

· 论 著 ·

# 绍兴市 MSM 人群 HIV-1 分子传播网络特征分析

何婷婷<sup>1</sup>, 曹栋卿<sup>1</sup>, 林家锋<sup>1</sup>, 蒋卓婧<sup>1</sup>, 张佳峰<sup>2</sup>, 范钦<sup>2</sup>

1. 绍兴市疾病预防控制中心微生物检验科, 浙江 绍兴 312071; 2. 浙江省疾病预防控制中心, 浙江 杭州 310051

**摘要:** **目的** 分析浙江省绍兴市男男性行为人群 (MSM) 艾滋病病毒 1 型 (HIV-1) 分子传播网络特征, 为 MSM 人群艾滋病防治提供依据。**方法** 选择 2021 年 1 月—2023 年 9 月绍兴市新报告 MSM 人群艾滋病病毒感染者和艾滋病患者 (HIV/AIDS) 为研究对象, 收集抗病毒治疗前血浆样本, 采用反转录 PCR 和巢式 PCR 扩增 HIV-1 *pol* 基因, 构建系统进化树分析基因亚型; 采用 HIV-TRACE 法构建 1.5% 基因距离的分子传播网络, 分析成簇情况和分子簇内病例特征。**结果** 纳入 2021 年 1 月—2023 年 9 月绍兴市 MSM 人群 HIV/AIDS 病例 216 例, 获得合格序列 179 例。HIV-1 亚型以 CRF07\_BC 和 CRF01\_AE 为主, 分别为 95 和 66 例。在 1.5% 基因距离下共形成 20 个分子簇, 61 个节点和 58 条边。61 条序列入网, 入网率为 34.08%。绍兴市各县 (市、区) 均有 MSM 人群 HIV/AIDS 病例入网。节点数 ≥10 个的大分子簇 1 个, 涉及 5 个县 (市、区) 12 例病例; 节点数 4~5 个的中分子簇 3 个; 节点数 2~3 个的小分子簇 16 个。边数 ≥4 条的高传播风险病例有 7 例, 均为 CRF07\_BC 亚型; 其中 2 例来自大分子簇, 5 例来自嵊州市、新昌县病例组成的同一分子簇。**结论** 绍兴市 MSM 人群 HIV/AIDS 病例 HIV-1 基因亚型以 CRF07\_BC 和 CRF01\_AE 为主, 存在跨地区 HIV 传播, 嵊州市和新昌县可能存在潜在传播风险点。

**关键词:** 艾滋病; 男男性行为人群; 分子传播网络; 基因亚型

中图分类号: R512.91 文献标识码: A 文章编号: 2096-5087 (2024) 07-0571-05

## HIV-1 molecular transmission network among men who have sex with men in Shaoxing City

HE Tingting<sup>1</sup>, CAO Dongqing<sup>1</sup>, LIN Jiafeng<sup>1</sup>, JIANG Zhuojing<sup>1</sup>, ZHANG Jiafeng<sup>2</sup>, FAN Qin<sup>2</sup>

1. Department of Microbiological Inspection, Shaoxing Center for Disease Control and Prevention, Shaoxing, Zhejiang 312071, China; 2. Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou, Zhejiang 310051, China

**Abstract: Objective** To investigate the molecular transmission network characteristics of HIV-1 among men who have sex with men (MSM) in Shaoxing City, Zhejiang Province, so as to provide insights into AIDS prevention and control among MSM. **Methods** Newly reported HIV/AIDS cases among MSM in Shaoxing City were selected from January 2021 to September 2023. Plasma samples before the antiviral treatment were collected. The HIV-1 *pol* gene was amplified using reverse transcription PCR and nested PCR to construct phylogenetic trees for gene subtype analysis. The HIV-TRACE method was used to construct a molecular transmission network with a genetic distance of 1.5% to analyze clustering and the characteristics of cases within molecular clusters. **Results** A total of 216 HIV/AIDS cases among MSM were included, and 179 qualified sequences were obtained. The predominant HIV-1 subtypes were CRF07\_BC and CRF01\_AE, with 95 and 66 cases, respectively. At 1.5% genetic distance, 20 molecular clusters were formed, with 61 nodes and 58 edges. A total of 61 sequences were connected to the transmission network (34.08%). HIV/AIDS cases among MSM from all the counties (cities, districts) in Shaoxing City were included in the network. There was the largest molecular cluster with ≥10 nodes, involving 12 cases from five counties (cities, districts), 3 medium-sized molecular clusters with 4 to 5 nodes, and the 16 small-sized molecular clusters with 2 or 3 nodes. Seven cas-

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2024.07.005

基金项目: 绍兴市科技计划项目 (2018C30051); 绍兴市科技计划项目 (2022A14007)

作者简介: 何婷婷, 本科, 副主任技师, 主要从事微生物检验工作

通信作者: 曹栋卿, E-mail: 33439980@qq.com

es with high risk of transmission, each with  $\geq 4$  edges, were all CRF07\_BC subtypes. Among them, two cases were from the large molecular cluster, and five cases were from the same molecular cluster composed of cases from Shengzhou City and Xinchang County. **Conclusions** The predominant HIV-1 subtypes among MSM in Shaoxing City were CRF07\_BC and CRF01\_AE. There was cross-regional HIV transmission, and potential transmission risk might exist in Shengzhou City and Xinchang County.

**Keywords:** AIDS; men who have sex with men; molecular transmission network; gene subtype

男男性行为人群 (men who have sex with men, MSM) 是艾滋病病毒 (HIV) 感染与传播的高风险人群, 研究显示 2022 年我国新报告艾滋病病毒感染者和艾滋病患者 (HIV/AIDS) 中经男男性行为感染的比例为 25.6%<sup>[1-2]</sup>。研究发现, MSM 人群的 HIV 传播关系较异性性行为人群更复杂, 实施干预难度更大<sup>[3-4]</sup>。传统流行病学方法注重个体的 HIV 传播风险, 分子传播网络基于 HIV 的高度变异性, 利用病毒序列分析感染传播关系和模式, 可应用于推断病毒传播、耐药性传播和重点人群的精准干预。基于分子传播网络指导 HIV 的精准干预, 对控制 HIV 传播具有良好的应用前景<sup>[3, 5]</sup>。本研究分析浙江省绍兴市男男性行为人群艾滋病病毒 1 型 (HIV-1) 的分子传播网络特征, 为 MSM 人群艾滋病防治提供依据。

## 1 对象与方法

### 1.1 对象

选择 2021 年 1 月—2023 年 9 月绍兴市新报告的经男男性行为感染的 HIV/AIDS 病例为研究对象, 要求 HIV 抗体确证时年龄  $\geq 16$  岁并且已采集抗病毒治疗前血浆样本。研究对象均签署知情同意书。本研究通过绍兴市疾病预防控制中心伦理委员会审查 (SXCDC2021-001)。

### 1.2 方法

通过中国疾病预防控制中心信息系统艾滋病综合防治信息系统收集年龄、户籍、婚姻状况、文化程度、报告地区和感染途径等资料。通过绍兴市各区县疾病预防控制中心及定点医院收集 HIV/AIDS 病例的抗病毒治疗前血浆样品, 扩增 HIV-1 *pol* 基因, 分析分子传播网络特征。

#### 1.2.1 RNA 提取及目的片段扩增

提取 200  $\mu\text{L}$  血浆样本中的 HIV RNA, 以提取的 RNA 为模板, 采用反转录 PCR 和巢式 PCR 扩增 HIV-1 *pol* 基因 1 316 bp, 引物序列及扩增条件参考文献 [6]。PCR 扩增产物经 1% 琼脂糖凝胶电泳, 确认目的片段, 目标产物送至上海伯杰基因公司进行纯化并测序。

#### 1.2.2 HIV-1 基因亚型分析

采用 Sequencher 5.4 软件对测序返回的序列进行编辑、拼接和校正。从 HIV Sequence Database 下载各亚型的标准序列作为参考株 (<https://www.hiv.lanl.gov>), 采用 Bioedit 7.2 软件对样本序列进行比对和校正, 剔除长度  $< 1\ 000$  bp 和混合碱基  $> 5\%$  的基因序列。采用 IQ Tree 2.0.6 软件, GTR+G+I 核苷酸替代模型构建不同 HIV-1 亚型的最大似然系统进化树, 根据参考株聚类情况判定序列亚型簇, Bootstrap 值  $< 70\%$  考虑为 URF, 同时采用在线 HIV-BLAST (<https://www.hiv.lanl.gov>) 判断亚型。重组样本采用 Simplot 3.5.1 软件做断点分析。

#### 1.2.3 分子传播网络分析

采用 CentOS 7 平台搭建的 HIV-TRACE 法构建绍兴市 MSM 人群 HIV-1 分子传播网络。根据《HIV 传播网络监测和干预技术指南 (2021 试行版)》, 以 1.5% 基因距离作为阈值, 采用 TN93 模型两两比对计算基因距离, 并通过 HIV-TRACE 网页版 (<https://veg.github.io/hivtrace-viz>) 进行可视化分析和展示。分子传播网络中的节点对应每个 HIV/AIDS 病例的序列; 节点之间的连接线对应网络参数“边”。本研究定义边数  $\geq 4$  条的 HIV/AIDS 病例为高传播风险病例<sup>[7]</sup>。

### 1.3 统计分析

采用 SPSS 26.0 软件统计分析。定性资料采用相对数描述, 组间比较采用 Fisher 确切概率法。以  $P < 0.05$  为差异有统计学意义。

## 2 结果

### 2.1 基本情况及 HIV-1 基因亚型分析

纳入 2021 年 1 月—2023 年 9 月绍兴市 MSM 人群 HIV/AIDS 病例 216 例, 获得合格序列 179 例, 占 82.87%。其中, 26~ $< 50$  岁 112 例, 占 62.57%; 绍兴市户籍 157 例, 占 87.71%; 未婚 101 例, 占 56.42%; 中学/中专学历 115 例, 占 64.25%。发现 5 种亚型, CRF07\_BC 95 例, 占 53.07%; CRF01\_AE 66 例, 占 36.87%; CRF55\_01B 7 例, 占 3.91%; B 型 1 例, 占 0.56%; URF (CRF01\_AE/CRF07\_BC)

10例,占5.59%。不同户籍、报告地区的MSM人群HIV/AIDS病例HIV-1基因亚型分布差异有统计学意义(均 $P < 0.05$ )。见表1。

表1 绍兴市MSM人群HIV-1基因亚型分布  
Table 1 Distribution of HIV-1 gene subtypes among MSM in Shaoxing City

项目	病例 (n=179)	HIV-1基因亚型			P值
		CRF07_BC (n=95)	CRF01_AE (n=66)	其他 (n=18) <sup>①</sup>	
年龄/岁					0.073
<26	48 (26.82)	30 (62.50)	11 (22.92)	7 (14.58)	
26~	112 (62.57)	55 (49.11)	49 (43.75)	8 (7.14)	
≥50	19 (10.61)	10 (52.63)	6 (31.58)	3 (15.79)	
户籍					0.035
绍兴市	157 (87.71)	82 (52.23)	61 (38.85)	14 (8.92)	
浙江省其他市	8 (4.47)	4 (50.00)	4 (50.00)	0	
非浙江省	14 (7.82)	9 (64.29)	1 (7.14)	4 (28.57)	
婚姻状况					0.873
未婚	101 (56.42)	53 (52.48)	37 (36.63)	11 (10.89)	
已婚	57 (31.84)	31 (54.39)	22 (38.60)	4 (7.01)	
离异/丧偶	21 (11.73)	11 (52.38)	7 (33.33)	3 (14.29)	
文化程度					0.551
小学及以下	13 (7.26)	5 (38.46)	7 (53.85)	1 (7.69)	
中学/中专	115 (64.25)	59 (51.30)	44 (38.26)	12 (10.43)	
大专及以上	51 (28.49)	31 (60.78)	15 (29.41)	5 (9.80)	
报告地区					0.034
越城区	33 (18.44)	12 (36.36)	21 (63.64)	0	
上虞区	15 (8.38)	9 (60.00)	5 (33.33)	1 (6.67)	
柯桥区	43 (24.02)	23 (53.49)	16 (37.21)	4 (9.30)	
诸暨市	59 (32.96)	32 (54.24)	18 (30.51)	9 (15.25)	
嵊州市	19 (10.61)	13 (68.42)	3 (15.79)	3 (15.79)	
新昌县	10 (5.59)	6 (60.00)	3 (30.00)	1 (10.00)	

注: <sup>①</sup>包括CRF55\_01B 7例、B型1例和URF (CRF01\_AE/CRF07\_BC) 10例。

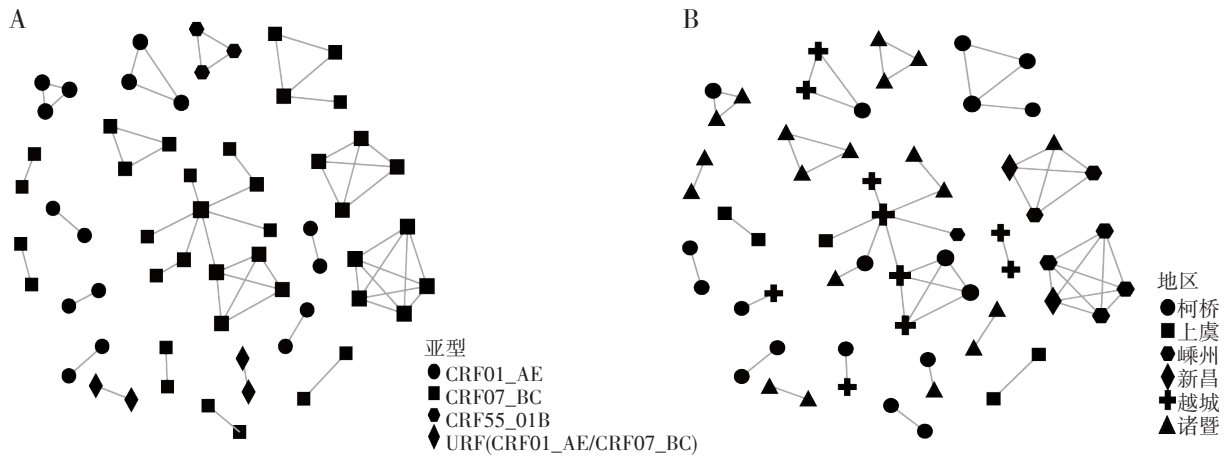
### 2.2 HIV-1分子传播网络特征

在1.5%基因距离下共形成20个分子簇,61个节点和58条边。61条序列入网,入网率为34.08% (61/179)。CRF07\_BC亚型簇10个,共36例,入网率为37.89% (36/95); CRF01\_AE亚型簇7个,共22例,入网率为33.33% (22/66); CRF55\_01B亚型簇1个,共3例; URF (CRF01\_AE/CRF07\_BC)亚型簇2个,共4例。每个节点的度值范围为1~6。节点数≥10个的大分子簇1个,包括12例病例;节点数4~5个的中分子簇3个,其他16个均为节点数2~3个的小分子簇。各县(市、区)均有病例入网,最大分子簇中,越城区4例、柯桥区3例、诸暨市3例、上虞区1例和嵊州市1例。边数≥4条的高传播风险病例有7例,均为CRF07\_BC亚型;2例来自最大分子簇,5例来自嵊州市、新昌县病例组成的同一分子簇(4例为嵊州市、新昌县本地户籍,

1例为非浙江省户籍);以40~60岁、绍兴市户籍和中学/中专学历为主,各5例。见图1。

### 3 讨论

结果显示,绍兴市MSM人群HIV/AIDS病例的主要基因亚型为CRF07\_BC和CRF01\_AE,与浙江省HIV流行亚型<sup>[8]</sup>和杭州市在校学生HIV-1亚型<sup>[9]</sup>一致。相较于其他研究<sup>[10]</sup>,本次检测到的亚型较少,CRF07\_BC、CRF01\_AE、CRF55\_01B和URF (CRF01\_AE/CRF07\_BC)均为快速传播流行的亚型。分子传播网络中边数≥4条的高传播风险病例均为CRF07\_BC亚型,反映了CRF07\_BC亚型在MSM人群中较为流行。CRF07\_BC以C亚型为骨架,插入了5段较短的B片段,从吸毒人群中发现,已超过B亚型成为我国流行的主要亚型<sup>[11]</sup>,反映了重组后病毒在适应性、传播性或复制能力上更具优势。



注：A、B分别表示分子网络内不同亚型、地区分布特征。

图 1 绍兴市 MSM 人群 HIV-1 分子传播网络

Figure 1 HIV-1 molecular transmission network among MSM in Shaoxing City

CRF55\_01B 是在 MSM 人群中快速传播的另一亚型，最早发现于广东省，近年来在全国快速蔓延，提示其传播风险可能高于 CRF07\_BC 和 CRF01\_AE [12-16]。近年来我国检测到相当比例的 URF (CRF01\_AE/CRF07\_BC) 亚型 [17-18]，CRF07\_BC 与 CRF01\_AE 亚型的广泛传播，使感染者同时感染 2 种亚型的机会增加，为新重组亚型的形成与流行创造了条件。CRF55\_01B 和 URF (CRF01\_AE / CRF07\_BC) 亚型在绍兴市 MSM 人群中形成聚集分子簇，应加强对这 2 种亚型的监测，明确重组形式及毒株的传播性，遏制其流行。

绍兴市 MSM 人群可能跨地区流动造成 HIV 快速传播。分子传播网络内的分子簇由绍兴市不同区县的 HIV/AIDS 病例聚集，最大分子簇内的病例来自 5 个县（市、区），适应性和复制能力更强的亚型毒株会通过该人群快速传播。近年监测显示 MSM 人群在传播网络中呈散在分布 [4]，在急性传播簇内的病例间缺少流行病学相关性 [19]，使重点人群与中间传播人群的分辨较困难。本研究认为应对筛选出的 7 例高传播风险病例做进一步详细的流行病学调查，发现其风险传播网络和传播人群。高传播风险病例中 4 例为嵊州市、新昌县本地户籍，这 2 个地区的地理位置相近，提示嵊州市和新昌县可能存在潜在传播风险点。

本研究的不足之处在于，为了提高 HIV/AIDS 病例的入网率，发现更多的高传播风险病例，基因距离仅选择了 1.5%。实际需要结合毒株进化速率、Bootstrap 值等选择能形成最多分子簇的基因距离更为确切。

参考文献

- [1] 何佳晋, 居豪, 吴超. 中国 MSM 人群 HIV 新发感染率及其影响因素的 Meta 分析 [J]. 预防医学, 2022, 34 (1): 70-77.
- [2] 韩孟杰. 我国艾滋病流行形势分析和防治展望 [J]. 中国艾滋病性病, 2023, 29 (3): 247-250.
- [3] 曹栋卿, 陈金堃, 汤佳良, 等. 2018 年至 2019 年浙江省绍兴市新确诊人类免疫缺陷病毒 1 型感染者的分子传播网络特征分析 [J]. 中华传染病杂志, 2021, 39 (3): 157-162.
- [4] 何婷婷, 曹栋卿, 蒋卓婧, 等. 绍兴市新确诊 HIV-1 感染者分子传播网络及耐药基因分析 [J]. 中国艾滋病性病, 2023, 29 (7): 757-760.
- [5] 金玫华, 李婧, 刘小琦, 等. 湖州市 HIV/AIDS 分子网络传播簇的影响因素研究 [J]. 预防医学, 2020, 32 (10): 992-995.
- [6] ZHANG J F, GUO Z H, YANG J Z, et al. Genetic diversity of HIV-1 and transmitted drug resistance among newly diagnosed individuals with HIV infection in Hangzhou, China [J]. J Med Virol, 2015, 87 (10): 1668-1676.
- [7] OSTER A M, WERTHEIM J O, HEMANDEZ A L, et al. Using molecular HIV surveillance data to understand transmission between subpopulations in the United States [J]. J Acquir Immune Defic Syndr, 2015, 70 (4): 444-451.
- [8] ZHANG J F, GUO Z H, PAN X H, et al. Highlighting the crucial role of Hangzhou in HIV-1 transmission among men who have sex with men in Zhejiang, China [J]. Sci Rep, 2017, 7 (1): 1-11.
- [9] 许珂, 陈珺芳, 张兴亮, 等. 杭州市新确诊在校学生 HIV/AIDS 分子传播网络分析 [J]. 预防医学, 2022, 34 (11): 1096-1100, 1104.
- [10] 周全华, 何惊春, 王越, 等. 重庆市 472 名 MSM 中新发现 HIV-1 感染者分子传播网络特征 [J]. 中国艾滋病性病, 2022, 28 (12): 1370-1374.
- [11] 钟平. HIV 分子流行病学研究和实践进展 [J]. 新发传染病电子杂志, 2019, 4 (3): 137-144.
- [12] HAN X X, AN M H, ZHANG W Q, et al. Genome sequences of a novel HIV-1 circulating recombinant form, CRF55\_01B, identi-

(下转第 579 页)

- [9] 中华人民共和国国家卫生和计划生育委员会. 中国临床戒烟指南 (2015年版) [J]. 中华健康管理学杂志, 2016, 10 (2): 88-95.
- [10] 陈海德, 竺颖华, 卞涵琨, 等. 吸烟者尼古丁依赖与戒烟意向的关系: 身份认同和吸烟合理化信念的链式中介作用 [J]. 中国临床心理学杂志, 2023, 31 (3): 672-676.
- [11] 陈果, 李小惠, 李蔚. 应用改良版英国医学研究委员会呼吸问卷、自我评估测试问卷和临床问卷评估慢性阻塞性肺疾病患者健康状况的比较研究 [J]. 实用医院临床杂志, 2015, 12 (1): 59-60.
- [12] HEATHERTON T F, KOZLOWSKI L T, FRECKER R C, et al. The Fagerström Test for Nicotine Dependence: a revision of the Fagerström Tolerance Questionnaire [J]. Br J Addict, 1991, 86 (9): 1119-1127.
- [13] 潘珏, 金文婷, 王晓丹, 等. 中文版尼古丁依赖检测量表信度和效度的初步研究 [J]. 国际呼吸杂志, 2010, 30 (5): 266-269.
- [14] 马含俏, 刘涵, 金倩莹, 等. 社区吸烟者心理特质及其对尼古丁依赖程度的影响研究 [J]. 中国全科医学, 2020, 23 (15): 1889-1894, 1903.
- [15] 张励. 烟草依赖的慢阻肺高危人群戒烟治疗研究 [D]. 沈阳: 中国医科大学, 2021.
- [16] 李星明, 崔小波. 北京市吸烟人群中礼品烟接受情况及其相关社会因素分析 [J]. 中国健康教育, 2016, 32 (11): 967-971.
- [17] HALPERN-MANNERS A, HERNANDEZ E M, WILBUR T G. Crossover effects of education on health within married couples [J]. J Health Soc Behav, 2022, 63 (2): 301-318.
- [18] 张艳艳, 赵莹颖, 胡建功, 等. 北京市某区吸烟者戒烟意愿及行为研究 [J]. 预防医学, 2023, 35 (7): 632-635.
- [19] 崔紫阳. 我国烟草依赖、酒精依赖流行情况及吸烟-饮酒的相关性研究 [D]. 北京: 北京协和医学院, 2023.
- [20] 赵艳婷, 彭桢, 刘熹, 等. 成都市现在吸烟成年人高度烟草依赖状况调查 [J]. 预防医学, 2021, 33 (3): 295-298.
- [21] 李自敏, 黎倩伶, 谢倩倩, 等. 香烟中的尼古丁对吸烟行为的影响 [J]. 中国药物依赖性杂志, 2020, 29 (3): 176-180.
- [22] ZHANG Y Y, TANG W T, ZHANG H, et al. Barriers and facilitators for smoking cessation in Chinese smokers with chronic obstructive pulmonary disease: a qualitative study [J]. Int J Chron Obstruct Pulmon Dis, 2022, 6 (17): 1107-1120.
- [23] GOODWIN R D, LAVOIE K L, LEMESHOW A R, et al. Depression, anxiety, and COPD: the unexamined role of nicotine dependence [J]. Nicotine Tob Res, 2012, 14 (2): 176-183.
- [24] HASHIMOTO R, TOMIOKA H, WADA T, et al. Outcomes and predictive factors for successful smoking cessation therapy in COPD patients with nicotine dependence [J]. Respir Investig, 2020, 58 (5): 387-394.
- [25] BARRECHEGUREN M, GONZÁLEZ C, MIRAVITLLES M. What have we learned from observational studies and clinical trials of mild to moderate COPD? [J/OL]. Respir Res, 2018, 19 (1) [2024-06-28]. <https://respiratory-research.biomedcentral.com/articles/10.1186/s12931-018-0882-0>.

收稿日期: 2024-02-26 修回日期: 2024-06-28 本文编辑: 徐文璐

## (上接第574页)

- fied in China [J]. Genome Announc, 2013, 1 (1): 1-2.
- [13] HAN X X, TAKEBE Y, ZHANG W Q, et al. A large-scale survey of CRF55\_01B from men-who-have-sex-with-men in China: implying the evolutionary history and public health impact [J]. Sci Rep, 2015, 5: 1-8.
- [14] ZAI J J, LIU H Z, LU Z Z, et al. Tracing the transmission dynamics of HIV-1 CRF55\_01B [J]. Sci Rep, 2020, 10 (1): 1-8.
- [15] GAN M Z, ZHENG S, HAO J J, et al. The prevalence of CRF55\_01B among HIV-1 strain and its connection with traffic development in China [J]. Emerg Microbes Infect, 2021, 10 (1): 256-265.
- [16] WEI L, LU X, LI H, et al. Impact of HIV-1 CRF55\_01B infection on CD4 counts and viral load in men who have sex with men naive to antiretroviral treatment [J]. Lancet, 2018, 392 (Suppl.1): 43.
- [17] 李媛婷, 陈荣凤, 严文霞, 等. 2012—2022年广西 HIV-1 独特重组型毒株近似全长基因序列特征分析 [J]. 广西医科大学学报, 2023, 40 (2): 199-205.
- [18] 刘志, 朱博, 赵锦, 等. CRF01\_AE/CRF07\_BC 重组毒株近似全长基因组序列和系统进化分析 [J]. 中华医院感染学杂志, 2023, 33 (12): 1761-1768.
- [19] 黄元妹, 袁苑, 郑陈丽, 等. 深圳市男男性行为人群艾滋病病毒主要流行亚型的分子网络特征分析 [J]. 实用医学杂志, 2022, 38 (21): 2745-2750.

收稿日期: 2024-03-25 修回日期: 2024-06-30 本文编辑: 徐文璐