· 疾病控制 ·

1996—2024年柯萨奇病毒A组4型VP1区基因特征

姚学君，陈国清，徐士林，李长城

盐城市疾病预防控制中心，江苏 盐城 224000

摘要：目的　分析1996—2024年柯萨奇病毒A组4型（CVA4）VP1区核苷酸全长序列的基因特征，为手足口病和疱疹性咽峡炎防控及疫苗研发提供参考。**方法**　通过细菌和病毒生物信息学资源中心肠道病毒数据库检索我国2025年12月16日前上传的CVA4分离株VP1区核苷酸全长序列，分析基因型、同源性、序列组成、进化速率和氨基酸高频突变位点等。**结果**　共纳入1996—2024年我国27个省（自治区、直辖市）的423株CVA4分离株VP1区核苷酸全长序列，其中，2010—2023年377株，占89.13%；西南地区234株，占55.32%；C2亚型412株，占97.40%。CVA4分离株VP1区与参考序列核苷酸同源性均值为93.81%，氨基酸同源性均值为98.66%。碱基含量依次为腺嘌呤、胞嘧啶、尿嘧啶和鸟嘌呤，分别占28.49%、25.45%、23.79%和22.27%；含量较高的3种氨基酸依次为苏氨酸、丙氨酸和丝氨酸，分别占10.96%、7.69%和7.62%。C2亚型株VP1区核苷酸进化速率约为2.93×10^{-3}（95%*CI*：$2.86\times10^{-3}\sim2.99\times10^{-3}$）替换/（位点·年）。CVA4分离株VP1区200和274位点为高频突变位点，熵值分别为0.61和0.69，主要发生VP1-A200T、VP1-K274R的优势替换。**结论**　1996—2024年CVA4分离株以西南地区、C2亚型流行为主，VP1区存在进化特征和高频突变位点。

关键词：柯萨奇病毒A组4型；VP1区；基因特征

中图分类号：R373.23　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**2096-5087（2026）06-0622-04

Genetic characteristics of the VP1 region of Coxsackievirus A4 from 1996 to 2024

YAO Xuejun, CHEN Guoqing, XU Shilin, LI Changcheng

Yancheng Center for Disease Control and Prevention, Yancheng, Jiangsu 224000, China

Abstract: Objective　To analyze the genetic characteristics of the full-length nucleotide sequences in the VP1 region of Coxsackievirus A4 (CVA4) from 1996 to 2024, so as to provide the evidence for the prevention and control of hand, foot and mouth disease and herpangina, as well as for vaccine development. **Methods**　The full-length VP1 nucleotide sequences of CVA4 isolates uploaded in China before December 16, 2025, were collected through the Enterovirus Database of the Bacterial and Viral Bioinformatics Resource Center. Genotypes, homology, sequence composition, evolutionary rate and high-frequency amino acid mutation sites were analyzed. **Results**　A total of 423 full-length VP1 nucleotide sequences of CVA4 isolates from 27 provinces (autonomous regions and municipalities) in China from 1996 to 2024 were included. Among them, 377 strains were collected from 2010 to 2023, accounting for 89.13%; 234 strains were from the southwest region, accounting for 55.32%; and 412 strains belonged to subgenotype C2, accounting for 97.40%. The mean nucleotide homology of the VP1 region of CVA4 isolates compared with reference sequences was 93.81%,

DOI：10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2026.06.018

基金项目：江苏卫健委预防医学课题（Ym2023024）；盐城市卫生健康委员会重点学科（急性传染病防治学）资助项目（202209）；盐城市卫健委医学科研课题（YK2023085）；盐城市卫健委医学重点实验室（公共卫生分子生物学重点实验室）资助项目（202319）

作者简介：姚学君，硕士，副主任医师，主要从事免疫规划和传染性疾病控制工作

通信作者：李长城，E-mail：297429869@qq.com

and the mean amino acid homology was 98.66%. nucleotide composition was adenine, cytosine, uracil, and guanine, accounting for 28.49%, 25.45%, 23.79%, and 22.27%, respectively. The three most abundant amino acids were threonine, alanine, and serine, accounting for 10.96%, 7.69%, and 7.62%, respectively. The nucleotide evolutionary rate of the VP1 region of subgenotype C2 strains was approximately 2.93×10^{-3} (95%*CI*: 2.86×10^{-3}–2.99×10^{-3}) substitutions per (site per year). Positions 200 and 274 of the VP1 region of CVA4 isolates were identified as high-frequency mutation sites, with entropy values of 0.61 and 0.69, respectively. The dominant substitutions were VP1-A200T and VP1-K274R. **Conclusions** CVA4 isolates were predominantly circulated in the southwestern region and belonged to subgenotype C2 from 1996 to 2024. The VP1 region presented distinct evolutionary features and high-frequency mutation sites.

Keywords: Coxsackievirus A4; VP1 region; genetic characteristics

柯萨奇病毒 A 组 4 型（Coxsackievirus A4，CVA4）属于小 RNA 病毒科肠道病毒属，是引起手足口病（hand foot and mouth disease，HFMD）、疱疹性咽峡炎（herpetic angina，HA）等多种急性传染病的重要病原体[1]。随着肠道病毒 71 型（enterovirus 71，EV71）灭活疫苗的广泛接种，我国 HFMD 病原谱发生明显变化，非 EV71、非 CVA16 的其他肠道病毒检出率逐年升高[2]。近年来，我国多个地区相继报道 CVA4 引起的散发病例、局部聚集性疫情甚至暴发流行[3-4]；分子流行病学监测显示 CVA4 在进化过程中呈现显著的遗传多样性[5]。VP1 基因是肠道病毒的主要结构蛋白基因，作为病毒的中和决定因子，其序列具有高度变异性和抗原性，是研究肠道病毒遗传变异、系统进化的理想靶点，也是病毒分型、溯源和疫苗研发的重要依据[5]。本研究检索细菌和病毒生物信息学资源中心（bacterial and viral bioinformatics resource center，BV-BRC）肠道病毒数据库收录的我国（不包括港澳台地区）CVA4 分离株 VP1 区核苷酸全长序列，分析其基因型、同源性、进化速率和关键氨基酸位点变异等特征，掌握 CVA4 的流行规律和基因进化特征，为 HFMD 和 HA 的防控及疫苗研发提供依据。

1　资料与方法

1.1　资料来源

通过 BV-BRC 肠道病毒数据库（https://www.bv-brc.org），以“enterovirus”“Coxsackievirus A4”“genome length 915 bp”“China”为关键词，检索 2025 年 12 月 16 日前上传的 CVA4 分离株 VP1 区核苷酸全长序列。

1.2　方法

1.2.1　基因分型

采用 MEGA 11 软件比对 CVA4 分离株 VP1 区核苷酸序列，采用 Clustal W 法进行多重比对，基因分型采用邻接法，Bootstrap 循环次数为 1 000 次。参考文献［5］，选择参考序列划分基因型，具体参考序列信息见表 1。

表 1　各基因分型参考株

Table 1　Reference strains of various genotypes

参考序列	GenBank 登记号
A	AY421762
B	GQ176232
C1	KY978567
C2	KY978560
C3	LC175758
C4	JN203505
C5	KR185978
D	AB457644

1.2.2　核苷酸和氨基酸序列分析

采用 MEGA 11 和 MegAlign 软件比对分析 CVA4 分离株间核苷酸和氨基酸的遗传变异，采用“nucleotide composition”“amino acid composition”“codon usage bias”“residue substitutions”4 种模型分别计算序列核苷酸和氨基酸组成、相对同义密码子使用度（relative synonymous codon usage，RSCU）和碱基变异情况。

以鸟嘌呤（G）和胞嘧啶（C）第 3 位含量（GC_3）为横坐标，第 1 位含量（GC_1）与第 2 位含量（GC_2）的平均值（GC_{12}）为纵坐标绘制中性分析散点图，计算 GC_3 与 GC_{12} 的相关系数、回归系数，通过回归斜率推断影响密码子使用的主要因素。分析碱基突变总数和突变率，碱基突变率（%）=［突变位点数/（序列数×915）］×100%；突变类型分为转换和颠换，统计各类碱基替换的发生频率和比例。采用 Datamonkey 在线软件（http://www.datamonkey.org）的 SLAC 模型，依据非同义替代率（dN）/同义替代率（dS）值判定选择压力位点，dN/dS>1 为正向选择，dN/dS<1 为负向选择。采用 BioEdit 7.2 软件确定氨基酸高频变异位点，熵值≥0.6 的位点为高频突变位点。高频突变率（%）=（高频突变位点数/氨基酸位

点总数）×100%。

1.3 统计分析

采用 Excel 2003 软件整理数据，采用 SPSS 20.0 软件统计分析。采用线性回归模型分析遗传距离与时间间隔的相关性，其回归斜率即为分子进化速率，碱基突变数=进化速率×915。检验水准 α=0.05。

2 结 果

2.1 1996—2024 年 CVA4 分离株分布特征

共纳入 1996—2024 年我国 27 个省（自治区、直辖市）的 423 株 CVA4 分离株 VP1 区核苷酸全长序列，其中 2010—2023 年 377 株，占 89.13%；2018 年、2014 年和 2023 年较多，分别为 64、46 和 32 株，占 15.13%、10.87% 和 7.57%。主要来源于云南省、四川省和山东省，分别为 114、82 和 55 株，占 26.95%、19.39% 和 13.00%。西南地区 234 株，占 55.32%；华东地区 86 株，占 20.33%。

2.2 CVA4 分离株基因型分布和同源性分析

CVA4 分离株 VP1 区 C2 亚型 412 株，占 97.40%；C1 亚型 4 株，占 0.95%；C4 亚型 3 株，占 0.71%；C3 亚型和 C5 亚型各 2 株，各占 0.47%。CVA4 分离株 VP1 区与参考序列核苷酸同源性均值为 93.81%，氨基酸同源性均值为 98.66%。分离株与基因型 A 原型株的核苷酸同源性为 83.33%～85.21%，氨基酸同源性为 97.14%～97.85%；与基因型 B 原型株的核苷酸同源性为 81.75%～82.30%，氨基酸同源性为 96.98%～98.12%；与基因型 C 原型株的核苷酸同源性为 84.25%～89.16%，氨基酸同源性为 96.95%～98.07%；与基因型 D 原型株的核苷酸同源性为 74.41%～76.23%，氨基酸同源性为 88.18%～89.57%。

2.3 序列组成

CVA4 分离株 VP1 区核苷酸碱基含量依次为腺嘌呤（A，28.49%）、C（25.45%）、尿嘧啶（U，23.79%）和 G（22.27%）；含量较高的 3 种氨基酸依次为苏氨酸（10.96%）、丙氨酸（7.69%）和丝氨酸（7.62%）；第 3 位密码子含量依次为 U_3（29.43%）、C_3（25.48%）、A_3（23.25%）和 G_3（21.84%）。有 27 个密码子的 RSCU>1，为优先使用的密码子，以 A/U 结尾的密码子有 15 个，以 G/C 结尾的密码子有 12 个。中性分析显示 GC_3 和 GC_{12} 含量相关性较弱（b=0.038，r=0.216，P<0.001）。

2.4 碱基变异和分子进化速率分析

CVA4 分离株 VP1 区核苷酸序列碱基总突变位点数为 5 376 bp，总突变率为 1.39%；其中碱基转换（91.48%）发生频率高于碱基颠换（8.52%）。嘧啶间的 C-U 突变发生频率较高，3 038 bp 占 56.51%，其次为嘌呤间的 A-G 突变，1 880 bp 占 34.97%；C-G 突变频率较低，55 bp 占 1.02%。

以 C2 亚型分离年份最早的分离株为参考序列，计算不同间隔年份分离株的核苷酸差异性，均值为 5.77%（95%*CI*：5.71%～5.84%）。以 C2 亚型分离年份为自变量，以遗传距离为因变量，进行线性回归分析。结果显示，分离年份与遗传距离呈正相关（P<0.001），C2 亚型株 VP1 区核苷酸进化速率约为 2.93×10^{-3}（95%*CI*：2.86×10^{-3}～2.99×10^{-3}）替换/（位点·年），即每个病毒株 VP1 基因每年约产生 2.68 个碱基突变。

2.5 氨基酸位点选择压力

在 CVA4 分离株 VP1 区检测到 1 个正向选择位点和 268 个负向选择位点，其中正向选择压力位点位于第 200 位（dN/dS=3.48，P=0.007）。

2.6 氨基酸置换熵值

CVA4 分离株 VP1 区 200 和 274 位点为高频突变位点，熵值分别为 0.61 和 0.69，高频突变率为 0.66%；2 个位点主要发生 VP1-A200T、VP1-K274R 的优势替换。筛选 CVA4 分离株 VP1 区 C2 亚型中明确标注临床样本来源的 328 株毒株进行分析，其中 HFMD 毒株 217 株、急性弛缓性麻痹毒株 69 株、HA 毒株 42 株。VP1-200 和 VP1-274 位点的组合类型有 4 种，分别为 200A/274K、200A/274R、200T/274K 和 200T/274R，占 0.91%、21.61%、35.06% 和 42.38%。HFMD 以 200T/274R 和 200T/274K 为主，分别有 90 和 79 株；急性弛缓性麻痹以 200T/274R 和 200A/274R 为主，分别有 38 和 25 株；HA 以 200T/274K 和 200T/274R 为主，分别有 30 和 11 株。

3 讨 论

近年来，CVA4 在 HFMD 病例中的检出率呈上升趋势，已成为我国 HFMD 和 HA 的重要致病源[6-7]，因此分析 CVA4 分离株分子进化特征对肠道病毒相关传染病防控具有重要意义。本研究通过生物信息学方法分析我国 423 株 CVA4 分离株 VP1 区核苷酸序列，了解其分布特征和基因进化特征，为 CVA4 相关疾病的防控提供了数据支撑。

我国 CVA4 分离株主要流行于 2010—2023 年，主要分离自云南省和四川省等西南地区，流行优势株为 C2 亚型，与 2017—2023 年泰国流行株以 C1 和

C3 亚型为主的报道结果[8]不同，提示 C2 亚型在我国传播适应性上具有显著的进化优势。CVA4 分离株 VP1 区序列碱基 A 与苏氨酸含量较高，组成模式与 CVA10、CVB5 分离株[9-10]相似。在密码子使用上，第 3 位密码子倾向于使用 A/U 结尾，与 CVB5 分离株偏爱性[10]相似。GC_3 和 GC_{12} 含量相关性较弱，提示自然选择是 CVA4 分离株密码子使用模式的主要进化压力，与 CVA10、CVB5 分离株 VP1 区进化模式[9-10]一致。

C2 亚型分离株 VP1 区的分离年份与遗传距离呈正相关，分子进化速率低于泰国 C1 和 C3 亚型株的 5.8×10^{-3} 替换/（位点·年）[8]。这可能因为泰国 C1 和 C3 亚型于 2014 年出现后，2017—2023 年呈现高频重组与暴发传播模式，人群密集传播导致病毒复制周期短、传代频率高，变异快速积累[8]。而我国监测数据显示，CVA4 呈现分散传播、代际间隔时间长的特征，VP1 区核苷酸同源性较高，替换速率较低[7]。

本研究发现 CVA4 分离株 VP1 区 200 和 274 位点为氨基酸高频突变位点，200 位点同时受正向选择压力影响。其中，200 位点发生 VP1-A200T 的优势替换，274 位点发生 VP1-K274R 的优势替换。研究表明，C4 基因型 EV71 分离株 VP1 区 98 和 145 位点的组合类型与 HFMD 临床轻重症相关，该位点氨基酸的性质可影响病毒与带负电荷的 HS 受体结合[11]。此外，CVA6 分离株 VP1 区 V174I 和 T283A 的氨基酸变异可能与 HFMD 的严重程度有关[12]。本研究发现不同临床表现来源的 CVA4 分离株在 200 和 274 位点氨基酸组合模式上存在差异，提示变异位点的氨基酸组合类型与疾病表征相关，可能是该位点参与决定病毒感染后临床结局的分子机制之一[11]。

综上所述，1996—2024 年 CVA4 分离株的流行优势株为 C2 亚型，主要来自我国西南地区；其 VP1 区存在进化特征和高频突变位点，200 和 274 位点为高频突变位点，且氨基酸组合类型与毒株临床表现相关。本研究结果为 CVA4 的分子流行病学监测提供了基础数据，提示需加强 CVA4 病毒变异的动态监测，为 HFMD 和 HA 等肠道病毒相关传染病的防控提供依据。本研究存在一定局限性，纳入序列来源于 BV-BRC 数据库，氨基酸组合类型与临床表现的分析为回顾性研究，其关系有待前瞻性流行病学调查和体内外实验进一步验证。

参考文献

[1] 张文婷，杜阳光，高雪，等 .2021 年江苏省徐州市手足口病和疱疹性咽峡炎病例肠道病毒病原谱分析［J］. 疾病监测，2024，39（7）：863-868.

[2] KANG Y J，SHI C，ZHOU J，et al.Multiple molecular characteristics of circulating enterovirus types among pediatric hand，foot and mouth disease patients after EV71 vaccination campaign in Wuxi，China［J/OL］.Epidemiol Infect，2022，150［2026-03-17］.https://doi.org/10.1017/S0950268822000784.

[3] 董泽丰，徐智慧，王笛，等 . 苏州市一起聚集性人感染柯萨奇病毒 A 组 4 型基因特征［J］. 中华疾病控制杂志，2023，27（3）：363-367.

[4] 尉秀霞，肖金波，李敏，等 . 聚集性发热疫情相关的柯萨奇病毒 A 组 4 型 VP1 区基因特征分析［J］. 病毒学报，2025，41（5）：1361-1366.

[5] 邹林，甄博珺，张萍，等 . 北京市通州区一起聚集性发热疫情的病原学鉴定及柯萨奇病毒 A4 型基因特征分析［J］. 病毒学报，2024，40（6）：1316-1323.

[6] FU L，LI T T，LONG J，et al.Epidemiological characteristics and influential factors of hand，foot，and mouth disease reinfection in Southwest China，2009-2022［J/OL］.BMC Infect Dis，2025，25（1）［2026-03-17］.https://doi.org/10.1186/s12879-025-11894-3.

[7] 杨溪，姜黎黎，周晓芳，等 .2018—2021 年云南省手足口病病例柯萨奇病毒 A4 型流行株基因特征［J］. 中国疫苗和免疫，2022，28（6）：690-694.

[8] PUENPA J，KORKONG S，VICHAIWATTANA P，et al.Genetic diversity and spread of recombinant coxsackievirus A4 in hand，foot，and mouth disease cases in Bangkok，Thailand：2017-2023［J/OL］.Sci Rep，2024，14（1）［2026-03-17］.https://doi.org/10.1038/s41598-024-77832-6.

[9] 陈杨慧玲，陈国清，李峰，等 .2004—2023 年柯萨奇病毒 A10 型 VP1 区基因特征分析［J］. 预防医学，2025，37（5）：486-489.

[10] 张首富，姚学君，卢正祥 . 柯萨奇病毒 B 组 5 型分离株 VP1 区序列基因组成和密码子使用模式分析［J］. 江苏预防医学，2021，32（3）：283-286.

[11] 王浩，韦欢欢，陈飞，等 . 国内 C4 基因型 EV-A71 结构蛋白 VP1 区第 98 和 145 位点分子进化特征的分析［J］. 微生物学免疫学进展，2023，51（5）：1-10.

[12] 韦欢欢，朱俊萍 . 柯萨奇病毒 A 组 6 型分子进化与其相关手足口病流行的研究［J］. 微生物学免疫学进展，2024，52（1）：72-78.

收稿日期：2026-01-29 **修回日期**：2026-03-17 **本文编辑**：徐亚慧