

DOI: 10.3724/SP.J.1005.2012.00666

HCV 基因型的差异性流行与进化

赵璐, 冯悦, 夏雪山

昆明理工大学生命科学与技术学院, 昆明 650500

摘要: 丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus, HCV)是导致慢性肝炎的主要病原体之一, 全球感染人数大约为 1.7 亿。HCV 基因组具有高度变异特性, 利用现代遗传分类方法, 可将 HCV 分为 6 个基因型和 80 多个基因亚型。不同 HCV 基因型、亚型的分布与流行具有明显地域特性: 1 型、2 型呈全球流行态势, 3 型主要流行于亚洲、北美及欧洲部分地区, 4 型主要流行于中非、中东和欧洲地区, 5 型主要发现于非洲和欧洲部分国家, 6 型则主要在东南亚和北美地区流行。我国流行的 HCV 有 1、2、3 和 6 四种基因型, 北方仍以 1b 和 2a 型为主要流行基因型, 近年来 3 型和 6 型在华南、西南地区快速传播。据推断, 云南将可能成为我国 HCV 流行与传播的重要源头, 引起目前 HCV 基因型/亚型分布的较大变化, 并呈现多样化的传播方式。通过溯祖理论和进化分子钟等分析方法, 了解 HCV 不同基因型差异性流行与进化, 对研究 HCV 的分子流行病学特征, 对应性制定丙型肝炎的预防控制策略具有重要意义。

关键词: HCV; 流行; 分子钟; 进化; 基因型

The different epidemic and evolution of HCV genotypes

ZHAO Lu, FENG Yue, XIA Xue-Shan

Faculty of Life Science and Technology, Kunming University of Science and Technology, Kunming 650500, China

Abstract: Hepatitis C virus (HCV) is a prevalent and globally distributed human pathogen that currently infects an estimated 170 million people. Chronic HCV infection significantly increases the risk of chronic hepatitis. The virus exhibits a very high degree of genetic diversity that is classified six genotypes and sub-classified more than 80 subtypes by phylogenetic analysis. The various genotypes and subtypes of HCV have been associated with different epidemiological and geographical spread patterns. Genotypes 1 and 2 are globally distributed; genotype 3 is predominant in Asia, North America and parts of Europe; similar regional patterns of endemic diversity have been found for genotype 4 in Europe, Middle East and Central Africa, for genotype 5 in parts of Africa and Europe, and for genotype 6 in Southeast Asia and North America. Up to date, four HCV genotypes, including genotype 1, 2, 3 and 6, were identified in China. Genotypes 1b and 2a were mainly found in Northern China. The fast spreading of genotypes 3 and 6 in Southern and South-Western China was reported by recent studies. It's deduced that Yunnan may become an important source of HCV epidemic and spread, which will cause great changes in the distribution of HCV genotypes and subtypes, and a variety of transmission. With the development of evolution theory and related analysis methods, such as coalescent theory and evolutionary molecular, it is possi-

收稿日期: 2011-11-11; 修回日期: 2012-02-15

作者简介: 赵璐, 硕士在读, 专业方向: 分子病毒学。E-mail: 861202_zl@163.com

通讯作者: 夏雪山, 博士, 教授, 博士生导师, 研究方向: 分子病毒学。E-mail: oliverxia2000@yahoo.com.cn

ble to understand the characters of virus evolution and migration. For HCV, the further understanding on the prevalence and evolution characters of various genotypes is very important for the deep investigation of HCV epidemic and the development of prevention strategy.

Keywords: HCV; prevalence; molecular clock; evolution; genotype

丙型肝炎病毒(Hepatitis C virus, HCV)是导致慢性肝炎的主要病原体之一。据估计,全球大约有1.2亿到1.8亿人被HCV感染,占总人口的2%~3%,每年新增感染者200到400万^[1]。HCV一经感染,仅有15%~25%的感染者可通过自身免疫反应清除病毒,75%~85%的感染者将发展成慢性感染,其中10%~20%的HCV慢性感染者会发展成肝硬化,约5%的病人最后发展成肝癌^[2]。在美国等西方国家,丙型肝炎已成为第一大肝病和肝移植诱因^[3]。我国约3800万人感染HCV,一般人群抗HCV血清阳性率为3.2%。近年来,医源性事故所造成的群体性丙型肝炎感染事件频发,新发病例数逐年上升,丙型肝炎已经成为乙肝之后我国第二大类病毒性肝病^[4,5]。实验动物模型等关键研究手段的缺乏,对丙型肝炎病毒病原学特征、致病机制的了解还非常不足,现有药物对疾病的治疗效果也不尽理想,保护性疫苗的成功研制尚不可预期。

1 HCV 的遗传多样性

HCV为单股正链RNA病毒,基因组全长9.6 kb,在感染者体内每天约有 10^{12} 个新生病毒产生,病毒在感染者体内半衰期约3 h^[6]。病毒主要复制酶——依赖RNA的RNA聚合酶缺乏校对功能,病毒每繁殖一代的核酸突变率为 1.44×10^{-3} 核苷酸,不同基因型病毒间的基因重组也已经被研究证实^[7]。病毒快速复制过程中,如此高的基因突变频率及已经出现的重组推动着HCV快速演化。HCV基因组包括5'非翻译区、一个含3011个氨基酸的多肽蛋白的开放读码框架(Open reading frame, ORF)和3'非翻译区组成。ORF编码一个大的前体蛋白,此蛋白可被宿主和病毒蛋白加工成结构蛋白(Core、E1、E2和p7)和非结构蛋白(NS2-5)等10个蛋白质^[8]。5'UTR区和core蛋白编码区较为保守^[9]。1/E2/NS5区段具有较高的变异率,常用作HCV的基因分

型和进化分析的靶序列^[10,11]。软件,根据不同毒株的基因差异性及其同源关系,可将HCV分为不同的基因型和亚型,核苷酸差异率大于30%的为不同基因型,差异度在15%~30%之间为不同亚型^[12]。CV基因的核苷酸序列的同源性和目前采用的Simmonds系统^[13]法,可将HCV分为6个基因型,分别为1~6型,和至少80多个基因亚型^[10]。HCV的每个基因型乃至亚型都有不同的传播与流行特点,某些基因型在世界范围内广泛分布,如1型和2型。另一些基因型只在特定的区域流行,称作“地方流行性”亚型,如3型主要流行于亚洲、北美及欧洲部分地区,4型主要流行于中非、中东和欧洲地区,5型主要发现于非洲和欧洲部分国家,6型则主要在东南亚和北美地区流行^[14]。本文从HCV Sequence Database^[15]中筛选含有E1/E2或NS5核酸序列的所有基因型进行对比分析,进一步验证了HCV基因型的流行特点(图1)。

丙型肝炎病毒的遗传多样性对疾病进程及药物治疗反应性都有很大影响。研究表明,1型病毒的体内复制速度明显高于其他基因型,1b型患者肝脏组织学分级、病程进展速度也明显高于2型^[16]。尽管因长效干扰素(Peg-IFN)的使用,IFN- α -利巴韦林联合疗法的治疗有效性已得到一定提高,但仍有接近50%的患者对治疗不敏感或无反应。所感染HCV基因型的不同是影响治疗反应性的主要因素之一,1b型患者的IFN- α 药物治疗效果明显低于1a、2a、2b和3型^[17]。同时,HCV病毒毒力、复制速度等方面的特性都与HCV病毒变异所产生的众多基因型直接相关。以核酸杂交和PCR为基础的现代诊断方法,以基因作为主要诊断靶点,其适用性和诊断准确性也受到不同HCV基因型核酸序列变异的直接影响。另外,由于HCV的高度变异特性,具有普遍保护作用的预防性疫苗的研制难度较大,根据病毒的地方基因型、亚型的分布特点针对性研发地方疫苗,也

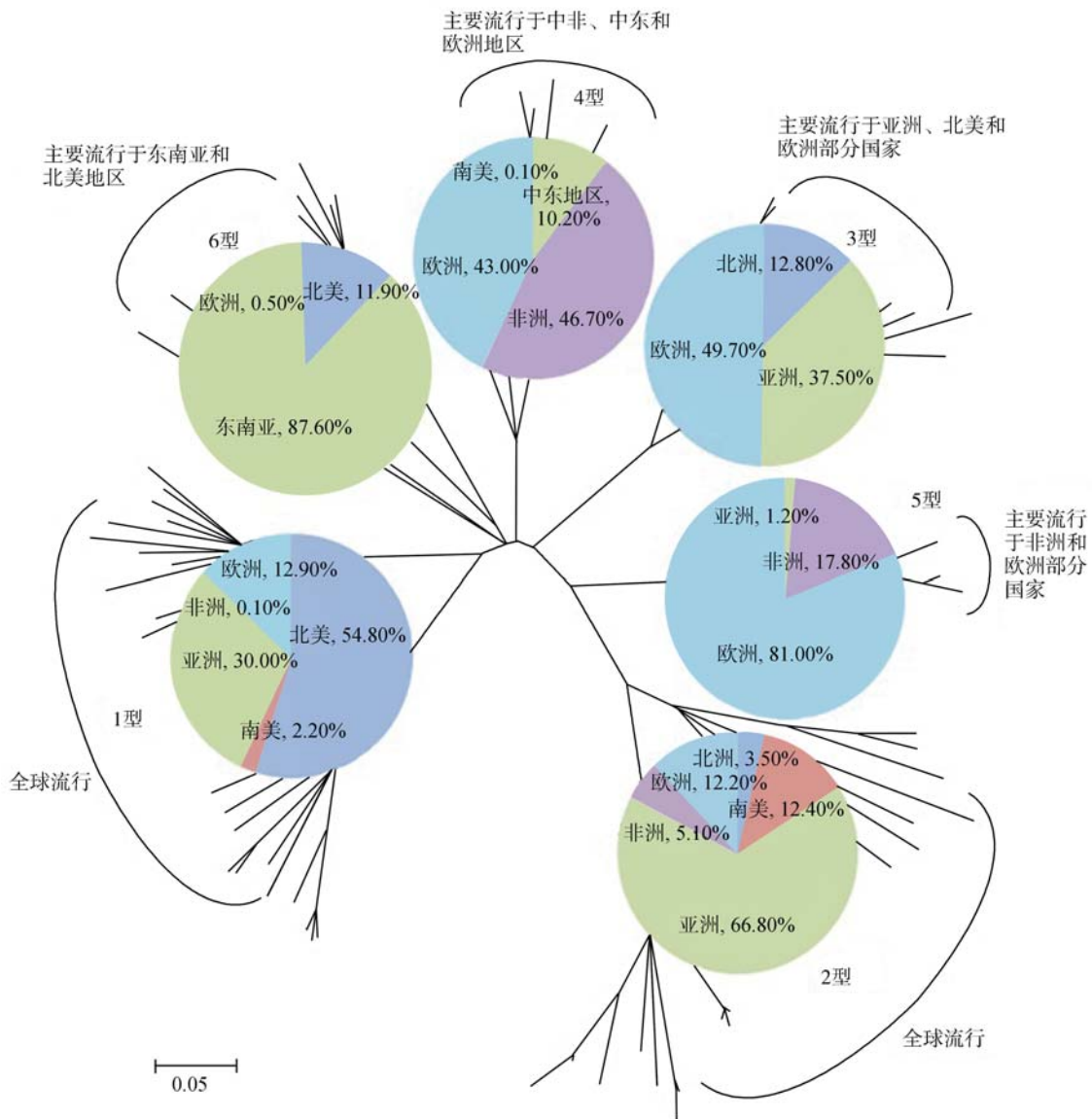


图 1 各 HCV 基因型同源关系及其地区差异分布

饼图代表 HCV Sequence Database 中不同基因型参考株各地区分布比例。

是 HCV 疫苗研究的可循途径。

2 HCV 进化分析方法

由于 HCV 基因型、亚型是疾病诊断、病程预后、治疗措施与疫苗研发、社会防控措施制定的主要影响因素, HCV 分子流行病学及在此基础上的病毒演化、进化特点一直是国际研究热点。利用新发展的生物信息学计算方法, 可以计算或推测病毒的流行和进化特点, 分析传染病病原体来源和传播过程, 预测将来可能的传播方向和变化趋势。目前, 国际上对 HCV 的流行和进化分析的研究方法比较成熟,

但由于对 HCV 的研究起步较晚, 国内大部分的研究仍限于用普通的统计学方法来阐述 HCV 的常规流行病特征。我国人口基数大, 自然人群中 HCV 感染率高, 采用现代流行病学和进化分析方法进行 HCV 的分子流行病学研究就显得尤为重要。根据 HCV 的流行与进化特点可以科学推测 HCV 流行的动态发展, 并可结合历史事件揭示 HCV 传播的途径和源头, 对疾病的预防控制具有重要参考价值。

由于病毒难以类似于动植物形成化石长期留存, 能做到病毒样品的保存也仅有几十年时间, 因此难以用得到历史样本序列的方法研究 HCV 的进化行

为。近年来, Pybus等^[18]将人类群体遗传学的溯祖理论(Coalescent theory)和进化分子钟(Evolutionary molecular clock)方法引入病毒学研究, 可以根据时段HCV的群体基因变异程度和已知的核酸变异速率, 推导病毒的起源时间和进化速率, 了解其历史传播特性和进化行为。根据进化分子钟的基本理论, 已开发出多种软件用以分析病毒的演化、进化。目前使用最多的进化分析软件是由Drummond等^[19]开发的BEAST软件, 它采用广泛应用于现代统计学、生态学、分子生物学和遗传学等领域^[20]的贝叶斯-马氏蒙特卡洛(Bayesian MCMC)概率分析方法, 根据研究对象的不同选择不同模型进行进化分析。

3 全球 HCV 的流行与进化

根据其基因核酸序列同源性, HCV 可以被分为至少 6 个基因型和 80 多个基因亚型, 不同基因型的 HCV 病毒具有不同的流行行为与传播特性(图 1)。在特定地区、特定人群中, 病毒的基因型、亚型的分布与流行也并非一成不变, 而是随着人群的流动、危险行为的改变以及与疾病传播相关历史事件的发生而发生变化。

现有HCV基因型中, 1型和2型是全球流行基因型, 它们不同亚型的传播途径和进化特点也有很大的区别。研究发现, 1a型的起源时间大约在 1906~1960年, 尽管全球传播, 但感染人数较少。1b型起源于 1922~1940年^[21], 最早主要通过静脉吸毒在美国和加拿大传播, 并于 1920~1930年开始因吸毒、贩毒呈现全球流行^[22]。至 20 世纪 50 年代, 静脉吸毒者所致的HCV感染者中高达 70%至 90%为 1b型^[22]。在 1946~1956年, 1b型传到了日本和中国香港, 并扩散至亚洲其他国家, 成为主要流行基因型^[23]。2型大约是在 1536年前后起源于非洲西部^[24], 在非洲贩奴贸易达到高峰期的 17 和 18 世纪, 2型在西非和中非大范围传播, 并随着奴隶贩运传播到美洲等其他地区^[24]。其后, 由于殖民侵占和人口迁移, 2型在亚洲快速传播^[14]。另一部分是相对流行与传播范围相对较小的HCV基因型称为“地方性流行基因型”, 包括 3、4、5 和 6 型 4 种基因型。3型大约在 1920~1930年间起源于东南亚的巴基斯坦^[25,26], 由于不洁注射用品和受污染器械的使用, 在 1950年前后在巴基斯坦开始大范围流行^[27]。其后, 3型随着毒品运输从金新月地区(伊朗、阿富汗、巴基斯坦北部)和金三

角地区(泰国、缅甸、老挝交界处)传播到欧洲和我国西南地区^[25,28]。在波兰等东欧国家, 由于静脉吸毒人群的增多, 3a型在近年呈现快速传播态势^[29]。根据进化分析推算, 4型在 1539年前后起源于中非, 由于治疗锥虫病不洁针具的使用, 在 1935~1965年间在中非地区传播^[30]。20世纪 50~80年代, 埃及等国家为治疗血吸虫病注射吡喹酮引起的注射污染, 导致 4型在西亚、中东地区广泛传播, 并传入欧洲^[31~33]。目前, 对 5 型的研究比较少, 其 5a亚型起源于非洲, 在 19世纪中期通过贸易和旅行传入比利时^[34], 通过输血和血制品使用在欧洲部分地区局限性传播^[35]。目前亚型种类(22个, 6a~6v)最多的 6型, 根据进化分析推算约在 1100~1350年间起源于东南亚中部, 然后缓慢地向周边地区传播^[24,36], 至 21 世纪, 6型在东南亚地区快速传播, 感染人数激增。研究发现, 6型迅速传播通过多种途径实现, 包括血液制品的使用、血浆的使用、毒品的注射和不洁医疗用具的使用^[37]。尽管由于贸易全球化、人员往来频繁, 6型的一些亚型在加拿大魁北克及北美洲其他地区也有发现^[7], 但至今 6型仍未发生全球流行, 主要在东南亚周边地区及东南亚后裔人群内发现^[24], 部分亚型如 6d在越南、6f在泰国、6g在印度尼西亚、6q在柬埔寨呈现封闭流行状态^[38]。

由于 HCV 起源地、地域封闭性和早期传播的途径有很大的差别, 导致不同的基因型传播范围的差异性。而根据以上 HCV 传播与进化研究, 已可科学推断每种基因型的起源时间和起源地, 并结合传播途径和历史事件分析出各基因型的历史传播特性和未来流行趋势。

4 我国 HCV 的流行和进化

我国属HCV的中高度感染区, 目前流行的HCV基因型为 1、2、3 和 6 型 4 种基因型, 南方以 1b型为主, 北方以 1b和 2a型为主^[4], 近年来, 西南地区 6型和 3 型快速流行, 成为主要流行基因型^[39]。根据同源进化关系, 我国流行的 1b型HCV毒株至少可被分成 3 个不同的簇, 其中两个簇主要在我国分布, 而第三簇为旅行和移民带来的外源毒株^[40]。我国主要分布的两个簇传播一般认为由较差的社会医疗条件和医疗事故所致, 其传播和进化特性明显不同。第一簇起源于 1968年, 在 1968~1990年快速传播, 尤其在 1966~1976年的文化大革命时期, 大量非专

业和未经专业培训的医疗工作者进入医疗岗位, 医疗事故成为HCV传播主要原因。第二簇起源于1975年, 在1975~1985年快速传播, 主要为不洁输血和血制品的使用所致。Fu等^[41]通过对全国第一批无偿献血者的研究, 发现中国流行的2a型HCV毒株可以被分为两个不同的簇, 第一簇主要在国内分布, 另外一簇主要由外源毒株组成, 2a和1b早期的传播相似, 但近些年在我国南方地区的献血者检测结果2a型所占比例都出现了明显下降的趋势^[41-43]。Zhang等^[44]研究发现, 在我国江苏地区已有6种基因型(1b、2a、3a、3b、6a、6e、6n), 主要流行基因型为3a和1b, 江苏地区的3型和6型起源于云南。Fu等^[45]通过对华南地区献血者中HCV分子流行病学研究, 发现6a型的快速传播与广泛流行, 认为6a型于1978年主要通过越南移民, 传入我国华南、西南地区, 通过静脉吸毒于1997~2000前后在西南地区快速传播^[46], 目前6a型已经在广州地区成为最主要的流行基因型^[41,45]。云南地处西南边陲, 毗邻主要毒品产地“金三角”地区, 由于吸毒贩毒问题严重, 成为HIV、HCV等血液传播疾病传入我国大陆的重要门户^[47]。云南省吸毒人群中HCV和HIV共感染率都在80%以上, 我们发现部分地州的静脉吸毒人群的HCV阳性率达到了93%^[39,48], 在该人群中, 我们至少发现8种HCV基因型/亚型(1a/1b/3a/3b/6a/6n/6u/6v), 以1型、3型和6型为主要流行HCV基因型, 其中6u/6v亚型为全球首次发现并命名^[49,50]。云南HCV基因型、亚型流行状况, 与我国内陆地区1b和2a为主的流行状况有很大不同, 而与东南亚各国类似^[51]。Zhou等^[52]研究表明, 在普通肝病患者、尤其在老年人患者中1b/2a仍为的主要流行型, 然而3/6型在逐年增多, 静脉吸毒人群所流行的HCV基因型正在向普通人群扩散。云南省的HCV多基因型共存及6型逐渐增多流行态势, 可能影响我国HCV基因型分布总体格局。据报道, 我国的HCV传播方式呈现多元化, 性传播正逐步成为中部地区主要的传播途径^[53]。可以推断, 云南将可能成为我国HCV流行与传播的重要源头, 引起目前HCV基因型/亚型分布的较大变化, 并呈现多样化的传播方式, 直接影响HCV诊断、病程预后及疾病的治疗与防控。

5 展望

为了提高人们对HCV等肝炎病毒及其引起疾病

的重视, 世界卫生组织将2011年7月28日定为首个正式世界肝炎日^[54], 呼吁政府加强病毒性肝炎及其相关疾病的预防、筛查及控制。我国的HCV感染率较高, 人口基数大, 但对HCV的认识和研究起步较晚, 病人就诊、就医率低加剧了HCV的潜在危害。另外, 我国农村医疗体系尚不完善, 贩毒、吸毒现已成为较为普遍的社会问题, 这些在客观上为HIV/HCV等血源传播病原体的传播提供了便利条件。云南省被公认为我国艾滋病(HIV)流行与传播的中心^[55], HCV与HIV具有相同的传播途径, 该省HCV流行与危害也非常严重, 并有其独特的特点。研究表明, 云南省及西南、华南地区的最新HCV基因型/亚型分布状况, 正影响着周边地区, 改变着我国HCV分子流行病学现状。为更有效、科学预防和控制丙型肝炎的传播与流行, 一方面需要对我国HCV的流行和进化进行深入分析, 尤其对于未来可能影响全国HCV基因型分布云南的深入研究, 以明确各主要流行基因型的起源时间与可能起源地, 了解病毒的种系发育和进化特性, 预测将来HCV主要流行基因型的变化趋势, 并为HCV疫苗的设计研发提供必要依据; 另一方面需要建立健全全国HCV监控网络, 掌握HCV的动态变化及影响因素, 在了解疾病流行特征与规律的基础上, 制定合理的预防控制措施, 最终做到丙型肝炎的有效控制, 服务于社会发展、人民福祉。

参考文献(References):

- [1] Centers for Disease Control and Prevention(CDC). Recommendations for prevention and control of hepatitis C virus (HCV) infection and HCV related chronic disease. *MMWR Recomm Rep*, 1998, 47(RR19): 1-39. DOI
- [2] Lauer GM, Walker BD. Hepatitis C virus infection. *N Engl J Med*, 2001, 345(1): 41-52. DOI
- [3] Williams R. Global challenges in liver disease. *Hepatology*, 2006, 44(3): 521-526. DOI
- [4] Chen YD, Liu MY, Yu WL, Li JQ, Peng M, Dai Q, Liu X, Zhou ZQ. Hepatitis C virus infections and genotypes in China. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int*, 2002, 1(2): 194-201. DOI
- [5] Xia X, Luo J, Bai JL, Yu RB. Epidemiology of hepatitis C virus infection among injection drug users in China: systematic review and meta-analysis. *Public Health*, 2008, 122(10): 990-1003. DOI
- [6] Tsukiyama-Kohara K, Iizuka N, Kohara M, Nomoto A.

- Internal ribosome entry site within hepatitis C virus RNA. *J Virol*, 1992, 66(3): 1476–1483. [DOI](#)
- [7] Neumann AU, Lam NP, Dahari H, Gretch DR, Wiley TE, Layden TJ, Perelson AS. Hepatitis C viral dynamics in vivo and the antiviral efficacy of interferon- α therapy. *Science*, 1998, 282(5386): 103–107. [DOI](#)
- [8] Kang SM, Choi SH, Park CY, Kim MH, Kim TK, Park JM, Koh MS, Kang HJ, Hwang SB. Monoclonal antibody recognizing N-terminal epitope of hepatitis C virus nonstructural 5B inhibits viral RNA replication. *J Viral Hepat*, 2008, 15(4): 305–313. [DOI](#)
- [9] 张中林, 山松, 陈曦, 苏宁, 吴祥甫, 钱凯先, 沈桂芳. 丙肝病毒融合抗原基因NS3-C定点整合入衣藻叶绿体基因组的研究. *遗传*, 1999, 21(6): 1–173. [DOI](#)
- [10] Simmonds P, Holmes EC, Cha TA, Chan SW, McOmish F, Irvine B, Beall E, Yap PL, Kolberg J, Urdea MS. Classification of hepatitis C virus into six major genotypes and a series of subtypes by phylogenetic analysis of the NS-5 region. *J Gen Virol*, 1993, 74(Pt11): 2391–2399. [DOI](#)
- [11] Murphy DG, Willems B, Deschênes M, Hilzenrat N, Mousseau R, Sabbah S. Use of sequence analysis of the NS5B region for routine genotyping of hepatitis C virus with reference to C/E1 and 5' untranslated region sequences. *J Clin Microbiol*, 2007, 45(4): 1102–1112. [DOI](#)
- [12] Simmonds P. Genetic diversity and evolution of hepatitis C virus 15-years on. *J Gen Virol*, 2004, 85(Pt11): 3173–3188. [DOI](#)
- [13] Major ME, Feinstone SM. The molecular virology of hepatitis C. *Hepatology*, 1997, 25(6): 1527–1538. [DOI](#)
- [14] Pybus OG, Markov PV, Wu A, Tatem AJ. Investigating the endemic transmission of the hepatitis C virus. *Int J Parasitol*, 2007, 37(8–9): 839–849. [DOI](#)
- [15] Kuiken C, Yusim K, Boykin L, Richardson R. The Los Alamos hepatitis C sequence database. *Bioinformatics*, 2001, 17(3): 379–384. [DOI](#)
- [16] Kryczka W, Brojer E, Zarebska-Michaluk D, Medyńska J, Urbaniak A. Factors influencing natural history of chronic hepatitis C. *Med Sci Monit*, 2001, (Suppl. 1): 212–216. [DOI](#)
- [17] Nakano I, Fukuda Y, Katano Y, Toyoda H, Hayashi K, Hayakawa T, Kumada T, Nakano S. Interferon responsiveness in patients infected with hepatitis C virus 1b differs depending on viral subtype. *Gut*, 2001, 49(2): 263–267. [DOI](#)
- [18] Nakano T, Lu L, Liu P, Pybus OG. Viral gene sequences reveal the variable history of hepatitis C virus infection among countries. *J Infect Dis*, 2004, 190(6): 1098–1108. [DOI](#)
- [19] Drummond AJ, Rambaut A. BEAST: Bayesian evolutionary analysis by sampling trees. *BMC Evol Biol*, 2007, 7: 214. [DOI](#)
- [20] 敖雁, 朱明星, 徐辰武. 贝叶斯统计在QTL作图中的应用研究进展. *遗传*, 2007, 29(6): 668–674. [DOI](#)
- [21] Magiorkinis G, Magiorkinis E, Paraskevis D, Ho SY, Shapiro B, Pybus OG, Allain JP, Hatzakis A. The global spread of hepatitis C virus 1a and 1b: A phylogenetic and phylogeographic analysis. *PLoS Med*, 2009, 6(12): e1000198. [DOI](#)
- [22] Courtwright D. Dark paradise: a history of opiate addiction in America. Cambridge: Harvard University Press, 2001. [DOI](#)
- [23] Stimson GV. The global diffusion of injecting drug use: implications for human immunodeficiency virus infection. *Bull Narc*, 1993, 45(1): 3–17. [DOI](#)
- [24] Markov PV, Pepin J, Frost E, Deslandes S, Labbé AC, Pybus OG. Phylogeography and molecular epidemiology of hepatitis C virus genotype 2 in Africa. *J Gen Virol*, 2009, 90(Pt9): 2086–2096. [DOI](#)
- [25] Khan A, Tanaka Y, Azam Z, Abbas Z, Kurbanov F, Saleem U, Hamid S, Jafri W, Mizokami M. Epidemic spread of hepatitis C virus genotype 3a and relation to high incidence of hepatocellular carcinoma in Pakistan. *J Med Virol*, 2009, 81(7): 1189–1197. [DOI](#)
- [26] Verma V, Chakravarti A, Kar P. Genotypic characterization of hepatitis C virus and its significance in patients with chronic liver disease from Northern India. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 2008, 61(4): 408–414. [DOI](#)
- [27] EMRO. Health System Organization-Health System Profile-Pakistan. Regional Health Systems Observatory-World Health Organization, 2007: 28–42.
- [28] Pybus OG, Cochrane A, Holmes EC, Simmonds P. The hepatitis C virus epidemic among injecting drug users. *Infect Genet Evol*, 2005, 5(2): 131–139. [DOI](#)
- [29] Esteban JI, Sauleda S, Quer J. The changing epidemiology of hepatitis C virus infection in Europe. *J Hepatol*, 2008, 48(1): 148–162. [DOI](#)
- [30] Njouom R, Frost E, Deslandes S, Mamadou-Yaya F, Labbé AC, Pouillot R, Mbélesso P, Mbadingai S, Rousset D, Pépin J. Predominance of hepatitis C virus genotype 4 infection and rapid transmission between 1935 and 1965 in the Central African Republic. *J Gen Virol*, 2009, 90(Pt 10): 2452–2456. [DOI](#)
- [31] Abdel-Hamid M, El-Daly M, Molnégren V, El-Kafrawy S, Abdel-Latif S, Esmat G, Strickland GT, Loffredo C, Albert J, Widell A. Genetic diversity in hepatitis C virus in Egypt and possible association with hepatocellular carcinoma. *J Gen Virol*, 2007, 88(Pt 5): 1526–1531. [DOI](#)
- [32] Pybus OG, Drummond AJ, Nakano T, Robertson BH, Rambaut A. The epidemiology and iatrogenic transmission

- of hepatitis C virus in Egypt: A Bayesian coalescent approach. *Mol Biol Evol*, 2003, 20(3): 381–387. [DOI](#)
- [33] Tanaka Y, Agha S, Saady N, Kurbanov F, Orito E, Kato T, Abo-Zeid M, Khalaf M, Miyakawa Y, Mizokami M. Exponential spread of hepatitis C virus genotype 4a in Egypt. *J Mol Evol*, 2004, 58(2): 191–195. [DOI](#)
- [34] Verbeeck J, Maes P, Lemey P, Pybus OG, Wollants E, Song E, Nevens F, Fevery J, Delpont W, Van der Merwe S, Van Ranst M. Investigating the origin and spread of hepatitis C virus genotype 5a. *J Virol*, 2006, 80(9): 4220–4226. [DOI](#)
- [35] Henquell C, Guglielmini J, Verbeeck J, Mahul A, Thibault V, Lebray P, Laperche S, Trimoulet P, Foucher J, Le Guillou-Guillemette H, Fouchard-Hubert I, Legrand-Abravanel F, Métivier S, Gaudy C, D'Alteroche L, Rosenberg AR, Podgevin P, Plantier JC, Riachi G, Saoudin H, Coppere H, André E, Gournay J, Feray C, Vallet S, Nousbaum JB, Baazia Y, Roulot D, Alain S, Loustaud-Ratti V, Schvoerer E, Habersetzer F, Pérez-Serra RJ, Gourari S, Mirand A, Odent-Malaure H, Garraud O, Izopet J, Bommelaer G, Peigue-Lafeuille H, van Ranst M, Abergel A, Bailly JL. Evolutionary history of hepatitis C virus genotype 5a in France, a multicenter ANRS study. *Infection, Genetics and Evolution*, 2011, 11(2): 496–503. [DOI](#)
- [36] World Health Organization. Hepatitis C-global prevalence. *Wkly Epidemiol Rec*, 1997, 14(46): 341–344. [DOI](#)
- [37] Hauri AM, Armstrong GL, Hutin YJ. The global burden of disease attributable to contaminated injections given in health care settings. *Int J STD AIDS*, 2004, 15(1): 7–16. [DOI](#)
- [38] Stumpf MPH, Pybus OG. Genetic diversity and models of viral evolution for the hepatitis C virus. *FEMS Microbiol Lett*, 2002, 214(2): 143–152. [DOI](#)
- [39] Xia XS, Lu L, Tee KK, Zhao WH, Wu JG, Yu J, Li XJ, Lin YX, Mukhtar MM, Hagedorn CH, Takebe Y. The unique HCV genotype distribution and the discovery of a novel subtype 6u among IDUs co-infected with HIV-1 in Yunnan, China. *J Med Virol*, 2008, 80(7): 1142–1152. [DOI](#)
- [40] Nakano T, Lu L, He YS, Fu YS, Robertson BH, Pybus OG. Population genetic history of hepatitis C virus 1b infection in China. *J Gen Virol*, 2006, 87(1): 73–82. [DOI](#)
- [41] Fu Y, Wang Y, Xia W, Pybus OG, Qin W, Lu L, Nelson K. New trends of HCV infection in China revealed by genetic analysis of viral sequences determined from first-time volunteer blood donors. *J Viral Hepat*, 2011, 18(1): 42–52. [DOI](#)
- [42] 桂亚萍, 郑惠, 沃垮, 孔令和. 九江地区丙型肝炎病毒基因分型. *实验与检验医学*, 2010, 28(5): 514–515. [DOI](#)
- [43] 刘剑荣, 黄永建, 夏洪娇, 张勇. 丙型肝炎基因型分布特点及流行分析. *国际检验医学杂志*, 2010, 31(12): 1847–1848. [DOI](#)
- [44] Zhang CY, Wu NN, Liu J, Ge QJ, Huang Y, Ren Q, Feng QC, He GL. HCV subtype characterization among injection drug users: implication for a crucial role of Zhenjiang in HCV transmission in China. *PLoS One*, 2011, 6(2): e16817. [DOI](#)
- [45] Fu YS, Qin WB, Cao H, Xu R, Tan Y, Lu T, Wang HR, Tong WX, Rong X, Li G, Yuan MQ, Li CH, Abe K, Lu L, Chen GH. HCV 6a prevalence in guangdong province had the origin from Vietnam and recent dissemination to other regions of china: phylogeographic analyses. *PLoS One*, 2012, 7(1): e28006. [DOI](#)
- [46] 洪国祜, 谭朝霞, 郭艳, 毛青. 中国西南地区丙型肝炎病毒 6a 亚型病毒株的传播速率. *中华肝脏病杂志*, 2011, 19(7): 502–505. [DOI](#)
- [47] Hesketh T, Wei XZ. Health in China From Mao to market reform. *BMJ*, 1997, 314(7093): 1543–1545. [DOI](#)
- [48] Zhang C, Yang R, Xia X, Qin S, Dai J, Zhang Z, Peng Z, Wei T, Liu H, Pu D, Luo J, Takebe Y, Ben K. High prevalence of HIV-1 and hepatitis C virus coinfection among injection drug users in the southeastern region of Yunnan, China. *J Acquir Immune Defic Syndr*, 2002, 29(2): 191–196. [DOI](#)
- [49] Wang YZ, Xia XS, Li CH, Maneekarn N, Xia WJ, Zhao WH, Feng Y, Kung HF, Fu YS, Lu L. A new HCV genotype 6 subtype designated 6v was confirmed with three complete genome sequences. *J Clin Virol*, 2009, 44(3): 195–199. [DOI](#)
- [50] Xia XS, Zhao WH, Tee KK, Feng Y, Takebe Y, Li QH, Pybus OG, Lu L. Complete genome sequencing and phylogenetic analysis of HCV isolates from China reveals a new subtype, designated 6u. *J Med Virol*, 2008, 80(10): 1740–1746. [DOI](#)
- [51] Lu L, Nakano T, He YS, Fu YS, Hagedorn CH, Robertson BH. Hepatitis C virus genotype distribution in China: predominance of closely related subtype 1b isolates and existence of new genotype 6 variants. *J Med Virol*, 2005, 75(4): 538–549. [DOI](#)
- [52] Zhou YQ, Wang XH, Mao Q, Fan Y, Zhu Y, Zhang XQ, Lan L, Jiang L, Tan WT. Changes in modes of hepatitis C infection acquisition and genotypes in southwest China. *J Clin Virol*, 2009, 46(3): 230–233. [DOI](#)
- [53] Liu PP, Xiang KL, Tang H, Zhang W, Wang XQ, Tong X, Takebe Y, Yang RG. Molecular epidemiology of human immunodeficiency virus type 1 and hepatitis C virus in former blood donors in central China. *AIDS Res Hum Retroviruses*, 2008, 24(1): 1–6. [DOI](#)
- [54] World Health Organization. <http://www.who.int/en/>. 2011.

- [55] Tee KK, Pybus OG, Li XJ, Han X, Shang H, Kamarulzaman A, Takebe Y. Temporal and spatial dynamics of human immunodeficiency virus type 1 circulating recombinant forms 08_BC and 07_BC in Asia. *J Virol*, 2008, 82(18): 9206–9215. [DOI](#)