

文章编号: 1004-0374(2005)01-0064-05

## 高致病性禽流感防控难点的分析

宋岩, 史达, 李一经\*

(东北农业大学动医学院微生物学实验室, 哈尔滨 150030)

**摘要:** 禽流感(avian influenza, AI)是由禽流感病毒引起的一种严重危害畜牧业的急性传染病, 特别是高致病性禽流感引起禽类的呼吸系统感染以及全身性败血症, 死亡率极高。多年来, 许多国家和地区都爆发过此病, 造成巨大经济损失, 而2004年亚洲爆发的H5N1亚型禽流感造成经济损失的同时还出现了众多的禽流感病毒直接感染人类、造成人员死亡病例, 再一次把人类的目光转移向此病。AI抗原类型众多, 变异频繁, 不同的类型抗原之间无交叉反应, 同时, 病毒具有复杂的感染和复制机制以及复杂的传播网络等多种因素单独和/协同作用, 导致高致病性禽流感防控困难。

**关键词:** 高致病性禽流感; 禽流感病毒; 防控难点

**中图分类号:** S852.65 **文献标识码:** A

## Analysis of difficulty in the precaution and control of highly pathogenic avian influenza

SONG Yan, SHI Da, LI Yi-jing\*

(Microbiological Laboratory, Veterinary Medicine College, Northeast Agricultural University, Haerbin 150030, China)

**Abstract:** Avian influenza(AI) is an acute infectious disease caused by avian influenza virus and threatens husbandry severely. The highly pathogenic AI violates the avian respiratory system even causes septicaemia of whole body and is closely related with a high animal mortality. AI attacks have economic impacts throughout many nations and regions of the world. The outbreak of a subtype AI virus, H5N1 infection occurred in 2004 has been historically unprecedented in economic disruption for the agricultural sector and the appearance of several highly pathogenic subtypes viruses is invariably associated with high human morbidity and mortality. Therefore, avian influenza is becoming a focus of the global consideration. Many types of antigens, apace variation, devoid of cross-reaction between these types, the complicated mechanism of infectious replication and transmission and so on and their individual or synergic functions result in difficulty in the precaution and control of highly pathogenic avian influenza.

**Key words:** highly pathogenic avian influenza; AIV; difficulty in precaution

禽流行性感冒, 简称禽流感(avian influenza, AI)是由A型流感病毒引起的禽类(包括家禽和野禽)的感染和/或疾病综合征。1878年, Perroncito 首次报

道在意大利鸡群爆发的一种严重疾病, 感染后的禽类表现出呼吸系统感染以及全身性败血症、亚临床症状、无症状带毒状态及隐性感染等多种感染状

收稿日期: 2004-04-05; 修回日期: 2004-06-02

作者简介: 宋岩(1976—), 男, 主治医师, 博士研究生; 史达(1980—), 女, 硕士研究生; 李一经(1960—), 男, 教授, 博士生导师, \* 通讯作者。

态。禽流感的高致病力毒株对家禽特别是对鸡有高度致病性,被称为高致病性禽流感(highly pathogenic avian influenza,HPAI),是我国《家畜家禽防疫条例》和国际兽医局动物流行病组织(IOE)规定的A类动物疫病<sup>[1]</sup>。

A型禽流感病毒(avian influenza virus,AIV),属于正粘病毒科(Orthomyxoviridae)甲型流感病毒属(*Influenzavirus A*),在1901年AIV即分离成功,但是直到1955年才明确该病毒同人和其他哺乳动物流感病毒的关系;1970年后,人们注意到在水禽中广泛存在的禽流感病毒是流感病毒的“基因库”,对养禽业构成潜在的威胁。目前禽流感遍及世界各地,分离出的禽流感病毒达上千株。禽流感的爆发造成的损失是巨大的,为扑灭1983年爆发的禽流感,美国(H5N2)耗资达6 000万美元;1997年,香港爆发的H5N1亚型禽流感感染人致死的事件,引起了全世界的关注<sup>[2]</sup>;而2004年,亚洲地区又一次广泛爆发的H5N1亚型禽流感给该地区的养禽业造成了难以估量的损失,并且造成多次直接或间接接触活禽的人类死亡。作为一个已发现多年研究深入的疾病引起如此大的社会负面影响,可见其防控是有一定难度的。

### 1 AIV 抗原种类较多是防控的首要难点

AIV的基因组由8条单负链RNA组成,每一条RNA都以不同的核糖核酸-蛋白复合体形式存在,在丙烯酰胺-琼脂糖-尿素凝胶上电泳可得8个分子量不同的片段<sup>[3]</sup>。AIV基因共编码10种蛋白抗原(PA、PB1、PB2、HA、NA、NP、M1、M2、NS1、NS2),其中NS1与NS2为非结构蛋白,其余均为结构蛋白。结构蛋白又有糖基化和非糖基化之别,糖基化的结构蛋白包括HA和NA;其他均为非糖基化结构蛋白。根据流感病毒的血凝素(HA)和神经氨酸酶(NA)的抗原性差异,可将A型流感病毒分为不同的亚型。迄今为止,A型禽流感病毒的HA已发现16种,NA有10种,分别以H1~H15、N1~N10命名。病毒抗原的多样性,不仅有多亚型,而且每一亚型间还有一定的抗原性变异,各亚型之间缺乏坚强的交叉保护。不同的H抗原或N抗原之间无交叉反应,一般在同种/同一亚型病毒免疫的鸡,能获得免疫保护,血凝素相同病毒间可交叉免疫保护,而神经氨酸酶相同的病毒,只有部分保护。多种抗原类型给机体的免疫带来困难,也是禽流感防控的难点所在。与防控最相关的三种抗原详述如下:

**1.1 HA 抗原** HA由流感病毒RNA片段4编码,是典型四结构域的I型糖蛋白。HA前体(HA<sub>0</sub>)在感染细胞的粗面内质网中合成,在达到原生质膜的途中发生剪切和位点糖基化,产生多肽HA1和HA2亚单位,这种加工过程是决定病毒有无感染性的首要条件。非致病性病毒HA的裂解位点含有1~2个碱性氨基酸,其序列为R-X-X-R/K(X为其他非碱性氨基酸残基),而致病性HA蛋白的裂解点至少由4个碱性氨基酸组成,其序列为R-E-R-R-R-K-K-R。HA1具有与宿主细胞受体结合的特性,HA2是参与和细胞膜融合的重要亚单位。利用抗HA抗体,可以分析并观察HA的结构及其与受体的结合<sup>[4]</sup>。甲型流感病毒香港/1968株(H3)HA由两个独特结构区域构成:一个柄状区域,包含有3股 $\alpha$ -螺旋的线圈,从膜延伸出76pm;一个球状区域,由不平行的 $\beta$ 片段构成,含有受体结合部位和位于顶端的可变抗原决定簇。每个HA分子形成一个环,由HA1的N端在膜上开始向外延伸13.5 pm,再折叠回来,由HA2的C端插入膜内,多数糖链位于球形体下面的基部,使茎部外侧面有亲水性,病毒HA的变异区存在于大球体上,并聚集成五个区。利用X线衍射分析得知,HA以三聚体形式存在于双层类脂膜上,顶端的膨大球形体是病毒与细胞受体结合的部位,决定宿主范围,导致HA类型不同的病毒侵袭不同的宿主,是从分子病毒学领域防控禽流感中指导防控宿主类型的重要指标之一。

**1.2 NA 抗原** NA由流感病毒RNA片段6编码,是四聚体结构,它们通过二硫键相连,用X线衍射分析,NA多肽键折叠形成6个结构相同的、四股反向平行的螺旋桨叶片状 $\beta$ -折叠片结构。连接折叠片的环状结构的长度不等,其氨基酸序列的差异提示酶活性和抗原性的改变。NA可以水解糖末端的唾液酸残基,而哺乳动物的上呼吸道细胞浸在富含唾液酸的粘膜分泌物中成为流感病毒的靶细胞,是决定感染细胞的重要因素。用单克隆抗体选择的突变株显示<sup>[5-6]</sup>,突变位点多在221、344和368残基,因此很可能这些区域是AIV重要的抗原决定簇区。这些位点的变化会导致病毒毒力的变异,而宿主往往对变异类型的病毒没有抵抗力,从而导致AIV在世界范围内多次流行暴发。此外,NA还能清除HA上的唾液酸,破坏宿主细胞的HA受体,有利于子代病毒颗粒脱离感染细胞获得释放,是影响禽流感传播速度的重要因素。

**1.3 NP 抗原** NP是型特异抗原,是螺旋形核衣壳

的主轴, 与 RNA 片段及各种多聚酶相连, 在感染的细胞或病毒体中以磷酸化和非磷酸化形式存在。应用单克隆抗体分析, NP 亦可发生变异。NP 至少有 3 个互相重叠的抗原区, 其中一个区在各株流感病毒间均存在。针对这一区的单克隆抗体可抑制病毒 RNA 的转录, 说明此区 NP 与病毒转录有关, 进一步研究表明其防止 RNA 合成中断的作用, 有利于 RNA 链的延伸, 是病毒复制增殖的主要促进蛋白。NP 也是 CTL 的识别靶位, 另外 2 个互相重叠的抗原区, 是主要决定宿主范围的因素, NP 抗原类型的不同导致病毒侵袭不同种类的动物。HA 和 NP 在感染宿主时, 有相互协同作用, 也是防控禽流感中又一重要因素。

## 2 AIV 毒力变异广泛发生是防控的最主要难点

由于流感病毒的基因组是由 8 个单链的 RNA 片段组成, 当两个或两个以上不同的病毒粒子同时感染一个宿主细胞时, 在病毒增殖过程中不同毒株的 8 个基因片段可随机重组。据知, A 型流感病毒的 HA 有 16 种, NA 有 10 种。如果 HA 和 NA 基因随意重组, 则可产生 160 种不同亚型的流感病毒。如果两个不同毒株的流感病毒同时感染同一个动物细胞时, 通过基因片段的重排可能装配成 256 种遗传学不同的子代病毒。在病毒增殖过程中很容易发生基因重组, 使流感病毒的抗原性和致病性发生变异。抗原性变异是 A 型流感病毒常见的一种自然变异, 频发的变异使机体的防御变得困难<sup>[7]</sup>。

AIV 众多的血清亚型是其遗传变异频繁的有力证据, 其机理涉及分子水平的抗原漂移和抗原转变。抗原漂移是指由于基因组自发的点突变引起小幅度的变异, 导致氨基酸的改变积累到一定程度或突变氨基酸正好使抗原决定簇改变, 引起抗原性的变异。抗原转变是指由于较大幅度的变异导致新的亚型出现。这种变异一方面是因为 RNA 聚合酶缺乏校正功能, 病毒基因组复制时容易出现差错; 另一方面则是由于 AIV 的基因组是分节段的, 当不同的毒株同时感染同一细胞时, 其核酸片段就有可能发生同源交换导致抗原性的改变。

AIV 基因组中突变率最高的为 HA 基因, 其次是 NA 基因。发生在 HA 受体结合位点上的突变有可能改变病毒的宿主特异性, 而 HA 上糖基化位点的突变则有可能导致病毒毒力发生根本性的变化。AIV 的致病力是各基因产物共同作用的结果, 但 HA 在其中却起着最为重要的作用, HA 能否被裂解为 HA1 和 HA2 是 AIV 感染细胞的先决条件。对 H5 和

H7 高致病力毒株的核苷酸序列和氨基酸序列分析表明<sup>[8~10]</sup>, 高致病力毒株的 HA 在其裂解位点附近均有多个碱性氨基酸, 而低致病力毒株的 HA 在这个裂解位点上只有一个精氨酸。1983 年, 美国宾夕法尼亚州暴发致病性禽流感之前, 该地鸡群中曾发生低致病性 H5N2 的流行。对这两株不同致病力 AIV 核苷酸和氨基酸的序列进行比较分析发现, 两者在裂解位点附近均有相同序列的多个碱性氨基酸, 不同点仅在于高致病力毒株的一个糖基化位点发生突变, 失去一个寡糖链。在 HA 的空间结构中, 这个寡糖链应位于 HA1 和 HA2 裂解位点附近, 它的存在可能阻止蛋白酶的裂解作用。1993 年, Wood 等对 9 株 H5 亚型的 AIV(其中 5 株高致病力, 4 株低致病力)和 21 株 H7 亚型(其中 13 株高致病力, 8 株低致病力)的 HA 裂解位点进行了核苷酸和氨基酸序列分析, 所测序列包括 HA2 的 N 末端 3 个氨基酸和裂解位点上游的 6~10 个氨基酸, 结果表明: (1)H5 的低致病力株在裂解位点的氨基酸序列均相同, 只是有的毒株有 1~2 个核苷酸不同。(2)H5 亚型的高致病力株有多个碱性氨基酸“插入物”, 其位置在低致病力株的第 1 和 4 位, 且都是碱性氨基酸。例外的是, 高致病力株 A/chicken/Scotland/59(H5N1)没有“插入物”, 但其 2 和 3 位有两个碱性氨基酸 -K-K 代替了低致病力株的 ET; 高致病力 A/Turkey/England/50-92/91(H5N1)则在 2 位没有发现碱性氨基酸, 而是一个苏氨酸 T, 所以其裂解位点氨基酸为 -R-K-T-R。(3)所有被测 H7 亚型低致病力株, 在被测区域均有 10 个高度保守的氨基酸序列 PEIPKGRGLF。1963 年以后分离到的 H7 亚型高致病力株也有 10 个氨基酸的保守区, 并且它们均有碱性氨基酸插入序列。Vey 等在 1992 年研究了野生型 H7 亚型的各种毒株和经定点诱变的一些突变株的裂解位点氨基酸序列, 结果发现蛋白酶可识别的最短氨基酸序列是 -R-X-K/-R-R(X 是任意氨基酸)且这四个氨基酸必须出现在裂解位点的正确位置上, Wood 等的研究结果与此基本相符合。Wood 和 Vey 等的研究表明, 如果 -R-X-K/-R-R- 序列和高致病力毒株 A/Turkey/England/50-92/91(H5N1)的 -R-K-T-R 序列均可被多种蛋白酶识别, 那么所有 H5 亚型的低致病力株只要发生一个点突变, 即编码第 2 位苏氨酸的密码子 ACA 突变为编码精氨酸的密码子 AGA, 就会由低致病力株变为高致病力株; 或者一旦 H5 亚型的低致病力株在编码第 3 位谷氨酸的密码子 GAA 点突变为编码赖氨酸的密码子 AAA, 就会由低致病力株变为

高致病力株,所以这些低致病力毒株被认为具有高致病突变潜力的毒株。密切关注广泛发生的禽流感病毒变异是防控高致病性禽流感爆发的关键环节。

### 3 复杂的感染和复制机制是防控的又一难点

**3.1 病毒的吸附和穿入在无防控中发生** 病毒与细胞膜的特异性受体相互作用是病毒感染的第一步,也是防控的最佳阶段,但感染发生与否的不确定性干扰早期防控。流感病毒的受体结合部位位于HA头部顶端,细胞受体是位于细胞膜糖蛋白或糖脂链末端的唾液酸。吸附的第一阶段是病毒体与细胞接触,进行静电结合,与 $\text{Na}^+$ 、 $\text{Mg}^{2+}$ 和 $\text{Ca}^{2+}$ 等阳离子的浓度有关,这种结合是非特异的、可逆的。第二阶段的吸附是主要的,病毒体表面位点与宿主细胞膜上相应受体结合。该过程需要特定的温度,这一阶段决定病毒感染的开始,是特异的、不可逆的。同亚型内HA上潜在的糖基化位点会影响AIV结合的宿主细胞类型以及结合水平,一株香港来源的毒株就是由于受体结合位点附近的aa156的糖基化而具有较强毒性,使火鸡致病,却不感染鸭<sup>[11]</sup>。说明宿主的受体差异与禽流感的暴发有直接的关系,发生一种动物的流感病时要考虑到密切接触的其他动物是否发病,是有效防控禽流感暴发的重要手段。吸附后,病毒附着处的细胞膜内陷包裹病毒颗粒,经内吞作用将病毒吞入细胞浆形成胞内体。胞内体与酸性溶菌体融合,病毒膜上M2蛋白发挥离子通道作用使胞内体pH下降至5.0~6.0时,HA结构发生变化,HA2氨基端游离并插入吞噬泡膜的脂质双层,促使病毒囊膜与吞噬膜融合并破裂,最后病毒核衣壳释放入细胞浆。吸附和穿入是疾病前驱期甚至更早期发生的,没有或是没有明显的临床症状,往往错失早期防控的最佳阶段。

### 3.2 宿主细胞RNA多聚酶影响病情进展及防控

流感病毒mRNA合成的最显著特征是以宿主细胞RNA多聚酶II转录的RNA片段5'末端帽状结构(带有 $\text{m}^7\text{GpppNm}$ )为引物,mRNA延伸终止于病毒RNA(vRNA)5'末端5~7个连续尿嘧啶核苷酸处,并加上多聚腺嘌呤核苷酸polyA<sup>[12]</sup>。病毒mRNA的合成由病毒聚合酶复合体催化,此复合体有核衣壳蛋白NP和三种P蛋白(PB1、PB2和PA组成流感病毒RNA聚合酶)组成。P蛋白负责病毒mRNA的合成,紫外线诱导交联试验表明,三种P蛋白以复合物的形式从vRNA模板3'末端启动病毒mRNA的合成,并随转录中mRNA的延长而移动。PB1蛋白加到引物的第一个残基G上,作为P蛋白复合物的一部分移

到延长中的病毒mRNA链的3'末端,催化核酸链的延长。复合物中的PB2蛋白作用于病毒mRNA转录的起始阶段,识别并结合到引物RNA的帽状结构5'末端;同时还有限制性内切酶活性,参与切割宿主mRNA的帽状结构。在核内由帽状结构依赖的核酸内切酶切下细胞RNA 5'末端帽状结构的10~13个核苷酸,最适合的切割位点在嘌呤的3'端,特别是腺嘌呤核苷的3'端。切下的序列带有帽状结构,可直接作为引物。一般的核酸酶切割后产生带有磷酸的3'末端,而流感病毒的核酸内切酶切割后可产生3'-OH,切下的寡核苷酸不需要去磷酸化即可直接作为引物。病毒mRNA合成的起始不需要帽子引物片段和vRNA模板3'末端间形成氢键,但需要5'末端甲基化的帽状结构,要求细胞RNA多聚酶持续发挥转录作用。但是不同动物或不同细胞的生长状况各异,持续提供RNA多聚酶与否是病情进展的重要因素,同时也成为影响防控的要点。

流感病毒的复制是从合成病毒mRNA转向合成模板RNA(cRNA)。这一过程需要NP蛋白的参与,NP基因缺失突变株不能合成特异性的模板RNA<sup>[13]</sup>。NP1与核衣壳相连,NP2游离于核衣壳中,NP2对防止模板RNA的合成终止是必需的。NP连接到新生模板RNA 5'末端是核衣壳组装的起始位点,链延伸到mRNA合成的终止位点后由于NP分子的增加使其能够通读。有研究表明<sup>[14]</sup>,mRNA合成的终止是聚合酶连续拷贝模板中的某种核苷酸或是反复复制vRNA 5'末端前17~22个尿嘧啶核苷酸的结果。vRNA的复制有RNA多聚酶复合体指导,分两步进行:第一步是以vRNA为模板合成互补全长cRNA;第二步以cRNA为模板合成子代负链RNA,即为vRNA。新合成的病毒RNA在核内与NP形成复合体,作为转录病毒mRNA的模板。流感病毒感染过程中病毒的复制及其基因的表达分两个阶段<sup>[15]</sup>:特异性mRNA和vRNA以及病毒蛋白的合成相辅相成进行,mRNA初级转录后便合成模板RNA;模板RNA的合成很快达到高峰而后急剧下降,模板RNA被选择性转录成vRNA。病毒蛋白的合成是通过病毒的基因产物来调节的,这些产物抑制转录起始因子eIF-2 $\alpha$ -亚单位蛋白激酶(p68)的磷酸化。AIV基因组的转录和复制机制复杂,影响因素不仅来自病毒本身还与宿主细胞状况密切相关,使防控相应变得复杂

## 4 流感病毒传播复杂难以防控

### 4.1 多种传染源和多种传播途径 家禽流感的传染

来源较多,可以来自感染或发病的家禽,也可来自外来野生鸟类、迁徙的水禽和其他动物。2004年,日本动物卫生所经核酸序列比较分析确认,日本发生的高致病性禽流感的病毒类型与2003年曾在韩国等地发生的禽流感病毒类型一致,可能是候鸟把病毒从韩国传到了日本<sup>[8]</sup>。病毒通过禽类的分泌物、排泄物和尸体等污染饲料、饮水及其他物体,通过直接接触和间接接触发生感染,呼吸道和消化道是主要的感染途径。同时,禽流感存在多种感染状态,除显性感染外,更多表现为隐性感染和无症状带菌。现在已从许多国家和地区的病禽和外观健康的家禽、野禽及野生水禽体内分离到多种A型流感病毒。绝大多数禽流感病毒呈现隐性感染,不表现出任何临床症状。有时感染后,病毒未被完全消灭,而在病禽体内存留,并不断向外排放,但该禽却不表现任何临床症状,成为重要的传染源。多种传染源和多种传播途径,为病毒的防控带来很大的困难。

**4.2 易感动物多和易发生种间传播** 几乎全部的家禽和野禽、鸟类都对禽流感病毒敏感。同时,流感病毒可以在禽类、猪和人等多种动物间传播。传统研究结果表明,由于感染受到受体结合位点的限制,源于禽类的甲型流感病毒一般不传染给人,而猪细胞中既有禽流感病毒结合位点SA $\alpha$ 2,3-Gal,又有人流感病毒结合位点SA $\alpha$ 2,6-Gal,病毒在猪体内进行基因重配,传统的猪流感病毒主要是H1N1亚型,其抗原性与禽源和人源的H1N1病毒类似。1980年,欧洲爆发的猪流感,病毒的抗原性和遗传学特性与传统猪流感病毒(H1N1)有明显区别,更类似于从鸭体内分出的H1N1亚型的病毒,说明近年来鸭流感病毒已经传染给猪,而且出现了严重症状。另外,从貂中分离出的流感病毒被证明来自禽源的H10N4,从鲸中分离出的H13N9来自欧鸟。但是,近来的研究表明,禽流感的H5N1型的一些毒株不经过猪体的混合重配便能直接感染人类,有报道表明H9N2亚型同样能由禽类直接传染给人<sup>[2]</sup>。甲型/广州/99(H9N2)毒株的基因组属于禽流感病毒,但它明显不同于甲型/Duck/香港/97(H9N2)毒株。同时该毒株不含有任何人流感病毒基因片段,其基因组中有4个基因片段(分别编码HA、NA、NP和NS蛋白)来自G9毒株基因系,而其余4个基因片段(分别编码PB2、PB1、PA和M蛋白)来自G1毒株基因系。来自禽的两株病毒是通过基因重配而来的重配株<sup>[16]</sup>。可见,流感病毒在一种动物体内发生繁

殖后又转到另一种动物中去,继而又可发生变异,形成错综复杂的种间传播,增加了该疾病的防控难度。

人体对于新的流感病毒几乎没有任何免疫力<sup>[12]</sup>。世界卫生组织官员认为禽流感可能比非典更具威胁,禽流感一旦变异后可能会成为普通人类流感病毒。一旦禽流感变异为普通人类流感传播开来,其蔓延速度将大大超过非典。可见,高致病性禽流感病毒的威胁必然让我们重视这种疾病的防控工作。

### [参 考 文 献]

- [1] 卡尔尼克 B W. 禽病学[M]. 第九版.北京:北京农业大学出版社,1991.455~465
- [2] 陆承平. 兽医微生物学[M]. 第三版.北京:中国农业出版社,2001.442~444,533~539
- [3] Fields. Orthomyxoviruses fields virology[M]. Philadelphia: Philadelphia Lippincott-Raven Publishers, 1996. 1397~2445
- [4] Shaw M. New aspects of influenza viruses. *Clin Microbiol Rev*, 1992, 5(1): 74~92
- [5] Auer H B. Morden trends in virology[M]. Heidelberg: Springer-Verlag, 1988. 29~32
- [6] McSharry J J, McDonough A C, Olson B A, et al. Phenotypic drug susceptibility assay for influenza virus neuraminidase inhibitors. *Clin Diagn Lab Immunol*, 2004, 11: 21~28.
- [7] Kilbourne E D. Influenza[M]. New York: Plenum, 1987. 33~39
- [8] [http://www.southcn.com/news/international/gjkd/\[DB/OL\].2004-01-13](http://www.southcn.com/news/international/gjkd/[DB/OL].2004-01-13)
- [9] Subbarao K, Klimov A, Katz J, et al. Characterization of an avian influenza A (H5N1) virus isolated from a child with a fatal respiratory illness. *Science*, 1998, 279: 393~396
- [10] Nobusawa E, Aoyama T, Kato H. Comparison of complete amino acid sequences and receptor-binding properties among 13 serotypes of hemagglutinins of influenza A virus. *Virology*, 1991, 182:475~485
- [11] <http://www.cna.tv/stories/other/view/> [DB/OL].2004-01-21
- [12] Chen Z, Kadowaki S, Hagiwara Y, et al. Cross-protection against a lethal influenza virus infection by DNA vaccine to neuraminidase. *Vaccine*, 2000, 18: 3214~3222
- [13] Takada A, Kuboki N, Okazaki K, et al. A virulent avian Influenza virus as a vaccine strain against a potential human pandemic. *J Virol*, 1999, 73: 8303~8307
- [14] Markovic I, Leikina E, Zhukovsky M, et al. Synchronized activation and refolding of influenza hemagglutinin in multimeric fusion machines. *Edll Biol*, 2001, 155: 833~844
- [15] Han X, Bushweller J H, Cafiso D S, et al. Membrane structure and fusion-triggering conformational change of the fusion domain from influenza hemagglutinin. *Nat Struct Biol*, 2001, 8: 715~720
- [16] 郭元吉, 谢健屏, 吴昆昱, 等. 流感病毒 A/广州/333/99 (H9N2)毒株基因组特性的研究. 中华实验和临床病毒学杂志, 2002, 16: 142~145