

doi:10.11751/ISSN.1002-1280.2018.09.10

# 新型重组 H7N9 禽流感研究进展

赵俊杰<sup>1</sup>, 王团结<sup>1</sup>, 姚文生<sup>1</sup>, 康凯<sup>1</sup>, 陈耀星<sup>2</sup>, 徐和敏<sup>3</sup>, 张乾义<sup>1\*</sup>, 何伟勇<sup>2\*</sup>

(1. 中国兽医药品监察所, 北京 100081; 2. 中国农业大学动物医学院, 北京 100193; 3. 中牧实业股份有限公司, 北京 100067)

[收稿日期] 2018-05-14 [文献标识码] A [文章编号] 1002-1280 (2018) 09-0061-06 [中图分类号] S852.65

**[摘要]** H7N9 禽流感病毒是威胁人类健康的主要病原之一, 自 2013 年 3 月爆发至 2018 年 3 月, 已造成 1438 人感染, 病死率高达 39.63%。从 H7N9 病毒的生物学特性和遗传演化分析、H7N9 病毒流行病学调查数据、病毒致病机制方面综合系统地对 H7N9 禽流感的综合防控措施进行综述, 预测 H7N9 存在人际传播的可能性, 以期对新型 H7N9 流感病毒的监测和预防提供参考。

**[关键词]** H7N9 禽流感; 生物学特性; 流行病学调查; 预防

## Research Progress on the Novel Reassortant Avian Influenza A (H7N9) Virus

ZHAO Jun-jie<sup>1</sup>, WANG Tuan-jie<sup>1</sup>, YAO Wen-sheng<sup>1</sup>, KANG Kai<sup>1</sup>,CHEN Yao-xing<sup>2</sup>, XU He-min<sup>3</sup>, ZHANG Qian-yi<sup>1\*</sup>, HE Wei-yong<sup>2\*</sup>

(1. China Institute of Veterinary Drug Control, Beijing 100081, China; 2. College of Veterinary Medicine, China Agricultural University,

Beijing 100193, China; 3. China Animal Husbandry Industry Co., LTD, Beijing 100067, China)

Corresponding author: ZHANG Qian-yi, E-mail: zhangqianyi@ivdc.org.cn; HE Wei-yong, E-mail: hwy123@cau.edu.cn

**Abstract:** Avian influenza A(H7N9) virus is one of the major pathogens that threaten human health. It has caused 1438 infections and leads to high case fatality rate up to 39.63% from March 2013 to March 2018. Therefore, it is quite essential to give the overall elaborate on the comprehensive prevention and control measures of the novel H7N9 virus through the research of the biological characteristics, genetic evolution analysis, epidemiological study and pathogenic mechanism, predicting the possibility of H7N9 virus transmission in humankind and meanwhile providing a scientific theoretical data to its monitoring and prevention.

**Key words:** avian influenza A(H7N9) virus; biological characteristics; epidemiology study; prevention

2013 年 3 月, 一场严重的致人呼吸道疾病的传染病从上海和安徽开始爆发。3 月 31 日, 国家卫生和计划生育委员会对外宣布, 上海和安徽爆发致人死亡的病原体为新型的 H7N9 禽流感病毒 (Avian influenza virus, AIV)。紧接着 OIE/国家禽流感参

考实验室立即紧急组织有关专家在上海和安徽的家禽养殖场和活禽市场采集样品约 1000 余份, 进行活禽交易市场 H7N9 亚型 AIV 的鉴定和分离。在上海活禽市场采集到鸡、鸽、鸭和环境中 H7N9 样品阳性率分别为 6.67%、8.57%、0 和 10.77%。随

作者简介: 赵俊杰, 研究实习员, 从事生物安全和动物病理学研究。

通讯作者: 张乾义, E-mail: zhangqianyi@ivdc.org.cn; 何伟勇, E-mail: hwy123@cau.edu.cn

后,在 3 月 31 日到 5 月 2 日期间,禽流感研究专家在安徽、上海、江苏、浙江、湖北、山东、河南、江西、广东、福建和湖南等地进行紧急检测采样,共采集样品 10703 份,通过病毒亚型鉴定和序列分析,发现了 52 株 H7N9 亚型 AIV。研究人员对人 H7N9 AIV 可能的感染源进行快速确定,其中来自活禽市场的鸡和环境中检测到的 H7N9 AIV 数量最多,分别为 31 和 13,占到此次采样发现的阳性样本总数的 84.62%。此后,H7N9 AIV 在国内一直呈现散发状态。截至 2018 年 3 月,内地共报告 1438 例人感染 H7N9 禽流感确诊病例,死亡 570 例,病死率为 39.63%。

### 1 H7N9 病毒的生物学特性和遗传学分析

AIV 属于正黏病毒科 A 型流感病毒属<sup>[1]</sup>,病毒粒子呈多形性,主要以球形为主,是单股负链分节段的 RNA 病毒。其基因组分 8 个片段,主要编码核蛋白复合体(RNPc)PB1、PB2、PA 和 NP,表面结构蛋白 HA(血凝素)、NA(神经氨酸酶),基质蛋白 M,非结构蛋白 NS<sup>[2]</sup>。HA 和 NA 是流感病毒的表面抗原糖蛋白,具有良好的免疫原性,同时又有强烈的变异性,也是病毒血清亚型及毒株分类的重要依据。根据病毒 HA 和 NA 的抗原性不同,可以将 A 型流感病毒分为 16 个 H 亚型(H1-H16)和 10 个 N(N1-N10)亚型,两者组合形成众多血清亚型,已证实能感染人类的 AIV 有 H5N1、H9N2、H7N7、H7N2、H7N3、H5N2 和 H10N7 等。根据 AIV 毒力强弱,将其分为高致病性毒株和低致病性毒株两大类<sup>[3]</sup>,只有 H5 和 H7 亚型高致病力病毒对家禽高度致死。但是,所有亚型病毒都可能获得感染人的能力并引起公共卫生危机。

动物流感引起人流感的机制之一,是多宿主(包括人)流感病毒的重组。研究表明,H7N9 亚型 AIV 来源于不同亚型的 AIV 之间发生的多次重配。病毒的 HA 基因可能来自于 2011 年浙江分离到的感染鸭 H7N9 AIV,NA 基因可能来自于早期分离的鸭 H4N9 AIV 和鸭 H11N9 AIV,病毒的其他内部基因(PB1、PB2、PA、NP、M 和 NS)来自于两种不同的 H9N2 亚型 AIV<sup>[4]</sup>,其中 NS 基因来源于江苏地区鸡群 H9N2 亚型病毒,其余内部基因来源于上海等地

鸡群 H9N2 亚型病毒<sup>[5]</sup>。

H7N9 亚型 AIV 感染人表现为严重呼吸道症状,病情严重,因此寻找使人类感染并且导致严重疾病的突变至关重要。通过对 7 株 H7N9 病毒的受体特异性测试发现,尽管有些病毒仍然保持识别禽类受体成分的能力,但所有测试病毒都已获得结合人类受体成分的能力。小鼠研究表明,H7N9 禽分离株对小鼠无致病力,人分离株引起小鼠严重发病甚至死亡,提示 H7N9 病毒在人体复制时获得关键氨基酸位点突变使其致病力增强。H7N9 AIV HA 蛋白发生了 Q226L、G186V 突变,使得病毒更容易与人呼吸道上皮细胞受体的  $\alpha 2,6$ -半乳糖苷键连接的唾液酸结合<sup>[6-7]</sup>,从而获得在人上呼吸道复制的能力;此外,HA 受体结合区发生了 T160A 突变,使病毒与  $\alpha 2,3$ -半乳糖苷键的结合能力减弱,相对增强了其与人体受体的结合能力<sup>[8]</sup>。NA 蛋白可分为头部、颈部、跨膜区、胞浆区四个区。H7N9 AIV NA 蛋白颈部区 69-73 位缺失了 5 个氨基酸,这种缺失提高了 H7N9 病毒感染陆栖鸟类、家禽和哺乳动物的能力<sup>[9]</sup>。此外,PB2 基因发生了 E627K 和 D701N 突变,研究人员证明这些突变导致聚合酶活性增强并使病毒感染哺乳动物的能力增强<sup>[10]</sup>。NS1 序列失去了 C-端 PDZ 结合基序,可能使病毒在哺乳动物中的适应性减弱,但 NS1 蛋白 P42S 的突变使病毒对老鼠的毒性增强<sup>[11]</sup>。M1 蛋白 N30D 和 T215A 突变增加了对老鼠的毒性<sup>[12]</sup>。M2 蛋白 S31N 突变降低了对金刚烷胺和金刚乙胺的敏感性<sup>[13]</sup>。在 NA 蛋白中,耐药突变 R294K 和 H276Y 发生在少数菌株中<sup>[14]</sup>。以上这些突变都大大增加了新型重组 H7N9 亚型 AIV 对哺乳动物的致病性及其在不同宿主之间的传播能力,并且会造成其耐药性的产生。

Zhang 等证实,部分人源和禽源的 H7N9 AIV 的分离株已经获得了在雪貂间通过呼吸道液滴飞沫传播的能力,说明新型的 H7N9 AIV 已经能够识别人类受体,且人源分离株会引起小鼠严重发病并导致死亡<sup>[4]</sup>。更重要的是,H7N9 病毒可在雪貂间通过呼吸道飞沫传播,暗示 H7N9 禽流感发生人际

传播的可能性极大。研究人员证实,高致病性 H7N9 病毒在雪貂肺中比低致病性 H7N9 病毒更难清除,这可能是导致其致病性不同的主要原因之一<sup>[15]</sup>。病毒 H7N9 AIV 一直在禽类中流行并不断发生进化重组,而感染人的 H7N9 AIV 发生了重要变异且有毒力返强的现象。如果禽源 H7N9 病毒与人源 H7N9 病毒发生混合感染,使其获得人类流感病毒的关键基因,其适应人类并在全世界流行的概率是极大的<sup>[16]</sup>。

## 2 H7N9 禽流感的流行病学调查

有文献表明世界范围内有过 H1、H2、H3 和 H5 亚型的流感的大流行,其中发生在 1918 年的西班牙流感曾造成 5000 万人的死亡,2009 年的墨西哥

流感也曾肆虐全球,但这两次流感的由来都怀疑和猪群中流行的猪流感有关。从 2013 年 3 月 16 日发现第一例感染 H7N9 病毒的患者到 2013 年 5 月底,在两个多月的时间内导致 130 多人感染,说明该病毒已获得人际水平传播能力,当时病死率达到 30%左右。此后,2014 年、2015 年、2016 年人感染 H7N9 禽流感病例数分别为 330、196、264,死亡数分别为 135、92、73,病死率分别为 40.91%、46.94%、27.65%。2017 年,H7N9 亚型禽流感疫情又有卷土重来的趋势,根据国家卫生和计划生育委员会疾病预防控制中心发布的传染病预防控制消息,2017 年 1 月到 2018 年 3 月 H7N9 亚型禽流感疫情发生情况见表 1。

表 1 2017.1–2018.3 全国人感染 H7N9 禽流感发病数、死亡数、病死率统计表

Tab 1 Statistics on the incidence and death number and case fatality rate of human infected H7N9 avian influenza during 2017.1–2018.3

时间 Time	发病数 Incidence	死亡数 Number of deaths	病死率 Case fatality rate
2017.1	192	79	41.15%
2017.2	160	61	38.13%
2017.3	96	47	48.96%
2017.4	81	24	29.63%
2017.5	72	37	51.39%
2017.6	35	13	37.14%
2017.7	2	2	100%
2017.8	5	5	100%
2017.9	2	0	0
2017.10	0	0	-
2017.11	1	1	100%
2017.12	0	0	-
2018.1	1	0	0
2018.2	1	1	100%
2018.3	0	1	-
总计	648	271	41.82%

流行病学研究证实,患者多为有过接触活禽史的中老年男性。因为中国南方地区活禽交易市场管理混乱、卫生条件差、经营流转粗放,加剧了

H7N9 亚型禽流感的传播和扩散。AIV 也可通过环境传播,接触病毒污染的水源等都可能感染。且 H7N9 禽流感主要爆发于秋、冬等季节,夏季发

病较少,说明病毒比较适合在较低的气温里生存。根据目前的报道,江苏有 1 例病例疑似父亲传给女儿,女儿接触父亲 6 h 后发病并最终相继死亡。经有关部门鉴定,两人感染的病毒高度一致,提示此病可因密切接触患者分泌物导致传染,但目前还没有证据显示病毒在人与人之间发生了飞沫传播。由于新型 H7N9 AIV HA 裂解位点为 PKGRGLFG,表明其在禽类是低致病性的,因此新型 H7N9 亚型 AIV 可能在家禽中传播而不表现任何的临床症状,这种传播极具隐蔽性,给 H7N9 AIV 的监测和筛查带来极大的困难,所以一旦造成大规模流行和爆发,相关部门的防控措施往往滞后,对人类的危险性很大。

### 3 H7N9 病毒的致病机制

H7N9 在人体内引起严重和致命的呼吸系统疾病,许多感染 H7N9 病毒的人由于严重肺炎及其并发症而死亡<sup>[17]</sup>,潜伏期一般在 7 d 以内,一般从发病到死亡大概为 14 d<sup>[18]</sup>。初期表现为流感样症状,高热、头痛、咳嗽,伴有肌肉酸痛和全身不适。后病程加速,表现为以高度呼吸困难为特点的重症肺炎,体温大多持续在 39 ℃ 以上。若治疗不及时,会导致弥散性血管内凝血、休克、多器官功能衰竭综合征甚至死亡。胸部影像学检查可见肺部双侧毛玻璃样变和肺实变,肺纹理增粗,有的还可继发胸腔积液或气胸。患者急性期血清样本中,检测到趋化因子和细胞因子 IP-10、MIG、MIP-1 $\beta$ 、MCP-1、IL-6、IL-8 和 IFN- $\alpha$  水平增高,这些释放出的细胞因子和化学因子阻塞血管,病人出现典型的“细胞因子风暴”<sup>[19]</sup>,加速病程向危重程度转化。但又有研究显示,IL-1 $\beta$  和 TNF- $\alpha$  的分泌有助于机体抵御 H7N9 的感染<sup>[20]</sup>;此外,住院患者可能继发细菌感染,因此感染特别是耐药菌感染也是致死原因之一。

### 4 H7N9 流感的综合防控措施

由于 H7N9 亚型禽流感对禽类的低致病性,感染禽类通常不导致明显的临床症状,但感染人类往来势迅猛、致病力强,所以对其监测和防范成为农业和卫生部门工作的重点和难点。疫苗免疫是

预防 H7N9 亚型禽流感最有效的办法。但是 AIV 变异速率快,不同亚型禽流感之间交叉保护性较低,给防控带来极大的困难。

世界卫生组织推荐 A/Shanghai/2/2013 (H7N9) 和 A/Anhui/1/2013 (H7N9) 作为 H7N9 亚型禽流感疫苗的候选株,但是世界范围内还没有成熟的动物用或人用疫苗上市。有的新型疫苗还在不断研发和实验过程中。李媛媛等通过 8 质粒反向遗传操作系统构建了 H7N9 亚型病毒的救获株 rCK/53,进一步构建出了疫苗候选株 CK53/PR8,为研制相关疫苗提供了基础<sup>[21]</sup>;单继艳等构建了表达密码子优化的 H7N9 病毒 A/Anhui/1/2013 (H7N9) HA 基因的 DNA 疫苗 pVAH7,并将其作为 DNA 疫苗进行 SPF 鸡的免疫保护效力评价,结果显示重组质粒 pVAH7 在细胞中具有良好的表达效果、对鸡有良好的免疫保护作用<sup>[22]</sup>;Kong 和 Zhang 等利用质粒反向遗传方法构建了 H7N9 冷适应性疫苗,其中 HA 和 NA 基因来自于 A/Anhui/1/2013 (H7N9),剩余 6 个病毒基因来自于 A/Ann Arbor/6/60。然后通过实验证实此疫苗在恒河猴、小鼠、雪貂和几内亚猪等动物体内都可以产生大量的中和抗体,连续免疫两次就可以完全保护 H7N9 病毒的攻击<sup>[23]</sup>。

### 5 结语

H7N9 亚型禽流感作为重要的人兽共患病,国内外研究人员在致病机制研究和综合防控措施上已经取得了重要的阶段性研究进展。最新研究表明,H7N9 AIV 在宿主体内发生抗原漂移致使致病力有增强趋势。寻找新型 H7N9 病毒的来源及人类感染途径,并了解它们的大流行潜力将进一步提高我们对未来流行病的反应和减轻严重程度的能力<sup>[24]</sup>,是今后研究的重点。H7N9 AIV 是否可以跨越物种障碍发生人际传播、主要传播途径是什么、未检测到的隐性带毒的患者群有多大、是否会出现更多的耐药性毒株等等,依旧是悬而未决的问题。事实证明,及时关闭活禽市场、全面完善的监测计划、不同禽种间的隔离措施都有助于减少疫情的爆发<sup>[25-26]</sup>;研制出安全性好并且高效的禽用疫苗并

从源头上减少 H7N9 流感病毒的发生,依然是今后流感科研工作的重中之重。

## 参考文献:

- [1] 江丽芳. H7N9 禽流感病毒研究现状[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2013, 34(5): 651-656.  
Jiang L F. Current knowledge for the research of avian influenza A (H7N9) virus [J]. Journal of Yat-sen University (Medical Sciences), 2013, 34(5): 651-656.
- [2] To K K, Chan J F, Chen H, *et al.* The emergence of influenza A H7N9 in human beings 16 years after influenza A H5N1: a tale of two cities[J]. Lancet Infectious Diseases, 2013, 13(9): 809-821.
- [3] 张颖, 霍晓伟. 禽流感病毒抗原变异的研究进展[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2015(7): 74-76.  
Zhang Y, Huo X W. Research progress on the of avian influenza virus antigenic variation [J]. Heilongjiang Animal Science and Veterinary Medicine, 2015(7): 74-76.
- [4] 张乾义. 禽流感病毒在哺乳动物间水平传播及分子机制的研究[D]. 甘肃农业大学, 2014.  
Zhang Q Y. Molecular basis of the transmissibility in mammal of avian influenza viruses [D]. Gansu Agricultural University, 2014.
- [5] 郭晓兰, 司雨露, 管大伟. 两株人 H7N9 禽流感病毒的全基因组测序及分子特征分析[J]. 中山大学学报(医学科学版), 2015(2): 12-20.  
Guo X L, Si L L, Guan D W. Whole genome sequencing and analysis of molecular characteristics of the two avian influenza A H7N9 viruses [J]. Journal of Yat-sen University (Medical Sciences), 2015(2): 12-20.
- [6] Wang D, Yang L, Zhu W, *et al.* Two outbreak sources of influenza A (H7N9) viruses have been established in China[J]. Journal of Virology, 2016, 90(12): 5561-5573.
- [7] Shi Y, Zhang W, Wang F, *et al.* Structures and receptor binding of hemagglutinins from human-infecting H7N9 influenza viruses [J]. Science, 2013, 342(6155): 243-247.
- [8] Gao R, Cao B, Hu Y, *et al.* Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus [J]. New England Journal of Medicine, 2013, 368(20): 1888.
- [9] 杜雪飞, 丁洁, 祁贤. 一例混合感染中 H3N2 和 H7N9 流感病毒的分子遗传特性[J]. 微生物学通报, 2015(9): 164-170.  
Du X F, Ding J, Qi X. Genetic characterization of influenza A H3N2 and H7N9 viruses in a mixed infection case in Nanjing, 2013 [J]. Microbiology China, 2015(9): 164-170.
- [10] Zhang H, Li X, Guo J, *et al.* The PB2 E627K mutation contributes to the high polymerase activity and enhanced replication of H7N9 influenza virus [J]. Journal of General Virology, 2014, 95(4): 779-786.
- [11] Jiao P, Tian G, Li Y, *et al.* A single-amino-acid substitution in the NS1 protein changes the pathogenicity of H5N1 avian influenza viruses in mice [J]. Journal of Virology, 2008, 82(3): 1146-1154.
- [12] Fan S, Deng G, Song J, *et al.* Two amino acid residues in the matrix protein M1 contribute to the virulence difference of H5N1 avian influenza viruses in mice [J]. Virology, 2009, 384(1): 28-32.
- [13] Pinto L H, Holsinger L J, Lamb R A. Influenza virus M2 protein has ion channel activity [J]. Cell, 1992, 69(3): 517-528.
- [14] Dong Z, Xia Y, Ya X, *et al.* Epidemiological and genetic characteristics of the fifth avian influenza A (H7N9) wave in Suzhou, China, from October 2016 to April 2017 [J]. Virus Genes, 2018, 54(2): 182-189.
- [15] Imai M, Watanabe T, Kiso M, *et al.* A highly pathogenic avian H7N9 influenza virus isolated from a human is lethal in some ferrets infected via respiratory droplets [J]. Cell Host & Microbe, 2017, 22(5): 615.
- [16] Bao C J, Cui L B, Zhou M H, *et al.* Live-animal markets and influenza A (H7N9) virus infection [J]. New England Journal of Medicine, 2013, 368(24): 2337.
- [17] Xiang D, Pu Z, Luo T, *et al.* Evolutionary dynamics of avian influenza A H7N9 virus across five waves in mainland China, 2013-2017 [J]. Journal of Infection, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2018.05.006>
- [18] Su S, Gu M, Liu D, *et al.* Epidemiology, evolution, and pathogenesis of H7N9 influenza viruses in five epidemic waves since 2013 in China [J]. Trends in Microbiology, 2017, 25(9): 713-728.
- [19] 修文琼, 郑奎城. 新型 H7N9 禽流感病毒研究进展 [J]. 中国人兽共患病学报, 2014, 30(6): 636-644.  
Xiu W Q, Zheng K C. Summary on the studies of avian H7N9 influenza virus [J]. Chinese Journal of Zoonoses, 2014, 30(6): 636-644.
- [20] Yu M, Wang Q, Qi W, *et al.* Expression of inflammation-related genes in the lung of BALB/c mice response to H7N9 influenza A virus with different pathogenicity [J]. Med Microbiol Immunol, 2016, 205(5): 1-9.
- [21] 李媛媛, 郭晶, 李旭勇, 等. H7N9 亚型禽流感病毒反向遗传操作系统的建立及其疫苗候选株的构建 [J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(5): 407-409.

- Li Y Y, Guo J, Li X Y, *et al.* Establishment of reverse genetics system for H7N9 avian influenza virus and construction of candidate recombinant vaccine strain[J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2014, 36(5): 407-409.
- [22] 单继艳, 刘兵, 柳金雄, 等. 表达 H7N9 亚型禽流感病毒 HA 基因 DNA 疫苗对鸡免疫保护效力的研究[J]. 中国预防兽医学报, 2014, 36(6): 467-470.
- Shan J Y, Liu B, Liu J X, *et al.* Protective efficacy of H7N9 DNA vaccine pVAH7 in SPF chickens [J]. Chinese Journal of Preventive Veterinary Medicine, 2014, 36(6): 467-470.
- [23] Kong H, Zhang Q, Gu C, *et al.* A live attenuated vaccine prevents replication and transmission of H7N9 virus in mammals[J]. Sci Rep, 2015, 5:11233.
- [24] Wang C, Wang J, Su W, *et al.* Relationship between domestic and wild birds in live poultry market and a novel human H7N9 virus in China [J]. Journal of Infectious Diseases, 2014, 209(1): 34.
- [25] Chen Y, Liang W, Yang S, *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, 381(9881): 1916-1925.
- [26] Teng Y, Bi D, Guo X, *et al.* Contact reductions from live poultry market closures limit the epidemic of human infections with H7N9 influenza [J]. Journal of Infection, 2018, 76: 295-304.

(编辑:李文平)