

# 弹状病毒的分类和进化

康雁君, 张永振

中国疾病预防控制中心传染病预防控制所, 传染病预防控制国家重点实验室, 北京 102206

**摘要:** 弹状病毒科病毒给人类健康、农业、畜牧业和渔业带来重大影响。不同属病毒之间在基因组结构、宿主范围、传播方式等方面性状各异。目前弹状病毒划分为9个属, 但仍有不少新发现病毒有待分类。病毒的进化与媒介(宿主)、传播方式、生态环境等多种因素密切相关。

**关键词:** 弹状病毒; 分类; 进化

中图分类号: R373.9 文献标志码: A 文章编号: 1003-4692(2014)04-0374-04

DOI: 10.11853/j.issn.1003.4692.2014.04.028

## Taxonomy and evolution of Rhabdoviruses

KANG Yan-jun, ZHANG Yong-zhen

State Key Laboratory for Infectious Disease Prevention and Control, National Institute of Communicable Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 102206, China

Corresponding author: ZHANG Yong-zhen, Email: zhangyongzhen@icdc.cn

Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 81290343)

**Abstract:** Viruses of the family Rhabdoviridae cause extensive damage to human health, agricultural production, animal husbandry, and fishery. Genera in this family differ from each other in genome structure, host range, and transmission mode. There are 9 well established genera in this family at present, while some newly discovered viruses need to be classified. The evolution of Rhabdoviruses is associated with vectors (hosts), transmission mode, and environment.

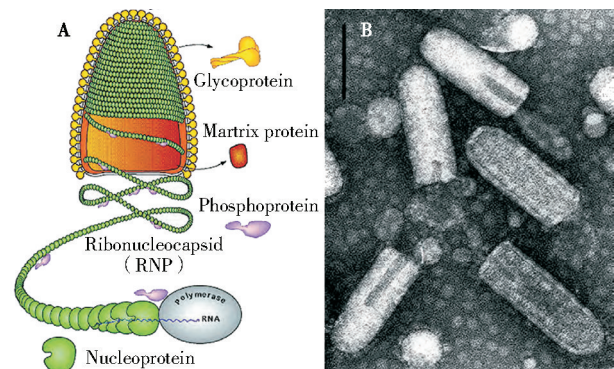
**Key words:** Rhabdovirus; Taxonomy; Evolution

弹状病毒科(Rhabdoviridae)病毒是一类具有广泛宿主的负链RNA病毒,其颗粒呈现子弹状或棒状(图1)。其中狂犬病病毒(Rabies virus)最为人熟知,能引起人或其他温血动物的狂犬病,病死率几乎为100%<sup>[1]</sup>。2003年,印度那格浦尔市附近的一个村庄暴发了儿童急性脑炎疫情,329例患病,183例死亡。病原学分析发现该疫情是由金迪普拉病毒(Chandipura virus)的弹状病毒引起<sup>[2]</sup>。另外,弹状病毒还能引起家畜多种急性传染病(如牛流行热, ephemeral fever),以及鱼类和多种农作物的感染性疾病<sup>[3]</sup>。现就弹状病毒的最新分类关系、各个属病毒的基本特点及其与宿主间的关系进行综述。

### 1 弹状病毒的结构特征和基因组特征

弹状病毒的基因组为单股负链的RNA,大小在11~16 kb之间,其3'末端为自由羟基,5'末端为三磷酸酯。在基因组两端核苷酸序列反向互补,为转录和复制的起始信号。通常情况下弹状病毒能编码5个结构蛋白,从3'端开始,依次包括:核蛋白(nucleoprotein, N)、磷蛋白(phosphoprotein, P)、基质蛋白(matrix protein, M)、糖蛋白(glycoprotein, G)和RNA聚合酶(RNA polymerase, L)<sup>[4]</sup>。大部分病毒基因组呈现出多元化结构

特征,除5个基本的结构蛋白以外,还编码一些功能各异或功能未知的辅助蛋白(accessory protein)<sup>[5]</sup>,因此不同弹状病毒属间的基因组结构差异很大(图1)。



注: A. 弹状病毒颗粒结构模式图; B. 水疱性口炎印第安纳病毒颗粒电镜照片<sup>[1]</sup>。

图1 弹状病毒颗粒的结构

Figure 1 Virion structure of Rhabdovirus

核蛋白是核衣壳组成的重要成分,可保护基因组RNA免受核酸酶的降解,对于基因组RNA复制和转录具有重要意义。核蛋白通常和磷蛋白锚定在一起,后者保证了核蛋白的融水性。基质蛋白的基本功能是使衣壳蛋白更加紧凑,最后聚缩为病毒颗粒<sup>[1,4]</sup>。Peng等<sup>[6]</sup>通过冷冻电子显微镜技术,揭示了水疱性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus, VSV)含两层巢式的左手螺旋结构:外层由基质蛋白组成,内层包含核蛋白及RNA。基质蛋

基金项目:国家自然科学基金(81290343)

作者简介:康雁君,男,在读博士,从事新病原的发现和病原进化等相关研究, Email: biokang@gmail.com

通讯作者:张永振, Email: zhangyongzhen@icdc.cn

白的中心结构域有 4 个结合位点,用来偶联其他基质蛋白及核蛋白的亚基,这样核衣壳蛋白被牢固地钳合成一个整体。弹状病毒颗粒长 100~430 nm,  $\phi$  45~100 nm。

## 2 弹状病毒的分类

弹状病毒科病毒的宿主非常广泛,有水生生物、陆生节肢动物、脊椎动物和植物。宿主间的巨大差异,也带来了弹状病毒的高度多样性。

基于血清型分型方法和分子系统进化分析手段,并辅以病

毒形态、宿主谱、病毒复制特点等,弹状病毒科曾被划分为 6 个属:水疱病毒属(Vesiculovirus)、狂犬病毒属(Lyssavirus)、暂时热病毒属(Ephemerovirus)、粒外弹状病毒属(Novirhabdovirus)、细胞质弹状病毒属(Cytorhabdovirus)和细胞核弹状病毒属(Nucleorhabdovirus)<sup>[1]</sup>。随着新病毒的不断被发现,国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)在 2012 年的分类系统中,将弹状病毒科下新增了 3 个属:Perhabdovirus、Sigmavirus 和 Tibrovirus。各属病毒的基本特征见表 1。

表 1 弹状病毒科病毒基本特征  
Table 1 Basic characteristics of the family Rhabdoviridae

属	宿主	基因组大小(kb)	传播方式	代表种
水疱病毒属(Vesiculovirus)	哺乳动物、昆虫	11.0~11.3	虫媒	水疱性口炎印第安纳病毒(Vesicular stomatitis Indiana virus)
狂犬病毒属(Lyssavirus)	灵长目、食肉目、翼手目等	11.9~12.3	咬伤、抓伤	狂犬病病毒(Rabies virus)
暂时热病毒属(Ephemerovirus)	牛及其他反刍动物	14.6~15.9	虫媒(吸血昆虫)	牛暂时热病毒(Bovine ephemeral fever virus)
粒外弹状病毒属(Novirhabdovirus)	鱼类	11	水媒、经卵传播	传染性造血组织坏死病毒(Infectious hematopoietic necrosis virus)
细胞质弹状病毒属(Cytorhabdovirus)	植物	12.8~14.5	虫媒(叶蝉、蜡蝉、蚜虫等)	莴苣坏死黄化病毒(Lettuce necrotic yellows virus)
细胞核弹状病毒属(Nucleorhabdovirus)	植物	12~14		马铃薯黄矮病毒(Potato yellow dwarf virus)
Tibrovirus	牛、水牛	13	库蠓	Tibrogargan virus
Sigmavirus	果蝇	12~13	垂直传播	Drosophila melanogaster sigmavirus

2.1 水疱病毒属和 Perhabdovirus 水疱病毒属的代表种是水疱性口炎病毒(Vesicular stomatitis virus, VSV),能够引起牛、马、猪等类似口蹄疫症状的疾病,有新泽西型和印第安纳型 2 种主要的血清型。金迪普拉病毒也来自该属,该病毒可感染多种动物和昆虫,有研究认为白蛉可能是印度脑炎疫情的传播媒介<sup>[7]</sup>。水疱病毒的基因组在弹状病毒科是最小的,除了编码 5 种基本病毒蛋白外,磷蛋白编码框内还编码 2 个功能未知的蛋白(C 和 C')<sup>[8]</sup>。水疱病毒的宿主有哺乳动物、昆虫和鱼类。VSV 也是研究实验性进化的重要模型<sup>[4]</sup>。

由于鱼类携带的水疱病毒与其他成员相比,在病毒复制等方面有着显著差异,因此 ICTV 将这类病毒列为一个新属:Perhabdovirus。系统发生分析也支持将这些病毒分为新属。与其他鱼类病毒类似,Perhabdovirus 只能在较低的温度条件(15~25 °C)下复制<sup>[1,4]</sup>。

2.2 狂犬病病毒属 狂犬病病毒属中的狂犬病病毒能引起人狂犬病,通常在食肉动物及蝙蝠之间传播,在媒介昆虫中还未发现。近年来在亚洲和非洲,人感染狂犬病病毒主要来源于犬类,而在美洲主要来源于蝙蝠<sup>[4]</sup>。当前 ICTV 已确定 14 个狂犬病病毒种。根据血清交叉反应和分子进化分析,狂犬病病毒可以划分为 2 个发生群:发生群 I 以经典的狂犬病病毒为代表,发生群 II 包括了 Lagos bat virus 等。2 个发生群在致病性和免疫原性上有着显著差异<sup>[9]</sup>。而新近发现的西高加索蝙蝠病毒(West caucasian bat virus)独立于这 2 个群之外(图 2)<sup>[10]</sup>。

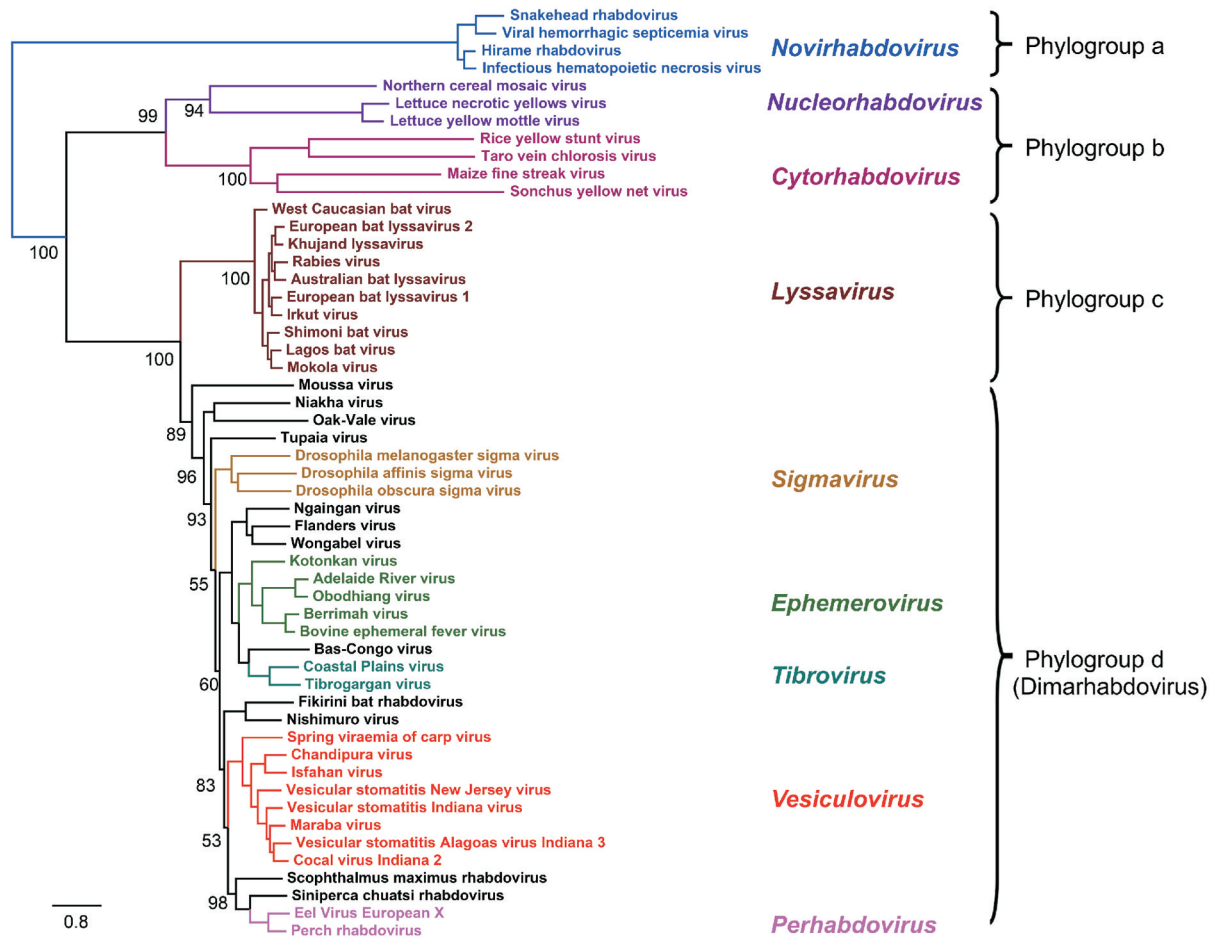
2.3 暂时热病毒属和 Tibrovirus 暂时热病毒属的病毒主要感染牛和其他一些反刍动物,媒介以蚊蝇为主,也有的通过库蠓等其他吸血昆虫传播。牛暂时热病毒(Bovine ephemeral fever virus, BEFV, 又译为牛流行热病毒)可引起一种地方性的反刍

动物传染病,主要流行于非洲、亚洲和澳洲的热带地区,一些亚热带和温带区域也会有季节性的流行。其他暂时热病毒也通常感染牛,但不会引起宿主疾病,与牛暂时热病毒的地理分布相同。暂时热病毒属的一个显著特征是其基因组相对较大,通常为 15 kb 左右,可以编码一个非结构糖蛋白(GNS)和多个小的辅助蛋白。BEFV 可以在蚊和蠓中分离得到,不过具体的传播媒介仍无定论。

从系统发生树来看,Tibrovirus 不同于暂时热病毒,形成独立的一个分支。同时 2 个属的病毒基因组在结构上有着明显差异,Tibrovirus 的基因组相对来说更小一些,并且没有 GNS 和其他辅助蛋白基因,因此被 ICTV 认定为一个新属。Tibrovirus 可以感染黄牛和水牛,媒介为库蠓<sup>[1,4]</sup>。

2.4 细胞质弹状病毒属和细胞核弹状病毒属 细胞质弹状病毒属和细胞核弹状病毒属的病毒均为植物弹状病毒,但是两者在宿主细胞的复制场所不同,分别在细胞质内及细胞核内。植物弹状病毒通过植食性昆虫(多为半翅目昆虫或者螨)传播,不同的病毒通常与媒介宿主具有一定的特异性,往往只依赖某一种或一类密切相关的昆虫,以叶蝉、蜡蝉和蚜虫为主。植物之间的物理接触也可以传播弹状病毒,但这种传播方式不多见。植物弹状病毒可以感染温带、亚热带以及热带的主要农作物,造成严重的经济损失<sup>[11]</sup>。

2.5 粒外弹状病毒属 粒外弹状病毒属病毒的宿主是鱼类。由于对宿主生存条件的适应性进化,粒外弹状病毒的最适复制温度为 12~25 °C,通常温度至 30 °C 就会使病毒失活,因此该属的病毒对人类健康不具威胁性。此类病毒被研究最多的 2 个种是传染性造血组织坏死病毒(Infectious hematopoietic necrosis virus, IHNV)和病毒性出血性败血症病毒(Viral hemorrhagic



注:用病毒L基因编码框核苷酸序列构建的进化树;彩色部分代表已经确定种属的病毒株;黑色部分代表尚未分类的病毒株。

图2 弹状病毒科各病毒间的进化关系

Figure 2 Evolutionary relationship among genera in the family Rhabdoviridae

septicemia virus, VHSV), 两者均能引起严重的鱼类疾病,影响水产养殖业的发展<sup>[4,12]</sup>。该属病毒可以表达一种非病毒颗粒(Non-Virion, NV)蛋白,但该蛋白在纯化的病毒颗粒中无法找到。Choi等<sup>[13]</sup>的研究证明NV蛋白能够被转移到宿主细胞核内,并能影响宿主干扰素的产生,保证病毒可以高效复制。其他的研究结果发现NV蛋白可以抑制宿主细胞由于感染病毒而触发的早期凋亡程序,从而延长病毒的复制时间<sup>[14]</sup>。

2.6 Sigmavirus 70多年前,研究人员用二氧化碳对黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)进行麻醉,发现个别果蝇没有正常苏醒,而是瘫痪或死亡,这一现象导致Sigmavirus被意外发现<sup>[4]</sup>。到目前为止,已发现有6种果蝇可以感染Sigmavirus。另外,厩腐蝇(*Muscina stabulans*)也被发现可以携带Sigmavirus,说明该病毒的宿主多样性。Sigmavirus通过精卵垂直传播,有宿主特异性。但也有研究发现该属的病毒存在宿主转换(host switching)现象<sup>[15]</sup>。Sigmavirus的磷蛋白基因和基质蛋白基因之间有一个X基因,编码叫PP3的蛋白,该蛋白的功能还未确定<sup>[4]</sup>。

2.7 部分未分类的弹状病毒 未分类弹状病毒大部分集中于Dimarhabdovirus群(图2)。Moussa病毒分离自蚊类,其基因组结构目前只能确定其N、G和L3个基因,其他弹状病毒所拥有的磷蛋白和基质蛋白基因与该病毒相关位置的开放阅读框没有同源性<sup>[16]</sup>,这进一步提高了人们对弹状病毒遗传特征多样性

的认识,也说明虫媒弹状病毒的复杂性和多样性。Tupaia病毒分离于树鼩(*Tupaia belangeri*),目前只能在树鼩细胞中培养<sup>[17]</sup>。Bas-congo病毒分离于中非的一次急性出血热疫情临床样本中<sup>[18]</sup>,该病毒的动物宿主和传播媒介还未确定。Flanders病毒、Ngaingan病毒和Wongabel病毒都是蚊虫或蠓等传播的相关病毒,它们和暂时热病毒属分在了一起,但形成了独立的分支<sup>[4]</sup>。此外,还有多种性状各异、来源不同的弹状病毒在进化树中形成了独特的分支,这也意味着弹状病毒科病毒的复杂性。

### 3 弹状病毒的进化

弹状病毒呈全球性分布,但其地理起源尚未确定。由于弹状病毒宿主广泛,因此研究该属病毒和宿主的进化关系显得极其困难。弹状病毒在进化过程中,受到了诸如传播方式、宿主(媒介)以及地理生态环境等诸多因素的影响<sup>[19-20]</sup>。

绝大多数弹状病毒通过虫媒传播。鉴于此,有人认为弹状病毒可能起源于节肢动物,随后病毒逐渐适应于各种动植物宿主,而且部分病毒的传播逐渐摆脱对虫媒的依赖<sup>[21]</sup>。不过,从系统进化分析来看,这些假设还有待于进一步的研究证实。Longdon等<sup>[22]</sup>认为,弹状病毒可能起源于节肢动物或起源于鱼类等水生生物。不过近年来,有研究报道,在节肢动物(如蝉、蚊虫)的基因组里发现了包含病毒序列信息的内源性病毒元件



(Endogenous viral elements, EVE)。单股负链病毒目的波纳病毒科(Bornaviridae)和丝状病毒科(Filoviridae)的病毒也均能够将病毒序列信息整合到宿主基因组<sup>[23-24]</sup>。最新研究发现,部分节肢动物的基因组中也能找到类似于弹状病毒序列特征的序列<sup>[25]</sup>,这可能意味着弹状病毒进化很久远。

弹状病毒和其他 RNA 病毒一样,由于 RNA 聚合酶缺乏校对机制,因此基因组的突变率较高,碱基替换率为 1/10<sup>4</sup><sup>[26]</sup>。病毒基因组序列的多样性特征能够保证在不同的选择压力下,改变基因组核苷酸序列,从而适应不同宿主的遗传环境。Longdon 等<sup>[15]</sup>研究了 Sigmavirus 的宿主转换。该属在进化树中形成了一个独立分支,且宿主谱相对单一。另外,除果蝇之外其他双翅目也可以携带 Sigmavirus,这可能意味着 Sigmavirus 有更广泛的宿主范围<sup>[1]</sup>。对黑腹果蝇和其相关的 Sigma 病毒研究显示,两者处于共进化竞争(co-evolutionary arms race)的状态<sup>[27]</sup>。病毒的抗性基因往往会抵消宿主的防御机制, Sigma 病毒和其宿主间存在不稳定性,会发生宿主转换。此外,狂犬病病毒在进化中可能也经历了宿主转换事件。研究认为狂犬病病毒最先在蝙蝠中出现,随后可能从蝙蝠溢出(spillover)到其他动物,并逐渐适应于新的食肉目动物宿主<sup>[28]</sup>。值得注意的是,狂犬病病毒属和其他属相比,不同型间的遗传距离相对较短。因而有学者认为狂犬病病毒属是一个比较“年轻”的病毒发生群<sup>[19]</sup>。

系统进化分析结果显示(图 2),弹状病毒目前有 4 个大的发生群:a. 粒外弹状病毒属;b. 植物弹状病毒;c. 狂犬病病毒属及其他属;d. 双翅目-哺乳动物弹状病毒(Dimarhabdovirus)。总的来看,虫媒植物病毒差异最大,其次是鱼类及其他水生动物携带的弹状病毒,差异最小的是只在哺乳动物体内复制的狂犬病病毒。此与一般认为的虫媒 RNA 病毒比非虫媒病毒更保守的观点相悖<sup>[29]</sup>。从目前的结果看,还不能明确弹状病毒科病毒的起源与进化。因此,随着更多新的弹状病毒被发现及其获得更多的宿主信息<sup>[30]</sup>,将有助于揭开弹状病毒科病毒进化的神秘面纱。

## 4 展望

在过去 30 年,多次出现由节肢动物携带病原体引起的新发突发疫情,严重威胁着人类的生命健康,也给农业生产带来巨大经济损失。随着社会经济发展,生态环境不断变化,加之病毒具有快速进化的能力,病毒溢出事件和宿主转换现象可能会越来越频繁。绝大多数弹状病毒科病毒通过节肢动物传播,将进一步研究弹状病毒科的进化及其在节肢动物中的传播规律,将会对防控它们可能引起的新发突发传染病具有重要意义。

## 参考文献

- [1] King AMQ, Adams MJ, Carstens EB, et al. Virus taxonomy: classification and nomenclature of viruses. Ninth report of the International Committee on Taxonomy of Viruses [M]. San Diego: Elsevier Academic Press, 2011: 686-713.
- [2] Rao BL, Basu A, Wairagar NS, et al. A large outbreak of acute encephalitis with high fatality rate in children in Andrapradesh, India, in associated with Chandipura virus [J]. Lancet, 2003, 364 (4): 869-874.
- [3] Fu ZF. Genetic comparison of the rhabdoviruses from animals and plants [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2005, 292 (2): 1-24.
- [4] Dietzgen RG, Kuzmin VI. Rhabdoviruses: Molecular taxonomy, evolution, genomics, ecology, Host - Vector interactions, cytopathology and control [M]. Norfolk: Caister Academic Press, 2012: 1-269.
- [5] Walker PJ, Dietzgen RG, Joubert DA, et al. Rhabdovirus accessory genes [J]. Virus Res, 2011, 162 (9): 110-125.
- [6] Peng G, Tsao J, Schein S, et al. Cryo-EM model of the bullet-shaped vesicular stomatitis virus [J]. Science, 2010, 327 (2): 689-693.
- [7] Menghani S, Chikhale R, Raval A, et al. Chandipura virus: an emerging pathogen [J]. Acta Trop, 2012, 124 (1): 1-14.
- [8] Spiropoulou CF, Nichol ST. A small highly basic protein is encoded in overlapping frame within the P gene of vesicular stomatitis virus [J]. J Virol, 1993, 67 (6): 3103-3110.
- [9] Badrane H, Bahloul C, Perrin P, et al. Evidence of two Lyssavirus phylogroups with distinct pathogenicity and immunogenicity [J]. J Virol, 2001, 75 (7): 3268-3276.
- [10] Kuzmin IV, Hughes GJ, Botvinkin AD, et al. Phylogenetic relationships of Irkut and west caucasian bat viruses within the lyssavirus genus and suggested quantitative criteria based on the N gene sequence for lyssavirus genotype definition [J]. Virus Res, 2005, 111 (1): 28-43.
- [11] Jackson AO, Dietzgen RG, Goodin MM, et al. Biology of plant rhabdoviruses [J]. Annu Rev Phytopathol, 2005, 43 (5): 623-660.
- [12] Hoffmann B, Beer M, Schutze H, et al. Fish rhabdoviruses: molecular epidemiology and evolution [J]. Curr Top Microbiol Immunol, 2005, 292 (2): 81-117.
- [13] Choi MK, Moon CH, Ko MS, et al. A nuclear localization of the infectious Haematopoietic necrosis virus NV protein is necessary for optimal viral growth [J]. PLoS One, 2011, 6: e22362.
- [14] Ammayappan A, Vakharia VN. Nonvirion protein of novirhabdovirus suppresses apoptosis at the early stage of virus infection [J]. J Virol, 2011, 85 (6): 8393-8402.
- [15] Longdon B, Wilfert L, Osei-Poku J, et al. Host-switching by a vertically transmitted rhabdovirus in Drosophila [J]. Biology Letters, 2011, 7 (3): 747-750.
- [16] Quan PL, Junglen S, Tashmukhamedova A, et al. Moussa virus: a new member of the Rhabdoviridae family isolated from *Culex decens* mosquitoes in Cote d'Ivoire [J]. Virus Res, 2010, 147 (1): 17-24.
- [17] Springfield C, Darai G, Cattaneo R. Characterization of the Tupaia rhabdovirus genome reveals a long open reading frame overlapping with P and a Novel gene encoding a small hydrophobic protein [J]. J Virol, 2005, 79 (11): 6781-6790.
- [18] Grard G, Fair JN, Lee D, et al. A novel rhabdovirus associated with acute hemorrhagic fever in central Africa [J]. PLoS Pathog, 2012, 8: e1002924.
- [19] Bourhy H, Cowley JA, Larrous F, et al. Phylogenetic relationships among rhabdoviruses inferred using the L polymerase gene [J]. J Gen Virol, 2005, 86 (10): 2849-2858.
- [20] Rodriguez LL, Fitch WM, Nichol ST. Ecological factors rather than temporal factors dominate the evolution of vesicular stomatitis virus [J]. Proc Natl Acad Sci, 1996, 93 (8): 13030-13035.
- [21] Hogenhout SA, Redinbaugh MG, Ammar el-D. Plant and animal rhabdovirus host range: a bug's view [J]. Trends Microbiol, 2003, 11 (6): 264-271.
- [22] Longdon B, Obbard DJ, Jiggins FM. Sigma viruses from three species of Drosophila form a major new clade in the rhabdovirus phylogeny [J]. Proc Biol Sci, 2010, 277 (1): 35-44.
- [23] Horie M, Honda T, Suzuki Y, et al. Endogenous non-retroviral RNA virus elements in mammalian genomes [J]. Nature, 2010, 463 (1): 84-87.
- [24] Belyi VA, Levine AJ, Skalka AM. Unexpected inheritance: multiple integrations of ancient bornavirus and ebolavirus/marburgvirus sequences in vertebrate genomes [J]. PLoS Pathog, 2010, 6: e1001030.
- [25] Fort P, Albertini A, Van-Hua A, et al. Fossil rhabdoviral sequences Integrated into Arthropod genomes: ontogeny, evolution, and potential functionality [J]. Mol Biol Evol, 2012, 29 (1): 381-390.
- [26] Drake JW, Holland JJ. Mutation rates among RNA viruses [J]. Proc Natl Acad Sci, 1999, 96 (11): 13910-13913.
- [27] Longdon B, Jiggins FM. Vertically transmitted viral endosymbionts of insects: Do sigma viruses walk alone? [J]. Proc R Soc B, 2012, 279 (8): 3889-3898.
- [28] Badrane H, Tordo N. Host switching in Lyssavirus history from the Chiroptera to the Carnivora orders [J]. J Virol, 2001, 75 (9): 8096-8104.
- [29] Woelck CH, Holmes EC. Reduced positive selection in vector-borne RNA viruses [J]. Mol Biol Evol, 2002, 19 (12): 2333-2336.
- [30] Kuzmin IV, Novella IS, Dietzgen RG, et al. The rhabdoviruses: biodiversity, phylogenetics, and evolution [J]. Infect Genet Evol, 2009, 9 (4): 541-553.