点 评

流行性感防控基础研究状况及关键科学问题分析

闫章才^①, 薛丽香^{①②}, 李国才^③, 高福^{④⑤*}, 董尔丹^{①*}^① 国家自然科学基金委员会医学科学部, 北京 100085;^② 北京大学医学部, 北京 100191;^③ 扬州大学医学院, 扬州 225001;^④ 中国科学院微生物研究所, 北京 100101;^⑤ 中国疾病预防控制中心, 北京 100202

* 联系人, E-mail: gaof@im.ac.cn; donged@nsfc.gov.cn

收稿日期: 2013-10-31; 接受日期: 2013-11-09

doi: 10.1360/N052013-00075

继 2009 年全球性 H1N1 流感大爆发之后, 2013 年春季发生在中国的 H7N9 禽流感病毒感染人的事件再次提醒人们流感可能给人类带来的危害与灾难, 同时也为流感相关研究提出了重要的科学命题. 探索流感病毒的病原学基础及变异规律、及时预测预警流感发生趋势、提高药物与疫苗的研发能力等重大科学问题, 将对中国的流感防控水平的提升具有重要的现实意义. 本文总结了近年来在国家自然科学基金资助下中国科学家在流感基础研究领域的主要进展, 借鉴近期召开的“流感前沿科学问题”双清论坛讨论成果, 对流感基础研究主要科学问题进行凝练, 探讨重要研究方向, 为流感防控的基础研究提供参考.

1 流感研究领域的重大发现与进展

1.1 流感的严重危害与病原学

20 世纪发生过 3 次全球性的流感大流行, 导致数千万人死亡. 1918 年的西班牙流感(Spanish flu)由 A 型流感病毒 H1N1 亚型引起, 3 个月内感染了全球近 50% 人口, 导致 2000~5000 万人死亡^[1]; 1957 年的

亚洲流感(Asian flu)由禽 H2N2 和人源病毒片段重组病毒引起, 6 个月时间传播至全球, 感染 40%~50% 的人口, 100 万人死亡^[2]; 1968 年的香港流感(Hong Kong flu)由 H3N2 引起^[3], 导致数百万人口死亡^[2]. 期间, 还有 1977 年一次小规模俄罗斯流感(H1N1).

2009 年 2 月, 起源于墨西哥的新亚型 H1N1 病毒引发 21 世纪第一次全球流感大流行. H1N1 病毒迅速传播至多个国家, 引起世界卫生组织(World Health Organization, WHO)的密切关注. 4 月 27 日, WHO 将全球流感预警级别提高至 4 级, 4 月 29 日提高至 5 级, 6 月 11 日又提高至最高级别——6 级^[4]. 新亚型 H1N1 病毒相对温和, 病死率不高, 流行具有季节性, 但可造成世界大流行, 因而其危害也应该受到足够重视^[3].

H5N1 是首次发现的可直接由禽类传播给人类的高致病性禽流感病毒, 能导致流感的局部流行^[3]. 1997 年 8 月, 中国香港报告了全球首例人感染 H5N1 禽流感病毒而死亡的病例, 该次禽流感爆发共导致 18 人感染, 6 人死亡. H5N1 病毒感染人的病例主要见于东亚、东南亚、非洲和中东. 1997 年 8 月~2013 年 4 月, 共计有 15 个国家和地区的 628 人感染 H5N1 禽

引用格式: 闫章才, 薛丽香, 李国才, 等. 流行性感防控基础研究状况及关键科学问题分析. 中国科学: 生命科学, 2014, 44: 101-106

Yan Z C, Xue L X, Li G F, et al. Fundamental Research and Analysis of Key Scientific Questions concerning Prevention and Control of Flu. SCIENTIA SINICA Vitae, 2014, 44: 101-106, doi: 10.1360/N052013-00075

流感病毒, 374 人死亡, 病死率为 59.55%。报告病例/死亡人数最多的为印度尼西亚、埃及、越南和中国^[3]。

2013 年 3 月, 中国发现可感染人的新亚型禽流感病毒——H7N9。疫情发生后, 中国科学家很快确定了 H7N9 与人严重呼吸道感染的相关性^[5]。经实验室确诊的 H7N9 禽流感病毒感染病例的数据分析表明, 患者最常见症状是发烧和咳嗽, 97.3% 患者入院时症状与肺炎一致, 76.6% 需要重症监护病房(intensive care unit, ICU)救治, 病死率 27.0%。患者平均年龄 61 岁, 42.3% 为 65 岁或以上, 31.5% 为女性。88.3% 患者观察到淋巴细胞减少症, 血小板减少症占 73.0%。患者发病后平均 7 天开始接受抗病毒药物治疗, 平均治疗 6 天(4~7 天)后体内检测不出病毒基因。一般认为, 尽管轻症感染病例也可能存在^[6], 但新亚型 H7N9 病毒可导致人类严重疾病, 包括肺炎、急性呼吸窘迫综合征等, 需要 ICU 住院救治, 病死率较高^[7]。

1.2 流感病毒的溯源和流行病学

科学界相信, 野生水禽是流感病毒的自然宿主(贮存宿主), 每隔一定时期, 禽流感病毒株能通过基因重配转化成可感染人类的病毒株^[8], 这类携带禽流感病毒表面蛋白的人流感病毒株可导致全球流感大流行^[3,8]。亚洲流感(1957~1958 年)由禽 H2N2 和人 H1N1 内部基因片段的杂交流感病毒引起, 而香港流感(1968~1969 年)毒株 H3N2 则是禽 H3 中国株和人 H2N2 的杂交病毒^[2]。猪(*Sus scrofa*)可同时感染禽和人流感病毒株, 猪体内也分离出了多种重配的流感病毒株, 因此猪可能是流感流行的中介“混合器”。基因序列分析表明, 1918 年“西班牙流感”病毒株中血凝素(hemagglutinin, HA)、神经氨酸酶(neuraminidase, NA)、核蛋白(nucleoprotein, NP)、基质蛋白(matrix protein)M1 和 M2 等编码区序列与一株可感染人和猪的新型 H1N1 流感病毒株的一致^[9]。血清学调查结果也显示, 西班牙流感病毒可能属于典型的猪流感病毒株^[8]。

1997 年, 人们发现禽流感病毒(H5N1 亚型)也可以不经中介而直接感染人(鸡源病毒由鸡或者环境直接感染人)^[3]。H5N1 起源于中国香港, 但中国病例数并不是最多。目前尚无证据表明禽流感病毒可在人与人之间传播, 但对此必须保持高度警惕。一旦禽流感病毒通过变异或基因重配而产生可在人与人之间传播的毒株, 将很可能引起可杀死成千上万人口的

世界流感大流行^[3,10,11]。

H7N9 流感病毒是一种基因重配新亚型病毒^[12,13]。其 HA 基因可能源于中国长三角地区鸭群中的 H7 亚型禽流感病毒, 后者可能由东亚迁徙线路上的候鸟传入中国鸭群; NA 基因的可能来源是经过中国的迁徙候鸟, 鸭群可能作为一个重要宿主将野鸟病毒传入家禽。HA 基因进入中国鸭群的时间早于 NA 基因。另外 6 个基因片段来源于中国家禽(主要是鸡群)中流行的 H9N2 亚型禽流感病毒。这 6 个基因片段并非单一来源, 其中非结构蛋白(non-structural protein, NS)基因可能来源于江苏周边的鸡群, 其他 5 个片段来源于上海、浙江附近的鸡群。造成 6 个内部基因片段多样性的原因可能与家禽的运输有关。同时, 病毒基因的系统发生和蛋白质一级结构分析表明, 这次爆发的 H7N9 禽流感病毒至少有两个不同的分支, 它们在病毒的受体结合特性、“达菲”耐药性等方面有不同的表征^[12]。

对截至 2013 年 4 月 17 日中国公布的 82 例人感染 H7N9 禽流感确诊病例的流行病学特征和临床病程进行分析, 揭示了 H7N9 禽流感的基本特征和危险因素^[14]。禽类和人体分离到的 H7N9 病毒的基因密切相关, 也均具有结合人呼吸道受体的能力^[15,16]。一株从人体分离出来的病毒可在雪貂(*Mustela putorius furo*)间通过气溶胶高度传染^[16]。与禽类的接触可能增加了人感染禽流感病毒的风险^[17,18]。城市男性更容易感染禽流感病毒 H7N9 和 H5N1, 感染这两种病毒的高风险性相近, 但大多数 H7N9 感染者为老年人, 而 H5N1 病毒则更容易感染年轻人, 这种年龄与病毒感染性间相关的机理尚不清楚^[19]。

1.3 禽流感病毒跨种传播机制

高致病性流感病毒溯源和跨种传播机制研究是流感疫情科学预判和科学防控的基础。高致病性 H5N1 禽流感病毒跨种传播感染并致人死亡事件时有发生, 中国科学院的科研人员^[20]利用表面等离子共振技术研究了 H5N1 病毒野生型和突变型(突变后病毒能在雪貂中传播)HA 蛋白与禽源和人源受体的结合能力, 发现野生型 HA 只结合禽源受体, 而突变型 HA 不仅可结合禽源受体, 还具备了结合人源受体的能力。表明突变型 H5N1 病毒可感染哺乳动物上呼吸道, 并侵染肺部组织造成严重感染。利用晶体学方法分别解析了 H5N1 病毒野生型和突变型 HA 蛋白与

禽源或人源受体结合的复合物结构, 揭示了突变型 HA 与人、禽受体结合的特点以及结构基础, 发现关键的氨基酸突变 Q226L 决定了受体结合特性的转换, 该突变型 HA 的另外 3 个氨基酸突变对病毒获得空气传播能力发挥重要作用. 该研究首次在分子水平对重要氨基酸突变能够导致 H5N1 病毒在哺乳动物间获得空气传播能力这一重要现象进行解析, 是禽流感跨种传播研究领域的重要突破. 这一研究成果也将对其他亚型流感病毒的系统研究提供重要参考信息.

H7N9 新亚型禽流感病毒基因中也存在碱基置换突变^[13]. 其 H7 蛋白中 G226L 和 G186V 的置换提高了病毒对人 α -2,6-唾液酸受体的亲和力; 聚合酶亚单位 PB2 中 D701N 的突变增强了病毒对哺乳动物的适应性; 基质蛋白 M2 中 S31N 的突变则与病毒的金刚烷胺抗性有关^[13]. H7N9 病毒常导致人类的重症肺炎和多器官功能障碍, 研究其从家禽到人的跨种传播机制和疾病的发病机理, 监测病毒的进化, 对疾病治疗、疫情控制和大流行应对等均具有重要价值.

1.4 禽流感病毒的毒力

禽流感病毒可能是其他流感病毒的天然来源^[1]. 根据对易感禽的致病性可将禽流感分为高致病性 (high pathogenic avian influenza, HPAI)、低致病性 (low pathogenic avian influenza, LPAI) 和无致病性 3 种. HPAI 和 LPAI 的区别主要在于宿主体内的病毒是全身性感染还是仅仅形成局部组织感染^[3]. HPAI 是由 H5, H7 和 H9 亚型毒株 (以 H5N1 和 H7N7 为代表) 引起的疾病, 被世界动物卫生组织 (Office International Des Epizootics, OIE) 列为法定必须上报的 A 类传染病^[21], 严重威胁世界各地的养禽业, 常常造成巨大的经济损失. 近年来多次发生 HPAI 直接感染人并致人死亡事件, 使该病具有更重要的公共卫生学意义.

HA 的前体 HA0 被宿主细胞蛋白酶裂解为 HA1 和 HA2 是禽流感病毒致病的重要因素, 决定了病毒对宿主细胞表面受体的结合及病毒包膜与宿主细胞膜的融合. 水禽和人类中流行的禽流感病毒亚型分析表明, 不同亚型病毒株的 HA 被宿主裂解的效率具有显著差异, 而且有些亚型病毒 HA 的裂解还具有严格的宿主限制性^[22]. 哺乳动物流感病毒 HA 裂解位点上只有一个碱性氨基酸——精氨酸 (极少数情况下为

赖氨酸), 只能被存在于呼吸道和消化道内的精氨酸特异蛋白酶识别并裂解, 因此, 一般只在呼吸道和消化道内局部繁殖致病. LPAI 的情况与哺乳动物流感病毒相似, 因而也只能在禽体内形成局部感染; 而 HPAI 在 HA 裂解位点具有多个碱性氨基酸, 可被机体大多数组织细胞内的蛋白酶识别并裂解, 具有广泛的嗜细胞性, 所以一旦 HPAI 进入机体就会迅速全身扩散, 导致全身多个组织发病并可能导致死亡^[23]. 因此, HA 碱性氨基酸的多少和宿主体内蛋白裂解酶的分布是决定病毒致病能力及其在机体内扩散能力的主要因素. LPAI 可以通过变异而成为 HPAI, 分布越广泛的 LPAI 发生变异的几率就越高^[3,24]. 今年春季中国新现的 H7N9 病毒属于 LPAI.

但并非所有的 H5 或 H7 亚型病毒都是 HPAI, 说明 HA 的裂解特性不是决定禽流感病毒致病性高低的唯一因素. HA 自身、病毒其他蛋白、HA 或 NA 的抗原变异以及宿主的免疫反应等可能都与流感病毒的致病性高低有关, 流感病毒的毒力强弱由多因素控制^[25-27].

1.5 流感病毒的监测与防控

敏感而特异的实验室检测对掌握禽流感病毒的流行病学规律及控制流感病毒的传播非常重要. 典型的临床症状在 HPAI 的初步诊断上具有一定价值, LPAI 则多为无症状感染^[28]. 实验室诊断的具体方法包括病毒体的分离鉴定、血清学诊断、病毒抗原或病毒核酸检测等^[29].

2013 年 H7N9 禽流感流行时, 按照国家卫生和计划生育委员会提出的各地要早发现、早报告、早诊断、早隔离、早治疗人感染 H7N9 禽流感病例的要求, 中国疾病预防控制中心病毒病研究所国家流感中心设计优化了引物和探针, 以最快速度研发出 H7N9 病毒 real-time PCR 核酸检测试剂, 并向全国各地发放了 21 万人份试剂, 覆盖中国所有流感网络实验室, 使有关实验室具备了人感染 H7N9 禽流感病毒 real-time PCR 核酸检测能力. 此外, 中国国家流感中心还与国内、国际多家单位共享了数十株感染人的 H7N9 禽流感病毒.

预防接种可以大大降低流感对禽和人类的危害. 有效的疫苗能够增强对病毒感染的抵抗力、降低发病率和病死率、减弱病毒在宿主体内的复制, 降低病毒在禽之间以及禽与人或动物之间的传播^[3]. 流感病毒

表面抗原很容易发生变异, 通用或广谱流感疫苗研制正在尝试. 人流感疫苗的应用可降低人流感病毒对人、禽流感疫情的干扰, 也可减少人体内重配产生新病毒亚型的机会^[30]. 治疗流感的药物主要是金刚烷胺类、奥塞米韦和扎那米韦, 新型抗病毒药物正在研发之中.

2 流感基础研究的重点及热点领域

2.1 流感病毒病原学、新亚型病毒起源与进化

对流感病毒病原学、新亚型流感病毒的起源、病毒进化、跨种传播等的认识, 是流感疫情预测及防控的关键基础之一. 流感病毒的侵入与释放主要由 HA 和 NA 介导. HA 负责病毒粘附和膜融合, NA 负责病毒粒子的释放. 流感病毒的宿主限制性与 HA 的受体结合特性密切相关, 而 NA 是抗流感药物的重要靶标, 对于这两个蛋白的研究有助于阐明流感病毒跨种(宿主)传播机制和新药开发. 此外, A 型流感病毒的细胞核穿梭机制、流感病毒蛋白的新功能及新发现蛋白的功能研究、流感病毒 RNA 聚合酶活性与跨种传播、流感病毒与宿主相互作用与致病机制、流感病毒自身及其与宿主的协同进化、流感病毒的自然生态学等都是需要深入研究的关键科学问题.

2.2 流感病毒的监测、检测与流行病学

中国是世界第一家禽养殖大国, 而且有 3 条鸟类迁徙飞行路线经过, 所处的流感生态环境是世界上最复杂的. 目前中国流行的病毒种类、数量及对人类的威胁居全球之冠. 近几十年来, 流感病毒新变种频频感染人类, 国家应已认识到控制流感发生的迫切性及重大需求, 中国各级疾病预防控制中心(Centers for Disease Control and Prevention, CDC)已初步建立一套较完备的监控体系, 相关研究工作也已经取得明显成绩, 但与愈演愈烈的流感威胁相比, 中国在流感防控上的基础研究还有很大差距, 各部门应协调重点资助相关研究. 发生在 2013 年的 H7N9 流感疫情, 也反映了中国复杂的流感生态环境. 尽管目前对 H7N9 新病毒的认识还很有限, 但是该病毒具有的一些病原学特点表明其对人类健康的危害不容小视. H7N9 禽流感病毒的发现再一次证明, 流感病毒的重配和进化十分复杂, 只有通过长期的、不间断的监测和相关基础研究水平的提升, 才有可能达到早期预

警和发现. 此外, 原始临床样本的高通量全基因组测序在病毒监测中的应用、A/B 型流感的分子流行病学研究, 动物源流感病毒流行病学监测及职业接触人群的流感病毒流行病学调查均应得到重点关注. 近期研究还发现, 除在咽拭子中可检测到病毒核酸外, 患者的血清、尿液和粪便中也可以检测到 H7N9 病毒核酸^[31]. 因此, 全面监测体液及分泌物中的病毒具有重要的流行病学意义.

2.3 流感病毒的跨种传播与感染机制

流感病毒的感染及在不同宿主间的传播是流感疫情发生的重要基础. 由于病毒自身变异的几率很高, 加上目前中国养殖业集约化程度不高, 禽畜混养和接触现象普遍存在, 另外飞禽迁徙路径的客观存在等因素, 发生病毒基因重配和跨种传播的可能性非常大. 因此, 流感病毒的变异和进化、流感病毒的跨宿主感染与致病的分子机制、流感病毒逃逸宿主天然免疫机制、动物流感病毒适应人群的机制等都属于该领域基础研究的重要科学问题. 此外, 非生物因素在流感病毒跨种传播中的作用, 包括温度、湿度、气溶胶、无机材料等也是流感研究领域的重要组成部分, 不应忽视.

2.4 流感的治疗、免疫和药物研发

流感的治疗措施是流感临床研究领域的重中之重. 在药物等治疗压力下, 耐药毒株的出现极易导致病毒载量持续升高和重症发生, 因此在临床治疗过程中应对病毒载量和基因序列进行密切监测, 并及时调整治疗方案, 提高救治成功率. 由于病毒变异的原因, 目前临床使用的抗流感药物往往出现耐药性问题, 而且疫苗研发和生产通常严重滞后, 这就要求从更深层次研究流感病毒侵染、复制过程中的分子机制, 探索各类流感病毒中保守的机制, 发现新的抗流感药物研究的靶点, 发展应对各种流感病毒的广谱抑制剂. 流感病毒中高度保守的聚合酶复合体和核蛋白复合体的结构与功能研究, 是目前解决现有药物耐药性、对抗病毒突变的新突破点, 应进行更加深入的研究. 此外, 针对流感大流行的药物准备、流感病毒耐药监测在临床中的应用、流感病毒致病机理解析和药物研发、细胞因子风暴的形成机制探究以及保护性因子的发现等, 都可缓解流感病毒造成的重症现象. 再有, 重症病人尸体检测, 细胞自噬与抗流感药物研发, 中药抗流感病毒的疗效机制、流感病毒耐

药性预测, 可示踪流感病毒株的构建与研究、新动物模型的探索, 抗流感广谱中和抗体的产生与机制研究, 流感病毒血凝素广谱免疫原开发, 流感病毒感染与机体免疫应答、重症流感的过度免疫机制、流感继发细菌感染的免疫学机制、发展血清抗体检测新技术、发展流感病毒抗原性分析新方法、寻找诱导产生功能性中和抗体的宿主相关决定基因、寻找参与流感病毒感染及清除过程的重要分子及其调节基因研究等领域的突破也将为流感的治疗和药物研发提供重要的理论基础。

2.5 流感疫苗与防控策略

流感疫苗是流感防控的重要组成部分, 传统流感疫苗深入研究、通用流感疫苗研究、流感减毒活疫苗研究、流感核酸疫苗研究、流感病毒疫苗株的构建和改造以及整合的流感疫苗推荐策略等, 都可能是疫苗研究的突破口。此外, 流感病毒诱导宿主基因协同表达调控机制研究、流感病毒人群易感性研究, 应用元基因组学技术研究禽流感病毒的来源和演化, 流感病毒特异性 T 细胞免疫检测方法开发、建立基于细胞免疫的国家病毒监测网络、流感病毒 T 细胞免疫原性变迁, 流感病毒快速测序体系的构建、基于病毒序列的抗原变异预测模型、抗原演化趋势预测模型等研究领域的建立也将促进中国的流感防控。

3 服务于“流感防控”, 中国科学家应该关注的重点领域

为了促进中国流感病毒领域基础研究的蓬勃发展, 今后需要在以下几方面加强投入, 统筹管理, 调整布局, 集中攻关, 并在个别领域引领世界前沿。

3.1 加强病毒溯源及病原学的研究

对流感病毒的溯源及传播途径的研究, 将为流感发生的预测及防控提供第一手的理论指导。从近些年新型流感及其他重要传染病发生情况看, 病原体溯源的研究是疾病控制的关键基础之一。利用基因组学和结构生物学的理论及方法, 对病毒基因序列的演化和蛋白等大分子物质结构演变进行跟踪是十分可行和必要的。在病原学方面, 流感病毒重要蛋白(如聚合酶复合体)的结构和功能等的进一步研究和重要调控分子功能的进一步解析, 将对流感

病毒病原学获取新的认识。

3.2 加强致病机理研究

细胞因子风暴等过度免疫反应、流感病毒的免疫保护机制、继发性细菌感染机制、流感病毒跨种传播的分子基础等是致病机理研究的重要内容。上述研究获得的新结果, 将使得对流感病毒致病机制的认识更加深入, 从而为疾病控制提供进一步支撑。

3.3 加强流感疫苗及药物的研发

要继续深入研究传统疫苗, 改进疫苗制备技术与研发新型佐剂。同时, 加快研发二代疫苗, 建立疫苗株制备和评价体系, 实现中国疫苗株自主研发, 并加强流感病毒广谱中和性抗体的研发等。抗病毒药物的研制一直是病毒病治疗上的难题, 抗体药物的研发和生产是有希望在流感大流行中发挥“应急”作用的药物储备。抗病毒中草药的研制也是流感治疗的重要甚至是大有前途的手段。此外, 针对未来可能出现的流感耐药株, 需要进一步研发新型抗流感药物, 力争实现具有中国自主知识产权的新型药物上市。

3.4 加强临床转化医学研究, 强化管理与支撑体系

流感防控基础研究与监测需要多部门、多机构联合协作, 除了应加强各研究和医疗单位的密切合作外, 应进一步加强国家和地区 CDC 的重要作用, 协调卫生与农林等部门的联合监测活动, 体现“一个健康、一个医学”概念的大命题。认真考虑国家相关部门面临的疾病负担(burden of diseases, BOD)问题, 为流感重症患者提供可靠的生命保障。开展“疾病负担”的定量评估研究。同时要加强对流感病毒相关研究的实验室管理, 严格生物安全措施。此外还需认真做好战略储备, 如抗流感药物、中和性抗体和疫苗, 沉着应对可能发生的大流感。

4 结语

近些年来, 中国在流感的相关基础研究上进展良好, 在诸多方向上形成了自己的研究特色并处于国际研究前沿, 多年来基础研究积累取得的成就在 2013 年应对 H7N9 禽流感流行中发挥了重要作用, 凸显基础研究在国家战略发展上的支撑作用。国家相

关科研资助机构应继续加强对流感研究的支持力度, 使“流感发生、发展、流行及防控”相关领域的研究再上台阶, 为不断来袭的流感疫情提供更加有力的理论支撑。

参考文献

- 1 Cox N J, Tamblin S E, Tam T. Influenza pandemic planning. *Vaccine*, 2003, 21: 1801–1803
- 2 Hehme N, Engelmann H, Künzel W, et al. Pandemic preparedness: lessons learnt from H2N2 and H9N2 candidate vaccines. *Med Microbiol Immunol*, 2002, 191: 203–208
- 3 El Zowalaty M E, Bustin S A, Husseiny M I, et al. Avian influenza: virology, diagnosis and surveillance. *Future Microbiol*, 2013, 8: 1209–1227
- 4 Garten R J, Davis C T, Russell C A, et al. Antigenic and genetic characteristics of swine-origin 2009 A (H1N1) influenza viruses circulating in humans. *Science*, 2009, 325: 197–201
- 5 Gao R, Cao B, Hu Y, et al. Human infection with a novel avian-origin influenza A (H7N9) virus. *N Engl J Med*, 2013, 368: 1888–1897
- 6 Yu H, Cowling B J, Feng L, et al. Human infection with avian influenza A H7N9 virus: an assessment of clinical severity. *Lancet*, 2013, 382: 138–145
- 7 Gao H N, Lu H Z, Cao B, et al. Clinical findings in 111 cases of influenza A (H7N9) virus infection. *N Engl J Med*, 2013, 368: 2277–2285
- 8 Taubenberger J K, Reid A H, Fanning T G. The 1918 influenza virus: a killer comes into view. *Virology*, 2000, 274: 241–245
- 9 Taubenberger J K, Reid A H, Krafft A E, et al. Initial genetic characterization of the 1918 “Spanish” influenza virus. *Science*, 1997, 275: 1793–1796
- 10 Mounts A W, Kwong H, Izurieta H S, et al. Case-control study of risk factors for avian influenza A (H5N1) disease, Hong Kong, 1997. *J Infect Dis*, 1999, 180: 505–508
- 11 Lupiani B, Reddy S M. The history of avian influenza. *Comp Immunol Microbiol Infect Dis*, 2009, 32: 311–323
- 12 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, 381: 1926–1932
- 13 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. *Lancet*, 2013, 381: 1916–1925
- 14 Li Q, Zhou L, Zhou M, et al. Preliminary report: epidemiology of the avian influenza A (H7N9) outbreak in China. *N Engl J Med*, 2013 Apr 24. [Epub ahead of print]
- 15 Zhou J, Wang D, Gao R, et al. Biological features of novel avian influenza A (H7N9) virus. *Nature*, 2013, 499: 500–503
- 16 Zhang Q, Shi J, Deng G, et al. H7N9 influenza viruses are transmissible in ferrets by respiratory droplet. *Science*, 2013, 341: 410–414
- 17 Bao C J, Cui L B, Zhou M H, et al. Live-animal markets and influenza A (H7N9) virus infection. *New Engl J Med*, 2013, 368: 2337–2339
- 18 Xu J, Lu S, Wang H, et al. Reducing exposure to avian influenza H7N9. *Lancet*, 2013, 381: 1815–1816
- 19 Cowling B J, Jin L, Lau E H, et al. Comparative epidemiology of human infections with avian influenza A H7N9 and H5N1 viruses in China: a population-based study of laboratory-confirmed cases. *Lancet*, 2013, 382: 129–137
- 20 Zhang W, Shi Y, Lu X, et al. An airborne transmissible avian influenza H5 hemagglutinin seen at the atomic level. *Science*, 2013, 340: 1463–1467
- 21 韦平, 秦爱建. 重要动物病毒分子生物学. 北京: 科学出版社, 2008. 3–27
- 22 Galloway S E, Reed M L, Russell C J, et al. Influenza HA subtypes demonstrate divergent phenotypes for cleavage activation and pH of fusion: implications for host range and adaptation. *PLoS Pathog*, 2013, 9: e1003151
- 23 Senne D A, Panigrahy B, Kawaoka Y et al. Survey of the hemagglutinin (HA) cleavage site sequence of H5 and H7 avian influenza viruses: amino acid sequence at the HA cleavage site as a marker of pathogenicity potential. *Avian Dis*, 1996, 40: 425–437
- 24 Alexander D J. An overview of the epidemiology of avian influenza. *Vaccine*, 2007, 25: 5637–5644
- 25 Gohrbandt S, Veits J, Hundt J, et al. Amino acids adjacent to the haemagglutinin cleavage site are relevant for virulence of avian influenza viruses of subtype H5. *J Gen Virol*, 2011, 92: 51–59
- 26 Seo S H, Hoffmann E, Webster R G. Lethal H5N1 influenza viruses escape host anti-viral cytokine responses. *Nat Med*, 2002, 8: 950–954
- 27 Fauci A S. Emerging and re-emerging infectious diseases: influenza as a prototype of the host–pathogen balancing act. *Cell*, 2006, 124: 665–670
- 28 Swayne D E, Suarez D L. Highly pathogenic avian influenza. *Rev Sci Tech*, 2000, 19: 463–482
- 29 Suarez D L, Das A, Ellis E. Review of rapid molecular diagnostic tools for avian influenza virus. *Avian Dis*, 2007, 51: 201–208
- 30 刘建伟, 唐博恒, 刘金华. 人流感与禽流感. *现代医院*, 2013, 13: 10–12
- 31 Hu Y, Lu S, Song Z, et al. Association between adverse clinical outcome in human disease caused by novel influenza A H7N9 virus and sustained viral shedding and emergence of antiviral resistance. *Lancet*, 2013, 381: 2273–2279