

亚洲甲型流感病毒发源的研究

II. 亚洲甲型(A₂)与亚甲型(A₁)流感病毒的抗原关系*

梁 荣 根

(卫生部生物制品研究所, 北京)

最近几年, 许多学者对于 A₂ 流感病毒的发源曾进行过研究, 并提出一些假设^[1,2,3,4], 这些假设有的单凭少数病毒株的抗原关系, 有的尚缺乏直接的有力的证据, 故仍未能令人满意地解释 A₂ 流感病毒的发源问题。

1957 年 A₂ 型流感的大流行首先在我国发生, 早在 1957 年 2 月在我国贵州省已有流行, 同时分离出 A₂ 病毒^[5]。其后, 在 3、4 月份全国各地均先后发生, 所有分离的病毒经鉴定均属 A₂ 型^[6,7]。在 A₂ 流行之前, 即 1957 年 1 月我们曾自洛阳市局限性流行患者的咽洗液标本中分离出 5 株 A₁ 病毒 (属 D/56 组), 本文采用其中 4 株 (即洛 57-1、洛 57-3、洛 57-4、洛 57-5), 到了 4 月, 洛阳市与全国各地一样遭到大流行的侵袭, 从此次流行期间分离出 7 株 A₂ 病毒^[8]。初步研究结果说明这两次流行的病毒虽属于不同的亚型, 但具有共同的抗原成分。流行病学调查结果表明, 1 月份经感染 A₁ 发病的人, 在 4 月份 A₂ 流行时发病率显著降低^[8]。以上初步结果启示我们, A₂ 病毒和过去流行的 A₁ 病毒之间仍然具有共同的抗原成分, 进一步查明它们之间的抗原关系对说明 A₂ 病毒的发源可能会有所帮助。为此对我国 1957 年前后分离的多株 A₁ 及 A₂ 病毒的抗原关系进行了详细的研究。本文报导这些研究的结果。

一、材料和方法

(一) 病毒株 本文所采用的病毒株有国外甲型代表株 Shope (猪型)、WS(A)、PR₈(A)、MaK(A)、FM₁(A₁)、C-5(A₁)、A/Eire17/55(A₁)、A/Ned36/56 (A₁, 简称 D/56)、A/Ned37/57(A₂) 及我国各地于 1953—1957 年间分离的 A₁ 及 A₂ 病毒 30 株。各株分离的时间与地点参见表 8。

(二) 免疫血清的制备 为了识别各株病毒间微细的抗原关系, 所有血清都作成高价免疫血清 (效价 > 1:2,560)。将新鲜病毒尿液注射 2—4 公斤雄性来亨鸡, 2—4 毫升于静脉内及 8 毫升于腹腔内, 次日用同样方法重复注射一次, 第 9 日试血。血凝抑制效价在 1:2,560 以上者即行全采血, 如效价不到 1:2,560, 则继续免疫, 于末次注射后 7 天试血。一般免疫 4 次便可达到要求。分出血清后分装小管中, 置 -40℃ 低温冰箱中保存备用。

(三) 血球凝集抑制试验 免疫血清均用霍乱滤液处理过夜, 然后移入 56℃ 水浴中加温 50 分钟, 试验时将血清从 1:20 起作倍比稀释, 其方法见流感手册^[9]。

(四) 中和试验 采用病毒定量血清稀释法。将鸡免疫血清置于 56℃ 水浴箱中加温 30 分钟灭活

* 本工作蒙朱既明所长指导, 杨敏、耿小麟二同志参加部分技术操作, 特此致谢。
本文 1962 年 9 月 27 日收到。

后,用肉湯从 1:20 起作倍比稀释,然后于各管中加入等量含有 1,000 EID₅₀ 的病毒液,混合后,置 4℃ 冰箱中和 1 小时,每个稀释度接种 4 个鸡胚,培养 72 小时后吸取各个鸡胚的尿液作直接血球凝集試驗。根据各个鸡胚血凝試驗結果計算 50% 血清中和效价。

二、实 驗 結 果

(一) 亚洲甲型与亚甲型流感病毒的交互血凝抑制試驗

为了了解 A₂ 病毒与近年来分离的 A₁ 病毒的抗原关系,将 A₂ 病毒代表株张 57-4^[7]、A₁ 病毒代表株京 56-1^[10] 以及 1957 年 1 月分离的 A₁ 病毒洛 57-3^[8] 作交互血凝抑制試驗,結果如表 1。

从表 1 結果可以看出:(1) 老的 A₁ 株京 56-1 血清对本株病毒有很高的血凝抑制效价,对洛 57-3 (A₁) 呈較低的抑制效价,但不能抑制张 57-4 (A₂) 病毒。(2) 同样的, A₂ 株张 57-4 血清对本株的抑制效价很高,不能抑制京 56-1,但是对洛 57-3 却有明显的抑制作用。(3) 1957 年从洛阳分离的 A₁ 株洛 57-3 血清除能很好地抑制本株病毒外,对京 56-1 与张 57-4 均有相当的抑制效价。

表 1 京 56-1、洛 57-3 及張 57-4 的交互血凝抑制效价

病 毒	血 清		
	京 56-1	洛 57-3	張 57-4
京 56-1 A ₁	2560	140	○
洛 57-3 A ₁	140	3200	200
張 57-4 A ₂	○	160	4480

注:“○”代表<20。

表 2 FM₁、洛 57-4 及 A/Ned 37/57 的交互血凝抑制效价

病 毒	血 清		
	FM ₁	洛 57-4	A/Ned 37/57
FM ₁ A ₁	3840	280	○
洛 57-4 A ₁	60	3840	640
A/Ned 37/57 A ₂	○	70	8960

注:“○”代表<20。

为了証实上述 A₂ 与 A₁ 的交互抑制現象,另取 FM₁(A₁)、洛 57-4(A₁)^[8] 及 A/Ned 37/57(A₂) 制备高效价免疫血清重复此試驗,三株病毒交互血凝抑制試驗的結果如表 2。

表 2 結果証明 A₂ 病毒 (A/Ned 37/57) 与老的 A₁ 病毒 (FM₁) 沒有交互抑制作用,但与 1957 年分离的 A₁ 病毒 (洛 57-4) 却有明显的交互抑制。以上結果証实 A₂ 与最近分离的 A₁ 病毒之間的交互抑制作用不是个别病毒株之間的偶然現象。

根据我們的經驗,正常鸡血清对大多数流感病毒沒有或者只有很低非特异抑制作用,但是对 I 相的 A₂ 病毒却有显著的非特异抑制作用^[7]。表 1、表 2 的結果虽然是用经过霍乱滤液处理的血清进行的,但是这些抑制效价究竟是否是特异性抗体作用的結果仍需进一步証明。为此取京 56-1、张 57-4 及洛 57-3 免疫前后的鸡血清用霍乱滤液处理后对京 56-1、洛 57-1、洛 57-3、洛 57-4 (以上均为 A₁), 张 57-4 及 A/Ned 37/57 (以上均为 A₂ I 相), 进行血凝抑制試驗,另外还加入用霍乱滤液处理及未处理的正常兔血清一同試驗,以观察霍乱滤液的效力,結果見表 3。

試驗結果表明所有免疫前的血清对各株病毒均无抑制作用,但免疫后的血清則有不同程度的抑制。从正常家兔血清的結果說明血清中的非特异抑制素可以用霍乱滤液除去。以上結果充分說明了上述試驗中血凝抑制效价的特异性。

根据表 1 与表 2 的結果可以綜合出下列几点推論: 第一, A₂ 病毒 (张 57-4、A/Ned

表 3 京 56-1、洛 57-3 及 張 57-4 免疫前后的血清对 6 株病毒的抑制效价

血 清	病 毒					
	京56-1 A ₁	洛57-1 A ₁	洛57-3 A ₁	洛57-4 A ₁	張57-4 A ₂	A/Ned37/57 A ₂
京 56-1 (免疫前)	○	○	○	○	○	○
京 56-1 (免疫后)	2560	160	160	160	○	○
洛 57-3 (免疫前)	○	○	○	○	○	○
洛 57-3 (免疫后)	160	2240	2560	2560	160	140
張 57-4 (免疫前)	○	○	○	○	○	○
張 57-4 (免疫后)	○	160	160	160	3200	2560
正常家兔 (未处理)	140	60	50	60	400	480
正常家兔 (已处理)	○	○	○	○	○	○

注：“○”代表 <20。

37/57) 与老的 A₁ 病毒 (FM₁、京 56-1) 没有交互抑制作用, 说明这两类病毒的抗原性是不同的。这点与我国^[6,7]及国外^[11]对 A₂ 病毒鉴定的结果相符。第二, 1957 年 1 月自洛阳的流感患者分离的 A₁ 病毒洛 57-3、洛 57-4 株, 不仅与 1947 年分离的 FM₁ 株有很大差别, 同样地, 它与 1956 年 1 月分离的京 56-1 也有较大的差别, 说明这一类 A₁ 流感病毒的抗原性已有了显著的变化。第三, 洛 57-3、洛 57-4 等株还表现出一种特殊的特性: 它与 A₂ 病毒 (I 相) 有明显的交互抑制作用, 说明它们之间有一定的抗原关系。这样洛 57-3 等这一类特殊的 A₁ 病毒就把 A₁ 及 A₂ 两种不同亚型联系起来, 可以假定洛 57-3 一类病毒是从 A₁ 过渡到 A₂ 的中間型。

为了证实以上的假设, 按病毒型别及分离时间选出 12 株 A₁ 及 A₂ 病毒, 即 1947 年至 1956 年 1 月分离的 A₁ 病毒 4 株, 1956 年 6 月在上海及 1957 年 1 月在洛阳分离的 A₁ 病毒 4 株, 以及 1957 年 3 月以后分离的 A₂ 病毒 4 株, 作成抗原与京 56-1、上 89、洛 57-3、

表 4 12 株病毒抗原与 A₁ 及 A₂ 免疫血清的血凝抑制试验结果

抗 原				血 清*, **							
型别	分离时间	分离地点	病毒株	京56-1	上89	洛57-3	洛57-4	洛57-8	洛57-9	張57-4	A/Ned 37/57
A ₁	1947	美国	FM ₁	120	1600	○	160	○	○	○	○
A ₁	1953	北京	京53-7	1600	1600	140	140	○	○	○	○
A ₁	1956.1	”	京56-1	2560	1120	70	140	○	○	○	○
A ₁	1956.1	”	京56-5	640	1600	640	640	○	○	○	○
A ₁	1956.6	上海	56-S ₇	280	3840	3200	4480	○	20	320	960
A ₁	1956.6	”	上89	240	10240	2560	2560	○	20	120	960
A ₁	1957.1	洛阳	洛57-3	240	3840	3200	3840	○	20	320	800
A ₁	1957.1	”	洛57-4	200	3200	2240	2560	○	25	280	560
A ₂ (I)	1957.4	洛阳	洛57-8	○	100	100	60	8960	20480	5120	10240
A ₂ (II)	1957.4	”	洛57-9	○	○	○	○	40	2240	30	480
A ₂ (I)	1957.3	张家口	張57-4	○	100	140	80	5120	17920	4480	10240
A ₂ (I)	1957	荷兰	A/Ned 37/57	○	80	120	80	5120	15360	2560	10240

* 本试验中所有免疫前血清对各株病毒的抑制效价均 < 20。

** “○”代表 < 20。

洛 57-4 (以上為 A_1)，洛 57-8、洛 57-9、張 57-4、A/Ned 37/57 (以上為 A_2) 的雞免疫血清作血凝抑制試驗。

為了證明各個血清的特異性並加入其免疫前血清一併試驗。結果如表 4。

所有 8 個免疫前血清對 12 株病毒均無抑制作用。從表 4 結果可以看到免疫後的血清對各株病毒呈高或低的特異性抑制效價。仔細分析上述結果可以發現這些血清對此 12 株病毒的抑制效價依照病毒的型別及分離時間而表現出一定的規律性 (其中 A_2 病毒洛 57-9 屬於 II 相^[7]，即不亲和相，故效價較低)。根據本實驗結果似乎可以將這些病毒分成三類：在 1956 年 1 月以前分離的 4 株 A_1 病毒為一類；1956 年 6 月至 1957 年 1 月的 4 株 A_1 病毒又是一類，也就是前面所提出的中間型病毒，1957 年 2 月以後分離的 4 株 A_2 病毒則另成一類。就其抗原性而言，三者既有區別又有連系，特別值得注意的是三個中間型血清 (上 89、洛 57-3、洛 57-4 血清) 對 A_2 病毒 (I 相)，以及 3 個 A_2 血清 (洛 57-9、張 57-4、A/Ned 37/57 血清) 對中間型病毒 (56-S₇、上 89、洛 57-3、洛 57-4) 的交互抑制效價，它是這兩類病毒抗原性相互聯系最有說服力的科學證據。另外，更有意義的是病毒的类型随着分离時間的不同也相应地发生規律性的变化。

綜合表 1、表 2、表 3、表 4 的實驗結果，對於 A_1 、 A_1 (中間型) 與 A_2 三類病毒的抗原關係可以用表 5 的模式表示之。

表 5 的模式使我們更容易地認識它們的抗原特性及其相互關係，中間型病毒象“鎖鏈”一樣把 A_1 及 A_2 兩個不同亞型聯接起來。

表 5 從 A_1 到 A_2 演變過程中三種類型流感病毒的抗原關係

病 毒	血 清		
	A_1	A_1 (中間型)	A_2
A_1	+++	+	-
A_1 (中間型)	+	+++	+
A_2	-	+	+++

(二) 亞洲甲型與亞甲型病毒的交互中和試驗

為了證明血凝抑制試驗的結果，進一步在雞胚中作中和實驗，結果如表 6 和表 7。

表 6 京 56-1、洛 57-3 及張 57-4 交互中和試驗結果

病 毒	血 清		
	京 56-1	洛 57-3	張 57-4
京 56-1 (A_1)	1280	80	○
洛 57-3 (A_1)	80	3200	○
張 57-4 (A_2)	○	80	1600
A/Ned37/57(A_2)	○	80	1280

注：“○”代表 <20。

表 7 洛 57-4 及 A/Ned37/57 血清對 A_1 及 A_2 病毒中和試驗結果

病 毒	血 清	
	洛 57-4	A/Ned37/57
洛 57-3 (A_1)	5120	30
洛 57-4 (A_1)	5120	30
張 57-4 (A_2)	80	10240
A/Ned37/57(A_2)	40	6400

表 6 與表 7 的中和試驗結果與血凝抑制結果相符，進一步證明老的 A_1 病毒與 A_2 病毒的抗原性是完全不同的，但洛 57-3、洛 57-4 這種中間型病毒與 A_2 病毒却有一定的抗原關係。

(三) 中間型病毒發源的追蹤 以上的試驗結果指出洛 57-3 這一類中間型病毒可能是從 A_1 演變成 A_2 的過渡的形態，究竟這一類中間型病毒在我國何時最先出現？是一個

值得追踪研究的问题。

取 1953—1957 年在我国各地分离的 A₁、A₂ 病毒及本实验室保存的国际通用的猪型、A、A₁ 及 A₂ 型代表株 (Shope、WS、PR₈、MaK、FM₁、C-5、A/Eire17/55、A/Ned36/56、

表 8 京 56-1、洛 57-3 及张 57-4 血清对 39 株甲型流感病毒的血凝抑制试验结果

型 别	分离地点	分离时间	病 毒 株	血 清 效 价		
				京 56-1	洛 57-3	张 57-4
猪型	美国	1931	Shope	30	○	○
A	英国	1933	W. S.	○	○	○
A	美国	1934	PR ₈	○	25	○
A	苏联	1948	MaK	○	30	○
A ₁	美国	1947	FM ₁	120	○	○
A ₁	苏联	1952	C-5	160	200	○
A ₁	北京	1953	京 53-7	1600	160	○
A ₁	北京	1955	京 55-1	800	140	○
A ₁	爱尔兰	1955	A/Eire/17/55	560	480	○
A ₁	北京	1956.1	京 56-1	2560	140	○
A ₁	北京	1956.1	京 56-2	800	960	○
A ₁	北京	1956.1	京 56-4	1120	160	○
A ₁	北京	1956.1	京 56-5	640	960	○
A ₁	开封	1956.3	K ₄	560	800	○
A ₁	上海	1956.2	56-S ₁	560	120	○
A ₁	上海	1956.3	56-S ₃	480	560	○
A ₁	上海	1956.3	56-S ₆	480	560	○
A ₁	上海	1956.4	56-S ₂	480	560	○
A ₁	上海	1956.4	56-S ₈	400	480	○
A ₁	荷兰	1956.2—3	A/Ned36/56	480	4480	200
A ₁	上海	1956.6	56-S ₇	200	3200	200
A ₁	上海	1956.6	上 89	140	3200	80
A ₁	上海	1956.6	上 97	320	4480	60
A ₁	沈阳	1956.6	沈 56-1	120	2240	160
A ₁	沈阳	1956.6	沈 56-2	140	3200	400
A ₁	上海	1956.7	上 43	40	50	○
A ₁	上海	1956.7	上 212	100	1920	○
A ₁	贵阳	1956.7	K	120	2560	200
A ₁	福州	1956.8	福 ₁	120	3840	60
A ₁	北京	1956.8	京 56-8	140	2560	200
A ₁	洛阳	1957.1	洛 57-1	140	2560	200
A ₁	洛阳	1957.1	洛 57-3	140	3200	200
A ₁	洛阳	1957.1	洛 57-4	120	3200	200
A ₂ (I 相)	北京	1957.3	京 57-5	○	50	3840
A ₂ (I 相)	张家口	1957.3	张 57-4	○	160	4480
A ₂ (I 相)	洛阳	1957.4	洛 57-8	○	120	5120
A ₂ (II 相)	洛阳	1957.4	洛 57-9	○	○	30
A ₂ (I 相)	北京	1957.5	越陈	○	60	3840
A ₂ (I 相)	荷兰	1957	A/Ned37/57	○	140	3840

注：“○”代表 < 20。

A/Ned37/57) 作成抗原, 与京 56-1 (A_1)、洛 57-3 (A_1 , 中間型) 及張 57-4 (A_2) 的高效价血清作血凝抑制試驗, 結果如表 8。

从表 8 結果可見: (1) 京 56-1 血清对所有 A_1 病毒都有程度不同的抑制效价, 并对 1956 年 1 月以后分离的 A_1 病毒效价逐漸降低, 但是, 对 A_2 病毒却没有抑制作用。(2) 洛 57-3 血清对 1956 年 6 月至 1957 年 1 月分离的大多数的 A_1 病毒都有很高的抑制效价; 而对 1956 年 6 月以前分离的 A_1 病毒效价較低。另外, 对 A_2 病毒 (I 相) 也有一定的抑制作用。(3) 張 57-4 血清对 A_2 病毒 (I 相) 有很高的抑制效价。但是, 对 A_1 病毒則按其分离時間可以看到二种截然不同的表現: 即对 1947 年至 1956 年 4 月所分离的 A_1 病毒沒有抑制作用; 而对 1956 年 6 月以后在上海、沈阳、貴阳、北京、福州、洛陽等地分离的大多数 A_1 病毒都有显著的抑制作用。

由以上結果可以認為 A_1 病毒的抗原性于 1956 年发生了剧烈的变化, 并以 1956 年 6 月为抗原性变化的轉折点。自此以后所分离的 A_1 病毒大多数属于中間型。另外, 于 1956 年 2—3 月从荷兰分离的 D/56 組 A_1 病毒的代表株 A/Ned36/56 也同样属于中間型。这些事实說明洛 57-3 这类介乎 A_1 及 A_2 之間的中間型病毒早在 1956 年 6、7、8 月在上海、沈阳、貴阳、北京、福州等地已有出現, 而且在国外于 1956 年 2—3 月即已有出現。

三、討 論

在天然条件下流感病毒的抗原性变异是一个具有重大理論与实际意义的問題。近十余年来对这方面的問題进行了大量的研究, 虽然获得了許多宝贵的資料, 但是, 論述流感病毒各个亚型的发源問題的却不多。由于流感病毒亚型的变异不是常常出現的, 所以經常观察到的只是流感病毒微小的变异过程 (即亚型范围内的变异过程)。因此, 对于流感病毒变异方面最现实的問題——各个亚型的出現与消失的規律, 大多数人不发表具体意見, 仅仅当作客觀事实来承認其存在而已。Жданов 等^[12], 及 Magill 等^[13] 曾发现少数原甲型 (A) 病毒株的抗原性介乎 A 与 A_1 之間, 認為 A_1 可能发源于 A 型。但是, 由于这些中間型病毒株数量太少, 而且 A 与 A_1 型病毒的各个变种之間本来就具有或多或少的抗原关系, 混淆着問題的本質, 所以这些結果沒有得到大家的重視。

1957 年 A_2 病毒出現后, 很快就发现它与过去的 A 与 A_1 病毒具有显著不同的抗原性; 同时, 它又是第一次从公認為世界性大流行中分离出来的病原体, 所以 A_2 的发源問題就更加吸引各国学者的兴趣。根据目前資料, 我們認為国外学者所提出的几个假設尚缺乏有足够說服力的証据。例如, Mulder 等^[11] 的假說主要是根据 A_2 流行前部分 70 岁以上的老人血清中含有 A_2 的抗体, 由此推測 A_2 病毒可能与 1889—1890 流感大流行的病原有共同的抗原成分, 可惜現在已不可能获得此次流行的病原材料, 因此无法直接証实这一假設的正确性。另外, 根据 Andrewes^[12] 提出的 A_2 病毒可能发源于动物宿主的假設, 世界卫生組織曾于 1957 年創議一些国家在 A_2 流行前进行家畜 (猪、馬) 的血清学調查及病毒分离, 但未能找到 A_2 病毒有动物宿主的証据^[14]。至于 A_2 是否发源于猪型, 早在 1957 年分离 A_2 病毒后, 朱既明等^[6] 曾对 A_2 病毒的抗原性进行过系統的鉴定, 証明 A_2 的抗原与猪型无关。最近我們亦曾將猪型病毒 Shope 与 A_2 病毒張 57-4 作交互血凝抑制試驗, 未能証明它們之間有共同抗原成分。虽然 Соколов^[4] 等認為 A_2 与猪型有一定关系, 但是分析

Соколов 等的結果,就可以看到仅仅是猪型血清能抑制 A_2 病毒,反过来 A_2 血清却不能抑制猪型病毒,这种“单向抑制”的现象,还难以说明此二种病毒間有密切的抗原关系。Горбунова^[3] 曾报告 A_2 与原甲型 (PR_8) 具有共同的抗原成分,但試驗中所用病毒株数目較少,同时只有个别病毒株之間有交互抑制作用,这些結果是否有普遍意义,值得考虑。我們曾多次用 PR_8 与 A_2 病毒多株作交互血凝抑制試驗,却未能証明它們之間有共同的抗原成分。

本文通过对 A_2 病毒与 1957 年 2 月以前的 A_1 病毒之間的抗原关系的研究发现 A_2 病毒与洛 57-3 这一类 A_1 病毒有明显的交互抑制关系,从而提出 A_2 病毒系由 A_1 病毒通过中間型演化而来的假設。根据薛风举等^[15] 的試驗結果,以洛 57-3 为代表的 A_1 中間型与国外称之为“D/56”組的 A_1 病毒是相类似的。D/56 組病毒首先于 1956 年 2、3 月在荷兰分离以后遍布全世界成为 1956—57 年間流行的主要病原体。我国于 1956 年 6 月起在上海一带发生了以該組病毒为主的流行,其后在沈阳、貴阳、北京、福州、洛阳等地亦分离出这一类病毒。到了 1957 年 3 月 A_2 流行以后,全国各地未再分离过。根据表 8 中从荷兰分离的 D/56 組病毒的最早的代表株 A/Ned36/56 已經与 A_2 有抗原关系这一事实,似乎可以推論这种中間型的抗原性是所有 D/56 組病毒的特点,而不仅是国内分离的毒株所特有的性状。

本文的主要結果曾为童葵塘等^[16],薛风举等^[15] 所証实。此外, Takatsy 等^[17] 与 Jensen^[18] 亦观察到 A_2 与 A_1 的个别病毒株之間存在交互抑制关系。然而 Harboe 等^[19] 却得到相反的結果。由于流感病毒各个亚型的个别变种之間可能存在交互抗原关系,同时, A_2 病毒 (I 相) 对血清中非特异抑制素特別敏感,是否可能由于技术問題或偶然现象而导致錯誤的推論? 因此有必要对本文的試驗結果作进一步的討論。

(1) 本文所报告的血清效价究竟是抗体的作用还是非特异抑制的結果呢? 早在 1957 年 4 月分离出 A_2 病毒以后,我們就发现某些动物的正常血清对 A_2 病毒 (I 相) 有显著的非特异抑制作用^[7],故在本試驗中特別注意避免非特异反应。血凝抑制試驗所用的血清一律用霍乱滤液处理,并在个别試驗中加入其免疫前血清及正常家兔血清作为对照。所有試驗結果說明經霍乱滤液处理后已除去了非特异抑制素的影响,从而証明对各株病毒的抑制效价确系抗体作用的結果。交互中和实验亦进一步証实了結果的特异性。

(2) 流感病毒各个亚型的个别变种之間确实存在微弱的交互抗原关系,但是,其效价很低,一般在 1:20 以下,絕少超过 1:40 的,且其抑制常常是单向的。而本实验所发现的 A_1 (中間型) 与 A_2 的交互血凝抑制效价常常在 1:160 以上,其抑制是交互的,而且多株病毒均表現这样的抗原关系。經過重复試驗,特別是多次用不同的病毒株与血清进行反复比較,仍然获得相同的結果。表 4 与表 8 中对多株病毒試驗的結果則更进一步表明了病毒的演变过程。多株病毒都能如此有規律地表現出它們的抗原特性,似不可能是偶合的现象。

(3) 与本文結果相反, Harboe 等^[19] 未能发现 A_1 与 A_2 之間有任何交互抑制效价。这可能与免疫方法与动物种类不同有关。本試驗所用的血清系以来亨公鸡經多次免疫作成的高效价免疫血清,而 Harboe 等則用家兔免疫血清及雪貂恢复期血清,可能在試驗的敏感性方面有所区别。

前文中曾述及了支持這種抗原關係的一次流行病學觀察結果^[8]。另外, 下列兩點血清學及病毒學證據也有力的支持本文所提出的假設。

(1) 葉天星等^[20]發現自 1956 年 8—11 月上海已有少數正常人血清中含有 A₂ 的抗体, 由於 1956 年 6—7 月間在上海等地曾發生以 A₁ 中間型病毒為主的流行^[13], 故某些正常人血清中的 A₂ 抗体可能是 A₁ 病毒引起的交互反應。

(2) 童葵塘等^[16]研究 A₁ 及 A₂ 病毒對不同種類動物血球的凝集範圍, 發現 A₂ 病毒血凝範圍最廣泛, A₁ 病毒最狹窄, 而洛 57-5 (A₁ 中間型) 則介於二者之間。

從邏輯上來論證, A₂ 發源于 A₁ 的假設, 也有其優越之處。目前對 1889—90 年與 1918—19 年流行的病毒型別僅有間接的血清學資料。對原甲型病毒是否仍然存在還有爭論, 但至少已經公認為非常少見。而 A₁ 型則是 A₂ 出現以前流行最廣的一個亞型, D/56 又是這個亞型中最近的一個變種。很難想象 A₂ 型是從已經接近絕迹的舊型變異而來; 相反地, 從 1956—57 年間廣泛流行的 A₁ 型的 D/56 組經過變異而產生 A₂ 型則是比較容易理解的。結合上面所提到的 A₁ 發生於 A 型的證據, 似乎可以進一步推論, 甲型流感病毒的各個亞型可能都是由前一個亞型變異而成的。這樣, 自 1918 年到現在流感病毒总的演變過程可以用下列公式來表示: 豬型 → A → A₁ → A₂。這個公式扼要的說明甲型中各個亞型間相互關係, 並且合理的解釋各個亞型的發源問題。

四、結 論

1. 用交互血凝抑制試驗及交互中和試驗法研究了在我國分離的 A₁ 及 A₂ 流感病毒的抗原關係, 發現 A₂ 病毒與洛 57-3 (D/56 組) 這一類病毒有明顯的交互血凝抑制及中和效價, 表明這類病毒的抗原性介乎 A₁ 與 A₂ 之間。

2. 分析 1953—1957 在我國各地分離 A₁ 流感病毒的抗原性, 證明這一類中間型病毒早在 1956 年 6、7、8 月在上海、瀋陽、貴州、福州、北京等地已經出現。根據文獻報告, 這類病毒於 1956 年 2—3 月間首先從荷蘭被分離到。

3. 根據 A₁ 及 A₂ 流感病毒所表現的特殊的抗原關係, 本文對 A₂ 流感病毒的發源提出一個新的假設: A₂ 流感病毒是由 A₁ 演變而來。對於有關這個假設在病毒學及流行病學方面的證據作了討論。

參 考 文 獻

- [1] Mulder, J. & Masurel, N.: *Lancet*, 1:810, 1958.
- [2] Andrewes, C. H.: in *Perspectives in Virology*, P. 184, 1959. Andrewes, C. H.: *Amer. Rev. Resp. Dis.*, 83 (2) Part 2: 112, 1961.
- [3] Горбунова, А. С.: *Вопросы Вирусол.*, (4): 401, 1959.
- [4] Соколов, М. И., Гоу Шу-де и Е Тянь-сян: *Вопросы Вирусол.*, (5): 580, 1959.
- [5] 黃絳珠、周禮祺: *微生物學報*, 6:433, 1958.
- [6] 朱既明、肖俊、郝成章: *科學通報*, 1957(12): 373, 1957.
- [7] 梁榮根、馮慧英、張育琴、湯飛凡: *科學通報* 1957(13): 407, 1957.
- [8] 梁榮根、張育琴、馬美松、楊敏: *微生物學報*, 9:(3), 220—225, 1963.
- [9] 全國流感中心研究室編: *流行性感冒手冊*, 1958.
- [10] 梁榮根、湯飛凡: *微生物學報*, 5: 433, 1957.
- [11] Meyer, H. M. Jr., Hilleman, M. R., Minuse, M. L., Crawford, I. P. & Bankhead, A. S.: *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 95: 609, 1957.

- [12] Жданов, В. М., Соловьев, В. Д. и Эпштейн, Ф. Г.: *Учение о гриппе*, 131, 1958.
[13] Magill, T. P. & Jotz, A. C.: *J. Bact.*, **64**: 619, 1952.
[14] Kaplan, M. M. & Payne, A. M. M.: *Bull. W. H. O.* **20**: 465, 1959.
[15] 薛风举、王植念、李翰唐、朱既明: *人民保健*, **1**: 947, 1959.
[16] 童葵塘、刘锦棠、朱既明: *微生物学报*, **7**: 273, 1959.
[17] Takatsy, Gy., Barb, K. & Fakas, E.: *Acta Microbiol. Hung.*, **5**: 287, 1958.
[18] Jensen, K. E.: *J. A. M. A.*, **164**: 2025, 1957.
[19] Harboe, A., Reenaas, R., & Juul, K.: *Acta Path. Microbiol. Scand.*, **48**: 231, 1960.
[20] 叶天星等: *全国急性传染病学术会談資料选編*, 中册, 305 頁, 1959.

STUDIES ON THE ORIGIN OF A₂ INFLUENZA VIRUS

II. ANTIGENIC RELATIONSHIP BETWEEN A₁ AND A₂ INFLUENZA VIRUS

LIANG YUNG-KEN

(National Vaccine and Serum Institute, Peking)

In order to detect the serological relationship between A₂ and other influenza A viruses, haemagglutination-inhibition and neutralization tests were performed on several A₂ and A₁ strains isolated in the last few years. Representative strains of swine and A viruses were also included. Sera from hyperimmunized roosters were used.

The results of cross haemagglutination-inhibition and neutralization tests showed that the earlier influenza A₁ virus (FM₁; Peking 56-1) did not cross react with the A₂ virus. However, A₁ strain such as Loying 57-3 and Loyang 57-4 (belonging to the D/56 group) did show clear cross reaction with the A₂ virus. This fact indicates that the antigenic patterns of these two strains are intermediate between A₂ and earlier A₁ viruses.

Further analysis of A₁ influenza viruses, isolated in China from 1953–1957, showed that the intermediate strains first appeared in Shanghai and Shenyang in July 1956. Moreover, according to reports in the literature, the first strain of this group was isolated in February–March 1956 in Holland.

From the results mentioned above, especially from the antigenic relationship of the intermediate strains with both A₂ and earlier A₁ influenza virus, it is suggested that the A₂ influenza virus originated from A₁. Other epidemiological and virological evidences in support of this conclusion were also presented.