 73 例,本地感染 6 例。本地感染病例为一起暴发疫情。所有病例来源自全省 15 个地市州,其中武汉市确诊病例数最多为 36 例,其次为黄冈市 12 例,黄石 7 例,宜昌 5 例,随州和荆州各 4 例,十堰 2 例,剩余咸宁、襄阳、天门、仙桃、鄂州、恩施、荆门、孝感各 1 例。每年 6—10 月份为登革热发病高峰期,9 月份病例数最多。78 例确诊病例中男性 56 例(本地 4 例),女性 22 例(本地 2 例),男女比为 2.55:1(本地病例男女比为 2:1),年龄分布在 20~67 岁,年龄中位数为 42 岁。

## 2.3 DENV E 基因进化分析

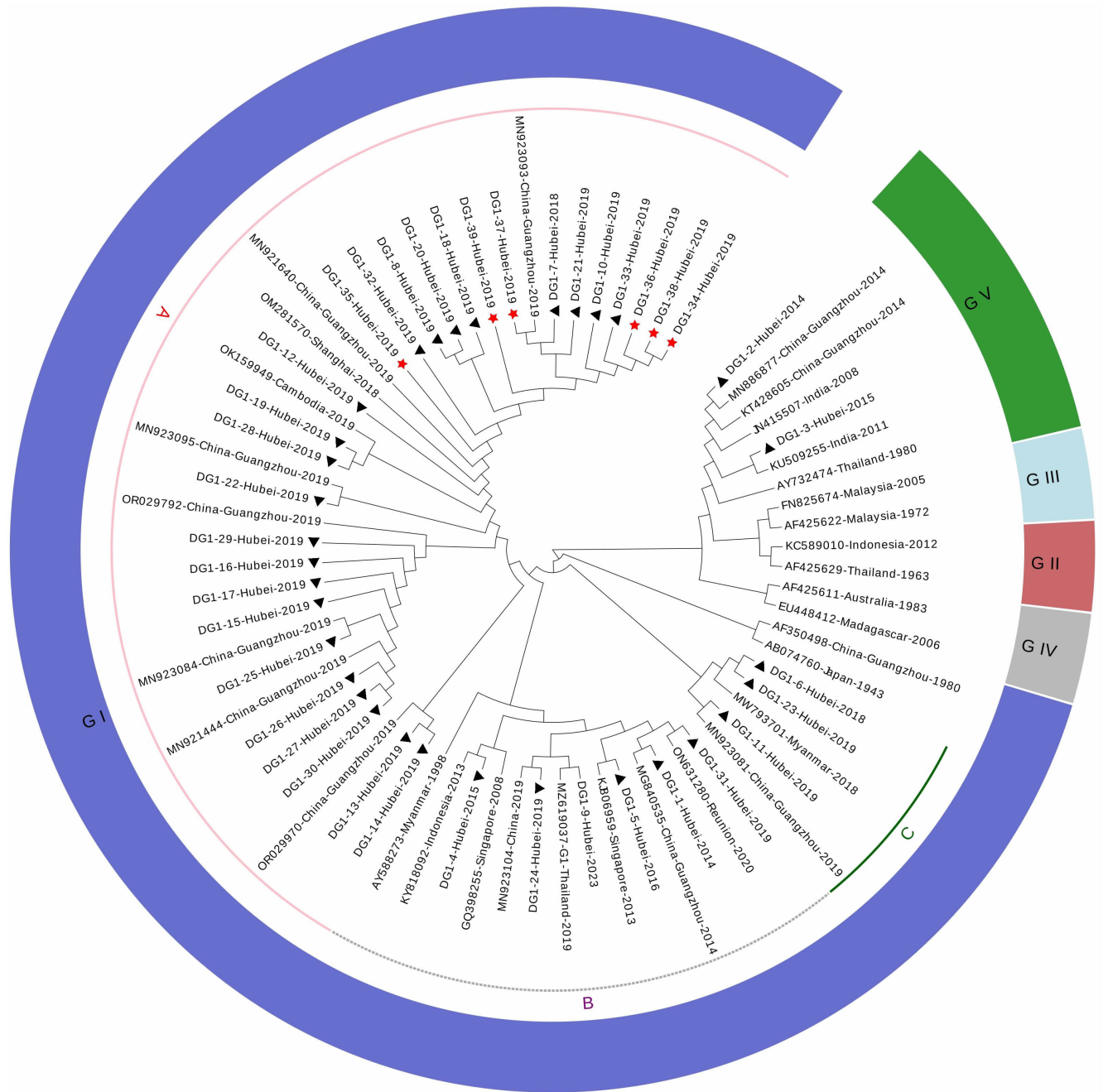
**2.3.1 DENV E 基因扩增与测序** 78 份 DENV 核酸

阳性标本通过 RT-PCR 扩增 E 基因片段,测序拼接后,44 份获得 1 485bp 的 E 基因全长序列,其中 DENV-I 39 份,DENV-II 5 份。

**2.3.2 DENV-I E 基因进化分析** DENV-I 型中 37 例为 G I 亚型,2 例为 G V 亚型。进化分析显示 37 株 G I 型核苷酸之间相似度在 95.8%~100%之间,主要汇聚于 3 个大的分支上,分别设为 A、B、C。A 分支中除 DG1-12-2019 与 2018 年上海流行株以及 DG1-19-2019 和 DG1-28-2019 与 2019 年柬埔寨流行株进化距离较近外,其余 24 例 2019 年病例(包括 6 例本地疫情株)和 1 例 2018 年病例均与 2019 年广州流行株进化距离较近,相似度在 99.21%~100%之间。B 分支中 1 例 DG1-31-2019 与 2020 年留尼汪群

岛病例进化距离较近,其余 6 例与中国广州、新加坡、印度尼西亚和泰国等东南亚国家流行株进化距离较近。相似度在 99.47% ~ 99.94% 之间。分支 C 的 3 例与 2018 年缅甸和 2019 年广州流行株进化距离较近,

相似度在 99.80% ~ 99.88% 之间。2 例 G V 型集中在同一分支上,分别与 2014 年广州流行株和 2011 年印度流行株进化距离较近,相似度在 99.93% ~ 100% 之间。见图 1。



注: ★为湖北省报告登革热本土病例; ▲为湖北省报告登革热输入病例。

图 1 2014—2023 年湖北省 DENV-I 分离株 E 基因系统进化树

Notes: ★for local cases; ▲for imported cases

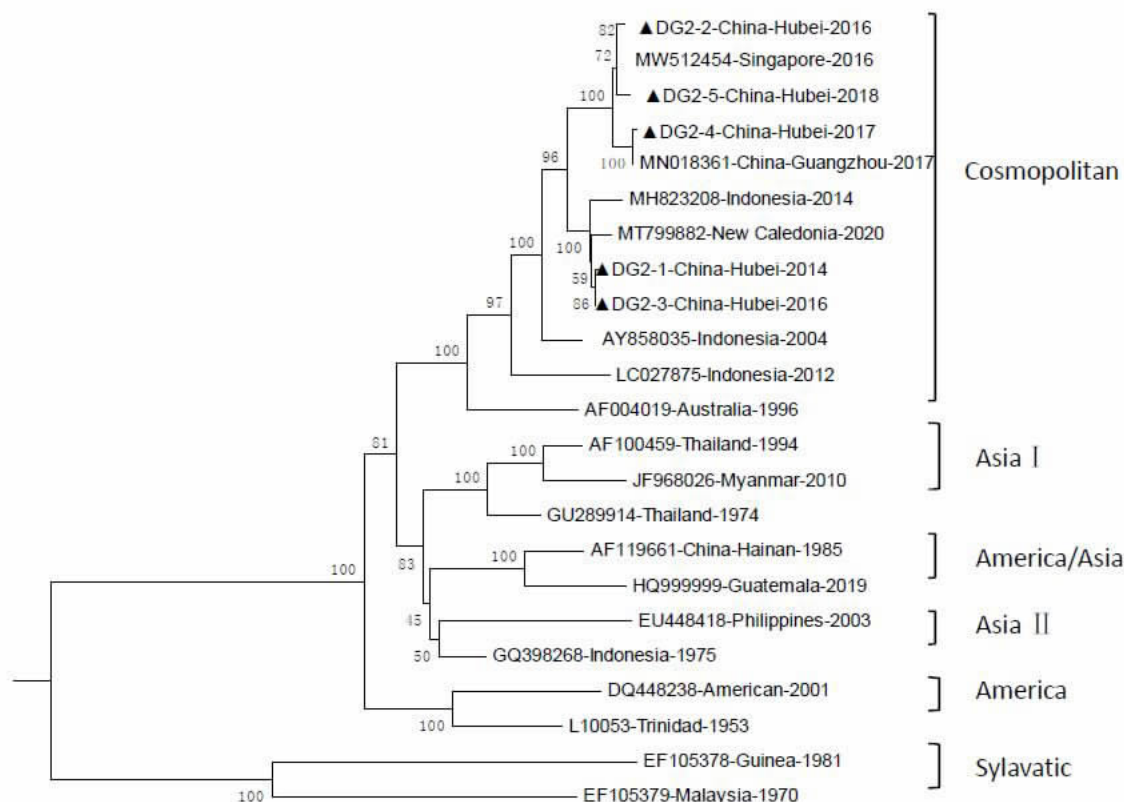
Figure 1 Phylogenetic tree of E gene of DENV-I from Hubei, 2014—2023

2.3.3 DENV-II E 基因进化分析 5 例 DENV-II 型病例基因分型均为 cosmopolitan 型,5 例病例之间核酸序列相似度在 99.83% ~ 99.99% 之间,其中 DG2-2-2016 和 DG2-5-2018 与新加坡流行株亲缘关系最近;其余 3 例分别与广州输入、印度尼西亚以

及新喀里多尼亚流行株亲缘关系最近。见图 2。

### 3 讨论

湖北省属亚热带季风气候,夏季高温高湿持续时间长,利于蚊虫滋生,有研究显示湖北省 3—11 月均



注:▲为湖北省报告登革热输入病例。

图 2 2014—2023 年湖北省 DENV-II 分离株 E 基因系统进化树

Notes: ▲for imported cases

Figure 2 Phylogenetic tree of E gene of DENV-II from Hubei, 2014—2023

可监测到媒介伊蚊成蚊活动,给登革热的传播提供了充足的传播媒介<sup>[10-12]</sup>。加上近年气候不断变暖、城市化进程推进和劳务输出日益增多等诸多因素作用,使得登革热在湖北省流行呈现逐渐上升的趋势。2019 年湖北省发生了首起登革热本地感染疫情<sup>[13-14]</sup>,提示湖北省已经具备适合 DENV 生存和循环传播的环境和媒介,而湖北省一直以来缺少对 DENV 血清、基因型及其特征的纵向研究。

本研究显示湖北省 2014—2023 年 DENV 存在 3 种血清型至少 4 种基因亚型,其中 DENV-I 型一直保持持续流行的态势,为优势血清型,基因型以 G1 亚型为主,这与近年中国登革热流行状况一致<sup>[15-16]</sup>。对比 2014 年至今湖北省登革热血清型还发现,湖北省 DENV 血清型存在由单一型向多种血清型并存的趋势,提示我们应该警惕 DENV 交叉传播的风险,预防重症及死亡病例的发生。同时有研究显示,2019 年以后云南边境地区 DENV 主要流行血清型为 DENV-3, DENV-1 流行率相对降低,提示 DENV-3 正在取代以往优势 DENV-1 成为云南边境地区主要流行株<sup>[17]</sup>。边境地区血清型别的转换会否引起以后湖北省 DENV 主流血清型的转换有待于持续开展 DENV 病原学监测。

从构建的进化树可以看出湖北省 DENV-I 的 G1 亚型分离株处于三个不同簇中, A 分支中大部分的 2019 年样本聚集在一簇中,主要与中国广州 2019 年的参考毒株亲缘距离较近,提示这一簇样本可能来源于中国本土病例跨省输入。6 例本土聚集性疫情病例也处于该分支中并与 2019 年广东流行株序列高度相似,提示湖北省本土疫情可能来源于广东省病例输入。分析 2019 年本土疫情前后湖北省登革热病例血清型及基因型发现,虽然 2019 年大部分病例和本土病例与 2023 年输入病例分处于 A 和 B 两个不同分支,但仍然属于 DENV-I 的 G1 亚型,提示目前在湖北地区仍然以 DENV-I 的 G1 亚型为优势血清型和基因亚型。C 分支中少量 2019 年样本和 1 例 2018 年样本与中国广州和缅甸参考株聚集在一起,说明这一支样本可能来源于缅甸的输入并且引起中国本土流行。B 分支中 2014—2016 年各 1 例, 2019 年 2 例和 2023 年 1 例处于同一分支,与印度尼西亚、新加坡、中国广州、泰国和法属留尼旺群岛亲缘关系较近,提示湖北省 DENV1 毒株输入来源复杂。值得一提的是 DG1-31-Hubei-2019 与 2020 年留尼旺群岛流行株亲缘关系接近,并与 2014 年广州流行株集中在同一分支,提示存在中国本土向外输出 DENV 的可能。本

研究的 2 例基因 v 型与 2008 年,2011 年印度和 2014 年广州聚集在同一分支,推测此毒株可能由印度输入到广州,并在广州形成本地及跨年传播进而输入湖北省。

2016—2019 年的样本中有 5 例 DENV-2 病例完成基因测序。样本序列分析显示,虽然所有样本均为混合型 (cosmopolitan 型),但 2014—2019 年每年的 DENV-2 病例来自不同国家。主要与新加坡、印度尼西亚等东南亚国家具有较近进化关系,包括同源性高的 2017 年广州病例也为马来西亚输入。再次提示近年 DENV-2 虽然处于低流行态势但湖北省 DENV-2 来源复杂,且受东南亚国家影响较大,今后应进一步开展 DENV 来源地研究。同时加强与东南亚国家接壤城市登革热监测,防止输入病例本地传播。

本研究存在一定不足。一是研究中各个年份样本数量存在一定不均衡性,同时由于新冠疫情影响,湖北省 2020—2022 年无登革热病例报告,实验结果可能存在一定偏差;二是研究中唯一 1 例 DENV-3 病例由于病毒载量低未成功获得序列。但本研究仍然从基因水平阐明了湖北省境内 DENV 的遗传进化特征,一定程度上反应了湖北省近年来 DENV 的流行及变化趋势,对制定相关防控策略提供指导。

利益冲突声明 本研究不存在任何利益冲突

## 参考文献

- [1] Roy SK, Bhattacharjee S. Dengue virus: epidemiology, biology, and disease aetiology[J]. Canadian Journal of Microbiology, 2021, 67(10): 687-702.
- [2] 王静, 闭福银, 陈华凤, 等. 2019 年广西 7 份本地感染登革病毒 E 基因特征分析 [J]. 现代预防医学, 2022, 49(18): 3421-3425, 3435.  
Wang J, Bi FY, Chen HF, et al. E gene characterization of seven local infections of dengue virus in Guangxi in 2019[J]. Modern Preventive Medicine, 2022, 49(18): 3421-3425, 3435.
- [3] Wong JM, Adams LE, Durbin AP, et al. Dengue: a growing problem with new interventions[J]. Pediatrics, 2022, 149(6): e202105522.
- [4] Soneja S, Tsarouchi G, Lumbroso D, et al. A review of dengue's historical and future health risk from a changing climate [J]. Curr Environ Health Rep, 2021, 8(3): 245-265.
- [5] Tsheten T, Gray DJ, Clements ACA, et al. Epidemiology and challenges of dengue surveillance in the WHO South-East Asia Region [J]. Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene, 2021, 115(6): 583-599.
- [6] 阮倩倩, 孙九峰. 我国登革热疾病负担研究进展[J]. 中山大学学报: 医学科学版, 2023, 44(5): 501.  
Ruan QQ, Sun JF. Research progress on disease burden of dengue in China [J]. Journal of Sun Yat-sen University (Medical Science Edition), 2023, 44(5): 501.
- [7] 徐滕. 中国登革热疾病负担研究[D]. 北京: 中国疾病预防控制中心, 2021.
- Xu M. Dengue disease burden in China [D]. Beijing: Chinese Center for Disease Control and Prevention, 2021.
- [8] Bhatt P, Sabeena SP, Varma M, et al. Current understanding of the pathogenesis of dengue virus infection [J]. Current Microbiology, 2021, 78(1): 17-32.
- [9] Wang JZ, Chen HB, Huang M, et al. Epidemiological and etiological investigation of dengue fever in the Fujian province of China during 2004-2014[J]. Science China. Life Sciences, 2017, 60(1): 72-80.
- [10] 郭慧, 柳静, 毛伟平, 等. 武汉市 2018-2021 年媒介伊蚊生态学监测结果分析[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2023, 34(1): 48-52.  
Guo H, Liu J, Mao WP, et al. Ecological monitoring of Aedes vector in Wuhan, Hubei province, China, 2018-2021 [J]. Chinese Journal of Vector Biology and Control, 2023, 34(1): 48-52.
- [11] 刘小波, 岳玉娟, 贾清臣, 等. 2020-2021 年我国 12 省份媒介伊蚊生态学调查 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2022, 33(1): 8-15.  
Liu XB, Yue YJ, Jia QC, et al. Ecological investigation of Aedes vector in 12 provinces of China in 2020-2021[J]. Chin J Vector Biol Control, 2022, 33(1): 8-15.
- [12] 赵建国, 贾巧娟, 王丽莹, 等. 气象因素对登革热传播影响的研究进展[J]. 现代预防医学, 2020, 47(22): 4185-4189.  
Zhao JG, Jia QJ, Wang LY, et al. Research advances in the impacts of meteorological factors on dengue transmission [J]. Modern Preventive Medicine, 2020, 47(22): 4185-4189.
- [13] 邹文菁, 蔡昆, 李静, 等. 2019 年湖北省首起登革热本地感染疫情病原分子溯源 [J]. 公共卫生与预防医学, 2021, 32(2): 43-46.  
Zou WJ, Cai K, Li J, et al. Molecular traceability of the pathogen of the first local dengue infection outbreak in Hubei Province in 2019 [J]. Journal of Public Health and Preventive Medicine, 2021, 32(2): 43-46.
- [14] 黄丹钦, 刘力, 陈琦, 等. 湖北省 2019 年登革热疫情特征及媒介伊蚊调查分析 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2021, 32(1): 38-40.  
Huang DQ, Liu L, Chen Q, et al. Analysis of dengue epidemic and Aedes vector surveillance in Hubei province, China, 2019[J]. Chinese Journal of Vector Biology and Control, 2021, 32(1): 38-40.
- [15] Wu TT, Wu ZD, Li YP. Dengue fever and dengue virus in the People's Republic of China [J]. Reviews in Medical Virology, 2022, 32(1): e2245.
- [16] 胡学锋, 吴霜, 吴媛媛, 等. 1997-2020 年中国大陆登革热病例数量变化及时间序列拟合研究 [J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2022, 45(3): 1004-9770.  
Hu XF, Wu S, Wu YY, et al. Quantity changes and analysis of dengue fever cases by time series fitting in mainland China from 1997 to 2020 [J]. Chinese Frontier Health Quarantine, 2022, 45(3): 1004-9770.
- [17] 杨婷. 云南登革热疫区 DENV 分子流行特征及其传播规律研究[D]. 昆明: 昆明理工大学, 2021.  
Yang T. Study on molecular epidemiological characteristics and transmission rules of DENV in dengue fever epidemic areas in Yunnan [D]. Kunming: Kunming University of Science and Technology, 2021.

收稿日期: 2023-10-18