

猪流感病毒进化方式及其流行特点

祁贤, 陆承平*

(南京农业大学动物医学院, 南京 210093)

摘要:猪在甲型流感病毒生态分布和遗传进化中占有重要地位。猪的呼吸道上皮同时具有禽和人流感病毒 2 种类型的受体, 因此人和禽流感病毒都可以感染猪, 猪被认为是禽、人流感病毒的中间宿主和不同来源流感病毒的基因“混合器”。猪流感病毒(Swine influenza virus, SIV)的进化方式包括基因重配、抗原漂移和宿主适应性进化, 其中基因重配是主要进化方式。与人类季节性流感病毒相比, SIV 在全球的流行情况各不相同, 呈地方流行性, 并具有明显的地区差异。全球范围内流行的 SIV 亚型主要有 3 种: H1N1、H3N2 和 H1N2 亚型, 其中各亚型内病毒基因来源又不尽相同。欧洲、北美及我国猪群中流行的流感病毒在遗传进化和基因来源方面各具特色。目前欧洲猪群中流行的主要是类禽 H1N1、H1N2 和 H3N2 病毒, 其中后两者是基因重配病毒。从 1998 年开始, 古典猪 H1N1、“人-猪-禽”三源基因重配 H3N2、H1N1 和 H1N2 病毒共存于北美的猪群中, 其遗传变异日趋复杂。在基因进化上, 欧洲和北美基因重配的 SIV 是目前新的人类流感大流行病原-“甲型 H1N1 病毒”-的母源病毒。我国猪群中流感病毒主要是古典猪 H1N1 和类人 H3N2 病毒, 但近年来也分离到遗传上与欧洲和北美 SIV 高度相关的病毒, 提示我国 SIV 的流行和进化趋势值得关注。1970 年代以来, 全球已陆续报道了 50 多起人感染 SIV 事件, 表明 SIV 也是一种值得重视的人兽共患病, 预示了 SIV 可能会成为人类流感流行毒株或为流行毒株提供基因。鉴于 SIV 在甲型流感病毒生态学上的重要意义, 以及对人类公共卫生的潜在威胁, 建议应尽早启动我国 SIV 的常规监测工作, 密切关注 SIV 的流行动态, 掌握其分子遗传进化规律。同时, 将 SIV 的监测工作纳入整个流感病毒(人和动物流感病毒)的监测网络, 在信息上实现共享, 从生态学的高度把握我国流感病毒的流行和进化趋势, 这对保护动物健康和预防人类流感大流行都有重要意义。

关键词:猪; 甲型流感病毒; 基因重配; 跨物种传播

中图分类号: S85 **文献标识码:** A **文章编号:** 0001-6209(2009)09-1138-08

猪流感(Swine influenza, SI)是由甲型流感病毒引起的一种猪的急性呼吸道传染病。虽然也从猪体内分离到了丙型流感病毒, 但感染猪的主要还是甲型流感病毒。目前该病呈世界分布, 但主要以地方流行性为主。世界各地流行的猪流感病毒(Swine influenza virus, SIV)包括 3 种主要的亚型: H1N1, H3N2 和 H1N2 亚型, 其中又包括不同的基因型: 古典猪 H1N1, 类禽 H1N1, 类人 H3N2, 基因重配的 H3N2 以及多基因型的 H1N2 亚型^[1-3]。猪流感一年

四季都可发生, 但以春秋多发, 各种日龄的猪都可感染。猪流感病毒对养猪业和人类公共卫生都有重大影响。

1 甲型流感病毒的宿主限制性

在流感病毒大家族中, 甲型流感病毒的宿主分布最广, 可感染禽、人、猪、马、狗、猫、海洋哺乳动物(海豹、鲸等)等^[2,4-6]。在整个甲型流感病毒的生态分布中, 野生水禽是主要的自然贮存宿主和基因库,

* 通信作者。Tel/Fax: +86-25-84396517; E-mail: luep@njau.edu.cn

作者简介: 祁贤(1971-), 男, 山西大同人, 副研, 博士, 主要从事流感病毒研究, 现工作单位江苏省疾病预防控制中心。E-mail: qixiansyc@hotmail.com

收稿日期: 2009-06-02; 修回日期: 2009-06-28

目前发现的所有甲型流感病毒亚型(16个HA和9个NA亚型)都存在于野生水禽中^[4,7]。

一般认为流感病毒具有宿主限制性,这是流感病毒在不同宿主中长期适应进化的结果^[1,4,6]。比如,感染马的主要是H7N7和H3N8亚型;SIV主要是H1N1、H3N2和H1N2;人流感主要是H1N1、H1N2、H2N2及H3N2亚型。研究表明禽流感病毒不能有效地在人和非人灵长类动物体内复制,同样,人流感病毒也不能很好地在禽体内复制。流感病毒的宿主限制特性涉及到病毒和宿主两方面因素,但详细机制尚不清楚,就病毒本身而言,可能是多个基因在起作用,包括HA和NA基因,以及其它内部基因(NP、PB2、PB1等)^[4,6]。

HA是宿主范围限制性的一个主要决定因素。HA与宿主细胞上的受体结合是流感病毒感染的关键一步。HA识别的受体分为2类: α -2,3半乳糖苷唾液酸(SA2,3Gal)和 α -2,6半乳糖苷唾液酸(SA2,6Gal)。禽和马流感病毒对SA2,3Gal具有亲嗜性,而人和猪流感病毒对SA2,6Gal的亲嗜性最高^[1-2]。研究表明,马呼吸道和禽肠道上皮细胞主要含SA2,3Gal,人呼吸道上皮细胞主要含SA2,6Gal受体,而猪的呼吸道上皮细胞同时含有两种类型的受体。HA蛋白分子结构分析表明,HA蛋白受体结合位点(Receptor-binding site, RBS)上的一些氨基酸残基对流感病毒的受体结合特性有重要影响。对H3和H2亚型来说,人流感病毒HA受体结合位点的266位氨基酸为Leu,而禽或马的为Gln^[4]。对于H1亚型来说,HA受体结合位点的190位氨基酸Glu→Asp和225位Gly→Glu的突变在禽流感病毒适应新宿主人和猪的过程中起重要作用^[8]。

NA蛋白在流感病毒的跨物种传播过程中也起一定作用。HA的受体结合特性和NA的受体破坏特性之间的动态平衡能有效地确保流感病毒的感染和传播^[6]。研究表明,NA具有底物特异性,但详细机制尚不清楚。N2亚型禽流感病毒在人体内适应进化时,NA继续保持 α -2,3半乳糖苷键的酶切活性,同时 α -2,6半乳糖苷键的酶切活性在增加,这与HA蛋白逐步具备SA2,6Gal受体结合活性这一过程相适应。此外,NA的茎部长度对病毒的宿主限制性可能也有影响。

2 猪是甲型流感病毒的中间宿主和基因混合器

由于猪呼吸道上皮同时具有2种流感病毒受体^[9],因此人和禽流感病毒都可以感染猪,猪被认为

是禽、人流感病毒的中间宿主和基因“混合器”^[4,6],猪体内可能会产生引起人类流感大流行的新病毒。概括起来有三种可能:第一,禽流感病毒跨物种传播给人并造成人际间传播,首先要发生受体结合特性的转变,即禽流感病毒在猪体适应后如果获得了SA2,6Gal受体结合特性,就可能具备了在人群中传播的能力。有些学者认为1918年西班牙大流感就可能是禽流感病毒经过猪体适应后传播给人群的。近年来高致病性禽流感H5N1病毒虽然可以跨物种感染人,但一直没有获得在人际之间的传播能力,其中一个重要原因就是H5N1病毒的受体结合特性还是SA2,3Gal结合特性,尚没有转变为SA2,6Gal受体结合特性。第二,这为禽流感病毒与人或猪流感病毒发生基因重配提供了机会,这种含有禽和/或猪流感病毒基因的重配病毒可能感染人并引起流行。越来越多的证据显示,基因重配的流感病毒具有明显的选择优势,传播能力显著增强^[1-4,10,11]。比如20世纪人类发生的4次大流感中有2次就是由于基因重配而产生的新型流感病毒引起的。1957年的亚洲流感是当时流行于人群中的H1N1病毒从禽流感病毒中获得了HA、NA、PB1基因节段而产生的H2N2亚型病毒引起的。1968年香港流感是当时人群中H2N2病毒从禽流感病毒获得HA、PB1基因后产生的H3N2亚型流感病毒引起的。但这两次基因重配是在猪体内还是在人体内发生的,目前还不清楚。第三,猪也可能成为人流感病毒(H1N1和H3N2亚型)的贮存宿主,某些人流感病毒在人群中消失后,可以在猪群中持续存在,这种病毒一旦重新传染给人就可能在免疫空白人群中造成流行。已有多起报道证实这些在人群中消失的人流感病毒(人H1N1或H3N2)在猪体内的存在。有人认为1977年的所谓“俄罗斯流感”(消失了近20年的H1N1重新在人群中出现)就可能是由存储在猪体中的人源H1N1病毒重新传播给人引起的。

3 甲型流感病毒在猪体内的进化方式

甲型流感病毒的进化方式包括病毒的宿主适应性进化、抗原漂移、基因重配和RNA重组等,其中前三种方式在猪体内都有发生。与人和禽流感病毒相比,基因重配是流感病毒在猪体内进化的主要方式^[1,2,4]。

3.1 流感病毒的宿主适应性(host adaptation)进化
流感病毒的宿主适应性进化也可称之为宿主特异性(host specificity)进化。如前所述,甲型流感病毒进入不同的宿主,经过长期适应,形成了宿主范围限

制性(host range restriction),即特定宿主的流感病毒一般不容易传给其他动物。但在自然条件下,甲型流感病毒的跨种传播也时有发生,如由禽类传播给人和其它哺乳动物。当流感病毒发生跨物种传播时,病毒要与新宿主进行相互作用,病毒对新宿主的适应过程也是病毒自身进化的过程,这一过程决定病毒在新宿主中能否稳定存在。比如1970年代,禽H1N1病毒跨物种传播给欧洲的猪群后,与母源病毒相比,除了受体结合特性发生改变外,其抗原漂移明显加快,Ludwig等认为这可能与病毒RNA聚合酶基因突变有关^[12],但显然这并非主要原因。无疑这种快速的进化促进了禽H1N1病毒在猪体内的适应和持续存在。

3.2 抗原漂移(antigenic drift)

流感病毒属RNA病毒,在复制过程中RNA聚合酶缺乏校正功能,各基因都存在一定程度的点突变,其中,编码表面抗原的HA和NA的突变率最高。宿主的免疫选择压力是影响HA和NA基因突变的重要外部因素。病毒为了逃避宿主的免疫压力,点突变逐渐积累,直接导致抗原发生改变,即抗原漂移(antigenic drift),使宿主针对先前流行株的抗体不能再中和新出现的毒株^[4,6]。

流感病毒在不同宿主所受的免疫压力不同。在水禽中,流感病毒与宿主高度适应,其进化几乎处于停滞状态,称之为进化静止(evolution stabilization)。相比之下,人流感病毒所受的免疫压力最大,每隔2~3年就会发生一次抗原漂移。SIV(就古典猪H1N1病毒而言)所受的免疫压力介于两者之间。与人流感病毒相比,抗原漂移对SIV并不那么重要,而且HA蛋白氨基酸的改变往往不涉及抗原位点^[2]。这是由于猪的商品化养殖决定了猪群中总能及时地提供缺乏免疫力的易感个体,因此SIV所受的免疫压力较小。当然这一情况都是在不使用疫苗接种的情况下成立。而近年来H5N1和H9N2在陆生家禽中的抗原漂移异常明显,这可能与密集的疫苗接种造成的群体免疫压力密切相关^[6]。

3.3 基因重配(genetic reassortment)

甲型流感病毒的基因组分为8个节段,当两个不同来源的病毒共同感染同一宿主时,在病毒的复制过程中就可能产生重配病毒,这种现象称为基因重配^[4]。当基因重配涉及到HA和NA亚型时,就会使流行株出现新的亚型,这种剧烈的抗原改变称为抗原转移(antigenic shift)。甲型流感病毒的跨物种传播介入新宿主也是一种抗原转移方式,如1918年人与猪群中出现的H1N1以及1979年欧洲猪群中出

现的类禽H1N1,就是一种甲型流感病毒跨物种传播而引起的抗原转移。抗原转移是流感病毒逃避宿主免疫压力的一种快速的进化方式。

前面提及,流感病毒具有宿主限制性,禽流感病毒很难在人体增殖。而猪的上皮细胞同时具有SA2,3Gal和SA2,6Gal两种受体。禽和人流感病毒都能感染猪,这就为两种或两种以上不同毒株在猪体内发生基因重配提供了可能。从20世纪80年代起,已在猪群中分离到多种基因重配病毒,包括H3N2、H1N2、H1N7、H3N1等亚型。这些重配病毒有的涉及到抗原转移,即产生了新亚型的病毒;有的亚型未变但内部基因发生了重配。重配病毒大多表现出一定的选择优势,在宿主范围、致病性和进化速度等方面都与母源病毒有显著的差别。

4 猪流感病毒流行特点

全球范围内流行的SIV亚型主要有3种:H1N1、H3N2和H1N2亚型,其中各亚型内病毒基因来源又不尽相同,包括猪古典H1N1(classical swine H1N1)、类禽H1N1(avian-like H1N1)、类人H3N2(human-like H3N2)、基因重配H3N2(reassortment H3N2)及各种基因型的H1N2亚型,表现为遗传多样性。所谓“类(like)”,表示病毒的最初宿主来源,这是流感病毒跨物种传播的结果。此外,H1N7、H4N6、H9N2、H5N1、H3N3、H3N1和H2N3等亚型病毒也在猪体内分离到,但没有证据显示这些病毒在猪体内建立稳定的谱系^[1,2,11-14]。

每年全球人类季节性流感的流行毒株特性基本相同,相比之下,猪流感病毒在全球范围内的流行情况各不相同,具有明显的地区差异。猪流感的资料主要集中在北美、欧洲和东亚地区(包括中国),其他地区的流行情况报道较少。在上述地区流行的猪流感病毒在基因型和抗原性等方面各不相同:

4.1 欧洲

目前欧洲猪群中流行的主要是类禽H1N1、H1N2和H3N2病毒,其中后两者是基因重配病毒^[2]。

4.1.1 类禽H1N1(Avian-like)病毒:这类病毒的全部基因是禽源性的,是由禽H1N1流感病毒跨物种传播给猪。

1979年在欧洲的猪群中出现类禽H1N1的SIV,这类病毒在抗原和遗传特性方面与古典猪H1N1病毒完全不同,但与禽源的H1N1病毒关系最密切,其8基因节段都是禽源的,是禽H1N1病毒跨物种传播到猪的结果。这些类禽H1N1病毒与古典H1N1病

毒相比,具有明显的选择优势,传入猪群2年后,该类病毒已完全取代古典H1N1 SIV,成为目前欧洲猪群中主要的H1N1亚型病毒。

4.1.2 基因重配的H1N2病毒:1994年英国从发病的猪体内分离到的H1N2亚型流感病毒,分子遗传分析表明病毒的HA和NA基因分别来自人H1N1和H3N2亚型病毒,6个内部基因来自已经存在于欧洲猪群中的类禽H1N1病毒。之后此类病毒传播到欧洲其他地方,在欧洲大陆的猪群中广泛流行。

4.1.3 基因重配的H3N2病毒:这类病毒首次于1984年在意大利的猪体内发现,HA和NA基因来源于人H3N2病毒,而内部基因则来自于流行于猪群中的类禽H1N1病毒,这是对猪作为流感病毒“混合器”假说的首次证实。这种基因重配的H3N2病毒也是目前欧洲猪群中的另一个优势流行株。

总之,目前欧洲猪群中的H1N1病毒的8个基因片段都是禽源的,H1N2病毒是一种三源基因重配病毒,其6个内部基因也是禽源的,而H3N2病毒除HA和NA外,其他6个基因也是禽源的。

4.2 北美

1998以前北美猪群中流行的流感病毒基本上全都属于古典猪H1N1亚型,但之后的几年间由于基因重配的频繁发生,北美地区的猪流感病毒的流行情况日趋复杂^[1,3,11],不断出现新亚型或新基因型的重配病毒,其中一些“人-猪-禽”三源基因重配病毒成为优势流行毒株。这些新出现的三源重配病毒都拥有相同的内部基因(PB2、PB1、PA、NP、M和NS)构成,Ma等称之为“三源基因重配内部基因盒”(TRIG cassette),并认为拥有这种内部基因的SIV具有明显的选择优势^[11]。

4.2.1 古典猪H1N1病毒:1930年Shope等在美国的猪群中分离到第一株流感病毒,称为猪古典H1N1亚型病毒。越来越多的证据表明,古典猪H1N1病毒与人类H1N1病毒起源于同一种病毒,与1918年西班牙大流感病毒的起源一致,现已明确其起源于禽流感病毒^[2,4,16]。但这种禽流感病毒是经过猪体内适应后传给人类,还是直接感染人然后再由人传给猪,或者是这种禽流感病毒分别沿着两种途径传给猪和人,然后在各自的宿主中独立进化,目前不清楚。

4.2.2 三源基因重配的H3N2病毒:1998年,北美地区猪群中出现了新的人-禽-猪三源基因重配的H3N2病毒,并在该地区引起广泛流行。这种病毒的基因组是:HA、NA和PB1来源于人H3N2病毒,M、NP和NS基因来自于古典猪H1N1病毒,而PA和

PB2则来自于禽流感病毒。与类人H3N2亚型相比,三源重配的H3N2病毒的致病性和传染性都明显增强,呈明显的选择优势。

4.2.3 三源基因重配的H1N2病毒:1999年在美国的猪群中出现了一种新的H1N2病毒,这种病毒是流行于北美猪群中的猪古典H1N1病毒与1998年新发现的人-禽-猪三源重配的H3N2病毒发生基因重配的产物。其基因组包括:HA、M、NP和NS基因来自古典H1N1病毒,NA、PB1基因来自于人H3N2病毒,PB2和PA基因来自禽流感病毒。

4.2.4 三源基因重配的H1N1病毒:2005年以来,北美猪群中出现三源基因重配的H1N1病毒,其中HA来源于人H1N1病毒,而内部基因则与三源基因重配的H3N2病毒相同^[10]。

4.3 亚洲和中国

亚洲国家猪流感病毒的研究报道主要来自于中国、日本和韩国。在日本流行的猪流感病毒主要是古典猪H1N1、类人H3N2和重配的H1N2病毒(与欧洲和北美的猪H1N2病毒在抗原和遗传特性方面完全不同)^[1-3,11]。国际流感病毒学界一直关注流感病毒在猪体内的进化分布,与其他烈性传染病相比SIV对猪的致死率低,且具有自限性特点,因此长期以来国内兽医界对猪流感的关注明显不足^[1]。关于我国的猪流感流行情况许多资料来源于香港的一些早期研究。在中国,早在1918年Chun等就报道了类似猪流感的症状。研究表明古典猪H1N1病毒和类人H3N2病毒是我国猪群中流行的主要亚型^[1,17-20]。20世纪80年代初和90年代中期,从供应香港地区猪中分离到类禽H3N2病毒和类禽H1N1病毒(与欧洲猪群中的类禽H1N1病毒完全不同),但没有造成流行^[1]。香港学者在80年代初从华南地区的供港猪中分离到3株基因重配的H3N2病毒,它们的HA和NA基因来自类人H3N2病毒,而内部基因来自于古典猪H1N1病毒,但这种重配病毒没有造成流行,对猪体的致病性也不清楚^[1]。1998年香港的学者又从大陆供港猪群中分离到禽源H9N2和类人H3N2病毒^[21]。1991年郭元吉等从北京某猪群中分离到猪古典H1N1病毒^[17],这是在中国大陆关于SIV的首次报道。关于我国古典猪H1N1病毒的起源,郭元吉等根据HA基因分析,认为是从国外传入的。根据资料记载,我国猪流感的发生最早可追溯到1918年,那年欧洲西班牙流感大流行波及到中国。Shortridge等证实在20世纪70年代古典猪H1N1病毒就存在于中国猪群中^[1]。长期以来SIV在我国学术界未引起足够的重视,事实上

古典猪 H1N1 流感病毒可能在我国猪群中长期存在。最近大陆的一些研究者也从猪体内分离到禽源 H9N2 和 H5N1 病毒^[22-23],但二者在我国猪群中的流行情况尚不清楚。2003-2006 年间,我们运用分子流行病学方法对我国部分地区 SIV 的流行情况进行了研究,并对我国 SIV 的基因重配现象给予了特别关注^[1]。2004 年我们从华东地区某猪场分离到 3 株基因重配的 H1N2 病毒,遗传进化分析表明,NA 基因与 1995 年流行于中国人群中的 H3N2 亚型病毒的 NA 基因同源性最高,而其它 7 个基因则与 1993 年~1994 年流行于中国猪群中的古典猪 H1N1 亚型病毒的相应基因同源性最高^[1-24],在遗传特性上不同于世界其它地区流行的 H1N2 病毒,是流感病毒在中国猪群中独立重配事件的产物,这也是我国大陆关于 SIV 基因重配现象的首次报道。1990 年代,在中国南方的猪群中发现起源于欧洲的重配 H3N2 病毒^[25],最近,起源于北美的猪 H1N2 病毒和欧洲类禽 H1N1 病毒陆续在我国南方猪群中被发现^[26-27]。这些外来病毒可能是通过猪种引进、猪肉进口等商业行为引入到我国猪群中,虽然详细的流行情况还不清楚,但显示出在我国猪群中流感病毒出现了新情况,其分布和进化越来越复杂。

5 SIV 的种间传播

猪对禽流感病毒和人流感病毒都易感,自然条件下经常发生禽和人流感病毒传播给猪的事件。越来越多的证据表明,这种种间传播不仅仅是单向传播,SIV 也可反传给人和禽,这种双向传播对于整个甲型流感的进化和人类公共卫生都意义重大。

5.1 SIV 感染人

人流感病毒,特别是 H3N2 亚型病毒,经常跨物种传播给猪,猪成为人流感病毒的重要储存库和潜在传染源。反过来,SIV 在自然条件下也可以跨物种感染人,从这个意义上讲,SIV 也是一种值得重视的人兽共患病。自 1974 年以来,北美、欧洲和亚洲(香港)不时报道人感染猪流感病毒的事件,报道的 50 多份病例中大部分是由古典猪 H1N1 病毒引起的^[28-29]。流行病学调查显示大多数感染者都有与猪的接触史。所幸,这些 SIV 感染人的事件除了 1976 年美国“新泽西州”事件外,都未造成在人群中的传播。临床表现上,人感染 SIV 与感染季节性流感病毒难以区分,大部分可以自限性恢复,但也有致死性后果。感染人的 SIV 类型包括:古典猪 H1N1 病毒,北美地区三源基因重配的 H1N1、H1N2 和 H3N2 病毒,欧洲类禽 H1N1 和重配的 H3N2 病毒等。

在了解 SIV 全球流行特点的基础上,回顾历史上 SIV 感染人事件,对于研究当下人群中流行的所谓新甲型 H1N1 病毒的起源、进化及其发展趋势有重要的意义。

5.1.1 人感染古典猪 H1N1 病毒:早在 1958 年, Kluska 等从发病人体内检测到猪 H1 抗体,从血清学上表面猪 H1 病毒可以在自然条件下感染人。1974 年 Smith 等从一死亡病例中分离到猪 H1N1 病毒,从病原学上首次证实 SIV 可以在自然条件下传给人并引起严重疾病。1976 年美国新泽西州的一名士兵死于古典 H1N1 病毒引起的肺炎,另有至少 500 人受到了感染。之后一直到 2005 年北美报道了多起古典 H1N1 病毒在自然条件下传染给人的事件^[28],有些同样导致了致死性的后果^[28]。

5.1.2 人感染三源基因重配的猪 H1 病毒:从 2005 年 12 月到 2009 年 2 月间,美国疾病预防控制中心陆续检测到 11 起人感染 SIV 病例(其中 8 例是 2007 年 6 月后发生的),流行病学调查显示其中 9 例有猪暴露史,所有 11 例都治疗后康复。病毒遗传分析表明 10 例是三源基因重配的猪 H1N1 病毒感染,1 例是三源基因重配的猪 H1N2 病毒感染^[29]。

5.1.3 人感染类禽 H1N1 病毒:研究表明流行于欧洲猪群中的类禽 H1N1 病毒也可以传染给人,并引起发病^[28]。

5.1.4 人感染重配的 H3N2 病毒:1993 年在荷兰两个不同地方的患病儿童体内分离到 2 株 H3N2 亚型病毒,遗传性和抗原性分析表明,与分离自欧洲猪体内的基因重配 H3N2 病毒关系最密切。由于这类病毒的内部基因全部来自于禽流感病毒,因此这次事件受到更大关注^[1-28]。1999 年,从香港一位患病儿童体内也分离到抗原性和遗传性相似的病毒^[25]。值得注意的是,大约自 1987 年以来,欧洲猪群中流行的类禽 H1N1、H1N2 和重配 H3N2 病毒由于 M2 蛋白 31 位氨基酸残基由 Ser 突变为 Asp,因此对抗流感病毒药物金刚烷胺有抗性,如果这些病毒获得了在人群中的传播能力,则防治难度会加大^[25]。事实上,目前引起人类流感大流行的新甲型 H1N1 病毒的 M 基因就来自于欧洲 SIV,其 M2 蛋白同样具有金刚烷胺抗性^[30]。

最近加拿大报道了两起人感染北美三源基因重配的 H3N2 病毒的病例,表明北美地区重配的猪 H3N2 病毒也可以自然感染人。

5.1.5 新出现的人类流感大流行病原“甲型 H1N1 病毒”2009 年 3 月份以来,源于北美地区新流感疫情在全球传播,迅速演变为自 1968 年以来人类新的

流感大流行,其病原是一种新的重配 H1N1 亚型病毒,其中 PB2、PB1、PA、HA、NP 和 NS 基因与北美三源重配的 SIV 同源,而 NA 和 M 基因则与欧洲类禽 H1N1 病毒同源^[30]。可见这种病毒是美洲基因重配的 SIV 和欧洲 SIV 通过基因重配后自然选择的产物,从基因的早期来源看,包含有人、猪、禽流感病毒基因片段。但目前还没有足够证据能够说明是在人体内还是在猪体内发生的重配。在掌握全球 SIV 流行动态的提前下,通过基因分析,我们认为新甲型 H1N1 流感病毒产生于猪体的可能性更大,是流感病毒在欧美猪群中长期进化的产物。在探究新甲型 H1N1 流感病毒的基因来源方面,近期国外文献将欧洲(European)SIV 称为欧亚(Eurasian)SIV,我们认为这种提法并不科学。从地理分布上,禽类的流感病毒可以分为欧亚和美洲两大系^[4],但这种分法用于 SIV 并不准确。综上所述,SIV 具有地区特性,亚洲(包括我国)与欧洲的 SIV 在抗原特性和基因来源上并不相同^[1-3],近年来传入我国猪群中的欧洲 SIV 病毒也只是“舶来品”,其流行情况尚不清楚,也不能证实欧洲 SIV 是否已在我国猪群中形成优势流行株。我们认为纠正这一错误对于了解“甲型 H1N1”病毒的来源具有重要意义,而那些此前认为来自中国猪群以及“实验室创造”等说法都是没有科学依据的臆测。

5.2 SIV 感染禽

许多研究证实 SIV 可以反向传给禽。在北美已报道了多起古典 H1N1 SIV 传播给火鸡的事件^[1]。欧洲猪群中的类禽 H1N1 病毒也反传给火鸡,并引致发病。最近北美又报道了猪群中三源重配 H3N2 和 H1N2 病毒传播给野鸭、火鸡,并引起发病^[1]。SIV 反传给禽类,特别是野禽可能会加大 SIV 的传播范围,同时也增加了禽流感病毒的基因多样性,促进了流感病毒在禽体内的进化,但 SIV 能够感染禽的详细分子机制还不清楚。

6 小结

猪流感病毒在世界各地的流行情况各不相同,遗传背景多样,具有明显的地区性。长期以来,古典 SIV 的遗传变异并不明显,但欧洲和北美地区分别从 1979 年(类禽 H1N1)和 1998(三源重配 H3N2)年开始,SIV 的进化速度突然加快,且以基因重配作为主要进化方式。基因重配的病毒含有禽、猪和/或人病毒基因,具有明显的选择优势,传播能力明显加强。近年来北美地区发生了多起人-猪-禽三源基因重配的 SIV(H1 和 H3 亚型)感染人的事件,而这些

SIV 又为当前人类流感大流行病原“甲型 H1N1”病毒提供了大部分基因。我国猪群中流感病毒的流行情况及遗传背景与欧美国家并不相同^[1-3]。我国猪群中流行的流感病毒主要是古典猪 H1N1 和类人 H3N2 病毒。虽然目前尚未在中国猪体内发现有禽流感病毒参与的基因重配现象,但有证据显示禽 H1、H9 和 H5 亚型病毒已经感染了猪。此外,近年来北美的 H1N2 和欧洲类禽 H1N1、H3N2 SIV 在我国猪群中的发现,使我国 SIV 的流行情况更加复杂。不同亚型、不同宿主来源的流感病毒以及欧美 SIV 在中国猪群的存在,加之我国传统的畜禽养殖模式都为新亚型或新基因型流感病毒的产生提供了机会,而这些新病毒可能会引起人类流感或为人类流感新毒株提供基因。

长期以来人们认为中国南方传统的猪禽混养模式为重配病毒的产生提供了温床,事实上在我国南方的猪群中也确实分离过重配病毒^[1]。但值得我们深思的是,为何近年来在欧美这样现代化养殖水平较高的国家也频繁地发生猪体内基因重配事件,而且这种重配最终引起本世纪首次人类流感大流行。可见养殖模式并非决定基因重配的必要条件。流感病毒最大的特点是变异迅速,特别是在宿主群体免疫压力存在的情况下。流感疫苗可以预防相同抗原病毒引起的发病,但并不能根除病毒,某种程度上促进了病毒的变异,这种情况在人流感和禽流感中都存在。值得注意的是,为了经济利益,欧美国家的猪群普遍使用流感疫苗,而这些国家 SIV 的快速进化是否与病毒逃避群体免疫压力有关,尚有待于深入研究。我国猪群接种 SI 疫苗较为少见,我们认为流感疫苗是一把双刃剑,滥用疫苗无疑加速病毒的变异,将会面临禽流感防治同样的尴尬;特别是我国 SIV 的流行情况并不完全清楚的情况下,推行疫苗更显盲目。

前已提及,我国 SIV 的流行情况并不完全清楚,建议尽早启动我国 SIV 的常规监测工作,密切关注 SIV 的流行动态,掌握其分子遗传进化规律。同时,将 SIV 的监测工作纳入整个流感病毒(人流感病毒和动物流感病毒)的监测网络,在信息上实现共享,从生态学的高度把握我国流感病毒的流行和进化情况,这对保护动物健康和预防人类流感大流行都有重要意义。此外,人本身也是流感病毒的基因混合器,而职业暴露人员处于 SIV 感染人的前哨,这些人群在病毒基因重配或 SIV 直接跨物种感染人并进一步获得在人际间传播能力等方面可能起着重要作用,因此也应该建立对职业暴露人群的病毒监测工

作。甲型流感病毒是个大家族,只关注某些成员而忽视整个家族的分布和进化,得到的信息必然是片面。在我国,人季节性流感病毒和动物流感病毒的监测工作分属于卫生系统和农业系统,如何加强整个流感病毒的监测和信息共享,值得我们深入思考。

建议应该启动我国流感病毒基因组测序工程。近年来美国启动了流感病毒的基因组测序工程,并将所有序列信息实现共享,这对流感病毒的研究起到了极大的推动作用。此次北美地区新型甲型H1N1的发现,除了得益于流感监测数据,病毒的基因组测序和解析功不可没。近年来我国流感监测工作取得很大进步,覆盖全国的监测网络逐渐完善,但相比于欧美国家,流感病毒基因组的破译尚有一定差距。我国是流感多发国家,为了解我国流感病毒的分子进化机制,及时发现可能出现的新病毒,也应立即启动流感病毒的基因组测序工程,并作为流感监测的一项重要常规工作。

参考文献

- [1] 祁贤. 我国部分地区猪流感病毒分子流行病学及致病性研究. 南京农业大学博士论文, 2006.
- [2] Brown IH. The epidemiology and evolution of influenza viruses in pigs. *Veterinary Microbiology* 2000, 74(1-2): 29-46.
- [3] Olsen CW. The emergence of novel swine influenza viruses in North America. *Virus Research* 2002, 85(2): 199-210.
- [4] Webster RG, Bean WJ, Gorman OT, et al. Evolution and Ecology of Influenza A Viruses. *Microbiological Reviews*, 1992, 56(1): 152-179.
- [5] Crawford PC, Dubovi EJ, Castleman WL, et al. Transmission of equine influenza virus to dogs. *Science* 2005, 310: 482-485.
- [6] Peiris JS, de J, Guan Y. Avian influenza virus (H5N1): a threat to human health. *Clinical Microbiology Reviews*, 2007, 20(2): 243-267.
- [7] Fouchier RAM, Munster V, Wallensten A, et al. Characterization of a Novel Influenza A Virus Hemagglutinin Subtype (H16) Obtained from Black-Headed Gulls. *Journal of Virology* 2005, 79(5): 2814-2822.
- [8] Matrosovich M, Tuzikov A, Bovin N, et al. Early alterations of the receptor-binding properties of H1, H2, and H3 avian influenza virus hemagglutinins after their introduction into mammals. *Journal of Virology* 2000, 74(18): 8502-8512.
- [9] Ito T, Couceiro JN, Kelm S, et al. Molecular basis for the generation in pigs of influenza A viruses with pandemic potential. *Journal Virology*, 1998, 72(9): 7367-73.
- [10] Karasin AI, Carman S, Olsen CW. Identification of human H1N2 and human-swine reassortant H1N2 and H1N1 influenza A viruses among pigs in Ontario, Canada (2003 to 2005). *Journal of Clinical Microbiology*, 2006, 44(3): 1123-1126.
- [11] Ma W, Kahn RE, Richt JA. The pig as a mixing vessel for influenza viruses: Human and veterinary implications. *Journal of Molecular Genetic Medicine*, 2009, 3(1): 158-166.
- [12] 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.
- [13] Karasin AI, West K, Carman S, et al. Characterization of avian H3N3 and H1N1 influenza A viruses isolated from pigs in Canada. *Journal of Clinical Microbiology*, 2004, 42(9): 4349-4354.
- [14] Ma W, Gramer M, Rossow K, et al. Isolation and genetic characterization of new reassortant H3N1 swine influenza virus from pigs in the Midwestern United States. *Journal of Virology* 2006, 80(10): 5092-5096.
- [15] Ma W, Vincent AL, Gramer MR, et al. Identification of H2N3 influenza A viruses from swine in the United States. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2007, 104(52): 20949-20954.
- [16] Dunham EJ, Dugan VG, Kaser EK, et al. Different Evolutionary Trajectories of European Avian-Like and Classical Swine H1N1 Influenza A Viruses. *Journal of Virology*, 2009, 83(11): 5485-5494.
- [17] 郭元吉, Webster R G, 诸葛亚辉. 我国猪群中猪型(H1N1)流感病毒的发现及其来源调查. *中华实验和临床病毒学杂志 (Chinese Journal of Experimental and Clinical Virology)*, 1992, 6(4): 347-353.
- [18] Qi X, Pang B, Lu CP. Genetic characterization of H1N1 swine influenza A viruses isolated in eastern China. *Virus Gene*. 2009 Jun 12. [Epub ahead of print] PMID: 19521758).
- [19] Qi X, Jiao YJ, Pan H, et al. Genetic Analysis and Rescue of a Triple-reassortant H3N2 Influenza A Virus Isolated From Swine in Eastern China. *Virologica Sinica*, 2009, 24(1): 52-58.
- [20] Yu H, Zhang GH, Hua RH, et al. Isolation and genetic analysis of human origin H1N1 and H3N2 influenza viruses from pigs in China. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 2007, 356(1): 91-96.
- [21] Peiris JS, Guan Y, Markwell D, Ghose P, et al. Cocirculation of avian H9N2 and contemporary "human" H3N2 influenza A viruses in pigs in southeastern China: potential for genetic reassortment? *Journal of Virology*, 2001, 75(20): 9679-9686.
- [22] Xu C, Fan W, Wei R, et al. Isolation and identification of swine influenza recombinant A/Swine/Shandong/1/2003 (H9N2) virus. *Microbes Infection* 2004, 6(10): 919-925.
- [23] Zhu Q, Yang H, Chen W, Cao W, Zhong G, et al. A naturally occurring deletion in its NS gene contributes to the attenuation of an H5N1 swine influenza virus in chickens. *Journal of Virology* 2008, 82(1): 220-228.
- [24] Qi X, Lu CP. Genetic characterization of novel reassortant H1N2 influenza A viruses isolated from pigs in southeastern China. *Archive of Virology* 2006, 151(11): 2289-2299.

- [25] Gregory V ,Lim W ,Cameron K ,et al. Infection of a child in Hong Kong by an influenza A H3N2 virus closely related to viruses circulating in European pigs. *Journal of General Virology* ,2001 82 :1397 - 40 .
- [26] 陈义祥 ,蒙雪琼 ,刘棋等. 中国“人-猪-禽”基因重排 H1N2 亚型猪流感病毒全基因克隆及遗传进化的研究,微生物学报(*Acta Microbiologica Sinica*),2008 ,48 (4) 466 - 472 .
- [27] Liu J ,Bi Y ,Qin K ,et al. Emergence of European avian-like H1N1 Swine Influenza A Viruses in China. *Journal of Clinical Microbiology* ,2009 Jun 24 , [Epub ahead of print] PMID :19521758 .
- [28] Myers KP ,Olsen CW ,Gray GC. Cases of swine influenza in humans : a review of the literature. *Clinical Infectious Disease* 2007 44(8) :1084 - 1088 .
- [29] Shinde V ,Bridges CB ,Uyeki TM ,et al. Triple-reassortant swine influenza A (H1) in humans in the United States 2005 - 2009. *The New England journal of medicine* . 2009 ,360 (25) 2616 - 2625 ,DOI :10.1056/NEJMoa0903812 .
- [30] Novel. Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus Investigation Team. Emergence of a Novel 8 Swine-Origin Influenza A (H1N1) Virus in Humans. *The New England journal of medicine* ,2009 360(25) :2605 - 2615 .

Swine influenza virus : evolution mechanism and Epidemic characterization—A review

Xian Qi ,Chengping Lu *

(College of Veterinary Medicine ,Nanjing Agricultural University ,Nanjing ,China)

Abstract Pigs may play an important role in the evolution and ecology of influenza A virus. The tracheal epithelium of pigs contain both SA α 2 6 Gal and SA α 2 3 Gal receptors and can be infected with swine ,human and avian viruses ,therefore ,pigs have been considered as an intermediate host for the adaptation of avian influenza viruses to humans or as mixing vessels for the generation of genetically reassortant viruses. Evolution patterns among swine influenza viruses including evolution of host adaptation ,antigenic drift and genetic reassortment ,and the latter is the main one. Unlike human influenza viruses ,swine viruses have different epizootiological patterns in different areas of world ,which is enzootic and geographic dependence. Currently ,three predominant subtypes of influenza virus are prevalent in pig populations worldwide :H1N1 ,H3N2 ,and H1N2 ,and these include classical swine H1N1 ,avian-like H1N1 ,human-like H3N2 ,reassortant H3N2 and various genotype H1N2 viruses. In Europe ,North America and China ,influenza A viruses circulating in pigs are distinct in the genetic characteristics and genetic sources. Since 1979 ,three subtypes ,avian-like H1N1 ,reassortant H1N2 and H3N2 viruses ,have been co-circulating in European swine. Before 1998 ,classical H1N1 viruses were the exclusive cause of swine influenza in North America. However ,after that ,three triple-reassortant H1N2 ,H3N2 and H1N1 viruses with genes of human ,swine and avian virus began to emerge in pigs. Genetically ,the pandemic viruses emerging in human ,so called influenza A (H1N1) viruses ,contain genes from both Europe and North American SIV lineages. SIV is not the same as Europe and the United States in the prevalence and genetic background in China ,mainly classical swine H1N1 and human-like H3N2 type virus. However ,in recent years ,SIV from Europe and North America have been introduced into Chinese pig herds ,so more attention should be given on the evolutionary of SIV in China. Worldwide ,more than 50 cases of SIV infection in human have been documented since the 1970s ,which indicate that SIV is also an important zoonosis ,and the potential of SIV as human pandemic virus or genes donator. In view of SIV in the importance of ecology ,as well as a potential threat to human public health ,it is recommended to start as soon as possible regular surveillance ,paying close attention to its prevalence and molecular evolution. At the same time ,we should establish the surveillance network of the whole influenza virus (including human and animal influenza virus) in China ,ecologically mastering the prevalence and evolution of influenza viruses ,which is of great significance for the protection of animal health and the prevention of human pandemic.

Keywords : Cross-species transmission ; swine ; influenza A virus ; genetic reassortant

(本文责编 :张晓丽)

* Corresponding author. Tel/Fax : + 86-25-84396517 ,E-mail :luqp@njau.edu.cn

Received 2 June 2009/Revised 28 June 2009