

禽流感危机

王凯¹ 彭晓霞² 于琦¹ 陈凯¹ 孔德军¹ 曾婉利¹ 张萍¹
齐银¹ 迟宓宓² 郭爱民² 王崑^{1,2}

(1. 中国科学院研究生院; 2. 首都医科大学公共卫生与家庭医学学院流行病学与卫生统计学系)

摘要: 禽流感病毒的血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(neuraminidase, NA)均易发生抗原漂移和抗原转换,可突出快速感染人类并致病的亚型,特别是H5N1型具有从感染其他动物种属的流感病毒中获得基因并迅速转变的能力,威胁人类健康。世界候鸟的迁徙更使全球面临禽流感危急,本文就禽流感的病毒特征、感染机制及其防治和鸟类迁徙对禽流感传播的影响进行综述。

中图分类号: R 181.3⁺ 2

The Threat of Avian Influenza A Viruses

Wang Kai¹, Peng Xiaoxia², Yu Qi¹, Chen Kai¹, Kong Dejun¹, Zeng Wanli¹

Zhang Ping¹, Qi Yin¹, Chi Mimi², Guo Aiming², Wang Wei^{1,2}

(1. Graduate University of Chinese Academy of Science; 2. Department of Biostatistics and Epidemiology, School of Public Health and Family Medicine, Capital University of Medical Sciences)

ABSTRACT: Hemagglutinin (HA) and Neuraminidase (NA) of influenza viruses are easy to have antigenic drift and antigenic shift, and new pathogenic subtype which is able to infect humans can be formed by such viral mutations. Genetic reassembly which always happens in H5N1 subtype accelerates the threat of avian influenza A viruses to human being. In addition, bird migration contributes to the global spread of emerging infectious disease. Therefore, we review current knowledge regarding the harm, pathological properties, pathogenicity of avian influenza viruses and discuss the influence of bird migration to the global spread of the viruses.

禽流感(avian influenza)俗称鸡瘟。最早的禽流感记载为意大利1878年发生的鸡群大量死亡。其病原体直到1955年才被科学家证实为甲型流感病毒,随即将此疾病被命名为禽流感^[1]。

1918年、1959年分别在西班牙和苏格兰发生过规模不等的禽流感流行。尤其是1918年的西班牙禽流感大流行,夺走2000多万人的生命^[2]。对这次禽流感病死者组织标本的研究,发现其病原体为从禽流感病毒(avian influenza virus, AIV)变异而来的H1N1型流感病毒。

1997年香港H5N1型禽流感病毒株感染18人,死亡6人,这是H5N1型禽流感病毒第一次感染人类并出现致死病例^[3]。2005年以来,由于秋冬候鸟的迁徙,禽流感出现在罗马尼亚、克罗地亚、希腊、土耳其、英国和瑞典等国,计有120多人感染,65人死亡。

1 禽流感病毒概述

1.1 禽流感病毒的生物学性状

禽流感病毒,隶属SSRNA负链病毒目正粘病

毒科(orthomyxoviridae family)。根据其核蛋白(nucleoprotein, NP)和基质蛋白(matrix protein, M1)抗原之间的差异分为甲、乙、丙型(或A、B、C型),禽流感病毒均属于甲型^[4]。禽流感病毒直径约100 nm,由核衣壳和病毒囊膜组成。

1) 核衣壳:内核(70 nm)在电子显微镜下呈电子致密的核心^[5,6](图1、2),由分节段的螺旋型单股负链RNA组成,相对分子质量为 $5.9 \times 10^6 \sim 6.3 \times 10^6$ 。甲、乙型流感病毒有8个节段,丙型有7个节段,每一节段为1个基因。流感病毒基因组分节段的特点使该病毒具有高频率基因重配,更容易发生变异。甲型8个基因编码的10个蛋白分别为:NP、RNA多聚酶PB1、PB2、PA、M1蛋白、M2蛋白、NS1蛋白、NS2蛋白、HA和NA^[4]。其中RNA多聚酶PB1、PB2、PA与RNA的复制与转录有关;NS1蛋白(nonstructural protein)调节mRNA的剪切及核输出^[7];NS2蛋白通过与M1蛋白的相互作用,与RNP的输出有关^[8]。

2) 病毒囊膜:病毒囊膜分为3层:①内膜蛋白(M蛋白)包围在病毒核心外,M1蛋白在病毒装配

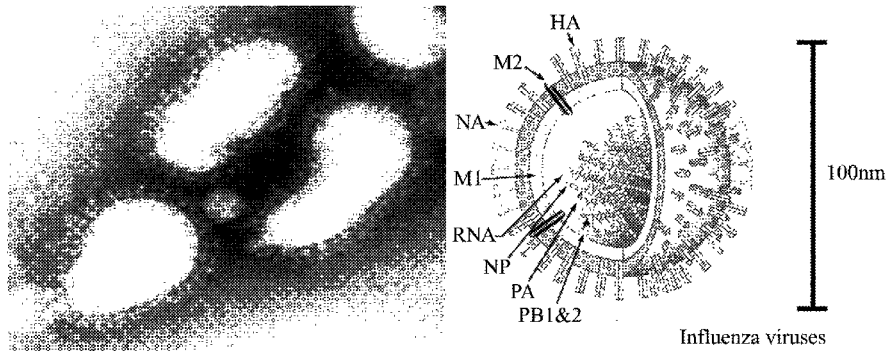


图 1 H5N1 的电镜片

Fig 1 Electron micrograph of influenza H5N1 virus particles

图 2 禽流感病毒结构示意图

Fig 2 The structure of influenza virus

及出芽中起作用^[9]; M2 蛋白可形成四聚体, 具有 H^+ 通道活性, 可被溶酶体内低 pH 值激活, 促进病毒脱囊膜^[10]。②类脂层是脂质双层结构, 来自宿主细胞膜或核膜。③糖蛋白层由 2 种糖蛋白、血凝素 (hemagglutinin, HA) 和神经氨酸酶 (neuraminidase, NA) 组成。HA 能与红细胞表面含唾液的糖蛋白受体结合, 引起红细胞凝集^[11]。NA 是由 4 条相同的糖基化多肽所组成的蘑菇状四聚体, 能水解呼吸道分泌液的黏膜蛋白, 破坏黏膜保护层, 亦可水解宿主细胞表面糖蛋白末端的 N-乙酰神经氨酸, 有利于成熟病毒的释放^[12]。

根据病毒表面的 H 抗原性(血凝素)及 N 抗原性(神经氨酸酶)可将 AIV 分为许多亚型。到目前为止已发现 16 种 HA 和 9 种 NA 亚基, 其中 H16 亚型是 2005 年从红嘴鸥(black-headed gulls)中发现的^[13]。

1.2 禽流感病毒感染机制

流感病毒感染过程中起主要作用的是血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA) 2 种糖蛋白, 在成熟的病毒中 HA 是 1 个三聚体, 每个单体含有 1 个大亚基(HA1)和 1 个小亚基(HA2), 二者以二硫键相连。HA1 上的受体结合位点识别细胞表面低聚糖末端唾液酸残基, 膜融合依靠 HA2 的疏水 N 末端, NA 可脱去细胞表面低聚糖末端唾液酸残基, 还可移走被感染细胞内的病毒糖蛋白唾液酸残基^[14]。然后诱导寄主细胞卷入病毒, 将病毒遗传物质 RNA 解开并进入寄主细胞核。通过寄主的核内机制病毒 RNA 大量复制并部分在细胞质内转录组成自身的蛋白。重新复制的 RNA 和病毒蛋白结合组成的新病毒颗粒通过血凝素-唾液酸键移向细胞表面。神经氨酸酶的主要作用是使这个键断裂, 让新病毒

释放并感染其他细胞。

1.3 禽流感病毒变异与流行机制

对以往流感流行的资料进行分析, 认为乙型和丙型流感病毒抗原性比较稳定; 甲型病毒表面抗原 HA、NA 最易变异, 二者既可同时变异, 也可分别变异。自 1934 年分离出甲型流感病毒以来, 已发生过多次世界性的大流行(见表 1) 以及大流行间期的小流行。流行规模的大小主要取决于病毒表面抗原的变异幅度; 变异幅度小, 属于量变称抗原漂移(antigen drift), 是核酸序列的点突变, 可使 HA 或 HA 抗原决定簇发生改变, 并在免疫人群中被选择出来, 可引起中小型流行。到 1994 年为止, HA1 共有 114 个核苷酸发生置换, 平均每年 4~6 个, 引起 51 个氨基酸变异, 平均每年 2~3 个, 变异比例为 15.5%^[15,16]。若变异幅度大, 即新毒株的 HA 和(或) NA 与前次流行株完全不同, 形成新的亚型, 称抗原转变(antigenic shift)。

美国陶本格尔小组的研究表明^[17,18], 引起 1918—1919 年流感大流行的 H1N1 亚型病毒, 其 8 个基因节段非常接近禽流感病毒而与其他的人流感病毒存在显著差异。种系发生分析表明, 虽然 1918 年流感病毒的 HA 基因接近于禽流感病毒, 但它仍属于哺乳动物流感病毒, 表明人流感病毒可能是从禽流感病毒变异进化而来的。

1.4 来自 H5N1 的威胁

H5N1 病毒株具有从感染其他动物种属的流感病毒中获得基因而快速突变的能力, 因此受到特别关注。我国研究人员^[19]对 2004 年国内不同样本禽流感病毒 H5N1 的研究发现几个样本毒株间 NS 基因存在差异, 表明我国流行的 H5N1 亚型禽流感病毒株不止一种。

表 1 甲型流感病毒在不同年代的表现抗原变化
 Tab 1 The antigenic shift of influenza virus in different time

Time	Subtype	Name of virus strain	H antigen	N antigen
1933—1946	Type A	A/PR/8/34	H0	N1
1946—1957	Type A1	A/FM/1/47	H1	N1
1957—1967	Type A2, A3	A/Singapore/1/57	H2 H3	N2 N2
1968—	Type A(Hongkong)	A/Hong Kong/1/68	H1 H5	N1 N1
1977	Type A	A/USSR/90/77	H1 H5	N1 N1
1997—	Avian influenza virus	A/Hong Kong/483/97		

从 1999 年至 2004 年出现的 H5N1 流感病毒的变异分化对照中可以看出,短短的几年中原始流感病毒变异分化了多个新种,且新种可很快掩盖原始种^[20](图 3)。2005 年 5 月,对青海湖流行的禽流感病毒的研究也发现,该 H5N1 毒株与 1997 年的病毒有很大不同。对不同物种的 4 个病毒的全序列测定后发现,8 个基因片段中有 5 个(M、PA、PB1、PB2 和 NS)与 A/peregrine falcon/Hong Kong/D0028/04 序列相似。并且在 HA 上发现了多碱基序列 PQGERRRKKR/G,在 PB2 基因上发现毒性岛(virulence island),以及 NA 上 1 个 20 氨基酸(49~69)的删除都与高致病性相关^[21]。据此认为禽流感流行的传染源主要是染疫的禽类,人因接触染疫的禽类而受感染。有人怀疑人类与禽类的流感病毒重组后,能导致其 HA 水解活性的改变;另外人与禽的水解酶系存在差异,两者共同作用可能导致对禽类无致病性的毒株对人类具有致病性^[16, 20, 22, 23]。

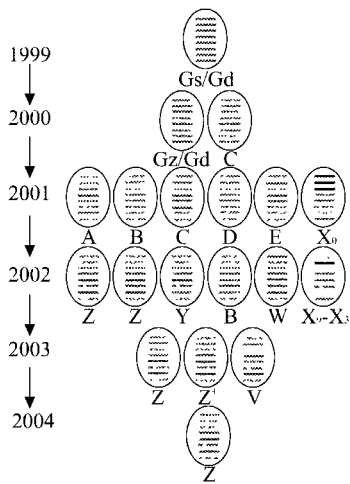


图 3 1999—2004 病毒变异种系

Fig3 The genotypes of H5N1 influenza virus reassortants from eastern Asia

The eight gene segments are (horizontal bars starting at the top downwards): PB2, PB1, PA, HA, NP, NA, M and NS.

世界卫生组织指出,虽然目前的 H5N1 型病毒株仅能通过禽类传染给人体,但由于其具有高度变异性,必须防范它与人类的流感病毒株接触并进行基因重组,突变出“人传人”的禽流感病毒。如果在某个地区同时出现人流感和禽流感病毒株流行,就有可能形成“熔炉”,导致新的亚型出现。

2 世界候鸟的迁徙使全球面临禽流感危机

迁徙(migration)指候鸟依不同季节,在越冬地与繁殖地之间进行有规律地变更栖居地区的一种习性。它具有周期性、定向性和集群性的特点。尽管目前并没有迁徙鸟类携带禽流感病毒的直接证据^[24],但候鸟的迁徙与禽流感世界范围大暴发密切相关^[25, 26]。

全球鸟类有 8 条主要迁徙路线,覆盖了除南极洲之外的几大洲。除 3 条只经美洲大陆外,其余均要经过亚洲地区,而经中国境内的就有 3 条。通过对近 2 年不同地区出现的 H5N1 病毒的分析^[20]发现,印度尼西亚的 H5N1 病毒与从 2003 年香港病死的候鸟中分离出的病毒具有较高的同源性;2004 年越南和泰国禽中发现的 H5N1 病毒也与从香港家禽中获取的较为一致;2005 年 5 月青海湖暴发禽流感后,从候鸟体内获得的病毒序列与近 3 年中国南部发现的家禽体内病毒相似程度很高,尽管当时青海湖周围并未发现家禽感染禽流感。虽然候鸟在美洲大陆有其独特的迁移路线,但其中 2 条都与经过横跨欧亚大陆的大西洋并飞越非洲的候鸟相汇合,另 1 条则与东南亚候鸟的迁徙途径部分重合。随着各种候鸟的迁徙, H5N1 病毒有可能最终遍布全球。

正如美国疾病预防控制中心主任朱丽·格伯丁^[27]所说,禽流感已经成为“我们现在面临的最严重的威胁”。世界卫生组织估计,全球暴发禽流感将造成数百万至 1 亿 5 000 万人的死亡,这将取决

于变异后病毒具有的致命程度,而这一切都几乎可能在几个月之内发生。禽流感已不再是对某国或某一地区的威胁,随着其天然寄主的全球性迁徙及全球运输系统的高度发达,禽流感的全球化难以避免。各国在做好国内预防的同时还要加强国际互助,对需要帮助的国家 and 地区提供无偿援助,消除其隐患,这样才能有效预防和控制禽流感的大范围暴发。

4 参考文献

- [1] Cox N J, Subbarao K. Global epidemiology of influenza: past and present. *Annu Rev Med*, 2000, 51: 407~ 421
- [2] 胡连荣. 认识禽流感. 知识就是力量, 2004, 3: 12~ 13
- [3] Available from: <http://www.china.org.cn/chinese/zhuanti/qlg/483177.htm>
- [4] Horimoto T, Kawaoka Y. Pandemic threat posed by avian influenza A viruses. *Clin Microbiol Rev*, 2001, 14: 129~ 149
- [5] Wood J M, Robertson J S. From lethal virus to lifesaving vaccine: developing inactivated vaccines for pandemic influenza. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2: 842~ 847
- [6] Tamura S, Tanimoto T, Kurata T. Mechanisms of broad cross protection provided by influenza virus infection and their application to vaccines. *Jpn J Infect Dis*, 2005, 58: 195~ 207
- [7] Garcia S, Egorov A, Matassov D, et al. Influenza A virus lacking the NS1 gene replicates in interferon deficient systems. *Virology*, 1998, 252: 324~ 330
- [8] O' Neill R E, Talon J. The influenza virus NEP (NS2 protein) mediates the nuclear export of viral ribonucleoproteins. *EMBO*, 1998, 17: 288~ 296
- [9] Scholtissek C, Stech J, Krauss S, et al. Cooperation between the hemagglutinin of avian viruses and the matrix protein of human influenza A viruses. *J Virol*, 2002, 76: 1781~ 1786
- [10] Pinto L H, Holsinger L J. Influenza virus M2 protein has ion channel activity. *Cell*, 1992, 69: 517~ 528
- [11] Hirst G K. Agglutination of red cells by allantoic fluid of chick embryos infected with influenza virus. *Science*, 1941, 94: 22~ 23
- [12] Gottschalk A. The specific enzyme of influenza virus and *Vibrio cholerae*. *Biochem Biophys Acta*, 1957, 23: 645~ 646
- [13] Fouchier R A, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a novel influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black headed gulls. *J Virol*, 2005, 79: 2814~ 2822
- [14] Rudneva I A, Il'yushina N A, Shilov A A, et al. Functional interactions of the influenza virus glycoproteins. *Mol Biol (Mosk)*, 2003, 37: 34~ 40
- [15] Austin F J, Webster R G. Antigenic mapping of an avian H1 influenza virus haemagglutinin and interrelationships of H1 viruses from humans, pigs and birds. *J Gen Virol*, 1986, 67: 983~ 992
- [16] 樊代明. 抗性与变异. 西安: 第四军医大学出版社, 2003. 339~ 345
- [17] Ann H R, Jeffery K T, Thomas G F. Evidence of an absence: the genetic origins of the 1918 pandemic influenza virus. *Nat Rev Microbiol*, 2004, 2: 909~ 914
- [18] Taubenberger J K, Reid A H, Lourens R M, et al. Characterization of the 1918 influenza virus polymerase genes. *Nature*, 2005, 437: 889~ 893
- [19] 杨涛, 刘明, 张云, 等. H5N1 亚型高致病性禽流感病毒 NS 基因的克隆及序列分析. *中国兽医科技*, 2005, 35: 52
- [20] Li K S, Guan Y, Wang J, et al. Genesis of a highly pathogenic and potentially pandemic H5N1 influenza virus in eastern Asia. *Nature*, 2004, 430: 209~ 213
- [21] Liu J, Xiao H, Lei F, et al. Highly pathogenic H5N1 influenza virus infection in migratory birds. *Science*, 2005, 309: 1206
- [22] Mikhail N, Matrosovic H, Tatyana Y, et al. Human and avian influenza viruses target different cell types in cultures of human airway epithelium. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2004, 101: 4620~ 4624
- [23] Ghedin E, Sengamalay N A, Shumway M, et al. Large scale sequencing of human influenza reveals the dynamic nature of viral genome evolution. *Nature*, 2005, 437: 1162~ 1166
- [24] Migration threatens to send flu south. http://www.nature.com/news/2005/051024/pdf/4371212a_pf.htm
- [25] Reed K D, Meece J K, Henkel J S, et al. Birds, migration and emerging zoonoses: west nile virus, lyme disease, influenza A and enteropathogens. *Clin Med Res*, 2003, 1: 5~ 12
- [26] Chen H, Smith G J, Zhang S Y, et al. Avian flu: H5N1 virus outbreak in migratory waterfowl. *Nature*, 2005, 436: 191~ 192
- [27] WHO: H5N1 avian influenza: timeline. 28 Oct. 2005. <http://www.cdc.gov/flu/avian/outbreaks/>