



H7 亚型禽流感病毒感染人的组织嗜性分析

年庆功, 孙伟, 姜涛, 张雨, 李靖, 祝庆余, 秦成峰*

军事医学科学院微生物流行病研究所, 病原微生物生物安全国家重点实验室, 病毒学专业实验室, 北京 100071

* 联系人, E-mail: qincf@bmi.ac.cn

2013-04-22 收稿, 2013-05-09 接受

国家科技支撑计划(KJYJ-2013-01-01-01)、国家重点基础研究发展计划(2012CB518904)和国家自然科学基金(81000722)资助

摘要 截至 2013 年 5 月 1 日, 我国大陆地区共报告确诊人感染 H7N9 禽流感病毒病例 127 例, 其中死亡 26 人, 公共卫生安全受到严重威胁. 历史上, H7 亚型禽流感病毒曾多次感染人类. 早期报告的人感染 H7 亚型禽流感病毒主要表现为结膜炎等温和疾病, 而此次 H7N9 禽流感病毒感染却表现为严重的急性呼吸道疾病, 呈现出不同寻常的感染特征. 本文对 H7 亚型禽流感病毒感染人组织嗜性特征及其决定因素进行了解析, 以期为此 H7N9 疫情的科学防控提供依据.

关键词

H7N9
禽流感病毒
人类感染
组织嗜性

今年 3 月以来, 我国上海、安徽以及江浙地区先后出现散发人感染 H7N9 禽流感病毒病例, 导致 26 人死亡^[1]. 病原学及基因溯源结果显示, 导致此次疫情的病原体 H7N9 禽流感病毒为一种全新的重配病毒^[2-4], 科学界普遍担忧这种重配病毒会引起新的流感大流行^[5,6].

禽流感病毒属于正黏病毒科流感病毒属, 为典型的有包膜的负链 RNA 病毒. 其基因组由 8 个 RNA 片段组成, 其中 2 段编码 2 种重要的表面糖蛋白: 血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA). 依据其抗原性不同可分为 16 个 HA 亚型(H1~H16)和 9 个 NA 亚型(N1~N9).

禽流感病毒主要在野生禽类中传播, 家禽因与野禽的接触或者共享栖息地而感染. 世界范围内 H7 亚型禽流感在家禽中的暴发流行较为常见, 人感染 H7 亚型禽流感病毒亦有多次报道^[2,7-16]. 本文对人感染 H7 亚型禽流感病毒的历史进行了简述, 重点关注禽流感病毒感染人的组织嗜性, 并分析了影响组织嗜性的重要因素, 以期当前 H7N9 禽流感疫情的科学防控和科技攻关提供线索和支撑.

1 H7 亚型禽流感病毒感染人的历史

1996 年以前, H7 亚型禽流感病毒直接感染人的

事件较少发生^[17-20]. 自 1996 年以来, H7 亚型禽流感病毒直接感染人的案例不断出现, 其中绝大多数与家禽中的疫情密切相关. 目前证实能够感染人的 H7 亚型禽流感病毒包括 H7N2, H7N3, H7N7, 以及最近出现的 H7N9.

1996 年, 英国一名女性因眼睛接触鸭场中的秸秆而感染 H7N7 禽流感病毒, 并引发结膜炎^[7]. 2002 年, 美国国家禽养殖场暴发低致病性 H7N2 禽流感疫情, 一人出现流感样症状, 并被证实为 H7N2 禽流感病毒感染^[21]. 2003 年, 荷兰暴发 H7N7 禽流感疫情期间, 对家禽从业人员及其家属的流行病学调查显示, 89 例确诊为禽流感病毒感染中的 83 例表现出结膜炎症状, 7 例有流感样症状. 一位参与疫情处置的兽医感染后出现急性呼吸窘迫综合征并死亡^[8,10,22]. 2003 年, 美国纽约一位患者感染 H7N2, 并表现出呼吸道症状^[16]. 2004 年, 从加拿大两名结膜炎患者体内分离到 H7N3 禽流感病毒^[9,11]. 2006 年, 英国一人感染 H7N3 禽流感病毒并引发结膜炎^[12]. 2007 年, 威尔士 H7N3 禽流感疫情暴发期间, 4 人因感染禽流感病毒而出现流感样症状和结膜炎^[14]. 2012 年, 墨西哥 H7N3 禽流感病毒致 2 人发生结膜炎^[15].

2013 年 3 月以来, 中国发生 H7N9 禽流感疫情,

引用格式: 年庆功, 孙伟, 姜涛, 等. H7 亚型禽流感病毒感染人的组织嗜性分析. 科学通报, 2013, 58: 1701-1705

Nian Q G, Sun W, Jiang T, et al. The major determinants of tissue tropism of H7 subtype avian influenza A viruses associated with human infections (in Chinese). Chin Sci Bull (Chin Ver), 2013, 58: 1701-1705, doi: 10.1360/972013-474

截至5月1日已有127人感染H7N9禽流感病毒,26名患者死亡.多数患者表现严重的呼吸道病症,未见结膜感染的报道^[2].

2 H7亚型禽流感病毒的组织嗜性

与一般流感所表现的的呼吸道症状不同,H7亚型禽流感病毒感染人类后引发眼部感染的比例较高.比较2次大范围人感染H7禽流感疫情发现:2003年荷兰H7N7疫情中,绝大多数确诊病例(83/89)表现为结膜感染,只有少数(7/89)出现流感症状即呼吸道感染^[22];而今年我国H7N9疫情中确诊病例大多数表现为严重的呼吸道感染,尚未有结膜感染的病例报告^[2].H7亚型禽流感病毒为何表现出完全不同的组织嗜性目前尚不清楚.

禽流感病毒直接感染人,本质上是禽流感病毒脱离其已适应的物种——禽类,到一个新的物种——人类机体中建立感染的过程.组织嗜性也就是禽流感病毒对最终目标感染组织的选择,这一选择过程包括2个重要阶段:(i)病毒进入机体并在人体中扩散.进入机体的途径和后续在人体中的扩散途径决定了病毒可选择组织的范围.(ii)病毒在组织中的复制,该能力是病毒选择目标组织的决定性标准.只有通过复制产生大量的病毒颗粒才能保证病毒在人体内继续存在,继而建立感染.病毒在组织中的复制又受诸多因素的影响,包括组织中靶细胞的种类、HA和靶细胞受体的相互作用、HA和NA间的相互平衡、温度、HA0特异剪切酶的存在等.

2.1 感染途径

在小鼠实验中,通过眼部接种,大部分H7亚型禽流感病毒能成功建立眼部感染并可持续地检测到病毒,同时病毒还会扩散入肺^[23,24];通过鼻腔接种,H7亚型禽流感病毒可以成功建立肺部感染,但是在眼部检测不到病毒^[25].对雪貂的研究也获得了类似的结果.历史上部分人感染病例也被证实为眼部感染^[7,11].但是眼部接种建立感染并不是H7特异的,部分其他禽流感病毒也具有类似能力^[23,25].从解剖学上看,眼结膜部位的液体可以通过鼻泪管进入人类上呼吸道,病毒能够在眼结膜复制显然增大了其感染呼吸道的可能性.

2.2 复制能力

病毒在特异组织和细胞中的复制能力是决定其

组织嗜性的重要因素.自2003年荷兰H7N7疫情中死亡患者体内分离的病毒株A/Netherlands/219/03(H7N7)在3种人眼组织细胞系(HCEpiCs, HConEC和HTMC)上的复制能力远高于其他H7亚型禽流感病毒株.与眼组织细胞系相比,H7亚型禽流感病毒在肺组织细胞系Calu-3上的复制能力更强.小鼠眼部组织感染实验表明,只有A/Netherlands/219/03(H7N7)能够成功建立感染^[23,26,27].此次分离的H7N9禽流感病毒在人类各组织和细胞系中的复制能力尚不清楚,有待进一步研究.

2.3 HA及宿主受体

禽流感病毒感染细胞的第一步是HA吸附靶细胞上的唾液酸受体.禽流感HA对 α -2,3糖苷键连接的唾液酸(SA α -2,3)吸附能力较强,而人流感HA对 α -2,6糖苷键连接的唾液酸(SA α -2,6)吸附能力较强.一般认为,这一吸附特性的差异构成了禽流感病毒传播的种属屏障.对人体唾液酸表达分布的研究显示,人的眼结膜细胞主要表达SA α -2,3而SA α -2,6表达较少甚至检测不到;人类上呼吸道和气管主要表达SA α -2,6,而肺部主要表达SA α -2,3^[23,28,29].

糖原微阵列分析显示,荷兰2003年H7亚型禽流感疫情中发生的大范围眼部感染,与分离毒株HA严重倾向于SA α -2,3有一定关联;而北美分离的H7亚型HA对不同唾液酸的吸附能力差异较大^[30].不管是眼部感染进入呼吸道,还是直接呼吸道感染,禽流感病毒都必须先经过上呼吸道.人体上呼吸道复制、传播要求病毒通过突变获得对SA α -2,6的吸附能力.对H7N9禽流感病毒的序列分析显示,HA中存在多个可以增强 α -2,6唾液酸吸附能力的点突变:128A,151V,177V以及217L^[4].

2.4 HA和NA间的平衡

近年来HA和NA间的平衡对病毒各方面的影响备受关注,已证明这种平衡对病毒的复制能力^[31]、传播能力^[32]及组织嗜性^[33]有重要影响.Chan等人^[33]研究发现,2009 pdmH1N1对人眼结膜有一定嗜性,而其他H1N1重配病毒却没有;通过基因片段替换,结果证明,HA和NA两者共同作用使该病毒株获得眼结膜嗜性.虽然两者间是通过怎样的机制实现平衡目前尚不清楚,但有大量研究发现NA蛋白茎杆区缩短导致其酶活性降低^[34-39],即NA可通过改变茎杆区

长度调节自身酶活性. 对 2013 年新 H7N9 序列分析发现, 其 NA 在茎杆区有 5 个氨基酸缺失. 这种缺失自然也可能通过酶活性的改变, 调节 HA 和 NA 间的平衡, 进而影响 H7N9 的组织嗜性.

2.5 组织温度

禽流感病毒较为适应禽类肠道(41℃), 而在人体呼吸道(33~37℃)的复制可能因温度不同而受到限制. 禽流感病毒的跨种传播至人, 两种宿主的不同体温是另外一层重要的种属屏障. 研究发现, PB2 上 E627K 点突变是禽流感病毒在哺乳动物上重要的适应性突变^[40]. 有研究认为, 这一位点的突变通过改变酶在低温下的适应性提高其在人类呼吸道中的复制能力^[41,42]. 相对于人体上呼吸道(33℃), 人体眼结膜温度偏高(35℃)^[43], 可能有利于未发生 E627K 点突变毒株的复制. 如 A/Netherlands/219/03(H7N7)的 PB2 片段携带 627K, 而从同一疫情中一眼结膜患者中分离的毒株 A/Netherlands/230/03(H7N7)携带 627E, 与疫情中分离到的禽源病毒类似^[8,24]. 这也暗示 E627K 点突变和禽流感病毒从眼结膜进入呼吸道可能相关. 对新发 H7N9 的序列分析也显示, 禽源毒株携带 627E, 人源毒株携带 627K^[4].

2.6 HA 剪切酶

禽流感病毒新形成的病毒颗粒携带的 HA 为 HA0 形式, 需要被宿主酶剪切为 HA1 和 HA2 才能获得感染性. 除某些高致病性 H5 和 H7 亚型 HA 具有

多碱性氨基酸剪切位点, 对剪切酶要求较低外, 其他亚型 HA 的剪切位点只有一个碱性氨基酸, 需要特定的酶才能完成剪切. 因此, 组织微环境中的酶类分布理论上也是决定禽流感病毒组织嗜性的一个重要因素^[44]. 对新发 H7N9 序列分析表明, HA 在该剪切位点只有一个碱性精氨酸, 只能在具有特定剪切酶的组织中复制.

3 展望

一个新亚型禽流感病毒在人体建立感染, 是病毒和人体相互选择的结果. 病毒必须在致病性与传播力间达到微妙的平衡, 才能维系其流行性. 此次出现的 H7N9 亚型禽流感病毒, 是一个全新的重配病毒, 目前对其传播特征、致病性、传播能力的认识仍然十分有限. 对其他 H7 亚型禽流感病毒以及 H5N1 禽流感病毒的研究为我们科学评估 H7N9 病毒的风险提供了有益参考.

目前, 我国科学家自人类和禽类标本均先后分离获得了相应 H7N9 病毒株. 利用小鼠、雪貂、猴等动物模型, 能够获得致病性和传播能力的基本特征; 结合结构生物学、生物化学和病毒学技术, 研究 H7N9 病毒在不同组织和细胞中的复制特征和组织嗜性, 将有助于了解其跨种传播的分子机制; 同时, 临床医生需要与病毒学家、公共卫生部门密切合作, 信息共享, 这对于加强禽流感的监测和大流行的科学防控具有重要意义.

参考文献

- 1 中国疾病预防控制中心, May 3, 2013, posting date. 4月25日—5月1日人感染 H7N9 禽流感疫情信息. http://www.chinacdc.cn/jkzt/crb/rgrgzbxqlg_5295/rgrqlgyp/201305/t20130503_80728.htm
- 2 Gao R, Cao B, Hu Y, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus. *N Engl J Med*, 2013, doi: 10.1056/NEJMoa1304459
- 3 Liu D, Shi W, Shi Y, et al. Origin and diversity of novel avian influenza A H7N9 viruses causing human infection: Phylogenetic, structural, and coalescent analyses. *Lancet*, 2013, doi: 10.1016/S0140-6736(13)60938-1
- 4 Kageyama T, Fujisaki S, Takashita E, et al. Genetic analysis of novel avian A (H7N9) influenza viruses isolated from patients in China, February to April 2013. *Euro Surveill*, 2013, 18: 20453
- 5 The Lancet. From SARS to H7N9: Will history repeat itself? *Lancet*, 2013, 381: 1333
- 6 Uyeki T M, Cox N J. Global concerns regarding novel influenza A (H7N9) virus infections. *N Engl J Med*, 2013, doi: 10.1056/NEJMp1304661
- 7 Kurtz J, Manvell R J, Banks J. Avian influenza virus isolated from a woman with conjunctivitis. *Lancet*, 1996, 348: 901-902
- 8 Fouchier R A M, Schneeberger P M, Rozendaal F W, et al. Avian influenza A virus (H7N7) associated with human conjunctivitis and a fatal case of acute respiratory distress syndrome. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2004, 101: 1356-1361

- 9 Hirst M, Astell C R, Griffith M, et al. Novel avian influenza H7N3 strain outbreak, British Columbia. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10: 2192–2195
- 10 Koopmans M, Wilbrink B, Conyn M, et al. Transmission of H7N7 avian influenza A virus to human beings during a large outbreak in commercial poultry farms in the Netherlands. *Lancet*, 2004, 363: 587–593
- 11 Tweed S A, Skowronski D M, David S T, et al. Human illness from avian influenza H7N3, British Columbia. *Emerg Infect Dis*, 2004, 10: 2196–2199
- 12 Nguyen-Van-Tam J S, Nair P, Acheson P, et al. Outbreak of low pathogenicity H7N3 avian influenza in UK, including associated case of human conjunctivitis. *Euro Surveill*, 2006, 11: E060504
- 13 Skowronski D M, Tweed S A, Petric M, et al. Human illness and isolation of low-pathogenicity avian influenza virus of the H7N3 subtype in British Columbia, Canada. *J Infect Dis*, 2006, 193: 899–900; author reply 900–891
- 14 Editorial team. Avian influenza A/(H7N2) outbreak in the United Kingdom. *Euro Surveill*, 2007, 12: E070531–E070532
- 15 Notes from the field: Highly pathogenic avian influenza A (H7N3) virus infection in two poultry workers—Jalisco, Mexico, July 2012. *Morb Mortal Wkly Rep*, 2012, 61: 726–727
- 16 Ostrowsky B, Huang A, Terry W, et al. Low pathogenic avian influenza A (H7N2) virus infection in immunocompromised adult, New York, USA, 2003. *Emerg Infect Dis*, 2012, 18: 1128–1131
- 17 DeLay P D, Casey H L, Tubiash H S. Comparative study of fowl plague virus and a virus isolated from man. *Public Health Rep*, 1967, 82: 615–620
- 18 Campbell C H, Webster R G, Jr S S B. Fowl plague virus from man. *J Infect Dis*, 1970, 122: 513–516
- 19 Taylor H R, Turner A J. A case report of fowl plague keratoconjunctivitis. *Br J Ophthalmol*, 1977, 61: 86–88
- 20 Webster R G, Geraci J, Petursson G, et al. Conjunctivitis in human beings caused by influenza A virus of seals. *N Engl J Med*, 1981, 304: 911–911
- 21 Edwards L E, Terebuh P, Adija A, et al. Presented at the International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, Georgia, 2004
- 22 de Jong M C, Stegeman A, van der Goot J, et al. Intra- and interspecies transmission of H7N7 highly pathogenic avian influenza virus during the avian influenza epidemic in The Netherlands in 2003. *Rev Sci Tech*, 2009, 28: 333–340
- 23 Belser J A, Wadford D A, Xu J, et al. Ocular infection of mice with influenza A (H7) viruses: A site of primary replication and spread to the respiratory tract. *J Virol*, 2009, 83: 7075–7084
- 24 Belser J A, Lu X, Maines T R, et al. Pathogenesis of avian influenza (H7) virus infection in mice and ferrets: Enhanced virulence of Eurasian H7N7 viruses isolated from humans. *J Virol*, 2007, 81: 11139–11147
- 25 Aamir U B, Naeem K, Ahmed Z, et al. Zoonotic potential of highly pathogenic avian H7N3 influenza viruses from Pakistan. *Virology*, 2009, 390: 212–220
- 26 Belser J A, Zeng H, Katz J M, et al. Infection with highly pathogenic H7 influenza viruses results in an attenuated proinflammatory cytokine and chemokine response early after infection. *J Infect Dis*, 2011, 203: 40–48
- 27 Belser J A, Zeng H, Katz J M, et al. Ocular tropism of influenza A viruses: Identification of H7 subtype-specific host responses in human respiratory and ocular cells. *J Virol*, 2011, 85: 10117–10125
- 28 Olofsson S, Kumlin U, Dimock K, et al. Avian influenza and sialic acid receptors: More than meets the eye? *Lancet Infect Dis*, 2005, 5: 184–188
- 29 Kumlin U, Olofsson S, Dimock K, et al. Sialic acid tissue distribution and influenza virus tropism. *Influenza Other Respi Viruses*, 2008, 2: 147–154
- 30 Belser J A, Blixt O, Chen L M, et al. Contemporary North American influenza H7 viruses possess human receptor specificity: Implications for virus transmissibility. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105: 7558–7563
- 31 Mitnaul L J, Matrosovich M N, Castrucci M R, et al. Balanced hemagglutinin and neuraminidase activities are critical for efficient replication of influenza A virus. *J Virol*, 2000, 74: 6015–6020
- 32 Yen H L, Liang C H, Wu C Y, et al. Hemagglutinin-neuraminidase balance confers respiratory-droplet transmissibility of the pandemic H1N1 influenza virus in ferrets. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108: 14264–14269
- 33 Chan R W, Kang S S, Yen H L, et al. Tissue tropism of swine influenza viruses and reassortants in *ex vivo* cultures of the human respiratory tract and conjunctiva. *J Virol*, 2011, 85: 11581–11587
- 34 Gianecchini S, Campitelli L, Calzoletti L, et al. Comparison of in vitro replication features of H7N3 influenza viruses from wild ducks and turkeys: Potential implications for interspecies transmission. *J Gen Virol*, 2006, 87: 171–175
- 35 Castrucci M R, Kawaoka Y. Biologic importance of neuraminidase stalk length in influenza A virus. *J Virol*, 1993, 67: 759–764
- 36 Matrosovich M, Zhou N, Kawaoka Y, et al. The surface glycoproteins of H5 influenza viruses isolated from humans, chickens, and wild aquatic birds have distinguishable properties. *J Virol*, 1999, 73: 1146–1155

- 37 Matsuoka Y, Swayne D E, Thomas C, et al. Neuraminidase stalk length and additional glycosylation of the hemagglutinin influence the virulence of influenza H5N1 viruses for mice. *J Virol*, 2009, 83: 4704–4708
- 38 Els M C, Air G M, Murti K G, et al. An 18-amino acid deletion in an influenza neuraminidase. *Virology*, 1985, 142: 241–247
- 39 Baigent S J, McCauley J W. Glycosylation of haemagglutinin and stalk-length of neuraminidase combine to regulate the growth of avian influenza viruses in tissue culture. *Virus Res*, 2001, 79: 177–185
- 40 Hatta M, Gao P, Halfmann P, et al. Molecular basis for high virulence of Hong Kong H5N1 influenza A viruses. *Science*, 2001, 293: 1840–1842
- 41 Massin P, van der Werf S, Naffakh N. Residue 627 of PB2 is a determinant of cold sensitivity in RNA replication of avian influenza viruses. *J Virol*, 2001, 75: 5398–5404
- 42 de Wit E, Munster V J, van Riel D, et al. Molecular determinants of adaptation of highly pathogenic avian influenza H7N7 viruses to efficient replication in the human host. *J Virol*, 2010, 84: 1597–1606
- 43 Isenberg S J, Green B F. Changes in conjunctival oxygen tension and temperature with advancing age. *Crit Care Med*, 1985, 13: 683–685
- 44 Bottcher E, Matrosovich T, Beyerle M, et al. Proteolytic activation of influenza viruses by serine proteases TMPRSS2 and HAT from human airway epithelium. *J Virol*, 2006, 80: 9896–9898

The major determinants of tissue tropism of H7 subtype avian influenza A viruses associated with human infections

NIAN QingGong, SUN Wei, JIANG Tao, ZHANG Yu, LI Jing, ZHU QingYu & QIN ChengFeng

Department of Virology, State Key Laboratory of Pathogen and Biosecurity, Beijing Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing 100071, China

The sudden emerged H7N9 influenza A virus has infected 127 persons including 26 deaths in mainland China by May 1, 2013, posing a great threat on public health. Human infections with H7 subtype avian virus have been reported worldwide. However, most cases commonly characterized by conjunctivitis are mild. Currently, human infected with the novel H7N9 virus developed severe lower respiratory illness that is quite unique from previous H7 subtype viral infections. The pathogenicity and tissue tropism of H7 subtype avian influenza A viruses are discussed in this manuscript.

H7N9, avian influenza A virus, human infection, tissue tropism

doi: 10.1360/972013-474