

2004—2023年柯萨奇病毒A10型VP1区基因特征分析

陈杨慧玲, 陈国清, 李峰, 安然, 徐兵, 姚学君

盐城市疾病预防控制中心公共卫生分子生物学重点实验室, 江苏 盐城 224000

摘要: **目的** 分析2004—2023年柯萨奇病毒A组10型(CVA10)分离株VP1区核苷酸全长序列及特征, 了解CVA10的遗传进化规律和流行趋势, 为手足口病防控提供参考。**方法** 检索BV-BRC数据库2024年12月15日前上传的CVA10分离株VP1区核苷酸全长序列, 采用生物信息学软件进行基因分型、序列分析、进化分析和氨基酸易突变位点分析。**结果** 共纳入2004—2023年1 253株CVA10分离株VP1区核苷酸全长序列, 其中2004—2008年9株, 2009—2012年338株, 2013—2023年有906株; 中国CVA10分离株数量最多, 1 143株占91.22%, 流行株为基因型C3。CVA10分离株VP1区与原型株核苷酸和氨基酸同源性分别为74.94%~77.63%和88.59%~93.62%; 第三位密码子偏好胞嘧啶和胸腺嘧啶; 氨基酸含量前三位是苏氨酸、丙氨酸和缬氨酸, 30组氨基酸密码子相对同义密码子使用度均值>1; 氨基酸置换熵值均值为0.04, 存在4个氨基酸易突变位点, 易突变率为1.35%。**结论** 2004—2023年CVA10分离株主要来源于中国, 中国流行株为基因型C3; CVA10分离株与原型株核苷酸同源性较低, 存在易突变位点, 提示应加强病毒变异监测。

关键词: 柯萨奇病毒A组10型; VP1区; 生物信息学

中图分类号: R373.23

文献标识码: A

文章编号: 2096-5087 (2025) 05-0486-04

Genetic characteristics of VP1 region of Coxsackievirus A10 from 2004 to 2023

CHEN Yanghuiling, CHEN Guoqing, LI Feng, AN Ran, XU Bing, YAO Xuejun

The Key Laboratory of Public Health Molecular Biology, Yancheng Center for Disease Control and Prevention, Yancheng, Jiangsu 224000, China

Abstract: Objective To analyze the phylogenetic characteristics of VP1 gene of Coxsackievirus A10 (CVA10) isolates from 2004 to 2023, and to understand the genetic evolution and epidemic trends of CVA10, so as to provide references for the prevention and control of hand, foot, and mouth disease. **Methods** The full-length sequences of the VP1 region of CVA10 isolates were retrieved from the BV-BRC database before December 15, 2024. Gene typing, sequence analysis, evolutionary analysis, and amino acid mutation site analysis were conducted using bioinformatics software. **Results** A total of 1 253 CVA10 isolates VP1 region nucleotide full-length sequences from 2004 to 2023 were included, with 9 strains from 2004 to 2008, 338 strains from 2009 to 2012, and 906 strains from 2013 to 2023. China had the highest number of CVA10 isolates, with 1 143 strains accounting for 91.22%, and the predominant genotype was C3. Compared to the prototype strain, the nucleotide sequence homology of the VP1 region of CVA10 isolates ranged from 74.94% to 77.63%, while the amino acid sequence homology ranged from 88.59% to 93.62%. The third codon position preferred cytosine and thymine. The top three most abundant amino acids were threonine, alanine, and valine. The average relative synonymous codon usage of 30 amino acid codon groups was greater than 1. The average amino acid substitution entropy value was 0.04, with four amino acid mutation-prone sites identified, and the mutation-prone rate was

DOI: 10.19485/j.cnki.issn2096-5087.2025.05.011

基金项目: 盐城市卫健委医学科研课题 (YK2023085); 江苏卫健委预防医学课题 (Ym2023024)

作者简介: 陈杨慧玲, 本科, 主管医师, 主要从事免疫规划和传染病防控工作

通信作者: 姚学君, E-mail: 867751611@qq.com

1.35%。 **Conclusions** From 2004 to 2023, the majority of CVA10 isolates were primarily sourced from China, with genotype C3 being the predominant circulating strain in China. The nucleotide homology between the CVA10 isolates and the prototype strain was relatively low, and mutation-prone sites were identified, indicating that enhanced monitoring of viral variation is necessary.

Keywords: Coxsackievirus A10; VP1 region; bioinformatics

手足口病是由多种肠道病毒引起的儿童常见急性传染病,其中柯萨奇病毒A组是主要的病原体之一^[1]。随着肠道病毒71型(enterovirus 71, EV71)灭活疫苗的广泛接种,手足口病病原谱发生变化^[2]。研究显示,自2013年我国部分地区EV71流行强度减弱,柯萨奇病毒A组10型(Coxsackievirus A10, CVA10)在手足口病和疱疹性咽峡炎等传染病暴发和散发疫情病原谱中所占比例上升^[3-4]。CVA10具有高度流行、易感染低月龄儿童和感染者重症比例较高等特征^[2]。肠道病毒结构蛋白VP1区具有高度的变异性和抗原性,其序列分析常用于病毒遗传进化研究,是病毒分型、溯源和疫苗研发的重要靶点^[5-6]。本研究从BV-BRC数据库检索CVA10分离株VP1区核苷酸全长序列,利用生物信息学技术分析CVA10分离株VP1区基因型变化、核苷酸和氨基酸同源性、氨基酸易突变位点等特征,为手足口病防控提供参考。

1 资料与方法

1.1 资料来源

通过BV-BRC数据库(<https://www.bv-brc.org>)检索“enterovirus”,定位至“Coxsackievirus A10”,设置基因长度为894 bp,检索2024年12月15日前上传的CVA10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DNASTar 7.1软件和MEGA 11软件比对分析CVA10分离株VP1区核苷酸序列,采用ClustalW软件进行多序列比对,参考株选取原型株Kowalik (GenBank 登记号为AF081300),采用Bootstrap法检验基因分型可靠性,循环次数为1 000次。

1.2.2 核苷酸和氨基酸序列分析

采用MEGA 11软件的配对比较和Kimura双参数模型计算不同分离株的核苷酸和氨基酸同源性,分析分离株与原型株的遗传距离,遗传同源性<85%,提示病毒进化出新的基因型;应用Models模块计算相对同义密码子使用度(relative synonymous codon usage, RSCU)和核苷酸碱基含量,了解病毒

在进化过程中密码子使用偏好。密码子腺嘌呤(adenine, A)、鸟嘌呤(guanine, G)、胞嘧啶(cytosine, C)和胸腺嘧啶(thymine, T)第一位含量,分别表示为 A_1 、 G_1 、 C_1 和 T_1 ,其他以此类推。采用Excel 2003软件和SPSS 20.0软件统计分析。奇偶偏好分析以 $A_3/(A_3+T_3)$ 为横坐标, $G_3/(G_3+C_3)$ 为纵坐标绘制散点图,图中心横坐标和纵坐标均为0.5,表明基因不受突变或自然选择压力的影响。中性分析以 GC_3 为横坐标, GC_1 、 GC_2 的平均值为纵坐标绘制散点图,散点趋势图斜率 ≈ 0 表示基因突变受自然选择压力影响,斜率显著 >0 表示受突变压力影响。

1.2.3 替换饱和度分析

采用DAMBE 7.3软件和MEGA 11软件分析纳入研究的CVA10分离株VP1区序列转换(transitions, T_s)和颠换(transversions, T_v)饱和度,ISS<ISS.c表示序列未发生替换饱和,ISS>ISS.c表示序列接受或达到饱和, $P<0.05$ 表示结果可信。

1.2.4 氨基酸置换熵值分析

采用BioEdit 7.2软件计算氨基酸置换熵值,筛选易突变位点,熵值 ≥ 0.6 为易突变位点。易突变率(%)=(易突变位点数/氨基酸位点总数) $\times 100\%$ 。

2 结果

2.1 2004—2023年CVA10分离株时空分布

共纳入2004—2023年1 253株CVA10分离株VP1区核苷酸全长序列,其中2004—2008年9株,2009—2012年338株,2013—2023年906株。来源于中国(不包括港澳台地区)的CVA10分离株数量最多,1 143株占91.22%。CVA10分离株基因分型有明显的时空分布特征,基因型B在2004—2009年主要流行于中国山东;基因型C1在2008—2016年主要流行于中国江西、云南和山东等地区,基因型C2在2011—2020年主要流行于中国四川和云南地区;基因型C3在2009—2023年主要流行于中国四川、云南、北京、江西和山西等地区;基因型D在2010年流行于法国,中国上海在2017年首次分离到1株。

2.2 序列组成

2.2.1 核苷酸组成

CVA10 分离株 VP1 区与原型株 Kowalik 核苷酸同源性为 74.94%~77.63%。CVA10 分离株 VP1 区核苷酸碱基含量由高到低分别为 A (28.38%)、C (25.59%)、G (23.92%) 和 T (22.11%); AT 碱基含量略高于 GC 碱基含量,提示分离株以自然选择进化为主。密码子第三位密码子含量均值由高到低分别为 C₃ (28.18%)、T₃ (25.88%)、A₃ (23.45%) 和 G₃ (22.49%),第三位密码子偏好 C 和 T。奇偶偏好分析结果显示,基因点散落在第三象限,提示密码子 GC₃使用度优于 AT₃,当 C₃>G₃且 T₃>A₃,自然选择对 CVA10 分离株密码子使用偏性作用为 95.93%,占主导作用。中性分析显示 GC₃ 和 GC₁₂ 含量相关性较小 ($b=0.022$, $r=0.163$, $P<0.001$),主要受自然选择压力影响。以分离年份为横坐标,分离株 GC 含量为纵坐标作散点图,发现基因型 D 的 CVA10 分离株 GC 碱基含量范围为 46.62%~47.77%,低于同期其他基因型流行株。

2.2.2 氨基酸组成

CVA10 分离株 VP1 区与原型株 Kowalik 氨基酸同源性为 88.59%~93.62%。CVA10 分离株 VP1 区氨基酸含量前三位分别为苏氨酸 (10.44%)、丙氨酸 (8.44%) 和缬氨酸 (7.77%);共有 61 组密码子,密码子 RSCU 均值为 0.07~1.91,其中 30 组密码子 RSCU 均值>1,占 49.18%,以 A/尿嘧啶和 G/C 结尾的密码子均为 15 个。

2.3 替换饱和度分析结果

ISS<ISS.c ($P<0.001$),表明 CVA10 分离株 VP1 区序列未发生替换饱和,进化速度具有持续性和稳定性。Ts 均值为 49, Tv 均值为 6, Ts/Tv 均值为 8.17。对遗传距离作图,发现 Ts 和 Tv 速率与 CVA10 分离株序列之间的进化分歧呈线性增加的关系,随着遗传距离的增加, Ts 与 Tv 速率较为接近。

2.4 氨基酸置换熵值分析结果

CVA10 分离株 VP1 区序列氨基酸置换熵值均值为 0.04,存在 4 个氨基酸易突变位点,分别为位点 14、23、283 和 284,熵值分别为 0.69、0.87、0.69 和 0.81,易突变率为 1.35%。4 个氨基酸易突变位点主要出现 VP1-S14N、VP1-A23V、VP1-I283V 和 VP1-T284A 的优势替换。位点 14、283 和 284 在进化过程中逐渐由亲水性氨基酸突变为疏水性氨基酸,

位点 23 在进化过程中逐渐由疏水性氨基酸突变为亲水性氨基酸。见表 1。

表 1 CVA10 分离株不同基因型易突变位点氨基酸变异情况
Table 1 Amino acid variability at mutation-susceptible sites across various genotypes of CVA10 isolated strains

基因型	氨基酸易突变位点			
	14	23	283	284
A	S	G	I	T
B	S	A	V	T/A
C1	S	A	I	T/A
C2	S/A	A/V	I/V	T/A
C3	N/S	A/V	I/V	T/A
D	S	T	M	A

3 讨论

CVA10 感染可引起手足口病、疱疹性咽峡炎和病毒性脑膜炎等多种疾病,近年来在不同时期和地区常引起手足口病疫情流行^[7]。研究表明,除 EV71 外,CVA10 是可单独引起手足口病重症病例的病毒^[8]。本研究基于 CVA10 分离株 VP1 区核苷酸全长序列进行遗传多样性和进化特征分析,基因型 C3 是中国流行株,与其他研究报道^[9]相似。我国基因型 D 首次在 2017 年上海手足口病病例中被分离到,该毒株是 CVA10 与 CVA16 基因型 D 重组得到,提示肠道病毒间存在重组现象,后续应加强肠道病毒病原学研究^[10]。

CVA10 分离株 VP1 区碱基 A 含量最高,与 CVB5 型分离株 VP1 区碱基含量^[11]相似。本研究显示 CVA10 分离株 VP1 区密码子偏好使用 C₃ 和 T₃,提示密码子使用频率不均衡。中性分析、奇偶偏好分析结果均揭示在毒株进化过程中自然选择起主导作用,与 EV-D68 分离株 VP1 区进化模式^[12]一致。CVA10 分离株 VP1 区 AT 碱基含量略高于 GC 碱基含量,但基因型 D 流行株 GC 碱基含量低于同期其他基因型流行株,提示不同基因型分离株 GC 碱基含量存在差异。

CVA10 分离株 VP1 区氨基酸序列组成在一定程度上保持相对稳定,病毒变异未形成明显的时间变化趋势。替换饱和度分析发现 CVA10 进化稳定,未发生替换饱和,主要为嘌呤和嘧啶内的同义替换, Ts/Tv 均值为 8.17,略高于埃可病毒 11 型分离株^[13]。

CVA10 分离株 VP1 区序列存在 4 个氨基酸易突变位点,主要发生在基因型 C2 和 C3 分离株,近年

来主要呈现 VP1-S14N、VP1-A23V、VP1-I283V 和 VP1-T284A 的流行模式。研究显示,重症手足口病病例的 CVA10 分离株 VP1 区 23 位点 V/A 比值和 283 位点 V/I 比值均为 4,高于轻症手足口病病例,提示位点 23 和 283 在进化过程中容易发生变异,可能与病毒毒力增强或传播能力提升有关^[12, 14]。位点 284 是 VP1 区重要结构域,是病毒中和的关键位点,也是正向选择压力位点^[15],提示在病毒进化自然选择中,该位点突变可能为病毒的生存和繁殖提供了优势。

综上所述,本研究通过分析 BV-BRC 数据库收录的 2004—2023 年 CVA10 分离株 VP1 区核苷酸全长序列发现,中国 CVA10 流行株 VP1 区以基因型 C3 为主;CVA10 分离株与原型株的核苷酸同源性较低,且存在易突变位点。这些发现为肠道病毒传染病监测提供基础数据,为 CVA10 引起的手足口病等传染病的预防和控制提供依据,需加强病毒变异监测。

参考文献

- [1] 田莲鑫,杨敬源,高岚,等. 基于 Joinpoint 回归模型分析贵阳市 2008—2022 年手足口病的流行病学和病原学特征 [J]. 现代预防医学, 2024, 51 (22): 4057-4062, 4106.
TIAN L X, YANG J Y, GAO L, et al. Analyze on epidemiological and pathogenetic characteristics of hand-foot-mouth disease based on joinpoint regression modeling, Guiyang, 2008-2022 [J]. Mod Prev Med J, 2024, 51 (22): 4057-4062, 4106. (in Chinese)
- [2] XIE J, YANG X H, HU S Q, et al. Co-circulation of coxsackieviruses A-6, A-10, and A-16 causes hand, foot, and mouth disease in Guangzhou city, China [J]. BMC Infect Dis, 2020, 20 (1): 271-281.
- [3] 练惠敏. 2019—2022 年广东省手足口病主要病原分子进化与血清流行病学特征研究 [D]. 广州: 南方医科大学, 2024.
LIAN H M. Molecular evolution and seroepidemiological characteristics of hand-foot-mouth disease in Guangdong province from 2019 to 2022 [D]. Guangzhou: Southern Medical University, 2024. (in Chinese)
- [4] 张儒豪,光旭,何逸飞,等. 2013—2022 年广东省深圳市手足口病流行特征和病原学分析 [J]. 疾病监测, 2024, 39 (10): 1263-1269.
ZHANG R H, GUANG X, HE Y F, et al. Epidemiological and etiological characteristics of hand, foot and mouth disease in Shenzhen, Guangdong, 2013-2022 [J]. Dis Surveill, 2024, 39 (10): 1263-1269. (in Chinese)
- [5] 曾庆,刘静雯,耿进妹,等. 广州市柯萨奇病毒 A10 型 VP1 区基因特征分析 [J]. 预防医学情报杂志, 2022, 38 (9): 1243-1248.
ZENG Q, LIU J W, GENG J M, et al. Genetic characteristics of VP1 region of coxsackievirus A10 in Guangzhou [J]. J Prev Med Inf, 2022, 38 (9): 1243-1248. (in Chinese)
- [6] 黄琼姿,朱瑞,徐龙发,等. 致手足口病柯萨奇病毒 A6 型和 A10 型相关疫苗的研究进展 [J]. 病毒学报, 2023, 39 (4): 1193-1202.
HUANG Q Z, ZHU R, XU L F, et al. Research progress on vaccines related to coxsackievirus A6 and A10 causing hand, foot and mouth disease [J]. Chin J Virol, 2023, 39 (4): 1193-1202. (in Chinese)
- [7] 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.
ZHANG W T, DU Y G, GAO X, et al. Pathogen spectra of hand, foot and mouth disease and herpangina in Xuzhou, Jiangsu, 2021 [J]. Dis Surveill, 2024, 39 (7): 863-868. (in Chinese)
- [8] XIA M Y, ZHU Y, LIAO J, et al. Clinical, aetiological, and epidemiological studies of outpatient cases of hand, foot, and mouth disease in Chengdu, China, from 2019 to 2022: a retrospective study [J]. BMC Public Health, 2024, 24 (1): 3427-3436.
- [9] 霍雅倩,高帆,刘佩,等. 柯萨奇病毒 A 组 10 型时空进化分析 [J]. 中国病毒病杂志, 2021, 11 (4): 275-283.
HUO Y Q, GAO F, LIU P, et al. Spatio-temporal evolution of coxsackievirus A10 [J]. Chin J Vir Dis, 2021, 11 (4): 275-283. (in Chinese)
- [10] WANG J Y, LIU J J, FANG F H, et al. Genomic surveillance of coxsackievirus A10 reveals genetic features and recent appearance of genogroup D in Shanghai, China, 2016-2020 [J]. Virol Sin, 2022, 37 (2): 177-186.
- [11] 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.
ZHANG S F, YAO X J, LU Z X. Analysis of gene composition and codon usage pattern of VP1 region of coxsackievirus B5 isolated strains [J]. Jiangsu J Prev Med, 2021, 32 (3): 283-286. (in Chinese)
- [12] 卢正祥,姚学君,陈国清,等. 肠道病毒 68 型分离株 VP1 区序列分子进化研究 [J]. 江苏预防医学, 2022, 33 (4): 375-378.
LU Z X, YAO X J, CHEN G Q, et al. Molecular evolution analysis of VP1 region of enterovirus 68 isolated strains [J]. Jiangsu J Prev Med, 2022, 33 (4): 375-378. (in Chinese)
- [13] 姚学君,管书慧,陈国清,等. 埃可病毒 11 型分离株的分子流行病学研究 [J]. 江苏预防医学, 2020, 31 (2): 125-129.
YAO X J, GUAN S H, CHEN G Q, et al. Molecular epidemiological analysis of the isolated ecovirus 11 strains [J]. Jiangsu J Prev Med, 2020, 31 (2): 125-129. (in Chinese)
- [14] CHEN L, XU S J, YAO X J, et al. Molecular epidemiology of enteroviruses associated with severe hand, foot and mouth disease in Shenzhen, China, 2014-2018 [J]. Arch Virol, 2020, 165 (10): 2213-2227.
- [15] 陈建华,武海卓,赵哲,等. 2014—2021 年甘肃省柯萨奇病毒 A10 型 VP1 区基因特征分析 [J]. 疾病监测, 2024, 39 (9): 1179-1184.
CHEN J H, WU H Z, ZHAO Z, et al. Genetic characteristics of VP1 region of coxsackievirus A10 in Gansu, 2014-2021 [J]. Dis Surveill, 2024, 39 (9): 1179-1184. (in Chinese)

收稿日期: 2025-01-07 修回日期: 2025-03-23 本文编辑: 徐亚慧