

两种人类 Pegivirus 致病性研究进展

陈淑仪¹, 万政伟², 丘丽¹, 王海鹰^{2*}

1 广州医科大学附属妇女儿童医疗中心, 广东 广州 510623

2 南方医科大学 公共卫生学院, 广东 广州 510515

陈淑仪, 万政伟, 丘丽, 王海鹰. 两种人类 Pegivirus 致病性研究进展[J]. 微生物学报, 2025, 65(1): 62-72.

CHEN Shuyi, WAN Zhengwei, QIU Li, WANG Haiying. Research progress in pathogenicity of two human Pegiviruses[J]. *Acta Microbiologica Sinica*, 2025, 65(1): 62-72.

摘要: 目前发现的人类 Pegivirus 病毒共有 2 种, 这 2 种病毒本身致病性不强, 但均具有独特的生物学特征, 可能是病毒学相关研究的重要材料, 值得关注。一型人类 Pegivirus (the first human Pegivirus, HPgV-1) 病毒被称为“good virus”, 当其与艾滋病病毒和埃博拉病毒共感染时, 可显著减缓相关疾病进程和疾病严重程度。近年来的研究发现, 该病毒感染还与淋巴瘤和神经系统疾病的发生发展有关, HPgV-1 可能会成为艾滋病病毒等引起的、难治愈的病毒病治疗的有效突破点。二型人类 Pegivirus (the second human Pegivirus, HPgV-2) 病毒于 2015 年在丙型肝炎患者血液中首次发现, 后续研究发现其与丙型肝炎(hepatitis C virus, HCV)病毒感染密切相关, 常呈现与 HCV 共感染, 而鲜少形成单独感染。目前, 对于 HPgV-2 与 HCV 的相互作用机制尚无报道。除此以外, 异于大多数 RNA 病毒, HPgV-2 基因组序列表现出高度保守性, 种内变异率低, 因此, 该病毒可能是研究病毒基因组变异规律的理想材料。综上所述, 有必要持续关注并针对这 2 种 Pegivirus 病毒开展研究。

关键词: 人类 Pegivirus 病毒; 一型人类 Pegivirus (HPgV-1) 病毒; 二型人类 Pegivirus (HPgV-2) 病毒; 致病性

Research progress in pathogenicity of two human Pegiviruses

CHEN Shuyi¹, WAN Zhengwei², QIU Li¹, WANG Haiying^{2*}

1 Guangzhou Women's and Children's Medical Centre, Guangzhou Medical University, Guangzhou 510623, Guangdong, China

2 School of Public Health, Southern Medical University, Guangzhou 510515, Guangdong, China

Abstract: The first human Pegivirus (HPgV-1) and the second human Pegivirus (HPgV-2) are

资助项目: 广东省自然科学基金(2019A1515010148, 2024A1515030275)

This work was supported by the Natural Science Foundation of Guangdong Province (2019A1515010148, 2024A1515030275).

*Corresponding author. E-mail: yingzi224926@163.com

Received: 2024-07-10; Accepted: 2024-11-02; Published online: 2024-11-18

the only two human Pegiviruses that have been identified until now. They share some common features including similar viral genome structure and low pathogenicity, while they also represent unique biological characteristics. HPgV-1 is called “good virus” because of its ability to slow down disease progression and reduce disease severity when co-infecting with HIV and Ebola virus. In addition, HPgV-1 was recently found to be related with lymphoma and neurological diseases. Therefore, HPgV-1 might be a possible breakthrough point in the treatment of refractory diseases caused by HIV and other viruses. HPgV-2 was firstly discovered from the plasma of a hepatitis C virus (HCV)-infected patient in 2015 and was found to always co-infect with HCV but hardly infect healthy people. However, the underlying mechanism of HPgV-2 and HCV co-infection remains to be elucidated. Distinct from most of RNA viruses, HPgV-2 exhibits low genomic diversity with high sequence identity and low intra-host variation, which give the implication of HPgV-2 as an excellent model for studying the mechanisms of viral genome variations. In conclusion, the human Pegiviruses are worthy of sustaining attention and study.

Keywords: human Pegivirus; the first human Pegivirus (HPgV-1); the second human Pegivirus (HPgV-2); pathogenicity

Pegivirus 属于黄病毒科病毒(Flaviviridae)。截至目前, 共发现 2 种人类 Pegivirus 病毒 (human Pegivirus, HPgV), 分别为一型人类 Pegivirus (the first human Pegivirus, HPgV-1, 又称为庚型肝炎病毒或者 GBV-C 病毒)和二型人类 Pegivirus (the second human Pegivirus, HPgV-2)。2 种 Pegivirus 的基因组均为单链正链 RNA, 大小约 1×10^4 nt^[1-4]。研究发现, HPgV-1 病毒不与任何临床疾病关联, 但是与艾滋病病毒、丙型肝炎病毒、埃博拉病毒以及拉沙热病毒共感染时可减缓相关疾病进程和疾病严重性, 因而被认为是一种“good virus”^[5]。近年研究还发现, 该病毒感染与淋巴瘤^[6-7]、神经系统疾病^[8-9]、再生障碍性贫血^[6]等疾病的发生有关, 从而又引起人们对该病毒的重新关注。HPgV-2 病毒于 2015 年在丙型肝炎 (hepatitis C virus, HCV) 患者血液中被首次发现^[3-4], 后续研究发现其与丙型肝炎病毒感染密切相关, 呈现出与 HCV 共感染而鲜少形成单独感染的特点^[10]。随

后中国^[11-12]、越南^[13]以及喀麦隆^[14]等地也报道了该病毒的存在, 并发现 HPgV-2 基因组序列具有高度保守性、种内变异率低等特点^[3-4,15]。因此, 2 种人类 Pegivirus 均具有特殊的、值得关注的生物学特点, 可能成为相关病毒病治疗的突破点, 以及相关病毒学研究的理想材料。然而, 目前对于这 2 种人类 Pegivirus 的致病性、感染机制, 以及与其他病毒的相互作用机制仍缺乏系统深入研究。因此, 本文对这 2 种人类 Pegivirus 病毒的生物学特征、致病性和感染机制的相关研究进展予以综述, 以为该领域研究者提供参考与启发。

1 HPgV-1 病毒

1.1 HPgV-1 病毒的发现与命名

HPgV-1 病毒, 又称为庚型肝炎病毒或者 GBV-C 病毒。GBV-C 病毒是于 1995 年, 由 Abbott 实验室^[1]和 Genelab 实验室^[2]分别独立于慢性肝炎患者血浆中发现, 由于该病毒的基因

组序列与 GVB-A 和 GBV-B 病毒相似,因而被命名为 GBV-C 病毒^[1];另外,又因其病毒基因组与黄病毒科病毒具有相似性,因而又被命名为庚型肝炎病毒(hepatitis G virus, HGV)^[2]。随后,大量临床和流行病学研究未能确定该病毒与肝炎的关系,却发现 GBV-C 病毒主要感染脾脏和骨髓的 T、B 淋巴细胞或者外周血单核细胞,而不是肝组织的肝细胞^[16-17]。Stapleton 等^[18]于 2011 年将 GBV-C 病毒正式划分至黄病毒科的 Pegivirus 属,命名为 HPgV 病毒。

1.2 HPgV-1 病毒的感染与传播

HPgV-1 病毒主要通过血液或者血液制品(如共用注射器或者血液透析)、性接触或者母婴垂直等途径传播^[5]。由于具有相同或相似的传播途径,HPgV-1 病毒与 HIV-1、HCV 和 HBV 病毒合并感染情况较为常见,其合并感染率为 3.2%–47.9%^[19]。

根据国际病毒分类委员会(International Committee on Taxonomy of Viruses, ICTV)记录,HPgV-1 病毒共分为 7 个基因型,而其患病率则因应不同的地理位置和风险因素而不同^[20]。根据 2020 年一项 meta 分析发现,HPgV-1 病毒的全球感染率为 1.7% [95% 置信区间(confidence interval, CI), 2.4–4.1];而在北美、南美、欧洲和亚洲,HPgV-1 病毒在健康人群中的感染率分别为 1.7% (95% CI, 1.1–2.6)、9.1% (95% CI, 6.4–12.7)、2.3% (95% CI, 2.0–2.8)和 2.4% (95% CI, 1.4–4.0)^[20],可见该病毒在发展中国家/地区具有更高的感染率,某些地区甚至高达 20%。通过 HPgV-1 E2 抗体反映 HPgV-1 既往感染情况,发达国家 5%–13%的献血员能检测到 HPgV-2 E2 抗体,而发展中国家检出率更高^[18]。我国 HPgV-1 抗体检出率为 3.91% (95% CI, 3.18–4.71),核酸检出率为 3.25% (95% CI, 2.35–4.26)^[21]。

近年研究发现,在器官移植(solid-organ transplant)病人和造血干细胞移植(haematopoietic stem cell transplant)病人中,HPgV-1 具有比健康人群更高的感染率。在肺、肾、肝和造血干细胞移植病人中,HPgV-1 的检出率分别为 18.2%^[22]、36.1%^[23]、14.1%^[24]和 18.6%^[25],显著高于健康人群,推测其原因可能与病毒通过移植器官或输血传播有关,同时也可能与接受移植患者免疫力低下有关,但仍有待更深入研究和证实。

1.3 HPgV-1 病毒的致病性

1.3.1 HPgV-1 病毒单独感染

HPgV-1 病毒最早发现于肝炎病人体内,而自该病毒发现以来,大量研究集中于探讨 HPgV-1 与肝脏疾病的关联,然而研究发现该病毒的感染与慢性肝脏疾病无显著关联^[16-17]。单独感染 HPgV-1 病毒,并不会引起转氨酶水平异常或造成肝损伤,同时也不会引起任何急性或慢性的疾病^[18],因此认为 HPgV-1 不具有明显的致病性。然而,meta 分析表明,HPgV-1 与非霍奇金式淋巴瘤(non-Hodgkin's lymphoma, NHL)^[6-7]和散发性脑炎(sporadic encephalitis)^[8-9]有关。HPgV-1 感染会使感染者患上 NHL 的风险上升 2.8 倍^[6-7];HPgV-1 与散发性脑炎的关系仍不清楚,但在一项研究中,在 2 名散发性脑炎患者的脑组织中检出 HPgV-1 病毒 RNA;在其中一名患者的脑组织中检测到 HPgV-1 的变异株,其 NS2 编码区发生删除突变,此突变增强了 HPgV-1 在星形胶质细胞中的复制效率^[8-9]。然而,在健康人群中,HPgV-1 是否具有神经细胞嗜性仍无定论。

对 HPgV-1 进行病毒嗜性研究发现,在感染者的骨髓、脾脏、外周 T 细胞、外周 B 细胞、外周单核细胞和 NK 细胞中均能检测到病毒 RNA^[16-17,26];在肝细胞中,尚未检测到病毒

RNA, 当对 HCV/HPgV-1 共感染患者进行肝脏切除后, 患者体内 HCV 病毒载量明显下降, 而 HPgV-1 的病毒血症却未减轻^[27]。以上研究均表明, HPgV-1 具有淋巴细胞嗜性, 不具有肝细胞嗜性。

1.3.2 HPgV-1 病毒与 HCV 病毒共感染

由于具有相似的感染途径, HPgV-1 经常与 HCV 发生共感染, 两者的共感染率约为 11.8%–37.2%^[19]。HPgV-1 并不具有肝细胞嗜性且不引起肝炎相关疾病, 其与 HCV 的相互作用仍不明确。然而, HPgV-1 与 HCV 共感染会产生一系列“有益影响”, HPgV-1 感染通过下调 HCV 患者肝脏内 T 细胞的淋巴细胞特异性酪蛋白激酶 (lymphocyte-specific protein tyrosine kinase, LCK)、停靠蛋白 2 (docking protein 2, DOK2)、白介素受体 γ (cytokine receptor γ , IL-2R γ) 以及细胞周期蛋白 D3 (cyclin D3, CCND3) 等信号通路, 显著降低谷草转氨酶和谷丙转氨酶水平, 减少 HCV 相关的肝脏损伤并降低肝脏疾病的严重程度^[28-29]。

近年来, 临床上应用的直接抗病毒药物 (direct anti-acting antivirals, DAAs) 针对 HCV 的治疗, 已使得 HCV 的治愈率达到 90% 以上。这些药物包括派仑他韦、维帕他韦 (HCV 非结构蛋白 NS5A 抑制剂)、格卡瑞韦、莱迪派韦 (非结构蛋白 NS3/4A 抑制剂) 和索非布韦 (非结构蛋白 NS5B 的底物类似物) 等。由于 HPgV-1 的结构蛋白与 HCV 具有一定同源性, 因此理论上认为这些药物对 HPgV-1 也具有一定的清除作用。^[30] 一项新近的研究发现, 派仑他韦/格卡瑞韦联合使用并不能有效清除 HPgV-1; 而在索非布韦给药 2 周后, 10 个受试患者的血液 HPgV-1 滴度均呈现指数级下降; 联合使用莱迪派韦/索非布韦和聚乙二醇干扰素 2 周后, 5 个受试患者血液 HPgV-1 滴度均下降至检测下限以下^[30]。

1.3.3 HPgV-1 病毒与 HIV-1 病毒共感染

HPgV-1 在 HIV-1 感染者中的感染率为 5.0%–47.9%^[19]。在新近的一项研究中, 对土耳其伊斯坦布尔地区 (该地区具有更高的 HIV 感染率) 的 HPgV-1 与 HIV 的共感染情况进行了调查, 发现在 351 位 HIV 患者中, HPgV-1 的 RNA 检出率为 27.3%, 其中 92.7% (89/96) 均为 HPgV-1 基因型 2a^[31]。该研究还发现, 在 HPgV-1 与 HIV 共感染患者血液中, CD4⁺ T 细胞数量显著高于 HIV 单独感染患者, 而 CD8⁺ T 细胞数量则无显著差别; 此外, HIV 单独感染患者具有更高的 HIV 病毒载量并更容易发展成获得性免疫缺陷综合征 (acquired immune deficiency syndrome, AIDS), 而在共感染患者中, HIV 的病毒载量与 HPgV-1 呈负相关关系^[31]。

早在 2001 年, 就有研究揭示, HPgV-1 与 HIV-1 共感染能够有效降低 HIV-1 的发病率与死亡率, 主要表现为对抗病毒治疗的反应更好、更换抗 HIV-1 药物频次更低、病情进展减缓、血液中病毒滴度降低以及生存时间明显延长等特点^[32]。然而, HPgV-1 抑制 HIV-1 的机制尚未有明确的定论, 可能是涉及多种细胞和分子共同作用的结果。已明确的 HPgV-1 抑制 HIV-1 的机制有以下 3 种。(1) HPgV-1 直接抑制 HIV 的入侵、复制与增殖: HPgV-1 E2 蛋白通过与 HIV-1 融合多肽的相互作用, 干扰 HIV-1 与靶细胞受体的结合以及膜融合, 抑制 HIV-1 进入细胞^[33]; 在 CD4⁺ T 细胞中过表达 HPgV-1 E2 蛋白, 可有效抑制 HIV-1 进入靶细胞, 通过删除突变, 确定了 E2 的一段由 17 个氨基酸构成的肽段是抑制 HIV-1 入侵的主要区域, 如对该区域进行突变, 则能逆转 HPgV-1 对 HIV-1 入侵的抑制作用^[34]。糖基化的 HPgV-1 E2 蛋白阻断 HIV Gag 蛋白前体的加工, 使其无法向细胞膜转移并停留在细胞质中, 从而抑制 HIV 的组

装与释放^[35]。HPgV-1 E2 蛋白特定结构域的抗体可以与 HIV-1 病毒颗粒产生交叉反应,并抑制 HIV-1 病毒颗粒的复制,而这种交叉反应与 HIV-1 衣壳蛋白无关^[36]。(2) HPgV-1 增加抗 HIV-1 的自身免疫水平:HPgV-1 的非结构蛋白 NS3 抑制 I 型干扰素信号通路的激活,这种抑制作用依赖于其丝氨酸蛋白酶活性。NS3 的此项功能利于 HPgV-1 感染过程中的免疫逃逸,同时,I 型干扰素信号通路是 HIV-1 致病的重要通路之一,因此,NS3 通过下调 I 型干扰素通路,有效抑制 HIV-1 增殖^[37-38]。(3) HPgV-1 减少 Fas 介导的 T 细胞凋亡,增加 CD4⁺ T 细胞的数量。HPgV-1 感染可通过降低 T 细胞的激活和 Fas⁺细胞的数量减少 T 细胞的凋亡,从而抑制 HIV-1 感染引起的 CD4⁺ T 细胞数量减少^[39]。HPgV-1 抑制 T 细胞活化的机制仍未有定论,但可能与 HPgV-1 能有效降低 Lck 表达水平,并下调 T 细胞受体(T cell receptor, TCR)信号通路有关^[28]。

1.3.4 HPgV-1 病毒与埃博拉病毒共感染

埃博拉病毒是一种能引起炎症因子风暴的烈性传染病病毒,致死率极高。在埃博拉病毒感染传播的塞拉利昂、利比里亚和几内亚地区,HPgV-1 病毒感染率在 10%–28%之间^[40]。目前对于 HPgV-1 和埃博拉病毒共感染的研究较少,只有 2015 年发表的一项研究发现,在 49 名埃博拉感染者中,有 13 名感染者(26.5%)与 HPgV-1 病毒共感染;其中 HPgV-1 和埃博拉病毒共感染者生存率为 53%,而埃博拉病毒单独感染者的生存率仅为 22%^[40],推测 HPgV-1 病毒降低埃博拉病毒致病性可能也是通过调节宿主免疫反应来实现,但其共感染和相互作用机制还需要更多研究来证实。

1.3.5 HPgV-1 与拉沙热病毒共感染

关于 HPgV-1 与拉沙热病毒(Lassa virus)共

感染,目前只有一篇相关报道^[41]。该研究利用宏基因组测序的方法,对 560 例来自尼日利亚的拉沙热病毒患者的外周血进行检测,发现 HPgV-1 可以与拉沙热病毒发生共感染,共感染率约为 5.5% (25/458)。与拉沙热单独感染相比,HPgV-1 共感染能显著降低拉沙热病毒的载量并形成更好的预后^[41]。以上结果提示,HPgV-1 可能具有降低拉沙热病毒致病性的功能,但仍需要更多且更为深入的研究来加以验证。

2 HPgV-2 病毒

2.1 HPgV-2 病毒的发现

2015 年,HPgV-2 是由 Kapoor 等^[3]和 Berg 等^[4]分别独立从 HCV 患者和反复输血的血友病患者的血液中分离得到的一种新的病毒,其基因组结构兼具有 HPgV-1 和 HCV 的部分特征,最初被命名为 HHpgV-1 和 HPgV-2 病毒,通过输血传播,并与 HCV 感染相关。

2.2 HPgV-2 病毒的基因组结构

HPgV-2 病毒具有与 HCV 病毒和 HPgV 病毒相似的病毒基因组结构。HPgV-2 的病毒基因组由单股正链 RNA 构成,大小约 9.8 kb,主要由位于 5'-和 3'-末端的 2 个非编码区(5'-UTR、3'-UTR)、结构编码区和非结构编码区构成,其中结构编码区共编码 4 个结构蛋白(S、E1、E2、X),非编码区共编码 6 个非结构蛋白(NS2、NS3、NS4A、NS4B、NS5A 和 NS5B)。

HPgV-2 病毒基因组结构的主要特点:(1) 具有 IV 型内部核糖体进入位点(internal ribosome entry site, ERIS),该结构与 HCV 类似,而不同于 HPgV-1^[3],HPgV-2 的包膜蛋白高度糖基化,具有 10 个以上的糖基化位点,远高于 HPgV-1 的 3–4 个,此特征与 HCV 相类似^[3-4];(2) 该病毒基因序列高度保守,分别来自美国、英国和中国的 HPgV-2 病毒全基因组的核苷酸序列和氨基酸序列一致性分别高达 96%

和 98%^[11], 尚未发现不同基因型病毒株; (3) HPgV-2 核心抗原不完整, 相较于 HCV 的 191 个氨基酸构成的完整核心抗原以及 HPgV-1 完全缺失核抗原, HPgV-2 病毒只具有由 65 个氨基酸组成的不完整的核心抗原^[3]。

2.3 HPgV-2 病毒与 HIV/HCV 病毒共感染

现有的流行病学观察性研究表明, HPgV-2 在反复输血者和血友病患者中具有更高的感染率, 明确血液途径是 HPgV-2 的主要感染途径^[3,42-43]。2015 年, Berg 等^[4]首次报道 HPgV-2 病毒感染和 HCV 相关, 在 HCV 单独感染人群中的核酸阳性率为 1.3%。2016 年, Bonsall 等^[44]在英国 HCV 感染人群中检出 HPgV-2 核酸阳性率为 0.5%。本团队的 Wang 等^[11]收集了中国不同人群横断面血清样本共计 8 198 份, 发现 HCV 人群中, HPgV-2 抗体阳性率为 1.23%, 为健康献血员的 8.2 倍^[11]。2019 年, Rodgers 等^[45]报道喀麦隆地区 HCV 单独感染者 HPgV-2 核酸阳性率为 0.66%。目前的研究发现, HPgV-2 几乎不能或极少在 HIV-1 单独感染人群、HBV 单独感染人群以及健康献血人群中发生感染^[10-11], 而通常与 HCV 合并感染, 说明 HCV 和 HPgV-2 共感染并非由于经血液感染途径, 而可能是 HPgV-2 感染对 HCV 存在某种生物学的依赖性^[45]。

Anh 等^[13]研究发现, 越南地区 HPgV-2 在 HIV-1/HCV 共感染人群中的核酸阳性率明显高于 HCV 单独感染人群。本团队 Wang 等^[12]的研究也发现, HCV/HIV 共感染人群中 HPgV-2 的抗体阳性率为 8.91%, 核酸阳性率为 3.47%, 分别是 HCV 单独感染人群的 7.2 倍和 12.0 倍。提示该病毒与 HCV 感染, 尤其是 HCV/HIV-1 共感染密切相关^[12]。

2.4 HPgV-2 病毒在人体内感染状态、致病性及细胞嗜性

本团队 Wan 等^[46]分别对 HPgV-2 核酸阳性

的 HCV 感染患者和 HCV/HIV-1 共感染者患者进行纵向观察, 发现 HPgV-2 病毒可以在病人体内形成持续性感染, 最长的可达 5 年^[46]。然而针对 HCV 的直接抗病毒药物(DAAs)治疗, 并不能抑制和清除 HPgV-2 病毒, 在 DAAs 治疗期间及治疗后的半年内, HPgV-2 依旧能够在患者体内维持稳定感染状态, 研究表明 HPgV-2 病毒在形成有效感染后, 也在患者体内维持单独的持续感染, 而不依赖 HCV 或 HIV 感染^[12,46]。

本团队 Wang 等^[11]和 Wan 等^[46]的研究表明, HPgV-2 感染与 HCV 感染引起的肝损伤不存在关联, 主要表现为: (1) HPgV-2 感染不影响 HCV 患者血液丙氨酸转移酶 (alanine aminotransferase, ALT) 水平, HPgV-2 核酸或抗体阳性或阴性感染者 ALT 水平均无显著性差异 ($P=0.776$, $P=0.298$); HPgV-2 抗体水平 ($OD_{450} \geq 1.0$ 或者 $OD_{450} < 1.0$) 不影响患者血液 ALT 水平 ($P=0.623$)^[11]。(2) DAAs 治疗清除 HCV 后, HPgV-2 单独持续感染过程中, 并未引起患者的肝脏指标异常或明显肝脏病理特征改变^[46]。

对 HCV/HPgV-2 患者肝病理切片进行免疫组化检测 HPgV-2 病毒抗原, 发现 HPgV-2 抗原主要存在于肝组织浸润的淋巴细胞中。通过 RNA 正负链原位杂交检测病毒 RNA 发现, 肝细胞中并未检出病毒 RNA, 而 HPgV-2 RNA 信号集中于肝组织浸润的淋巴细胞和外周血单核细胞(peripheral blood mononuclear cell, PBMC) 中。进一步通过流式分选富集 PBMC 中的 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞和 B 细胞并分别扩增病毒 RNA, 发现 HPgV-2 RNA 主要存在于 B 细胞中^[46]。以上结果表明, HPgV-2 病毒具有淋巴细胞嗜性, 主要感染 B 淋巴细胞, 且不具有肝细胞嗜性^[46]。

2.5 HPgV-2 复制保真性研究

本团队 Chen 等^[47]和 Liang 等^[15]在前期对

HPgV-2 研究发现, HPgV-2 病毒基因组变异率明显低于其他 RNA 病毒, 主要表现为 3 个方面。(1) 高度保守性: 现有来源于全球不同地区的 HPgV-2 全基因组序列一致性均为 94%–96%, 基因组序列随地域的变异率较低^[3,47]; (2) 高度稳定性: 对 HPgV-2 患者进行随访, 发现不同时间点该病毒全基因组序列一致性均为 97%–99%, 基因组序列随时间的变异率低^[3,11]; (3) 准种水平低: HPgV-2 在宿主内准种水平低, 基因组序列在群体内变异率低^[47,15]。

病毒自身编码的依赖 RNA 的 RNA 聚合酶 (RNA-dependent RNA polymerase, RdRP) 是病毒基因组复制的核心酶, 也是影响病毒基因组基础突变率的首要因素, RdRP 的复制保真性直接影响病毒基因组的复制突变率^[47]。本团队利用一系列生化实验手段, 通过建立体外 RNA 合成体系, 对比 HPgV-2 RdRP 与 HCV RdRP 催化生成错配产物的量, 证实了 HPgV-2 RdRP 的复制保真性高于 HCV RdRP, 且 HPgV-2 RdRP 的复制保真性具有较高稳定性, 不受底物浓度和反应时间的影响^[48]。以上证明, HPgV-2 RdRP 的高复制保真性可能是形成 HPgV-2 低变异率的重要因素, 但该结论仍需进一步在 HPgV-2 的体外培养系统中进行验证并发掘其内在分子机制。

3 人类 Pegivirus 的体外培养系统

目前, 除人类 Pegivirus 外, 已经在多种动物中发现 Pegivirus 病毒, 如非人灵长类动物 (SPgV)^[49]、马 (EPgV)^[50]、蝙蝠 (BPgV)^[51]、啮齿类动物 (RPgV)^[52] 和鹅 (唯一非哺乳类动物, GPgV)^[53]。建立体外培养系统是深入研究病毒的关键技术路径。然而, 由于缺乏有效的 Pegivirus 体外培养系统, 至今对 Pegivirus 的病毒分子生物学特征、细胞嗜性以及发病机制等方面的了解仍非常有限。

以往的研究中, 仅限于 SPgV、EPgV 和 GPgV 这 3 种病毒, 通过向其原始宿主体内活体注射含有病毒血清/体液或全基因组 RNA 的方式, 拯救出了能够形成持续且有效感染的病毒颗粒, 并以此为基础建立了动物模型^[53–55]。在对 HPgV-1 建立体外培养系统的研究中, 尝试了包括人肝癌细胞 (Huh7.5)、羊肾细胞 (MDBK)、仓鼠肾细胞 (BHK-J)、非洲绿猴肾细胞 (Vero) 和马成纤维细胞 (E.Derm) 等, 均告失败^[55]。唯一的例外是, 2000 年 Stapleton 课题组报道成功利用 PBMC 细胞构建了 HPgV-1 的体外培养系统, 可微弱传代 12 次以上^[56]。然而, 至今未见其他报道采用该体外培养系统。在新近的一项研究中, 尝试建立 Pegivirus 的 C57BL/6J 小鼠感染模型, 分别使用 HPgV-1 和 RPgV (rat Pegivirus) 感染免疫缺陷小鼠并传代, 最后成功获取了 RPgV 的小鼠适应病毒株 (maPgV), 但 HPgV-1 被证明在免疫缺陷和野生型小鼠体内均无法形成有效感染^[57]。

本团队的万政伟^[58] 尝试在细胞系中建立 HPgV-2 的体外培养系统, 通过分段扩增获得了 HPgV-2 全基因组序列, 并通过连接至骨架载体, 获得了 HPgV-2 全长克隆; 将 HPgV-2 全长克隆经体外转录获得病毒全基因组 RNA 后分别转染 Vero、BHK、Huh7、Huh7.5.1、Raji 等不同细胞系, 并在 Vero 细胞中成功拯救出 HPgV-2 病毒, 但该病毒在以上所有细胞系中的复制效率较低, 目前尚未获得能够形成持续稳定感染的病毒颗粒。分析可能的原因包括: (1) HPgV-2 基因组序列不完整, 5'-UTR 或 3'-UTR 存在缺失, 影响了病毒复制起始和复制效率; (2) HPgV-2 以准种形式存在于宿主体内, 需分析病毒准种比例、优化全病毒基因组克隆序列; (3) 与 HCV 相类似, HPgV-2 的有效体外复制可能需要增强突变位点; (4) 已使用细胞不适合

HPgV-2 的体外培养, 需要使用更多种细胞进行尝试, 除细胞系外, 也应尝试人原代细胞; (5) HPgV-2 感染可能依赖于 HCV, 需要在体外建立 HCV/HPgV-2 共感染体系, 才能使 HPgV-2 建立有效持续的感染。

因此, 建立人类 Pegivirus 的体外培养系统是研究其病毒学生物特征、细胞嗜性、感染发病机制和与宿主相互作用的关键技术路径, 是当前亟待突破的技术难题。

4 总结

HPgV-1 病毒全球感染率较高, 目前对其致病性存在争议, 仍然有许多问题有待进一步深入研究: (1) 目前仍缺乏有效的体外培养体系和动物模型(虽然已建立的 RPgV 小鼠感染模型^[58]与 HPgV-1 的感染特征有相似之处, 但其用于 HPgV-1 相关研究的有效性仍有待商酌), 很大程度上导致了对于该病毒的细胞受体、生命周期、持续感染和清除机制、与 HIV-1/HCV/埃博拉病毒共感染的机制、作为以上病毒抑制剂的筛选评价等都缺乏研究; (2) HPgV-1 病毒对淋巴瘤、神经系统疾病、再生障碍性贫血、造血干细胞移植以及肝脏移植的影响也有待进一步的验证。

HPgV-2 病毒是近年来才被发现的, 对于其致病性以及和 HIV/HCV 病毒共感染的机制, 目前的了解仍然相当有限, 尚无有效的体外培养体系和动物模型。

这 2 种病毒由于传播途径、潜在未知的生物学效应以及通过与其他病毒共存影响相关疾病的预后等具体机制目前仍不是很清楚, 因此, 持续关注并针对这 2 种 Pegivirus 病毒开展研究很有必要。

作者贡献声明

陈淑仪: 负责论文主体部分撰写与修改; 万

政伟、丘丽: 负责论文部分段落撰写、文献查阅整理与格式订正; 王海鹰: 负责论文思路与大纲修订、论文主体部分撰写。

作者利益冲突公开声明

作者声明不存在任何可能会影响本文所报告工作的已知经济利益或个人关系。

参考文献

- [1] SIMONS JN, LEARY TP, DAWSON GJ, PILOT-MATIAS TJ, MUERHOFF AS, SCHLAUDER GG, DESAI SM, MUSHAHWAR IK. Isolation of novel virus-like sequences associated with human hepatitis[J]. *Nature Medicine*, 1995, 1(6): 564-569.
- [2] LEARY TP, MUERHOFF AS, SIMONS JN, PILOT-MATIAS TJ, ERKER JC, CHALMERS ML, SCHLAUDER GG, DAWSON GJ, DESAI SM, MUSHAHWAR IK. Sequence and genomic organization of GBV-C: a novel member of the Flaviviridae associated with human non-A-E hepatitis[J]. *Journal of Medical Virology*, 1996, 48(1): 60-67.
- [3] KAPOOR A, KUMAR A, SIMMONDS P, BHUVA N, SINGH CHAUHAN L, LEE B, SALL AA, JIN ZZ, MORSE SS, SHAZ B, BURBELO PD, LIPKIN WI. Virome analysis of transfusion recipients reveals a novel human virus that shares genomic features with Hepaciviruses and Pegiviruses[J]. *mBio*, 2015, 6(5): e01466-15.
- [4] BERG MG, LEE D, COLLER K, FRANKEL M, ARONSOHN A, CHENG K, FORBERG K, MARCINKUS M, NACCACHE SN, DAWSON G, BRENNAN C, JENSEN DM, HACKETT J Jr, CHIU CY. Discovery of a novel human Pegivirus in blood associated with hepatitis C virus co-infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2015, 11(12): e1005325.
- [5] BHATTARAI N, STAPLETON JT. GB virus C: the good boy virus?[J]. *Trends in Microbiology*, 2012, 20(3): 124-130.
- [6] FAMA A, XIANG JH, LINK BK, ALLMER C, KLINZMAN D, FELDMAN AL, NOWAKOWSKI GS, LIEBOW M, LARSON MC, MAURER MJ, ANSELL SM, NOVAK AJ, ASMANN YW, SLAGER SL, CALL TG, HABERMANN TM, CERHAN JR, STAPLETON JT. Human Pegivirus infection and lymphoma risk and prognosis: a North American study[J]. *British Journal of Haematology*, 2018, 182(5): 644-653.
- [7] FAMA A, LARSON MC, LINK BK, HABERMANN TM, FELDMAN AL, CALL TG, ANSELL SM, LIEBOW M, XIANG JH, MAURER MJ, SLAGER SL,

- NOWAKOWSKI GS, STAPLETON JT, CERHAN JR. Human Pegivirus infection and lymphoma risk: a systematic review and meta-analysis[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2020, 71(5): 1221-1228.
- [8] BALCOM EF, DOAN MAL, BRANTON WG, JOVEL J, BLEVINS G, EDGUER B, HOBMAN TC, YACYSHYN E, EMERY D, BOX A, van LANDEGHEM FKH, POWER C. Human Pegivirus-1 associated leukoencephalitis: clinical and molecular features[J]. *Annals of Neurology*, 2018, 84(5): 781-787.
- [9] DOAN MAL, ROCZKOWSKY A, SMITH M, BLEVINS G, van LANDEGHEM FKH, GELMAN BB, BRANTON WG, STAPLETON JT, HOBMAN TC, POWER C. Infection of glia by human Pegivirus suppresses peroxisomal and antiviral signaling pathways[J]. *Journal of Virology*, 2021, 95(23): e0107421.
- [10] SHUI JW, LIU WP, LIANG YH, ZHANG J, WAN ZW, WANG HY, QU XW, TANG SX. Infection of human Pegivirus 2 (HPgV-2) is associated with hepatitis C virus but not hepatitis B virus infection in people who inject drugs[J]. *The Journal of General Virology*, 2019, 100(6): 968-974.
- [11] WANG HY, WAN ZW, XU R, GUAN YJ, ZHU NL, LI JP, XIE ZW, LU AQ, ZHANG FC, FU YS, TANG SX. A novel human Pegivirus, HPgV-2 (HHpgV-1), is tightly associated with hepatitis C virus (HCV) infection and HCV/human immunodeficiency virus type 1 coinfection[J]. *Clinical Infectious Diseases*, 2018, 66(1): 29-35.
- [12] WANG HY, WAN ZW, SUN Q, ZHU NL, LI TY, REN XQ, AN XP, DENG SY, WU Y, LI XF, LI L, LI JY, TONG YG, TANG SX. Second human Pegivirus in hepatitis C virus-infected and hepatitis C virus/HIV-1-co-infected persons who inject drugs, China[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2018, 24(5): 908-911.
- [13] ANH NT, HONG NTT, NHU LNT, THANH TT, ANSCOMBE C, CHAU LN, THANH TTT, LAU CY, LIMMATHUROTSAKUL D, van VINH CHAU N, van DOORN HR, DENG XT, RAHMAN M, DELWART E, LE T, THWAITES G, van TAN L, Southeast Asia Infectious Disease Clinical Research Network. Detection and characterization of human Pegivirus 2, Vietnam[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2018, 24(11): 2063-2067.
- [14] RODGERS MA, HOLZMAYER V, VALLARI A, OLIVO A, FORBERG K, FUHRMAN J, COLLIER KE, AWAZI B, KENMEGNE SIDJE JB, FRANKEL MB, BERG MG, MBANYA D, NDEMBA N, CLOHERTY GA. Hepatitis C virus surveillance and identification of human Pegivirus 2 in a large Cameroonian cohort[J]. *Journal of Viral Hepatitis*, 2019, 26(1): 30-37.
- [15] LIANG YH, HU FY, FAN H, LI LH, WAN ZW, WANG HY, SHUI JW, ZHOU YP, TONG YG, CAI WP, TANG SX. Difference of intrahost dynamics of the second human Pegivirus and hepatitis C virus in HPgV-2/HCV-coinfected patients[J]. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 2021, 11: 728415.
- [16] Fogeda M, Lopez-Alcorocho JM, Bartolome J, Arocena C, Martin MA, Carreno V. Existence of Distinct GB Virus C/Hepatitis G Virus Variants With Different Tropism. *J.Virol* (2000) 74: 7936-42.
- [17] George SL, Xiang J, Stapleton JT. Clinical Isolates of GB Virus Type C Vary in Their Ability to Persist and Replicate in Peripheral Blood Mononuclear Cell Cultures. *Virology* (2003) 316: 191-201.
- [18] STAPLETON JT, FOUNG S, MUERHOFF AS, BUKH J, SIMMONDS P. The GB viruses: a review and proposed classification of GBV-A, GBV-C (HGV), and GBV-D in genus Pegivirus within the family Flaviviridae[J]. *The Journal of General Virology*, 2011, 92(Pt 2): 233-246.
- [19] YU YQ, WAN ZZ, WANG JH, YANG XG, ZHANG CY. Review of human Pegivirus: prevalence, transmission, pathogenesis, and clinical implication[J]. *Virulence*, 2022, 13(1): 324-341.
- [20] FENG Y, ZHAO WH, FENG YM, DAI JJ, LI Z, ZHANG XY, LIU L, BAI J, ZHANG HT, LU L, XIA XS. A novel genotype of GB virus C: its identification and predominance among injecting drug users in Yunnan, China[J]. *PloS one*, 2011, 6(10): e21151.
- [21] YANG N, DAI R, ZHANG XJ. Global prevalence of human Pegivirus-1 in healthy volunteer blood donors: a systematic review and meta-analysis[J]. *Vox Sanguinis*, 2020, 115(3): 107-119.
- [22] WANG TW, CHEN JC, ZHANG Q, HUANG X, XIE NZ, ZHANG JH, CAI TJ, ZHANG Y, XIONG HY. Prevalence of hepatitis G virus infection among 67, 348 blood donors in China[J]. *BMC Public Health*, 2019, 19(1): 685.
- [23] GRANINGER M, ABERLE S, GÖRZER I, JAKSCH P, PUCHHAMMER-STÖCKL E. Human Pegivirus 1 infection in lung transplant recipients: prevalence, clinical relevance and kinetics of viral replication under immunosuppressive therapy[J]. *Journal of Clinical Virology*, 2021, 143: 104937.
- [24] SAVASSI-RIBAS F, PEREIRA JG, HORTA MAP, WAGNER TCS, MATUCK TA, MONTEIRO de CARVALHO DB, MELLO FCA, VARELLA RB, SOARES CC. Human Pegivirus-1 infection in kidney transplant recipients: a single-center experience[J]. *Journal of Medical Virology*, 2020, 92(12): 2961-2968.
- [25] IZUMI T, SAKATA K, OKUZAKI D, INOKUCHI S, TAMURA T, MOTOOKA D, NAKAMURA S, ONO C, SHIMOKAWA M, MATSUURA Y, MORI M, FUKUHARA T, YOSHIZUMI T. Characterization of human Pegivirus infection in liver transplantation recipients[J]. *Journal of Medical Virology*, 2019, 91(12): 2093-2100.

- [26] LI ZJ, LI YH, LIANG YY, HU LD, CHEN SP. Prevalence and risk factors of human Pegivirus type 1 infection in hematopoietic stem cell transplantation patients[J]. *International Journal of Infectious Diseases*, 2019, 85: 111-113.
- [27] FOGEDA M, NAVAS S, MARTÍN J, CASQUEIRO M, RODRÍGUEZ E, AROCENA C, CARREÑO V. In Vitro Infection of Human Peripheral Blood Mononuclear Cells by GB Virus C/Hepatitis G Virus[J]. *Journal of Virology*, 1999, 73: 4052-4061.
- [28] BERG T, MÜLLER AR, PLATZ KP, HÖHNE M, BECHSTEIN WO, HOPF U, WIEDENMANN B, NEUHAUS P, SCHREIER E. Dynamics of GB Virus C Viremia Early After Orthotopic Liver Transplantation Indicates Extrahepatic Tissues as the Predominant Site of GB Virus C Replication[J]. *Hepatology*, 1999, 29: 245-249.
- [29] BERZSENYI MD, WOOLLARD DJ, McLEAN CA, PREISS S, PERREAU VM, BEARD MR, SCOTT BOWDEN D, COWIE BC, LI S, MIJCH AM, ROBERTS SK. Down-regulation of intra-hepatic T-cell signaling associated with GB virus C in a HCV/HIV co-infected group with reduced liver disease[J]. *Journal of Hepatology*, 2011, 55(3): 536-544.
- [30] BHANICH SUPAPOL W, REMIS RS, RABOUD J, MILLSON M, TAPPERO J, KAUL R, KULKARNI P, McCONNELL MS, MOCK PA, McNICHOLL JM, ROONGPISUTHIPONG A, CHOTPITAYASUNONDH T, SHAFFER N, BUTERA S. Prevalence and correlates of GB virus C infection in HIV-infected and HIV-uninfected pregnant women in Bangkok, Thailand[J]. *Journal of Medical Virology*, 2011, 83(1): 33-44.
- [31] FAHNØE U, MADSEN LW, CHRISTENSEN PB, SØLUND CS, MOLLERUP S, PINHOLT M, WEIS N, ØVREHUS A, BUKH J. Effect of direct-acting antivirals on the titers of human Pegivirus 1 during treatment of chronic hepatitis C patients[J]. *Microbiology Spectrum*, 2024, 12(9): e0064124.
- [32] KÖKSAL MO, PIRKL M, SARSAR K, ILKTAÇ M, HOREMHEB-RUBIO G, YAMAN M, MEŞE S, ERAKSOY H, AKGÜL B, AĞAÇFIDAN A. Interplay between HIV and human Pegivirus (HPgV) load in co-infected patients: insights from prevalence and genotype analysis[J]. *Viruses*, 2023, 16(1): 5.
- [33] XIANG J, WUNSCHMANN S, DIEKEMA DJ, KLINZMAN D, PATRICK KD, GEORGE SL, STAPLETON JT. Effect of coinfection with GB virus C on survival among patients with HIV infection[J]. *The New England journal of medicine* 2001, 345(10): 707-714.
- [34] KOEDEL Y, EISSMANN K, WEND H, FLECKENSTEIN B, REIL H. Peptides derived from a distinct region of GB virus C glycoprotein E2 mediate strain-specific HIV-1 entry inhibition[J]. *Journal of Virology*, 2011, 85(14): 7037-7047.
- [35] XIANG JH, McLINDEN JH, KAUFMAN TM, MOHR EL, BHATTARAI N, CHANG Q, STAPLETON JT. Characterization of a peptide domain within the GB virus C envelope glycoprotein (E2) that inhibits HIV replication[J]. *Virology*, 2012, 430(1): 53-62.
- [36] TIMMONS CL, SHAO QJ, WANG CL, LIU L, LIU HL, DONG XH, LIU BD. GB virus type C E2 protein inhibits human immunodeficiency virus type 1 assembly through interference with HIV-1 gag plasma membrane targeting[J]. *The Journal of Infectious Diseases*, 2013, 207(7): 1171-1180.
- [37] MOHR EL, XIANG JH, McLINDEN JH, KAUFMAN TM, CHANG Q, MONTEFIORI DC, KLINZMAN D, STAPLETON JT. GB virus type C envelope protein E2 elicits antibodies that react with a cellular antigen on HIV-1 particles and neutralize diverse HIV-1 isolates[J]. *Journal of Immunology*, 2010, 185(7): 4496-4505.
- [38] CHOWDHURY AY, TAVIS JE, GEORGE SL. Human Pegivirus (GB virus C) NS3 protease activity inhibits induction of the type I interferon response and is not inhibited by HCV NS3 protease inhibitors[J]. *Virology*, 2014, 456: 300-309.
- [39] GEORGE SL, VARMAZ D, TAVIS JE, CHOWDHURY A. The GB virus C (GBV-C) NS3 serine protease inhibits HIV-1 replication in a CD4⁺ T lymphocyte cell line without decreasing HIV receptor expression[J]. *PLoS One*, 2012, 7(1): e30653.
- [40] MOENKEMEYER M, SCHMIDT RE, WEDEMEYER H, TILLMANN HL, HEIKEN H. GBV-C coinfection is negatively correlated to Fas expression and Fas-mediated apoptosis in HIV-1 infected patients[J]. *Journal of Medical Virology*, 2008, 80(11): 1933-1940.
- [41] LAUCK M, BAILEY AL, ANDERSEN KG, GOLDBERG TL, SABETI PC, O'CONNOR DH. GB virus C coinfections in west African Ebola patients[J]. *Journal of Virology*, 2015, 89(4): 2425-2429.
- [42] OGUZIE JU, PETROS BA, OLUNIYI PE, MEHTA SB, EROMON PE, NAIR P, ADEWALE-FASORO O, IFOGA PD, ODIA I, PASTUSIAK A, GBEMISOLA OS, AIYEPADA JO, UYIGUE EA, EDAMHANDE AP, BLESSING O, AIRENDE M, TOMKINS-TINCH C, QU J, STENSON L, SCHAFFNER SF, et al. Metagenomic surveillance uncovers diverse and novel viral taxa in febrile patients from Nigeria[J]. *Nature Communications*, 2023, 14: 4693.
- [43] AGI E, HOJJATIPOUR S, NAMVAR A, BOLHASSANI A. Impact of blood transfusion on the prevalence of HHpgV-1, HPgV-1, and B19V among Iranian HCV-infected patients with hemophilia[J]. *Journal of Pediatric Hematology/Oncology*, 2020, 42(4): e213-e218.
- [44] ZHU NL, XU R, TANG WP, WANG HY, WAN ZW, WU XD, FU YS, TANG SX, YU SY. Detection of a

- novel human Pegivirus HPgV-2 in healthy blood donors and recipients of multiple transfusions: implications for blood safety[J]. *Journal of Southern Medical University*, 2018, 38(7): 842-849.
- [45] BONSALE D, GREGORY WF, IP CLC, DONFIELD S, ILES J, ANSARI MA, PIAZZA P, TREBES A, BROWN A, FRATER J, PYBUS OG, GOULDER P, KLENERMAN P, BOWDEN R, GOMPERTS ED, BARNES E, KAPOOR A, SHARP CP, SIMMONDS P. Evaluation of viremia frequencies of a novel human Pegivirus by using bioinformatic screening and PCR[J]. *Emerging Infectious Diseases*, 2016, 22(4): 671-678.
- [46] TANG SX, WANG HY. Presence of human Hepatitis G virus-1 in a cohort of people who inject drugs[J]. *Annals of Internal Medicine*, 2018, 168(2): 157-158.
- [47] WAN ZW, LIU JW, HU FY, SHUI JW, LI LH, WANG HY, TANG XP, HU CG, LIANG YH, ZHOU YP, CAI WP, TANG SX. Evidence that the second human Pegivirus (HPgV-2) is primarily a lymphotropic virus and can replicate independent of HCV replication[J]. *Emerging Microbes & Infections*, 2020, 9(1): 485-495.
- [48] CHEN SY, WANG HY, DZAKAH EE, RASHID F, WANG JF, TANG SX. The second human Pegivirus, a non-pathogenic RNA virus with low prevalence and minimal genetic diversity[J]. *Viruses*, 2022, 14(9): 1844.
- [49] CHEN SY, WU JQ, YANG XF, SUN QL, LIU S, RASHID F, DZAKAH EE, WANG HY, WANG JF, GONG P, TANG SX. RNA-dependent RNA polymerase of the second human Pegivirus exhibits a high-fidelity feature[J]. *Microbiology Spectrum*, 2022, 10(5): e0272922.
- [50] SIBLEY SD, LAUCK M, BAILEY AL, HYEROBA D, TUMUKUNDE A, WENY G, CHAPMAN CA, O'CONNOR DH, GOLDBERG TL, FRIEDRICH TC. Discovery and characterization of distinct simian Pegiviruses in three wild African Old World monkey species[J]. *PLoS One*, 2014, 9(2): e98569.
- [51] PFAENDER S, CAVALLERI JMV, WALTER S, DOERRBECKER J, CAMPANA B, BROWN RJP, BURBELO PD, POSTEL A, HAHN K, ANGGAKUSUMA, RIEBESEHL N, BAUMGÄRTNER W, BECHER P, HEIM MH, PIETSCHMANN T, FEIGE K, STEINMANN E. Clinical course of infection and viral tissue tropism of hepatitis C virus-like nonprimate Hepaciviruses in horses[J]. *Hepatology*, 2015, 61(2): 447-459.
- [52] QUAN PL, FIRTH C, CONTE JM, WILLIAMS SH, ZAMBRANA-TORRELIO CM, ANTHONY SJ, ELLISON JA, GILBERT AT, KUZMIN IV, NIEZGODA M, OSINUBI MOV, RECUENCO S, MARKOTTER W, BREIMAN RF, KALEMBA L, MALEKANI J, LINDBLADE KA, ROSTAL MK, OJEDA-FLORES R, SUZAN G, et al. Bats are a major natural reservoir for Hepaciviruses and Pegiviruses[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2013, 110(20): 8194-8199.
- [53] KAPOOR A, SIMMONDS P, SCHEEL TKH, HJELLE B, CULLEN JM, BURBELO PD, CHAUHAN LV, DURAISAMY R, SANCHEZ LEON M, JAIN K, VANDEGRIFT KJ, CALISHER CH, RICE CM, LIPKIN WI. Identification of rodent homologs of hepatitis C virus and Pegiviruses[J]. *mBio*, 2013, 4(2): e00216-13.
- [54] WU Z, WU YY, ZHANG W, MERITS A, SIMMONDS P, WANG MS, JIA RY, ZHU DK, LIU MF, ZHAO XX, YANG Q, WU Y, ZHANG SQ, HUANG J, OU XM, MAO S, LIU YY, ZHANG L, YU YL, TIAN B, et al. The first nonmammalian Pegivirus demonstrates efficient *in vitro* replication and high lymphotropism[J]. *Journal of Virology*, 2020, 94(20): e01150-20.
- [55] BAILEY AL, BUECHLER CR, MATSON DR, PETERSON EJ, BRUNNER KG, MOHNS MS, BREITBACH M, STEWART LM, ERICSEN AJ, NEWMAN CM, KOENIG MR, MOHR E, TAN J, CAPUANO S 3rd, SIMMONS HA, YANG DT, O'CONNOR DH. Pegivirus avoids immune recognition but does not attenuate acute-phase disease in a macaque model of HIV infection[J]. *PLoS Pathogens*, 2017, 13(10): e1006692.
- [56] TOMLINSON JE, WOLFISBERG R, FAHNØE U, SHARMA H, RENSHAW RW, NIELSEN L, NISHIUCHI E, HOLM C, DUBOVI E, ROSENBERG BR, TENNANT BC, BUKH J, KAPOOR A, DIVERS TJ, RICE CM, van de WALLE GR, SCHEEL TKH. Equine Pegiviruses cause persistent infection of bone marrow and are not associated with hepatitis[J]. *PLoS Pathogens*, 2020, 16(7): e1008677.
- [57] XIANG J, WÜNSCHMANN S, SCHMIDT W, SHAO J, STAPLETON JT. Full-length GB virus C (hepatitis G virus) RNA transcripts are infectious in primary CD4-positive T cells[J]. *Journal of Virology*, 2000, 74(19): 9125-9133.
- [58] NENNIG K, MURTHY S, MALONEY S, SHAW TM, SHAROBIM M, MATKOVIC E, FADIRAN S, LARSEN M, RAMUTA MD, KIM AS, TEIJARO JR, GROVE J, STREMLAU M, SHARMA H, TRIVEDI S, BLUM MJ, O'CONNOR DH, HYDE JL, STAPLETON JT, KAPOOR A, BAILEY AL. Determinants of Pegivirus persistence, cross-species infection, and adaptation in the laboratory mouse[J]. *PLoS Pathogens*, 2024, 20(8): e1012436.
- [59] 万政伟. 人持续性 G 病毒二型在人群中的检出及其感染性克隆初步探索[D]. 广州: 南方医科大学博士学位论文, 2021.
- WAN ZW. Detection of the novel human pegivirus type 2 in China and preliminary exploration of its infectious clone[D]. Guangzhou: Doctoral dissertation of Southern Medical University, 2021 (in Chinese).