

D 型流感病毒研究进展

高晓龙, 韦海涛, 宋彦军, 王跃, 殷雨晴, 王林, 梅力, 冯小宇*

(北京市动物疫病预防控制中心, 北京 102629)

摘要: 自 2011 年从猪体内分离到全球首株 D 型流感病毒以来, 美国、墨西哥、法国、爱尔兰、意大利、中国、日本以及西北非等多个国家或地区报道 D 型流感病毒在猪、牛、羊群中广泛流行, 甚至人抗体呈阳性。遗传进化分析表明 D 型流感病毒主要分为 D/OK 和 D/660 两个谱系, 目前我国主要流行的是 D/OK 谱系, D/660 谱系主要在北美地区流行。虽然 D 型流感病毒主要引起感染动物轻微的呼吸道疾病, 但是其可能会进入血液引起病毒血症, 给公共卫生安全带来严重威胁。随着 D 型流感病毒流行范围不断扩大, 为提高人们对该病的认识, 作者从 D 型流感病毒特性、流行病学、致病性以及诊断和防治等相关方面的最新研究进展进行概述。

关键词: D 型流感病毒; 病毒特性; 流行病学; 致病性; 诊断和预防

中图分类号: S852.659.5

文献标志码: A

文章编号: 0366-6964(2018)07-1327-07

Progress Research of Influenza D Virus

GAO Xiao-long, WEI Hai-tao, SONG Yan-jun, WANG Yue,

YIN Yu-qing, WANG Lin, MEI Li, FENG Xiao-yu*

(Beijing Center for Animal Disease Control and Prevention, Beijing 102629, China)

Abstract: Since the first influenza D virus (IDV) was isolated from swine in 2011, it has been reported that IDVs are widely isolated from swine, cattle and sheep in Mexico, France, Ireland, Italy, China, Japan and northwest Africa. Based on the phylogenetic analysis of whole-genome sequences of these novel influenza viruses, two genetic lineages can be distinguished, D/OK and D/660 lineages. The isolates from China belong to D/OK lineage, and the stains of D/660 lineage are mainly spread in North America. Although IDV can cause mild respiratory disease in susceptible animals, the virus may enter the blood leading to viremia, which poses a serious threat to public health. To raise the awareness about IDV, this review describes the latest researches progress in the study of IDV including its characterization, epidemiology, pathogenicity, diagnosis and prevention.

Key words: influenza D virus; virus characterization; epidemiology; pathogenicity; diagnosis and prevention

流感病毒为正黏病毒科流感病毒属的单股、负链、分节段 RNA 病毒, 根据其基质蛋白(M)和核蛋白(NP), 可分为 A 型(influenza A virus, IAV)、B 型(influenza B virus, IBV)和 C 型(influenza C

virus, ICV)流感病毒。IAVs 有 18 个血凝素(HA)亚型和 11 个神经氨酸酶(NA)亚型, 其不仅能感染野鸟和家禽, 还可以感染人、猪、马、鲸等多种哺乳动物, 引起感染动物的呼吸系统疾病。IBV 只感染人

收稿日期: 2017-11-27

基金项目: 国家重点研发计划(2016YFC1200801)

作者简介: 高晓龙(1989-), 男, 河北衡水人, 兽医师, 硕士生, 主要从事动物疫病防控技术研究, Tel: 010-60274331, E-mail: ga Xiaolong8905@163.com

* 通信作者: 冯小宇, 高级兽医师, E-mail: hairen_2000@163.com

类,主要引起人的季节性流行性感冒。ICV 主要感染人类,常引起儿童的下呼吸道感染^[1],郭元吉等^[2]也曾从猪体内分离到该型流感病毒。

2011 年,美国首次报道从表现流感症状的猪体内分离到 D 型流感病毒(influenza D virus, IDV),其与 ICV 在结构和基因组上相似,但氨基酸相似性仅为 50%左右,并且 IDV 抗体与 IAV、IBV、ICV 均无交叉反应性^[3-4]。近几年来,多个国家或地区不断从猪、牛体内分离到 IDVs,给畜牧业健康发展和公共卫生安全造成潜在威胁,作者就 IDV 病毒特性、流行病学、致病性、动物模型建立以及诊断和预防等方面进行如下综述。

1 D 型流感病毒特性

IDV 基因组由 7 个片段组成,共编码 PB2、PB1、P3、NP、HEF、M(M1 和 CM2)、NS(NEP 和 NS1)等 9 种蛋白^[5],并且每个基因片段非编码区基因 5'端(5'-AGCAGUAGCAAG-3')和 3'端(3'-C/UCGUAUUCGUC-5')高度保守,几乎与 ICV 一致,但 3'端第 5 位碱基不同,IDV 为腺嘌呤(adenine, A),而 ICV 为胞嘧啶(cytosine, C)。这些非编码区基因之间反向互补形成的柄状结构在病毒粒子复制和包装过程中发挥关键作用,能够启动 mRNAs 的转录^[6]。IAV 和 IBV 病毒粒子表面均含有 2 个糖蛋白,即血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA),而 IDV 同 ICV 一样表面只含有 1 个糖蛋白,即 HEF。PB2、PB1 和 P3 共同组成多聚酶复合体,NP 蛋白和多聚酶复合体组成 IDV 的核糖核蛋白复合体(vRNPs)。ICV 和 IDV 的 M1 蛋白是其外周膜蛋白的主要组成部分,都是通过 RNA 剪接后翻译而成,但剪接方式不同,ICV 是在其 mRNA 上引入终止密码子,而 IDV 是在其外显子前面插入 12 个碱基;未剪接 mRNA 则翻译成 p42 蛋白前体。p42 蛋白在其内部信号肽作用下裂解产生跨膜蛋白 CM2,作为 RNPs 进入宿主细胞内进行复制的离子通道。NS 通过剪接产生 NS1 和 NEP,NEP 是一种核输出蛋白,能介导 RNPs 输出细胞核^[6-7]。

与 IAV、IBV 相比,IDV 与 ICV 在结构和组成上较为接近,但氨基酸相似性仅为 50%左右。分子进化分析表明 IDV 可能与 ICV 来自共同的祖先,也可能是由 ICV 进化而来。贝叶斯分子钟分析推断 IDV 大约在 1971 年前后进化成 2 个谱系,D/OK (D/swine/Oklahoma/1334/2011)谱系和 D/660

(D/bovine/Oklahoma/660/2013)谱系,但 2 个谱系之间存在交叉反应性^[6]。采用邻近法(bootstrap 值为 1 000)对 NCBI 公布的 21 株 IDVs HEF 基因进行遗传进化分析(图 1)发现意大利、中国流行毒株属于 D/OK 谱系,而美国、墨西哥 2 个谱系均有流行(表 1)。但 D/bovine/France/2986/2012、D/bovine/Ibaraki/7768/2016、D/bovine/Miyazaki/B22/2016 均位于独立进化分支,与 2 个谱系进化距离较远,因此其谱系尚不能确定。Murakami 等^[8]对 D/bovine/Ibaraki/7768/2016 采用最大似然法(bootstrap 值为 500)绘制其遗传进化树发现除 M 基因外,其余 6 个基因片段均位于独立进化分支,因此推测其可能属于新的进化谱系。Collin 等^[9]通过 HEF(IDV)序列比对和分子模型比较发现 212 位点可能影响其抗原性。D/OK 谱系毒株 HEF 212 位点均为赖氨酸(lysine, K),而 D/660 谱系毒株 212 位点可能为精氨酸(arginine, R)或赖氨酸,但位于独立进化分支的 D/bovine/France/2986/2012、D/bovine/Ibaraki/7768/2016、D/bovine/Miyazaki/B22/2016 的 212 位点为丝氨酸(serine, S)(表 1),因此 HEF 212 位点是否与其抗原性变化有关还有待进一步研究证实^[10]。Su 等^[6]采用贝叶斯马尔可夫连锁蒙特卡罗方法(Bayesian Markov chain Monte Carlo)对 HEF (IDV)分析发现 HEF(IDV)每个节点平均每年进化速率为 1.54×10^{-3} (95%置信区间: $5.4 \times 10^{-4} \sim 2.7 \times 10^{-3}$),高于 HEF(ICV) 4.87×10^{-4} (95%置信区间: $4.12 \times 10^{-4} \sim 5.66 \times 10^{-4}$),表明 IDV 比 ICV 更容易发生变异进化,因此应对 IDV 的变异进行持续监测^[6,11]。

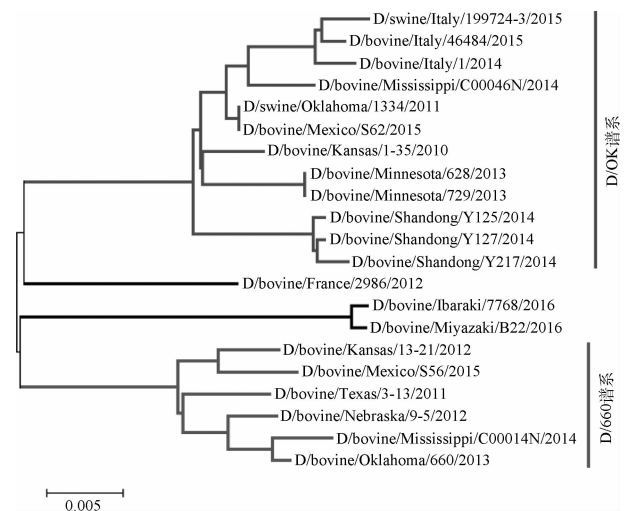


图 1 IDV HEF 基因遗传进化分析

Fig. 1 Phylogenetic tree of HEF gene of IDV

表 1 不同 IDV 毒株 HEF 212 位点氨基酸、谱系及流行地区

Table 1 The amino acid of HEF 212 site, lineage and infected area of IDVs

| 毒株名称 Strains | HEF 蛋白 212 位点氨基酸 Amino acid of HEF 212 site | 谱系 Lineage | 国家 Country |
|-----------------------------------|--|---------------|---------------|
| D/swine/Oklahoma/1334/2011 | K | D/OK 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Kansas/1-35/2010 | K | D/OK 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Minnesota/729/2013 | K | D/OK 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Mississippi/C00046N/2014 | K | D/OK 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Minnesota/628/2013 | K | D/OK 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Shandong/Y127/2014 | K | D/OK 谱系 | 中国 |
| D/bovine/Shandong/Y125/2014 | K | D/OK 谱系 | 中国 |
| D/bovine/Shandong/Y217/2014 | K | D/OK 谱系 | 中国 |
| D/swine/Italy/199724-3/2015 | K | D/OK 谱系 | 意大利 |
| D/bovine/Italy/46484/2015 | K | D/OK 谱系 | 意大利 |
| D/bovine/Italy/1/2014 | K | D/OK 谱系 | 意大利 |
| D/bovine/Mexico/S62/2015 | K | D/OK 谱系 | 墨西哥 |
| D/bovine/France/2986/2012 | S | ND | 法国 |
| D/bovine/Mississippi/C00014N/2014 | R | D/660 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Oklahoma/660/2013 | R | D/660 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Nebraska/9-5/2012 | R | D/660 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Texas/3-13/2011 | K | D/660 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Kansas/13-21/2012 | R | D/660 谱系 | 美国 |
| D/bovine/Mexico/S56/2015 | R | D/660 谱系 | 墨西哥 |
| D/bovine/Ibaraki/7768/2016 | S | ND | 日本 |
| D/bovine/Miyazaki/B22/2016 | S | ND | 日本 |

ND 表示不能确定毒株谱系;K 即赖氨酸;R 即精氨酸;S 即丝氨酸

ND indicates lineage not determined;K is lysine; R is arginine; S is serine

流感病毒表面糖蛋白在其宿主感染和致病性方面具有重要作用,因此目前研究较多的是 IDV 的 HEF 蛋白。我国学者 Song 等^[12]对 IDV 表面唯一糖蛋白 HEF 生物学特性研究发现其具有与 HEF (ICV)相似的受体识别、受体破坏及膜融合等功能。HEF 由 HEF1 和 HEF2 两个亚基组成,分为受体结合区 (receptor binding domain, R)、酯酶活性区 (esterase domain, E, 由 E1、E' 和 E2 三个亚功能区组成)以及融合活性区 (fusion domain, F, 分为 F1、F2 和 F3 三个亚功能区)。通过比较分析 IDV 和 ICV HEF 氨基酸序列及 2.4 Å 分辨率的三维结构,发现它们整体结构及亚功能区结构和功能高度相似,其中 E 最保守,与 ICV 序列一致性分别为 66.7%、68.8% 和 56.6% (E1、E'、E2),主链 C 原子叠合的

均方根偏差 (RMSD) 分别为 0.396 Å、0.390 Å 和 0.435 Å; R 序列一致性为 46.3%, RMSD 为 0.642 Å; F 序列一致性分别为 42.1%、41.2%、56.8% (F1、F2、F3), RMSD 分别为 0.567 Å、0.817 Å、1.445 Å,表明这两个蛋白的受体结合特性、受体破坏特性以及膜融合功能具有较高的相似性。由于 F3 含有融合肽,虽然其序列一致性较高,但 RMSD 为 1.445 Å,所以推测 IDV 的膜融合功能可能与 ICV 有一定差异^[12]。

IAVs 通过特异结合唾液酸 $\alpha 2, 3$ -半乳糖 (禽源) 或唾液酸 $\alpha 2, 6$ -半乳糖 (人源) 而感染禽或人,部分亚型 (如 H1N1、H5N1、H7N9 等) 具有双受体结合特性,既可感染人也可感染禽。Song 等^[12]利用聚糖微阵列方法证实 IDV 能特异结合 9-O-乙酰唾

液酸(9-O-Ac-Sia),并且无论是 $\alpha 2,3$ 还是 $\alpha 2,6$ 连接的糖苷键 9-O-乙酰唾液酸受体都能发生特异结合。与 ICV 不同的是, IDV 仍能与 C5 乙酰化或糖基化修饰的 9-O-Ac-Sia 结合。通过解析 HEF 蛋白-受体复合物 2.2 Å 分辨率三维晶体结构发现 IDV 受体结合区域与 ICV 相似,靠近 HEF1 球状头部的顶端,位于 170-环、190-环、230-螺旋、270-环以及 5 个氨基酸(F127、W185、Y231、F229 以及 F297)形成的一个浅腔内。不同的是 HEF(ICV)带负电荷的 D269 位点和带正电荷 K235 位点形成盐桥促使 270-环和 230-螺旋相连形成封闭的受体结合区域,而 IDV 的 T239 和 A273 均为不带电荷氨基酸,因此 270-环和 230-螺旋没有连接,而是形成一个特征性的开放通道,所以 IDV 能结合不同宿主受体的多种多聚糖链,这可能与其宿主谱较为广泛有关^[6, 10]。另外一个重要特征就是 HEF(IDV)的 127 位氨基酸与 IBV(第 95 位)相同,都为苯丙氨酸(phenylalanine, F),而 HEF(ICV,第 127 位)和 HA(IAV,第 98 位)为酪氨酸(tyrosine, Y)。虽然 F127 不能与 9-O-Ac-Sia 的乙酰基形成氢键,但是 C4 和 T171 之间至少可以形成 2 个氢键,有助于稳定受体构像避免平移或旋转,进而增加病毒与受体的亲和力^[12]。

IAV 和 IBV 的 NA 具有受体破坏特性,能够裂解末端唾液酸使其与糖蛋白或糖脂脱离,释放病毒粒子^[13];而 ICV 和 IDV 主要是通过其 HEF 介导病毒粒子的进入和释放。HEF 不仅能够结合特异受体,还具有乙酰酯酶活性,水解受体 9-O-Ac-Sia C9 连接的乙酰基团使病毒粒子和受体解离。由 S57、D356 和 H359 组成的催化三联体是 HEF 受体裂解活性的关键位点,并且这三个位点高度保守,ICV 和 IDV 完全一致。Song 等^[12]发现随着温度的降低,HEF 脂酶活性也逐渐降低,但是在 4 °C 条件下,仍具有较强的脂酶活性^[10, 12]。

HA 或 HEF 在体内蛋白酶作用下裂解是流感病毒入侵的第一步,ICV 和 IDV 的 HEF 都只含有 1 个碱性裂解位点,呈低致病性分子特征,在蛋白酶作用下裂解为 HEF1 和 HEF2 两个蛋白亚基,序列分析表明 ICV 和 IDV HEF2 融合肽 N 末端前 8 个氨基酸完全一致(IFGIDDLI),并且都暴露在表面,而 IAV 和 IBV HA2 融合肽 N 末端插入一个负电腔洞中。融合蛋白的裸露可能与其亲脂性有关^[10, 12-14]。

IAV 热稳定性和耐酸能力对其跨种传播能力具有重要作用。Yu 等^[15]发现 IDV 较 IAV、IBV、

ICV 具有较强的热稳定性和酸稳定性,53 °C 加热 2 h 或 pH3.0 环境下作用 0.5 h IDV 仍具有感染性,而其他流感病毒已完全失去感染活性。不同的细胞、组织甚至是动物体内 pH 不同,因此推测 IDV 可能会具有较广泛的组织嗜性和宿主感染性。反向遗传学研究表明 HEF 蛋白对 IDV 的热稳定性和耐酸能力起到关键作用,所以应对 HEF 蛋白与热稳定性、耐酸等特性之间的分子机制进一步研究,防止其发生变异引起跨种传播。

2 D 型流感病毒流行病学

IAVs 以野鸟为自然贮存宿主,IBVs 和 ICVs 以人为自然宿主,而目前普遍认为 IDV 的自然贮存宿主是牛,可以感染奶牛、肉牛、水牛以及黄牛等多种牛,6 月龄犊牛最易感,主要引起牛呼吸系统疾病。猪、山羊、绵羊甚至人均有 IDV 阳性或抗体阳性的报道^[6, 16-19]。实验条件下, IDV 也可以感染豚鼠、雪貂等动物。IDV 可以在雪貂、豚鼠或牛群中发生接触传播,空气传播能力有限,因此推测 IDV 的传播方式同其他流感病毒一样,主要通过水平接触传播^[3, 20-21]。

2011 年, IDV 首次在美国俄克拉何马州分离到,随后美国的堪萨斯州、内布拉斯加州、得克萨斯州、明尼苏达州、密西西比州等多个州牛群中检测并分离到 IDVs。根据 IDV 遗传进化关系,目前 IDV 主要分为 D/OK 和 D/660 两个谱系,但存在一定的交叉反应性。Luo 等^[19]挑选不同谱系的 D/bovine/Mississippi/C00013N/2014 (D/13N) 和 D/bovine/Mississippi/C00046N/2014 (D/46N) 作为检测抗原,对采集于 2003—2004 年内布拉斯加州 40 个养殖场的 293 份牛血清样品中 IDV 抗体回溯性调查,发现 240 份血清样品 IDV 血凝抑制抗体阳性(效价大于或等于 1 : 40),阳性率高达 81.9%,其中有 3 份血清样品只对 D/13N 呈阳性,5 份样品只对 D/46N 阳性,同时发现对 D/13N 和 D/46N 血凝抑制阳性的 113 份样品的血凝抑制效价不同(log₂ 平均值相差 1.09±0.29)。以上监测结果证明 IDV 早在 2003 年已经在美国出现,并且 IDV 在流行过程中发生了抗原性变异,形成 2 个抗原群,但存在一定的交叉反应性。

White 等^[18]以 D/bovine/Kansas/1-35/2010 作为检测抗原对佛罗里达州 35 名健康的牛场工作人员 IDV 抗体进行检测,发现超过 94% 的牛场工作人

员 IDV 抗体阳性(效价大于或等于 1:40),其中 32 人血凝抑制(haemagglutination inhibition, HI)抗体阳性,效价为 1:40~1:160;34 人中和抗体阳性,效价为 1:40~1:320,这些人曾患过发热性疾病或有病牛、病猪接触史。White 等^[18]对当地 4 名普通人(近 10 年没有牛接触史)的 IDV 血清学调查发现 3 人 HI 抗体阳性,效价为 1:40~1:80;2 人中和抗体阳性,效价为 1:40~1:80。Eckard^[22]利用 D/swine/Oklahoma/1334/2011 (D/OK)作为检测抗原对居住在奶牛养殖场附近的高危暴露人群的 741 份血清中 IDV 的 HI 抗体进行检测,发现仅有 8 人呈 HI 抗体弱阳性(效价大于等于 1:40),阳性率约为 1%。以上血清学结果表明 IDV 也可以感染人,尤其是牛场或猪场工作人员为易感人群,但其不会引发人致命性疾病。

除美国以外,法国^[23]、意大利^[24-25]、爱尔兰、日本^[8,26]、中国^[27]、摩洛哥、贝宁、多哥以及肯尼亚^[28]等多个国家或地区也有过 IDV 感染的相关报道。Salem 等^[28]利用血凝抑制方法检测肯尼亚地区单峰驼血清样品中的流感病毒抗体,发现其与 IDV (D/bovine/Nebraska/9-5/2012)和 ICV(C/Victoria/1/11)结合后都能抑制红细胞凝集。进一步研究发现血清经过四个凝集单位的 ICV 吸附处理后, IDV 抗体滴度下降超过 2 个滴度,阳性率由 99%降至 8.2%,而经 IDV 吸附处理后,ICV 抗体阳性率也由 94%下降为 9%。因此推测 IDV 可能会感染单峰驼并且与 ICV 发生抗体交叉反应,但是相关感染机制以及感染骆驼后与 ICV 发生的抗体交叉反应性还有待进一步研究。

3 D 型流感病毒致病性及动物模型研究

研究发现 IDV 感染是临床常见牛呼吸道疾病(BRD)的主要原因^[6]。Ferguson 等^[20]将牛源 IDV (D/bovine/Mississippi/C00046N/2014)人工感染犊牛后,能够引起感染犊牛的气管炎症,并出现干咳、流鼻涕等轻微呼吸道症状,证明 IDV 比较容易感染牛群且发生接触传播。为进一步研究 IDV 传播能力,Ferguson 等^[20]通过人工模拟自然状态下流感传播途径,利用 2 只雪貂接触感染牛群鼻分泌物污染物后并未检测到病毒,血清 IDV 抗体阴性。因此,虽然 IDV 能够感染并引起牛群的轻微呼吸系统疾病,但其通过排泄污染物传染给人的风险仍较低。

Hause 等^[3]将分离到的首株 IDV(D/OK)人工

感染雪貂和猪,评价其哺乳动物致病性和传播能力。D/OK 分离株感染雪貂后未引起流感的临床症状和病理学变化,而且只能从感染组和接触组雪貂鼻洗液中检测到病毒,上呼吸道、下呼吸道、肺、小肠、肝、脾等组织均检测不到病毒,空气传播组雪貂虽未检测到 IDV,但 1 只雪貂 IDV 抗体转阳,表明 IDV 不仅能感染雪貂,并且存在水平接触传播的可能性,同时具有有限的飞沫传播能力。同样,D/OK 感染猪后也观察不到流感临床症状和病理学变化,但是猪感染后能通过鼻洗液持续排毒。与 IAV 相比,虽然 IDV 在雪貂和猪体内尤其是上呼吸道感染复制能力较低,但其有限的哺乳动物间接触传播能力给人类健康造成巨大的潜在威胁。

小鼠、豚鼠、雪貂及非人灵长动物等哺乳动物广泛用于 A 型流感病毒感染机制和宿主免疫反应等相关研究。IDV 虽然能感染雪貂,但在雪貂体内复制能力有限。豚鼠属于哺乳纲动物,其气道高反应性和支气管淋巴组织等均与人类相似,并且与猪、雪貂相比具有体型小、容易操作、价格低廉等优势,因此 Sreenivasan 等^[21]利用豚鼠构建 IDV 哺乳动物感染模型,IDV 在豚鼠鼻甲骨、肺、呼吸道等组织内有效复制,并能在豚鼠间传播。IDV 哺乳动物感染模型的建立有助于 IDV 感染和致病性等相关分子生物学特性研究。

4 D 型流感病毒诊断和预防技术研究

病毒分离培养是流感病毒诊断的金标准,Hause 等^[3]发现 IDV 的细胞嗜性较为广泛,能在猪睾丸细胞(ST)、肺癌细胞(A549)、犬肾细胞(MD-CK)、非洲绿猴肾细胞(Marc-145)、人直肠癌细胞(HRT-18G)、乳仓鼠肾细胞(BHK-21)、猪肾细胞(PK-15)等多种细胞中生长繁殖,但在 BHK-21 和 PK-15 细胞中复制能力较差。因此 IDV 的诊断可以采用细胞分离法。

由于流感病毒其表面蛋白糖蛋白能与鸡红细胞发生凝集作用,因此, IDV 血清学诊断主要采用血凝和血凝抑制方法,同时也可以采用酶联免疫吸附试验、补体结合试验等方法。

聚合酶链式反应(PCR)具有快速、准确、敏感等特点,因此 IDV 鉴别诊断可以采用此方法。研究表明流感病毒基因组中 PB1 基因序列最为保守。因此,目前大部分是基于 IDV 的 PB1 基因建立 PCR 检测方法^[29]。Hause 等^[3]根据 D/swine/1334/

Oklahoma/2011 分离株 PB1 基因(1 420~1 555 bp 区间)设计引物,建立了 IDV Taqman 荧光定量 PCR 检测方法。Faccini 等^[30]根据 GenBank 公布的所有 IDV 分离株序列的 PB1 基因(14 株)保守区域(在 1 215~1 323 bp)设计引物,建立了两步法荧光定量 PCR。

由于 IDV 发现时间较短,所以目前尚未有商品化疫苗和特异性治疗药物。Hause 等^[31]利用 0.1% β -丙内酯将 D/bovine/Kansas/162655/2012 灭活后添加 30% Emulsigen 佐剂制备全病毒灭活疫苗,免疫牛后虽然能显著降低 IDV 排毒量(减少 1~2 TCID₅₀ · mL⁻¹),但不能对 D/bovine/Kansas/162655/2012 的攻击起到 100% 保护作用。因此建议应用广谱抗病毒药物辅以对症疗法预防和治疗 IDV 感染。

5 展 望

近几年来,IAVs(H1N1、H5N1、H5N8、H7N9 等)和 IBVs 肆虐全球,尤其是 2017 年年初流感呈高发态势,给养殖业造成巨大损失的同时严重影响着人群健康。新发现的 D 型流感病毒感染宿主范围较广,不但可以感染猪、牛、羊、骆驼等,还能感染人,尤其是牛场工作人员为高危人群。虽然 IDV 致病力不高且哺乳动物间传播能力有限,但是其可能会通过呼吸道表面的毛细血管内皮细胞进入宿主循环系统,引起病毒血症,给人类健康造成严重威胁^[27]。多项研究发现我国山东、广州等多地区存在 IDV 感染情况,且均属于 D/OK 谱系^[17,27]。IDV 在我国是一直存在还是从他国传入,通过何种方式传入我国,这些问题仍有待研究。鉴于当前 IDV 流行范围不断扩大,并且在流行过程中较 ICV 容易发生变异,加之热稳定性好、耐酸,在自然环境中容易存活,因此应加强并且持续进行 IDV 流行病学调查,尤其是人群中 IDV 流行情况,同时对其遗传进化规律、致病分子机制、诊断方法以及疫苗研发等相关问题进一步研究。

参考文献(References):

[1] GOUARIN S, VABRET A, DINA J, et al. Study of influenza C virus infection in France[J]. *J Med Virol*, 2008, 80(8):1441-1446.

[2] GUO Y J, JIN F E, WANG P, et al. Isolation of influenza C virus from pigs and experimental infection

of pigs with influenza C virus[J]. *J Gen Virol*, 1983, 64(1):177-182.

- [3] HAUSE B M, DUCATEZ M, COLLIN E A, et al. Isolation of a novel swine influenza virus from Oklahoma in 2011 which is distantly related to human influenza C viruses[J]. *PLoS Pathog*, 2013, 9(2): e1003176.
- [4] SHENG Z Z, RAN Z G, WANG D, et al. Genomic and evolutionary characterization of a novel influenza-C-like virus from swine [J]. *Arch Virol*, 2014, 159(2):249-255.
- [5] HAUSE B M, COLLIN E A, LIU R X, et al. Characterization of a novel influenza virus in cattle and swine; proposal for a new genus in the *Orthomyxoviridae* family[J]. *mBio*, 2014, 5(2):e00031-14.
- [6] SU S, FU X L, LI G R, et al. Novel influenza D virus: epidemiology, pathology, evolution and biological characteristics[J]. *Virulence*, 2017, 8(8):1580-1591.
- [7] PEKOSZ A, LAMB R A. Influenza C virus CM2 integral membrane glycoprotein is produced from a polypeptide precursor by cleavage of an internal signal sequence[J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1998, 95(22):13233-13238.
- [8] MURAKAMI S, ENDOH M, KOBAYASHI T, et al. Influenza D virus infection in herd of cattle, Japan[J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22(8):1517-1519.
- [9] COLLIN E A, SHENG Z Z, LANG Y K, et al. Cocirculation of two distinct genetic and antigenic lineages of proposed influenza D virus in cattle[J]. *J Virol*, 2015, 89(2):1036-1042.
- [10] WANG M Y, VEIT M. Hemagglutinin-esterase-fusion (HEF) protein of influenza C virus[J]. *Protein Cell*, 2016, 7(1):28-45.
- [11] GATHERER D. Tempo and mode in the molecular evolution of influenza C[J]. *PLoS Curr*, 2010, doi: 10.1371/currents.RRN1199. (2010-12-07)[2018-04-17]. <http://currents.plos.org/influenza/article/tempo-and-mode-in-the-molecular-209adpo20ccgj-3/>.
- [12] SONG H, QI J X, KHEDRI Z, et al. An open receptor-binding cavity of hemagglutinin-esterase-fusion glycoprotein from newly-identified influenza D virus: basis for its broad cell tropism[J]. *PLoS Pathogens*, 2016, 12(1):e1005411.
- [13] WEBSTER R G, BEAN W J, GORMAN O T, et al. Evolution and ecology of influenza A viruses[J]. *Microbiol Rev*, 1992, 56(1):152-179.

- [14] ROSENTHAL P B, ZHANG X D, FORMANOWSKI F, et al. Structure of the haemagglutinin-esterase fusion glycoprotein of influenza C virus[J]. *Nature*, 1998, 396(6706):92-96.
- [15] YU J S, HIKA B, LIU R X, et al. The hemagglutinin-esterase fusion glycoprotein is a primary determinant of the exceptional thermal and acid stability of influenza D virus[J]. *mSphere*, 2017, 2(4):e00254-17.
- [16] FERGUSON L, ECKARD L, EPPERSON W B, et al. Influenza D virus infection in Mississippi beef cattle[J]. *Virology*, 2015, 486:28-34.
- [17] JIANG W M, WANG S C, PENG C, et al. Identification of a potential novel type of influenza virus in bovine in China[J]. *Virus Genes*, 2014, 49(3):493-496.
- [18] WHITE S K, MA W J, MCDANIEL C J, et al. Serologic evidence of exposure to influenza D virus among persons with occupational contact with cattle[J]. *J Clin Virol*, 2016, 81:31-33.
- [19] LUO J R, FERGUSON L, SMITH D R, et al. Serological evidence for high prevalence of influenza D viruses in cattle, Nebraska, United States, 2003-2004[J]. *Virology*, 2017, 501:88-91.
- [20] FERGUSON L, OLIVIER A K, GENOVA S, et al. Pathogenesis of influenza D virus in cattle [J]. *J Virol*, 2016, 90(12):5636-5642.
- [21] SREENIVASAN C, THOMAS M, SHENG Z S, et al. Replication and transmission of the novel bovine influenza D virus in a guinea pig model[J]. *J Virol*, 2015, 89(23):11990-12001.
- [22] ECKARD L E. Assessment of the zoonotic potential of a novel bovine influenza virus[D]. Tennessee: The University of Tennessee, 2016.
- [23] DUCATEZ M, PELLETIER C, MEYER G. Influenza D virus in cattle, France, 2011-2014[J]. *Emerg Infect Dis*, 2015, 21(2):368-371.
- [24] CHIAPPONI C, FACCINI S, DE MATTIA A, et al. Detection of influenza D virus among swine and cattle, Italy[J]. *Emerg Infect Dis*, 2016, 22(2):352-354.
- [25] FONI E, CHIAPPONI C, BAIONI L, et al. Influenza D in Italy: towards a better understanding of an emerging viral infection in swine[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1):11660.
- [26] HORIMOTO T, HIONO T, MEKATA H, et al. Nationwide distribution of bovine influenza D virus infection in Japan[J]. *PLoS One*, 2016, 11(9):e0163828.
- [27] ZHAI S L, ZHANG H, CHEN S N, et al. Influenza D virus in animal species in Guangdong Province, Southern China[J]. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23(8):1392-1396.
- [28] SALEM E, COOK E A J, LBACHA H A, et al. Serologic evidence for influenza C and D virus among ruminants and camelids, Africa, 1991-2015[J]. *Emerg Infect Dis*, 2017, 23(9):1556-1559.
- [29] KISHIMOTO M, TSUCHIYAKA S, RAHPAYA S S, et al. Development of a one-run real-time PCR detection system for pathogens associated with bovine respiratory disease complex [J]. *J Vet Med Sci*, 2017, 79(3):517-523.
- [30] FACCINI S, DE MATTIA A, CHIAPPONI C, et al. Development and evaluation of a new Real-Time RT-PCR assay for detection of proposed influenza D virus[J]. *J Virol Methods*, 2017, 243:31-34.
- [31] HAUSE B M, HUNTIMER L, FALKENBERG S, et al. An inactivated influenza D virus vaccine partially protects cattle from respiratory disease caused by homologous challenge[J]. *Vet Microbiol*, 2017, 199:47-53.

(编辑 白永平)