

应做好生产、储备疫苗的充分准备。当前的耐药性检测结果显示,此次流行的甲型 H1N1 流感病毒对金刚烷胺和金刚乙胺耐药,但对奥司他韦(达菲)和扎纳米韦(瑞乐莎)敏感,因此还要选择合适抗病毒药物进行储备。

参 考 文 献

[1] Shope R, Lewis P. Swine influenza: experimental transmission and pathology. *J Exp Med*, 1931, 54: 349-359.

[2] Smith TF, Burgert EO Jr, Dowdle WR, et al. Isolation of swine influenza virus from autopsy lung tissue of man. *N Engl J Med*, 1976, 294: 708-710.

[3] Myers KP, Olsen CW, Gray GC. Cases of swine influenza in humans: a review of the literature. *Clinical Infectious Disease*, 2007, 44: 1084-1088.

[4] Centers for Disease Control and Prevention. Swine Flu and You. <http://www.cdc.gov/flu/swine>.

[5] Influenza A (H1N1)—update 10. http://www.who.int/csr/don/2009_05_02a/en/index.html.

[6] Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, et al. Emergence of avian H1N1 influenza viruses in pigs in China. *J Virol*, 1996, 70(11): 8041-8046.

[7] Yu H, Zhou YJ, Li GX, et al. Further evidence for infection of pigs with human-like H1N1 influenza viruses in China. *Virus Res*, 2009, 140(1-2): 85-90.

[8] Olsen CW, Brammer L, Easterday BC, et al. Serologic evidence of H1 swine influenza virus infection in swine farm residents and

employees. *Emerg Infect Dis*, 2002, 8: 814-819.

[9] Myers KP, Olsen CW, Setterquist SF, et al. Are swine workers in the United States at increased risk of infection with zoonotic influenza virus? *Clin Infect Dis*, 2006, 42: 14-20.

[10] Gaydos JC, Hodder RA, Top FH Jr, et al. Swine influenza A at Fort Dix, New Jersey (January - February 1976). II. Transmission and morbidity in units with cases. *J Infect Dis*, 1977, 136 Suppl: S363-368.

[11] Centers for Disease Control and Prevention. Swine-origin influenza A (H1N1) virus infections in a school-New York City, April 2009. *MMWR*, 2009, 58 (Dispatch): 1-3.

[12] Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for clinicians on identifying and caring for patients with swine—origin influenza A (H1N1) virus infection. *H1N1 Flu Guidance* (<http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/>).

[13] Centers for Disease Control and Prevention. Influenza-Missouri. *MMWR*, 1988, 37(43): 661.

[14] Centers for Disease Control and Prevention. Interim guidance for clinicians on the prevention and treatment of swine—origin influenza virus infection in young children. *H1N1 Flu Guidance* (<http://www.cdc.gov/h1n1flu/guidance/>).

[15] World Health Organization. Influenza pandemic plan. The Role of WHO and Guidelines for National and Regional Planning. Geneva, Switzerland, 1999.

[16] Belshe RB. The origins of pandemic influenza—lessons from the 1918 virus. *N Engl J Med*, 2005, 353: 2209-2211.

(收稿日期: 2009-05-06)

(本文编辑: 张林东)

猪流感病毒及其基因重配对人类流感流行的影响

卢亦愚 陈寅 徐昌平 冯燕

【关键词】 甲型(H1N1)流感病毒; 猪流感病毒; 基因重配
Effect of swine influenza virus and its gene reassortment on the circulation of human influenza LU Yi-yu, CHEN Yin, XU Chang-ping, et al. Zhejiang Provincial Center for Disease Control and Prevention, Hangzhou 310051, China
 Corresponding author: LU Yi-yu, Email: luyiyuzjh@yahoo.com.cn
【Key words】 Influenza A/H1N1 virus; Swine influenza virus (SIV); Gene reassortment

2009年4月13日自墨西哥出现第一例人感染猪流感(A/H1N1)的死亡病例以来,至5月5日全球确认

猪流感病例已上升至1490例,死亡人数30例。除墨西哥与美国外,其他有19个国家也报告了A/H1N1的确认病例。为此WHO在4月27日将全球流感大流行的警告级别提升到4级,并在2天后又进一步提高到5级,并把该流感称为甲型(H1N1)流感,号召开展全球性防控工作,充分体现了WHO对这次新型流感流行的重视程度。

1. 甲型流感病毒:流感是由甲(A)、乙(B)和丙(C)三型流感病毒引起的急性呼吸道传染病,其中甲型流感危害程度最大,常引起世界性流感大流行,除能感染人类以外,也可在动物和禽类中引起广泛流行,甲型流感病毒不仅严重影响了人类的健康,也给农业与养殖业带来了巨大的威胁^[1,2]。

甲型流感病毒为负链单股 RNA 病毒,分为 8 个基因片段,分别为 PB2、PB1、PA、HA、NP、NA、MP 和 NS。典型的病毒粒子在电镜下呈球形,直径为 80 ~ 120 nm,平均 100 nm。流感病毒的 HA 与 NA 是流感病毒的重要表面抗原,与流感病毒的抗原变异密切相关。HA 是病毒的主要表面糖蛋白,由 562 ~ 566 个氨基酸组成,能结合细胞表面受体,诱导中和抗体产生,形成免疫保护作用。NA 是构成病毒囊膜纤突的另一个重要蛋白成分,它能避免病毒粒子的聚集,有利于病毒的释放,对病毒在感染细胞周围的扩散能力有很大影响^[3,4]。

在流感病毒的 8 个基因中,HA 变异最快,其次是 NA。自然界中像甲型流感病毒这样变异频繁、变异幅度大的生物是少有的,如甲型流感病毒的 HA1 基因每年每个核苷酸变异的概率为 $3 \times 10^{-3} \sim 4 \times 10^{-3}$,而细胞染色体 DNA 的突变率仅为 $10^{-8} \sim 10^{-10}$ 。甲型流感病毒变异通过抗原漂移与抗原转换这二种机制来改变其抗原性^[5,6]。

抗原漂移是指甲型流感病毒亚型内部经常发生的小变异,它受到宿主防御机制的免疫选择压力,是流感病毒全部基因片段变化的积蓄,是一种量变的过程,漂移的结果形成抗原性的改变将会导致流感的流行,流感病毒的抗原漂移是不定向的,即抗原漂移在某一时间内可产生多方向变异的变种,每一个抗原性改变的变种不一定都造成流行,要成为流行株还需要一些其他条件,如毒力、传播能力等,甲型流感病毒 HA 和 NA 抗原漂移是相互独立进行的。

对流感病毒抗原性影响更大的是抗原转换,抗原转换又称抗原大变异,是指不同甲型流感病毒基因组各个片段之间进行片段交换重配。甲型流感病毒基因组的各片段的 RNA 均含有其转录与复制所必需的核蛋白(NP)与聚合酶的复合物,在同一地区同时流行两种或两种以上的甲型流感病毒时,不同流感病毒在对宿主的共同感染中,有可能使其 RNA 片段进行交换,重配成包含混合 RNA 片段的病毒^[7]。

2. 猪流感的公共卫生意义:猪流感是世界上最常见的猪传染病之一,常引起猪的急性呼吸道疾病暴发,其病原猪流感病毒也是甲型流感病毒的成员。由于猪呼吸道上皮细胞上既有禽流感病毒的受体唾液酸 α -2,3-半乳糖苷(SA α 2,3Gal),又有人流感病毒的受体唾液酸 α -2,6-半乳糖苷(SA α 2,6Gal),因此,猪群在储存流感病毒、诱导流感病毒新亚型出现的环节上起到了重要作用^[8]。

除了对养猪业的影响之外,猪流感最突出的流

行病学特点是它具有同时感染人和禽的能力,因此猪流感病毒除具有畜牧业传染病上的意义外,在人类的流感流行中也具有重要的公共卫生意义。

20 世纪的每次人类流感的流行前后都有猪流感的发生。1997 年美国的 Taubenberger 等^[9]证实,1918 年“西班牙流感”大流行时的 H1N1 毒株与典型的猪流感病毒 H1N1 在基因和抗原方面极为相似,通过对其 HA、NA 和 NS 基因的序列分析发现,在 HA 的裂解位点处有多个碱性氨基酸的植入,这种基因重组很可能是导致该次流感大流行的原因。2001 年澳大利亚的 Gibbs 等^[10]报道,1918 年流行的流感病毒血凝素 HA 基因发生的变异,正是由于猪流感病毒的基因片段跳跃到人流感基因上,才导致了当时西班牙流感病毒极强的感染性与致死性。此外,研究还证实 1957 年的新型流感病毒 H2N2 亚洲毒株,是由人、禽流感病毒基因重配而来,其 HA、NA 与 PB1 三个基因片段来自于禽流感病毒,其他 5 个片段来源于当时流行的人甲型(H1N1)流感病毒;而 1968 年的甲型(H3N2)流感病毒 A/HongKong/68,除 HA 与 PB1 基因来自禽流感病毒外,其余 6 个基因片段均为来源于人的 H2N2 流感病毒,这些都已得到了确认^[7-11]。这两次流感大流行的毒株,在进入人体之前,都在猪体内进行了基因重组,获得了与人细胞表面流感病毒受体结合的特性。所以当这类在猪体内经过重组或重配的病毒一旦具有较强的传染性、致病性,并能感染人类,就有可能引起新的世界性流感大流行,这次墨西哥发生的新型甲型(H1N1)流感,也具有这种特点。

1976 年 1 月,美国新泽西州 1 名士兵死于 H1N1 猪流感病毒感染,5 名士兵体内分离到同样的病毒,血清学调查表明当时周围至少有 500 人受到感染^[12];同年 11 月,在美国威斯康星州南部也有 H1N1 猪流感病毒感染人的报道。此后,北美报道了多起猪流感病毒 H1N1 在自然条件下传染给人的事件,1993 年荷兰在两个不同地区的婴儿身上分离到 2 株禽-人重组的流感病毒 A/Netherlands/5/93(H3N2)和 A/Netherlands/35/93(H3N2)。从毒株的遗传性和抗原性分析表明,它与欧洲猪群中分离的基因重配的 H3N2 病毒关系十分密切,编码其内部蛋白的 6 个基因均来源于禽类。1999 年我国香港也报道了女婴感染 H3N2 猪流感病毒的事件。

上述研究证实了感染猪的流感病毒具有感染人的潜力,这就增加了新流感病毒经猪体重配后传播给人类的可能性。因此,许多学者认为,猪体内的流

感病毒是人类流感病毒的潜在来源,下一次人类流感大流行的流行株基因中,将可能会有现今流行于猪群中的流感病毒片段。因此,对猪群中的猪流感病毒进行监测并对其中来自于人、猪、禽的病毒基因进行分析,这对流感流行与暴发的预测具有重要的意义。

3. 猪流感病毒的主要亚型:目前在全球范围内猪群中流行的流感病毒亚型主要包括H1N1、H1N2、H3N2、H1N7、H3N6、H4N6和H9N2等。虽然,不同亚型的猪流感病毒之间可以组成多种血清型,但已造成世界性流行的猪流感病毒血清型,仅有H1N1、H3N2、H1N2三种。

(1)H1N1亚型病毒:目前猪群中存在的H1N1亚型猪流感病毒,主要有古典猪H1N1、类禽H1N1和类人H1N1三种。1931年由Shope分离得到了第一株猪流感病毒,即古典H1N1亚型猪流感病毒,它在遗传进化上与引起1918年西班牙大流行的流感病毒(H1N1亚型)密切相关。该型猪流感病毒一直在美国的猪群中流行,20世纪70年代后传入亚洲与欧洲。1979—1980年从欧洲猪群中分离的流感病毒,在基因特性、抗原性上均与古典型H1N1猪流感病毒有显著的差别,研究表明其8个基因片段都是禽源的,因此称为类禽H1N1猪流感病毒。由于人的H1N1亚型流感毒株很容易传给猪,因此从猪群中偶尔也能分离到该类病毒,称为类人的H1N1病毒^[8,11,13-16]。

(2)H3N2亚型病毒:H3N2亚型猪流感病毒,主要包括类人的H3N2亚型和基因重配的H3N2亚型猪流感病毒。类人的H3N2亚型是从人的流感病毒H3N2亚型感染猪;1998年在美国分离到由人、猪和禽三源基因重配的H3N2亚型病毒,这类毒株在北美猪群中持续流行^[8,17,18]。

(3)基因重配的H1N2亚型病毒:自从80年代以来,在欧洲、美洲与亚洲均从猪群中分离到H1N2亚型病毒,这类毒株是由人的H3N2与猪古典的H1N1病毒的基因重配,或由人H3N2与禽流感H1N1病毒重配而来^[19,20]。

4. 2009年引起全球流行的新的甲型(H1N1)流感病毒溯源探讨:2009年4月,墨西哥报道了一种新型的H1N1流感病毒,目前被命名为甲型(H1N1)流感病毒。该病毒究竟从何而来,已引起世界广泛关注。有专家认为,该病毒与普通的猪流感病毒不同,这种甲型(H1N1)流感病毒是人流感、禽流感 and 猪流感病毒的重配毒株。

有专家对近三十多年来猪流感病毒的重配进行研究,认为从1970年起,在美国的猪群中就已经分离到含有古典猪流感病毒和人流感病毒的重配猪流感病毒;在欧洲和亚洲的猪群中也分离到人流感病毒与禽流感病毒的重配毒株,且这些重配病毒在欧洲和亚洲的猪群中持续存在。1984年在欧洲和亚洲出现的大规模猪流感,很可能就是这种人源H3N2与禽源H1N1病毒基因片段在猪体内进行重配的结果。此外,自1998年起,猪群中三源重配的H3N2病毒在美国广泛流行,该病毒同时含有人流感病毒的HA、NA和PB1基因,北美禽病毒的PB2和PA基因,以及古典猪病毒的NP、M和NS。

90年代以来,在日本、英国、法国、意大利、美国、比利时、德国、中国台湾均出现了一种重配的H1N2猪流感病毒,这种病毒是三源重配的H3N2病毒和古典猪H1N1病毒经过再次重配所形成的四源重配病毒。

因此,国外有专家认为,2009年4月墨西哥等地人感染的来自猪源的新型甲型H1N1病毒,也是一种四源重配病毒,并给出了病毒基因重配图^[21](图1)。

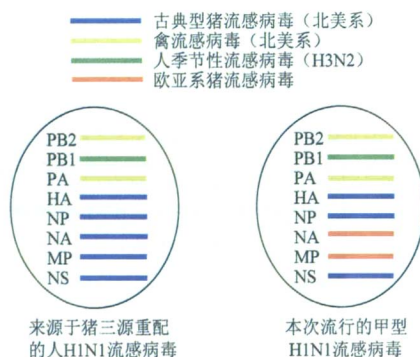


图1 2009年甲型(H1N1)流感病毒基因重配分析

为了对本次新型甲型(H1N1)流感病毒进行溯源分析,我们查阅了相关文献,并对美国疾病预防控制中心公布的本次新型甲型(H1N1)流感病毒的5株病毒株A/California/04/2009、A/California/07/2009、A/California/08/2009、A/California/10/2009、A/Texas/04/2009的基因片段进行了比较,结果表明上述新型甲型(H1N1)病毒株具有很高的同源性。因此,以A/California/04/2009(H1N1)的各个基因序列为例,在美国GenBank上进行比对,并构建了系统进化树,寻找与本次新型甲型(H1N1)流感各个基因片段同源性最高的各类流感毒株(表1和图2、3)。

从表1可以看出,与NA和M基因同源性最高的为欧洲地区的H1N1猪流感病毒株。通过对HA、

表1 本次流行的甲型(H1N1)流感病毒8个基因片段的同源性比对

基因片段	同源性比对结果
HA	最高为 A/Swine/Indiana/P12439/00 (H1N2) 株 [同源性 95%]; 同源性最高的主要为 1999—2001 年北美地区猪源 H1N2 病毒株
NA	最高为 A/Swine/England/195852/92 (H1N1) 株 [同源性 94%]; 同源性最高的主要为 1991—1998 年欧洲地区猪源 H1N1 病毒株
MP	最高为 A/swine/HongKong/5212/99 (H3N2) 株 [同源性 97%]。同源性最高的主要为香港 1999—2002 年猪源 H3N2 病毒株, 另外与欧洲地区猪源 H1N1 和 H1N2 等猪源病毒株也有很高同源性, 达 96%
NP	最高为 A/Swine/Iowa/533/99 (H3N2) 株 [同源性 96%], 与 A/Swine/Indiana/P12439/00 (H1N2) 株 [同源性 96%]; 同源性最高的主要为美国、韩国的猪源 H3N2 病毒株和美国的 H1N2 猪源病毒株
PB1	最高为 A/Wisconsin/10/98 (H1N1) 株 [同源性 96%], 与 A/Swine/Indiana/9K035/99 (H1N2) 株 [同源性 96%]; 同源性最高的主要为美国的猪源 H3N2 和 H1N2 病毒株, 仅 A/Wisconsin/10/98 为 H1N1 病毒株
PB2	最高为 A/swine/Korea/JNS06/2004 (H3N2) [同源性 96%], 与 A/Swine/Minnesota/55551/00 (H1N2) 株 [同源性 96%]; 同源性最高的主要为美国猪源和禽源的 H1N2 和 H3N2 病毒株
NS	最高为 A/Swine/Minnesota/9088-2/98 (H3N2) [同源性 96%]; 与 A/Swine/Indiana/9K035/99 (H1N2) [同源性 96%]; 同源性最高的主要为美国、韩国等 H1N2 和 H3N2 猪源病毒株
PA	最高为 A/Swine/Illinois/100084/01 (H1N2) [同源性 96%]; 同源性最高的主要为美国 H1N2 和 H3N2 猪源和少量禽源病毒株

NP、PB1、PB2、NS 和 PA 6 个片段进行综合评价发现, 与其同源性最高的病毒株主要为美国等的 H1N2 猪流感病毒株。由 HA 的基因进化树分析也可以看出, 新型甲型(H1N1)流感病毒与北美猪流感病毒 H1N2 最为接近(图2)。NA 的基因进化分析表明(图3), 新型甲型(H1N1)流感病毒与欧亚系猪流感病毒遗传距离最近。此外, 从二个主要抗原基因 HA 与 NA 的系统进化树上可以看出, 这次新型甲型 H1N1 流感病毒与 1918 年的西班牙流感病毒 H1N1 具有很大的差异。

根据资料分析^[21], 1998 年以后, 在美国猪群中广泛流行的 H3N2 病毒是三源重配病毒, 此后, 1999 年美国印第安纳州首先分离出 1 株 H1N2 猪流感病毒, 基因进化分析显示这株病毒是由古典 H1N1 猪流感病毒和当时美国流行的 H3N2 三源重配猪流感病毒进一步重组的结果, 即该四源重配的 H1N2 病毒除了 HA 基因来自 H1N1 外, 其他 7 个片段均来自 H3N2。自此以后, 这一四源重配的 H1N2 猪流感病毒、古典 H1N1 猪流感病毒以及三源重配的 H3N2 猪流感病毒在美国同时流行^[19]。

在 2009 年这次人感染猪流感病毒的疫情中, 2 例美国加利福尼亚儿童感染新型甲型 H1N1 病例中, 经过基因组测序后发现, 这两株病毒的 NA 和 M 基因与欧亚株系的猪流感病毒相似, 而包括 HA 在内的其他 6 个基因均与 1999 年以后美国流行的猪流感病毒相似^[22]。据此推理, 对本次甲型 H1N1 流感病毒的溯源, 我们认为存在着另一种可能, 即本次流行的流感病毒很可能是由四源重配的猪流感病毒 H1N2 与欧亚系的猪流感病毒 H1N1 再次重配的结果, 其 NA 与 M 基因来源于 H1N1, 而其他 6 个片段来源于 H1N2 猪流感病毒(图4)。

猪是人源、禽源和猪源流感病毒的惟一共同易感宿主, 它在“禽-猪-人”的种间传播链中, 起到了流感病毒中间宿主及多重宿主的作用, 在人和动物流感的病原学、生态学及流行病学上, 具有十分重要的公共卫生意义。本次墨西哥等地流行的新型甲型(H1N1)流感病毒, 就是由猪群基因重配进化而起源的。因此, 加强对猪流感的研究, 关注猪群中流感病毒的基因重组、重配, 分析不同来源猪流感病毒与人、禽流感病毒的分子流行病学特征, 对人类流感病毒的变异与流感流行趋势的预测以及开展相应的预防控制工作, 都具有十分重要的现实意义。

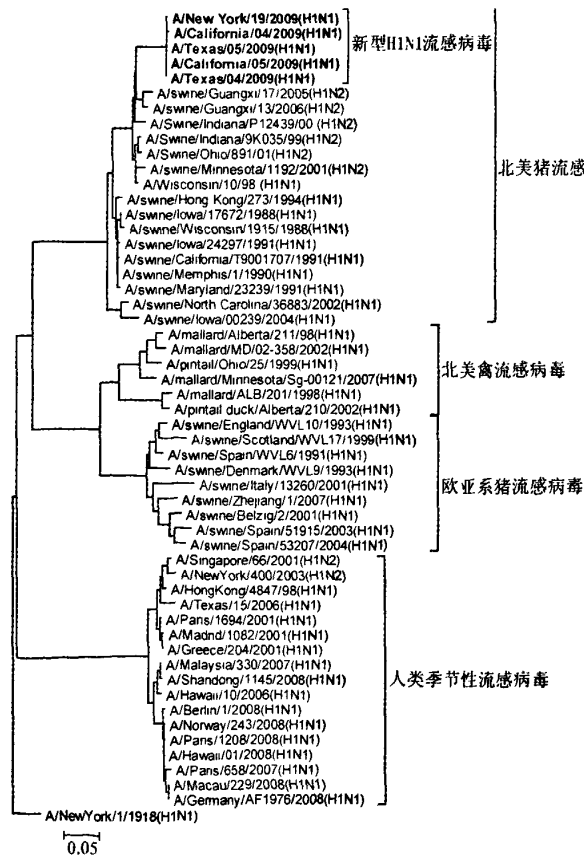


图2 新型甲型H1N1流感病毒HA基因进化分析

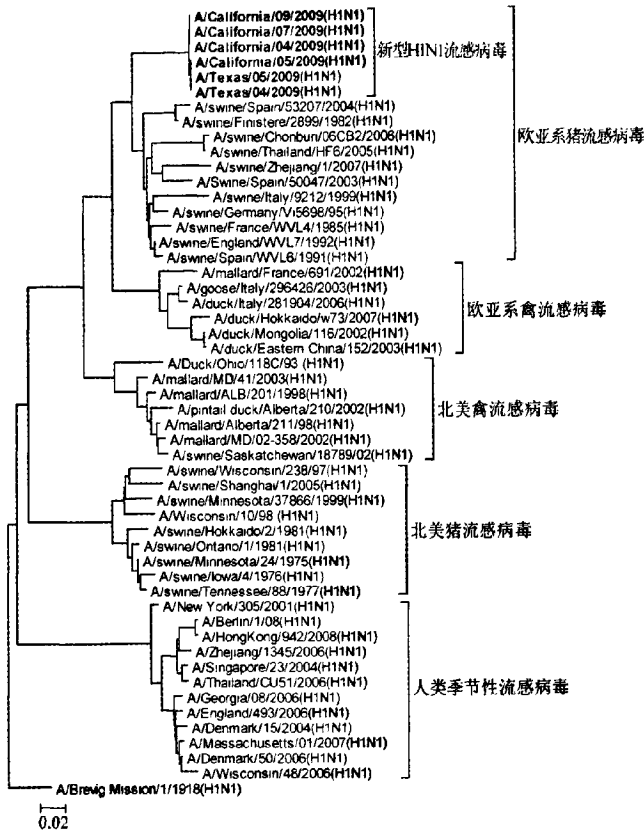


图3 新型甲型H1N1流感病毒NA基因进化分析

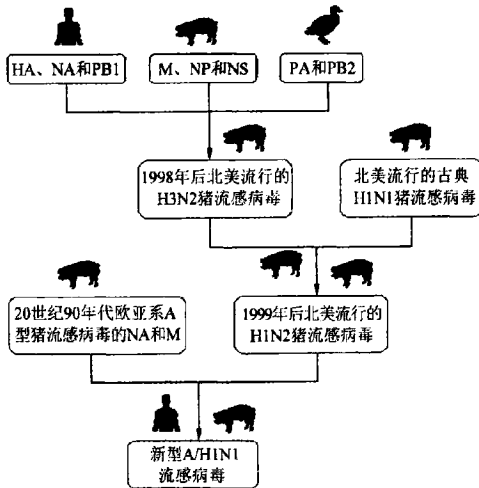


图4 推测2009年甲型(H1N1)流感重配进化图

参 考 文 献

[1] Nicholson KG. Textbook of influenza, London, UK, 2000.
 [2] Kuiken T, Leighton FA, Fouchier RA. Pathogen surveillance in animals. Science, 2005, 309(5741):1680-1681.
 [3] 甘孟侯. 禽流感. 北京: 中国农业出版社, 2004.
 [4] 郭元吉, 程小雯. 流行性感冒病毒及其实验技术. 北京: 中国三峡出版社, 1997.
 [5] 黄平, 邓峰. 流感. 广州: 广东科技出版社, 2004.

[6] 金奇. 分子病毒学. 北京: 科学技术出版社, 2001.
 [7] 卢亦愚. 流感病毒的变异及其引发流行的预防. 国外医学流行病学传染病学分册, 2005, 32(5): 257-259.
 [8] 陈义祥, 蒙雪琼. 猪流感病毒在世界范围内的流行情况及其公共卫生意义. 微生物学通报, 2008, 35(4):582-588.
 [9] Taubenberger JK, Hultin JV, Morens DM Discovery and characterization of the 1918 pandemic influenza virus in historical context. Antivir Ther, 2007, 12(4):581-591.
 [10] Gibbs MJ, Gibbs AJ. Molecular virology: was the 1918 pandemic caused by a bird flu? Nature, 2005, 7(2060):889-893.
 [11] Lam TY, Hon CC, Wang Z, et al. Evolutionary analyses of European H1N2 swine influenza A virus by placing timestamps on the multiple reassortment events. Virus Res, 2008, 131(2): 271-278.
 [12] 刘小银, 岳华, 汤景元, 等. 猪流感病毒及其人类公共卫生意义. 西南民族大学学报(自然科学版), 2005, 4:65-68.
 [13] Ludwig S, Stitz L, Planz O, et al. European swine virus as a possible source for the next influenza pandemic. Virology, 1995, 212(2):555-561.
 [14] Choi CHA SK, Chae C. Detection and isolation of H1N1 influenza virus from pigs in Korea. Vet Rec, 2004, 154(9):274-275.

[15] Noble S, McGregor MS, Wentworth DE, et al. Antigenic and genetic conservation of the haemagglutinin in H1N1 swine influenza viruses. J Gen Virol, 1993, 74(6):1197-1200.
 [16] Vincent AL, Swenson SL, Lager KM, et al. Characterization of an influenza A virus isolated from pigs during an outbreak of respiratory disease in swine and people during a county fair in the United States. Vet Microbiol, 2009 (on line publication ahead of print).
 [17] Guan Y, Shortridge KF, Krauss S, et al. Emergence of avian H1N1 influenza viruses in pigs in China. J Virol, 1996, 70(11): 8041-8046.
 [18] Peiris JS, Guan Y, Markwell D, et al. Cocirculation of avian H9N2 and contemporary "human" H3N2 influenza A viruses in pigs in Southeastern China: potential for genetic reassortment? J Virol, 2001, 75(20): 9679-9686.
 [19] Karasin AI, Landgraf J, Swenson S, et al. Genetic characterization of H1N2 influenza A viruses isolated from pigs throughout the United States. J Clin Microbiol, 2002, 40(3):1073-1079.
 [20] Zell R, Motzke S, Krumbholz A, et al. Novel reassortant of swine influenza H1N2 virus in Germany. J Gen Virol, 2008, 89(Pt 1):271-276.
 [21] 国家流感中心. A/H1N1病原学概述. <http://www.cnic.org.cn/bbs/attachment>.

[22] Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Swine influenza A (H1N1) infection in two children—Southern California, March–April 2009. MMWR, 2009, 58(15):400-402.
 (收稿日期:2009-05-06)
 (本文编辑:张林东)