

甲型 H7N9 禽流感病毒的病毒学特征

刘春艳 艾军红

(首都医科大学附属北京儿童医院/北京市儿科研究所病毒室,北京 100045)

[摘要] 自2013年2月开始,中国东部省市陆续新发现了由甲型 H7N9 禽流感病毒引起人感染的病例。研究表明甲型 H7N9 病毒是一个单纯禽类来源的三元重配体,它的 HA 和 PB2 蛋白存在多个特征性突变(包括 G186V、Q226L 和 E627K 氨基酸替换),这些突变可能促进了该病毒与人细胞受体的结合以及病毒的复制。目前尚未发现 H7N9 禽流感病毒发生稳定的人与人间的传播,但不能排除有限人传人的可能。应加强对 H7N9 病毒的监测,进一步了解该病毒的来源、传播以及可能造成的威胁。 [中国当代儿科杂志,2013,15(6):405-408]

[关键词] 禽流感;甲型流感病毒;H7N9 病毒

Virological characteristics of avian influenza A H7N9 virus

LIU Chun-Yan, AI Jun-Hong. Beijing Pediatric Research Institute, Beijing Children's Hospital, Capital Medical University, Beijing 100045, China (Email: chunyan73@hotmail.com)

Abstract: From February 2013, a novel avian influenza A H7N9 virus causing human infection with fatal outcomes has been identified in eastern China. This avian influenza A H7N9 virus is a triple reassortant of viruses that are avian-origin only and it is low pathogenic in poultry. Several characteristic amino acid mutations in HA and PB2 polymerase subunit (including G186V, Q226L and E627K substitution) have been found through sequence analysis, and these mutations probably facilitate binding to human-type receptors and efficient replication in mammals. Other mutations in NA, M2 and NS genes were also found. Although sustained human-to-human transmission has not been conclusively established, limited human-to-human transmission of the H7N9 virus remains possible. Intensified surveillance for the H7N9 virus in humans and animals is needed to answer questions about the viral origin, spread and potential threat.

[Chin J Contemp Pediatr, 2013, 15(6):405-408]

Key words: Avian influenza; Influenza virus A; H7N9 virus

禽流感(avian influenza)是一种由甲型流感病毒引起的禽类传染性疾病。对禽流感的描述最早可以追溯到1878年,发生在意大利北部,当时称为“真性鸡瘟”(fowl plague)^[1]。按照致病性大小,禽流感病毒可以分为高致病性、低致病性和非致病性三类。非致病性禽流感不会引起明显症状,仅使染病的禽鸟体内产生病毒抗体;低致病性禽流感可使禽类出现轻度呼吸道症状,导致食量减少,产蛋量下降,甚至零星死亡;高致病性禽流感危害最为严重,传播快,发病率和死亡率均高,被世界动物卫生组织列为A类动物疫病,我国亦将其列为一类动物疫病。

禽流感病毒也可感染人类,引起以呼吸系统症状为主的多种临床表现,部分患者可进展为全身多脏器功能衰竭而死亡。目前报道的引起人类感染的禽流感病毒主要有 H7N7、H9N2 和 H5N1^[2-6]。

H7N7 和 H9N2 禽流感病毒感染人类时,多表现为结膜炎、普通流感样症状等,临床表现轻;而 H5N1 禽流感病毒则不同,自1997年首次报道人类感染病例至今,人感染 H5N1 禽流感已经波及了亚洲、欧洲、非洲的15个国家,多数病例病情严重,病死率超过了60%^[6]。这种突破了种属屏障传播的禽流感病毒,可能成为下一个引起人类流感大流行的候选病毒,因此越来越受到国际上的广泛关注。

自2013年2月19日开始,我国的上海、安徽等东南省市,陆续新发现了由甲型 H7N9 禽流感病毒引起人感染病例。此前虽已有人感染 H7 禽流感的报道,但是人感染 N9 禽流感病毒尚属首次。我国科学家和国际同行正在共同努力揭示此种甲型 H7N9 禽流感病毒感染的来源、病毒的变异情况、致病性、毒力和侵袭力等特征,以及可能对人类造成的

[收稿日期]2013-05-03

[基金项目]国家科技重大专项课题(编号2012ZX10004-206)

[作者简介]刘春艳,女,助理研究员。

威胁。本文对最近有关 H7N9 禽流感病毒的病毒学研究进行综述。

1 甲型流感病毒

甲型流感病毒属于正黏病毒科,为单股负链分节段的 RNA 病毒,含有 8 个 RNA 节段。病毒颗粒呈球状或短杆状,直径约为 120 nm。基因组大小约 14000 个核苷酸。8 个基因节段共编码 10 种蛋白:血凝素(hemagglutinin, HA)、神经氨酸酶(neuraminidase, NA)、基质蛋白 M2 和 M1、核蛋白 NP、非结构蛋白 NS1 和 NS2 及 3 种多聚酶蛋白 PB1、PB2 和 PA。某些流感病毒的 PB1 基因还编码另一种蛋白 PB1-F2。HA 和 NA 是流感病毒包膜的表面蛋白,根据 HA 和 NA 抗原性的不同可将流感病毒分为不同亚型。甲型流感病毒的 HA 抗原原有 16 个亚型(H1-H16),NA 有 9 个亚型(N1-N9)。流感病毒的亚型通常以 HnNn(n 为数字)表示,其中只有 H1、H2、H3 和 N1、N2 能在人类中流行。分离毒株命名规则按照型别、分离地点、分离序列号和分离年份进行,甲型流感病毒还要包括相应的 HA 亚型和 NA 亚型,如 A/Brisbane/10/2006(H3N2)。

甲型流感病毒可通过抗原漂移和抗原转换(基因重配)改变其抗原性,以适应进化和对抗群体免疫选择或药物压力。甲型流感病毒有广泛的宿主范围。不同甲型流感病毒的基因具有重配为新的流感病毒并传播给其他物种的潜在可能性。人类和非人类的甲型流感病毒重配导致新流行株的出现,其次动物宿主的存在也会导致病毒在人群外的持续循环传播。造成 1957 年人类流感大流行的甲型 H2N2 病毒以及引起 1968 年流感大流行的 H3N2 病毒均为人流感病毒与禽流感病毒的重配株,引起 1918 年流感大流行的病毒更可能是直接由纯禽流感病毒适应后造成有效的人类传播^[7-8]。

2 甲型 H7N9 禽流感病毒的特征

2.1 基因组成

Gao 等^[9]和 Chen 等^[10]通过对上海(2 例)、安徽(1 例)以及浙江(1 例)的人感染病毒的基因组全长序列比对以及亲缘分析发现,该病毒是一个禽流感病毒重配株,即来自于 H7N3(A/duck/Zhejiang/12/2011, ZJ12 亚型)、H7N9(A/wild bird/Korea/A14/2011, KO14 亚型)、H9N2(A/brambling/Beijing/16/2012-like viruses)的重配。其中编码 HA 的

基因来源于 H7N3,编码 NA 的基因来自于 H7N9(KO14),6 个内部基因(M、NS、NP、PB1、PB2、PA)则来自 H9N2。提示该病毒是一个单纯禽来源病毒的三元重配体。

2.2 病毒来源和传播方式

自从此次人感染 H7N9 禽流感病毒疫情出现以来,病毒的来源一直是各方关注的焦点。Chen 等^[10]对 6 个流行病学相关的活禽市场中鸡、鸭、鹌鹑和鸽子的样本中 H7N9 禽流感病毒的检测结果显示,40% 的鸽子样本和 20% 的鸡样本中检出 H7N9 病毒。经过与患者体内分离出的 H7N9 病毒进行遗传学比较后发现,病毒株之间的基因序列高度同源(H 基因同源性 99.4%,N 基因同源性 99.7%)。这一结果提示,本次人感染疫情是一种散发的禽类向人的传播。

本次疫情中多数病例具有禽类接触史,但仍有相当一部分病例尚未找到明确的禽类接触史,使得关于本次病毒感染的来源问题仍存疑问。疫情初期曾有学者怀疑黄浦江中死猪可能是此次甲型 H7N9 病毒的来源。尽管对 34 个死猪样本的核酸检测未发现 H7N9 病毒,但仍有专家认为,由于检测样本数量较小,同时考虑到死猪在江中漂流过程中核酸可能已发生降解等因素,因此仍需警惕猪来源的可能性^[11]。

Li 等^[12]对 82 例确诊病例的 1689 个密切接触者的观察研究结果显示,目前尚未发现此次 H7N9 病毒发生稳定的人间传播。对 2 个家庭聚集性病例的研究提示,长时间无防护地密切接触 H7N9 确诊病例,存在有限人传人的可能性。

2.3 病毒基因变异

如前所述,甲型流感病毒极易发生变异,可能导致病毒宿主特异性以及病毒复制、病毒毒力等发生改变。HA 的作用是使病毒附着到宿主细胞受体和穿透细胞。病毒通过宿主细胞的丝氨酸蛋白酶将 HA 裂解成 HA1 和 HA2。高致病性禽流感病毒的 HA 蛋白(如 H5N1)在切割位点还有额外的碱性氨基酸,这些位点能够被广泛存在于组织中的细胞蛋白酶活化,导致病毒在鸟类和哺乳类宿主中进行全身性的复制。与 H5N1 不同,H7N9 禽流感病毒,其 HA 切割位点只有一个碱性氨基酸(精氨酸),属于低致病禽流感病毒,在禽类(野鸟或家禽)仅引起轻微的疾病或无症状^[9-10, 13]。因此人可能通过接触了已感染 H7N9 病毒但无症状的家禽而被感染。这也给病毒监测与防控带来了更大的困难。

流感病毒 HA 受体结合位点(receptor binding site, RBS)的氨基酸序列决定了其对人或禽型受体

的结合倾向。人类流感病毒的 HA 主要结合 α -2,6 连接的唾液酸受体,禽类流感病毒主要结合 α -2,3 连接的唾液酸受体,受体特异性决定了流感病毒传播的种属屏障。从人和禽类分离到的 H7N9 病毒均发现在 RBS 区域的 186 位点发生了 G186V 氨基酸替换,226 位点发生 Q226L 氨基酸替换^[9-10, 14];人感染的 H7N9 病毒还发现第 138 位点的 A138S 氨基酸替换^[14]。这 3 个位点的氨基酸变异可能会增加 H5 和 H7 型禽流感病毒对人细胞受体的结合能力^[15-17]。Kageyama 等^[14]还在人和禽分离到的 H7N9 病毒的 HA 160 位点发现 T160A 的替换,可导致 158 位置 N-糖基化的缺失,可能增加了病毒与人细胞受体的结合^[16]。

NA 是流感病毒另一种重要的糖蛋白。它由 4 个结构域组成,包括氨基端胞浆尾、非极性跨膜区、茎部和头部。NA 主要与病毒从感染细胞释放和在呼吸道的播散有关,是抗病毒药物 NA 抑制剂作用的靶点。人和禽分离到的 H7N9 病毒,NA 基因的茎区在 69~73 位置均发现有一个 5 个氨基酸的缺失。此前在 H5N1 病毒中已发现这种缺失,研究显示其可能增加了病毒的复制,与其在家禽中的适应和传播有关。另外,这种短茎 NA 的病毒在小鼠体内具有更强的毒力^[18]。目前报道的人和禽类分离到 H7N9 病毒中,除 1 株人感染的 H7N9 病毒发现了 NA294 位点 R294K 的突变外,其他均未发现对 NA 抑制剂(奥司他韦)耐药的突变,提示目前 NA 抑制剂是治疗 H7N9 病毒的首选药物。由于 NA294 位点的 R294K 突变与 N9 流感病毒对 NA 抑制剂的耐药有关,因此应加强对 H7N9 病毒耐药情况的监测^[19]。

PB2 蛋白与 PB1 和 PA 蛋白共同组成流感病毒多聚酶复合物,其中 PB2 是一个重要的决定病毒宿主范围和病毒毒力的蛋白。Gao 等^[9]研究发现人感染的 H7N9 病毒 PB2 基因 627 位点存在 E627K 氨基酸替换;Chen 等^[10]的研究也在人感染的 H7N9 病毒中发现 PB2 基因的 701 位点发生 D701N 的氨基酸替换。这两种突变在人感染 H5N1 病毒中已有报道,这些突变可能增强病毒在哺乳动物间的传播力^[20-21]。此外,上述两种突变仅在人感染 H7N9 病毒中检出,在禽感染毒株中并未发现,提示这种遗传适应可能是在病毒从禽类传播给人后才发生的^[10, 14]。

M2 是由 97 个氨基酸残基组成的跨膜蛋白,其离子通道活性在病毒离壳时发挥着重要作用,是抗病毒药物金刚烷胺的作用靶点。人和禽感染的

H7N9 病毒的 M2 基因均在 31 位点发生 S31N 突变,提示其对抗病毒药物金刚烷胺不敏感。

NS1 蛋白是一种干扰素拮抗剂,可能对病毒的基因表达有作用。人和禽分离到的 H7N9 病毒中均发现了 42 位点的 P42S 突变^[9, 14],这一突变增加了 H5N1 禽流感病毒感染小鼠的毒力^[22]。同时人和禽分离的 H7N9 病毒羧基末端缺失了 PDZ 结构域结合基序^[10, 14],这一基序的缺失会引起流感病毒对小鼠的致病力减弱^[23]。

我国科学家以及国际同行正在努力揭示 H7N9 病毒的特征,但是到目前为止,关于该病毒的来源、传播方式、发病机制等特征仍然存很多未知。虽然尚未发现该病毒具有稳定的人间传播,但不能排除有限人传人的可能。病毒基因序列分析已经发现了多个可能适应哺乳动物的突变,是否预示 H7N9 病毒将会在人类引起流感大流行还有待进一步的密切监测和研究。

[参 考 文 献]

- [1] Lupiani B, Reddy SM. The history of avian influenza[J]. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2009, 32(4): 311-323.
- [2] Fouchier RA, Schneberger PM, Rozendaal FW, Broekman JM, Kemink SA, Munster V, et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101(5): 1356-1361.
- [3] Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, Natrop G, van der Nat H, Vennema H, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands[J]. *Lancet*, 2004, 363(9409): 587-593.
- [4] Lin YP, Shaw M, Gregory V, Cameron K, Lim W, Klimov A, et al. Avian-to-human transmission of H9N2 subtype influenza A viruses: relationship between H9N2 and H5N1 human isolates[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2000, 97(17): 9654-9658.
- [5] Peiris JS, de Jong MD, Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health[J]. *Clin Microbiol Rev*, 2007, 20(2): 243-267.
- [6] Gambotto A, Barratt-Boyes SM, de Jong MD, Neumann G, Kawaoaka Y. Human infection with highly pathogenic H5N1 influenza virus[J]. *Lancet*, 2008, 371(9622): 1464-1475.
- [7] Kawaoaka Y, Krauss S, Webster RG. Avian-to-human transmission of the PB1 gene of influenza A viruses in the 1957 and 1968 pandemics[J]. *J Virol*, 1989, 63(11): 4603-4608.
- [8] Taubenberger JK, Reid AH, Lourens RM, Wang R, Jin G, Fanning TG. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes[J]. *Nature*, 2005, 437(7060): 889-893.
- [9] Gao R, Cao B, Hu Y, Feng Z, Wang D, Hu W, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus[J]. *N Engl J Med*, 2013. PMID: 23577628.
- [10] Chen Y, Liang W, Yang S, Wu N, Gao H, Sheng J, et al. Human infections with the emerging avian influenza A H7N9 virus from wet market poultry: clinical analysis and characterisation of

- viral genome[J]. Lancet, 2013, doi: 10.1016/S0140-6736(13)60903-4.
- [11] Cohen J. Influenza. New flu virus in China worries and confuses [J]. Science, 2013, 340(6129): 129-130.
- [12] Li Q, Zhou L, Zhou M, Chen Z, Li F, Wu H, et al. Preliminary report: epidemiology of the avian influenza A (H7N9) outbreak in China[J]. N Engl J Med, 2013. PMID: 23614499.
- [13] Uyeki TM, Cox NJ. Global concerns regarding novel influenza A (H7N9) virus infections [J]. N Engl J Med, 2013. PMID: 23577629.
- [14] Kageyama T, Fujisaki S, Takashita E, Xu H, Yamada S, Uchida Y, et al. Genetic analysis of novel avian A (H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013 [J]. Euro Surveill, 2013, 18(15). PMID: 23594575.
- [15] Srinivasan K, Raman R, Jayaraman A, Viswanathan K, Sasisekharan R. Quantitative description of glycan-receptor binding of influenza A virus h7 hemagglutinin [J]. PLoS One, 2013, 8(2): e49597.
- [16] Wang W, Lu B, Zhou H, Suguitan AL Jr, Cheng X, Subbarao K, et al. Glycosylation at 158N of the hemagglutinin protein and receptor binding specificity synergistically affect the antigenicity and immunogenicity of a live attenuated H5N1 A/Vietnam/1203/2004 vaccine virus in ferrets [J]. J Virol, 2010, 84(13): 6570-6577.
- [17] Xiong X, Coombs PJ, Martin SR, Liu J, Xiao H, McCauley JW, et al. Receptor binding by a ferret-transmissible H5 avian influenza virus [J]. Nature, 2013, doi: 10.1038/nature12144.
- [18] Matsuoka Y, Swayne DE, Thomas C, Rameix-Welti MA, Naffakh N, Warnes C, et al. Neuraminidase stalk length and additional glycosylation of the hemagglutinin influence the virulence of influenza H5N1 viruses for mice [J]. J Virol, 2009, 83(9): 4704-4708.
- [19] Mckimm-Breschkin JL, Sahasrabudhe A, Blick TJ, McDonald M, Colman PM, Hart GJ, et al. Mutations in a conserved residue in the influenza virus neuraminidase active site decreases sensitivity to Neu5Ac2en-derived inhibitors [J]. J Virol, 1998, 72(3): 2456-2462.
- [20] Steel J, Lowen AC, Mubareka S, Palese P. Transmission of influenza virus in a mammalian host is increased by PB2 amino acids 627K or 627E/701N [J]. PLoS Pathog, 2009, 5(1): e1000252.
- [21] Abdel-Ghaffar AN, Chotpitayasonondh T, Gao Z, Peiris JS, Shindo N, Soeroso S, et al. Update on avian influenza A (H5N1) virus infection in humans [J]. N Engl J Med, 2008, 358(3): 261-273.
- [22] Jiao P, Tian G, Li Y, Deng G, Jiang Y, Liu C, et al. A single-amino-acid substitution in the NS1 protein changes the pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in mice [J]. J Virol, 2008, 82(3): 1146-1154.
- [23] Jackson D, Hossain MJ, Hickman D, Perez DR, Lamb RA. A new influenza virus virulence determinant: the NS1 protein four C-terminal residues modulate pathogenicity [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 2008, 105(11): 4381-4386.

(本文编辑: 邓芳明)

· 消息 ·

《中国当代儿科杂志》征订征稿启事

《中国当代儿科杂志》是由中华人民共和国教育部主管,中南大学主办的国家级儿科专业学术期刊。本刊为国家科学技术部中国科技论文统计源期刊(中国科技核心期刊),中国科学引文数据库(CSCD)收录期刊,北京大学图书馆中文核心期刊和国际权威检索机构美国MEDLINE、美国《化学文摘》(CA)和荷兰《医学文摘》(EM)收录期刊。同时被中国学术期刊(光盘版)、中国科学院文献情报中心、中国社会科学院文献信息中心评定为《中国学术期刊综合评价数据库》来源期刊,并被《中国期刊网》、《中国学术期刊(光盘版)》全文收录。

本刊内容以儿科临床与基础研究并重,反映我国当代儿科领域的最新进展与最新动态。辟有国外儿科研究、论著(临床研究、实验研究、儿童保健、疑难病研究)、临床经验、病例讨论、病例报告、专家讲座、综述等栏目。读者对象主要为从事儿科及相关学科的临床、教学和科研工作者。

本刊为月刊,每月15日出版,向国内外公开发行。中国标准刊号:ISSN 1008-8830, CN 43-1301/R。欢迎全国各高等医学院校,各省、市、自治区、县医院和基层医疗单位,各级图书馆(室)、科技情报研究所及广大医务人员和医学科技人员订阅。每期定价12元,全年144元。邮发代号:国内 42-188;国外 3856(BM)。可通过全国各地邮局订阅或直接来函与本刊编辑部联系订阅。

向本刊投稿一律通过网上稿件远程处理系统,免收审稿费。审稿周期4~6周。欲浏览本刊或投稿,请登录本刊网站。网站提供免费全文下载。

为更好地与读者、作者进行沟通互动,我刊于2012年2月入驻国内著名医学媒体丁香园博客,网址:<http://i.dxy.cn/cjcp>。

联系地址:湖南省长沙市湘雅路87号《中国当代儿科杂志》编辑部 邮编:410008

电话:0731-84327402 传真:0731-84327922 Email:ddek7402@163.com 网址:<http://www.cjcp.org>