G4 EA H1N1 ：新型組み換えウィルスをブタから発見！ヒト間パンデミックの基本的全特徴を具備 ｜ 科学的発見 ： PNAS

新浪看点 k.sina.com.cn 2020-06-30 20:00 来源： 新浪网

感染者 **1000** 万人超、死者 **50** 万人超という新型コロナウィルスは歩調を緩める兆しを示してはいない。

新型コロナウィルスのために **2020** 年以後の世界は不安を与える不透明感に満ちている。

本日、中国疾病管理センター（以下『**CDC**』）の高福主任と中国農業大学予防獣医学系の劉金華主任が率いる研究チームが著名誌『米国科学アカデミー紀要（**PNAS**）』誌上で発表した論文が、我々の不安を数ポイント上昇させた。

この研究により、ブタの中で **2016 年以降主要な地位を占めている組み換えインフルエンザウィルス G4 EA H1N1 が、既にヒト間でパンデミックを起こす基本的特徴を有していることが明らかになった**[1]。 例えば、**ヒトの呼吸器系細胞への感染や飛沫による拡散、ヒトインフルエンザワクチン株との交差反応性が低い場合がある**。さらに心配なのは、**血清学的調査で、G4 EA H1N1 ウィルスがヒト集団中の感染率が増加を示している**ことだ。

これに基づき、研究者たちはブタの間での **G4 EA H1N1** ウィルス蔓延を迅速に制御し、ブリーダの情況を注意深く監視する必要があると建議している。

Prevalent Eurasian avian-like H1N1 swine influenza virus with 2009 pandemic viral genes facilitating human infection

Honglei Sun[a,1], Yihong Xiao[b,1], Jiyu Liu[a,1], Dayan Wang[c,d], Fangtao Li[a], Chenxi Wang[a], Chong Li[a], Junda Zhu[a], Jingwei Song[a], Haoran Sun[a], Zhimin Jiang[a], Litao Liu[a], Xin Zhang[a], Kai Wei[b], Dongjun Hou[a], Juan Pu[a], Yipeng Sun[a], Qi Tong[a], Yuhai Bi[e], Kin-Chow Chang[f], Sidang Liu[b], George F. Gao[c,d,e,2], and Jinhua Liu[a,2]

[a]Key Laboratory of Animal Epidemiology and Zoonosis, Ministry of Agriculture, College of Veterinary Medicine, China Agricultural University, 100193 Beijing, China; [b]Department of Fundamental Veterinary Medicine, College of Animal Science and Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, 271000 Tai'an, China; [c]Chinese National Influenza Center, National Institute for Viral Disease Control and Prevention, Chinese Center for Disease Control and Prevention, 102206 Beijing, China; [d]World Health Organization Collaborating Center for Reference and Research on Influenza, 102206 Beijing, China; [e]Key Laboratory of Pathogenic Microbiology and Immunology, Institute of Microbiology, Center for Influenza Research and Early-Warning, Chinese Academy of Sciences, 100101 Beijing, China; and [f]School of Veterinary Medicine and Science, University of Nottingham, Loughborough LE12 5RD, United Kingdom

Fig. 1： 論文の第一頁のスクリーンショット

A 型インフルエンザウィルス（**IAV**）は、ヒトや多種の哺乳類、家禽に感染しうる世界的なウィルスだ。

組み換えインフルエンザウィルスは、新たな抗原と生物学的特性を備えた新型のウィルスを生成する主な理由となる。 この種の組み換えは、壊滅的なヒト間のパンデミックを引き起こすことがある。

豚インフルエンザウィルスや鳥インフルエンザウィルス、ヒトインフルエンザウィルスはブタに感染することがあるため、**ブタはパンデミックを引き起こす可能性のあるウィルスを生み出す「るつぼ」と見なされることが多い**[2]。 これら三種類のウィルスが同時にブタに感染すると、簡単に遺伝子を交換して新型のウィルスに組み換えられる。**2009** 年の **H1N1** 型インフルエンザ（**pdm/09**）がこの好例だ[3, 4] 。

これにより、豚インフルエンザウィルス（**SIVs**）を継続的にモニタリングすることは、ヒト間のパンデミックを防ぐために不可欠なものである。

Fig. 2： 仔ブタの鼻咽頭スワブ検査（出典：

Eurasian avian-like 系統の **H1N1** 豚インフルエンザウィルス（**EA H1N1**）は **2001** 年に発見され、その後、中国においてブタ中で流行している主流ウィルスとなった。 **2009 年に、ヒト間で大流行した pdm/09 H1N1 は世界各地のブタに広がった**[5]。 散発的な後継者も出現している[6, 7]。

だが、現時点の科学界には、この種組み換えウィルスの流行情況や生物学的特性、及びヒト間の感染力についての理解が不足している。

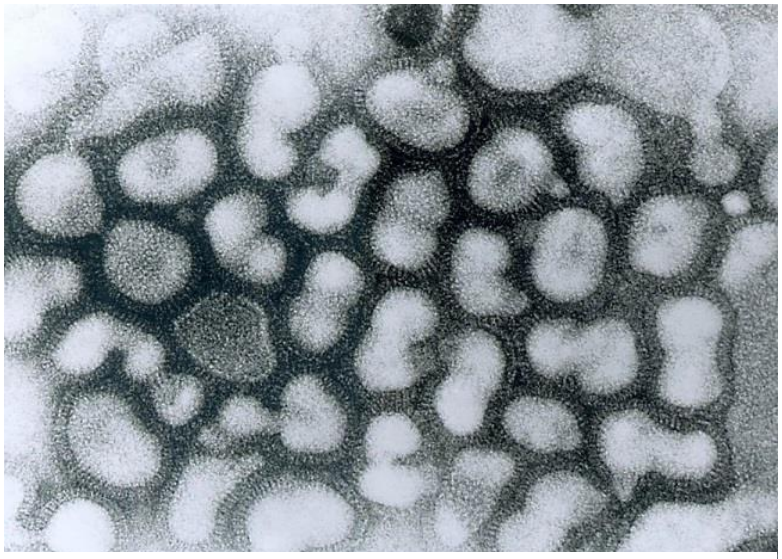

Fig. 3： A 型インフルエンザウィルス（出典： wiki）

この問題を解決するために、高福と劉金華が率いる研究チームは **2011～2018** 年まで、**10** の省から収集された **30,000** 頭以上のブタの鼻咽頭スワブサンプルを分析した。

研究者らは、豚インフルエンザウィルス計 179 を分離した。 ウィルスの表面スパイクタンパク質のヘマグルチニン（**HA** タンパク質）とノイラミニダーゼ（**NA** タンパク質）をコーディングする遺伝子を分析し、研究者たちは **165** 個が **EA H1N1**、その他の **7** 個が **pdm/09 H1N1** であることを発見した。これは、EA H1N1 が中国における主要な亜型であることを物語っており、pdm/09 H1N1 はブタに由来するものの、現時点ではブタの体内での繁殖にはもはや適してはいない。更に、発病したブタからの **EA H1N1** 分離率は **2011** 年の **1.4**%から **8.21**%に上昇した。

EA H1N1 の系統学的な発生進化を理解するために、研究者らはウィルス分離の時間と場所に応じて、全ゲノムシーケンス用にウィルス 77 株を選択した。 次に、これらのシーケンスを同じ期間のブタ全て及びヒト **EA H1N1** ウィルスと比較分析を行った。分析結果から、2013 年以後の EA H1N1 豚インフルエンザウィルスの遺伝子多様性が増加していることが判った。

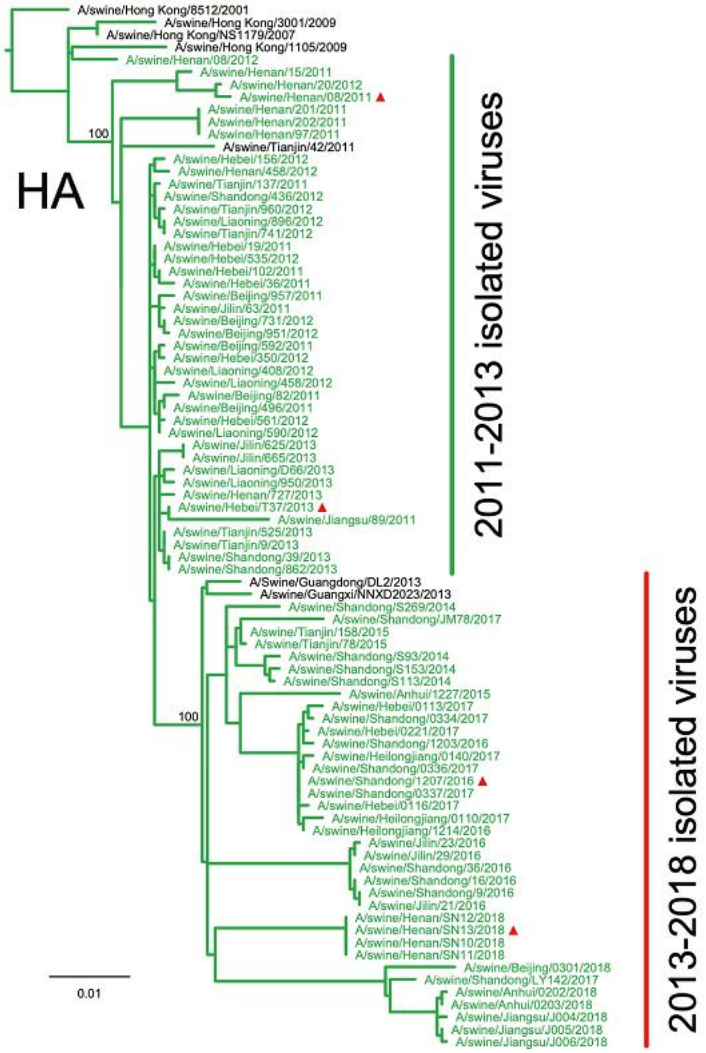

Fig. 4： EA H1N1 の進化

ウィルスの進化を研究するため、研究者らは分子時計系統発生分析と遺伝子型分析を実施した。

系統的分類によると、**2011～2018** 年の **EA H1N1** ウィルスは、**G1～G6** の **6** つの遺伝子タイプに分類できる。 その中で、**G1** は、純粋な **EA H1N1** であるが、他の遺伝子ではいくつかの遺伝子に置換または変異が発生していた。

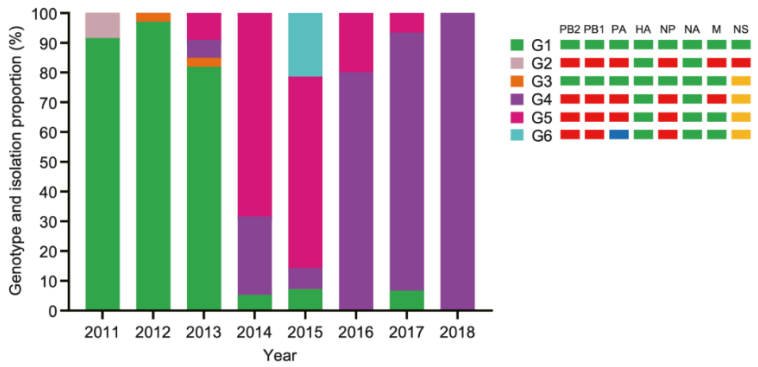

Fig. 5： EA H1N1 の異なる遺伝子型の経時的変化

上記写真（宮本注：左記写真と読み替えてください）から、2014 年以後に純粋な G1 EA H1N1 がほぼ消失したことを確認することは難しくない。 G4EA H1N1 が 2016 年から急激に増加し、主流となった。 具体的には、**G4 EA H1N1** ウィルスには、**EA H1N1** ウィルスの **HA** と **NA** 遺伝子を有しており、**pdm/09 H1N1** ウィルスの **M** 遺伝子、ウィルスリボ核タンパク質（**vRNP**）遺伝子、及び **TR H1N1** ウィルスの非構造（**NS**）領域遺伝子がある。

G4 EA H1N1 の人畜共通感染の潜在力を評価するために、研究者らは代表的な **G4 EA H1N1** を **4** 株選び、**2** 株の **G1 EA H1N1** 及び **pdm / 09 H1N1 1** 株を選び比較検討を行った。

研究者らの最初の発見は、 G4 EA H1N1 の高結合親和性レセプターが pdm / 09 H1N1 と同様の SAα2,6Ga だということだ。 彼らはこれが **G4 EA H1N1** のヒト細胞に感染する重要な前提条件であると信じている。

その後、研究者らは、ヒト気管支上皮（**NHBE**）細胞と肺胞上皮（**A549**）細胞の二種類のインフルエンザ感染の主要標的細胞を使用して、**G4 EA H1N1** の複製について研究した。

全体として、**G4EA H1N1** の複製力は、**pdm/09 H1N1** と相似しており、純粋な豚インフルエンザウィルス **G1 EA H1N1** よりも強い。 このことは、**G4 EA H1N1** がヒト気道上皮細胞で効率的に複製できることを示している。

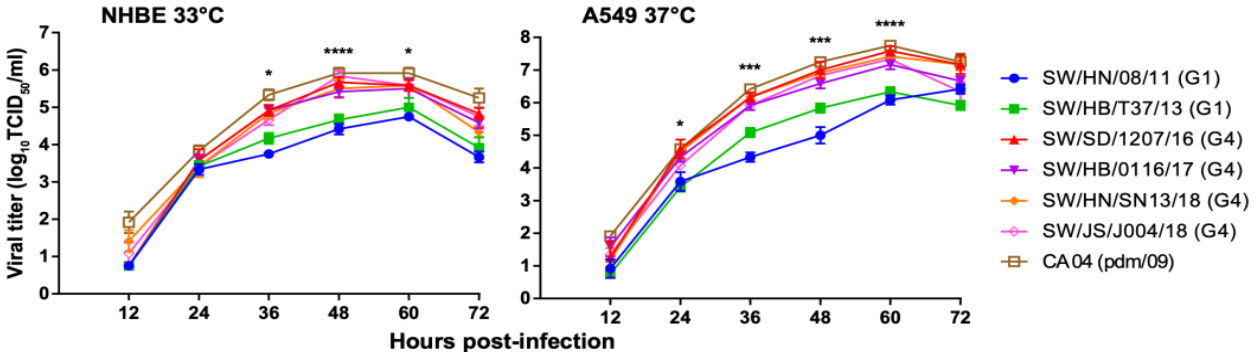

Fig. 6： 異なる細胞株における EA H1N1 の複製能力

上述の細胞研究データを基に次ステップで、インフルエンザウィルス研究のモデル動物であるフェレットにおける感染力と伝染性に関する研究に進むことができた。 その結果はやや意外なものであった。

G1 EA H1N1 と **pdm/09 H1N1** は、フェレットには軽度の臨床症状しか引き起こさなかったが、 G4 EA H1N1 に感染したフェレットの臨床症状は重く、発熱やくしゃみ、喘鳴、咳等が出現し、体重は 7.3%から 9.8%の減少を示した。

剖検と組織病伎楽的検査により、G4 EA H1N1 ウィルスに感染した肺は G1 EA H1N1 や pdm/09 H1N1 ウィルスに感染した肺に比して明らかな多層性の合併や出血、浮腫などより重い病変があり、重篤な気管支周囲炎と気管支肺炎が見られた。

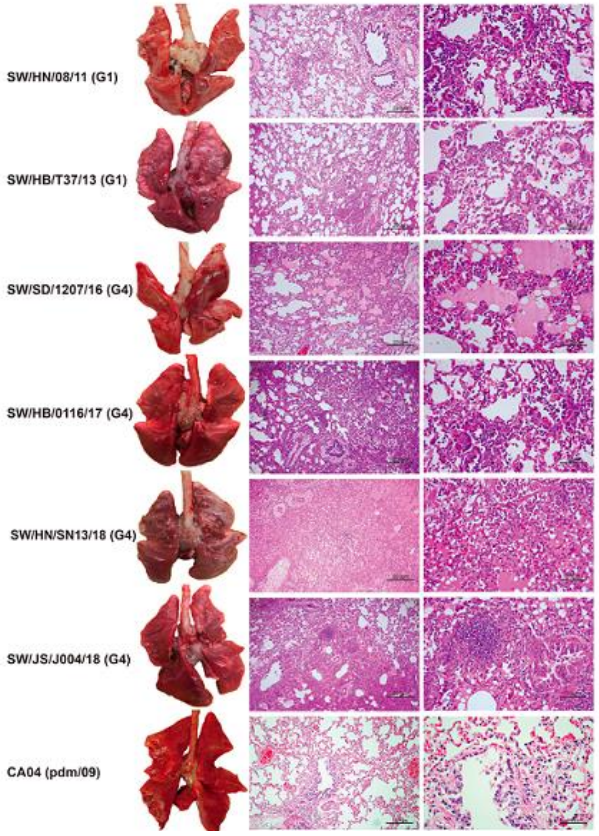

Fig. 7： EA H1N1 感染フェレットの病理学検査結果

この問題を明らかにするため、研究者らは農民の血清学的検査を実施した。**2016～2018** 年、**15** か所の農場から農民の血清サンプル計 **338** 検体を採取した。この他、一般家庭からの血清 **230** 検体が対照グループとして採取された。

試験の結果は研究者達を不安にさせた。

養豚家の血液サンプル 338 検体中、35 で G4 EA H1N1 に対し陽性となり 10.4%を占めた； コントロールグループにもまた **10** の陽性サンプル（**4.4**%）が存在していた。**Pdm/09 H1N1** の交差反応を制御した後も、二グループ間の違いは依然として顕著なものであった。

G4 EA H1N1 はどのようにフェレット間で伝播したのか？

研究の結果、**G4 EA H1N1** は **pdm/09 H1N1** と同様に、どちらも直接接触と呼吸飛沫により感染が広がることが判明した。**G1 EA H1N1** は二つの方法により伝播することはない。

これにより、研究者たちは **G4 EA H1N1** がヒトに簡単に感染する能力を有するものと信じている。

G4 EA H1N1 はブタからヒトへといった異種間伝播するのか？

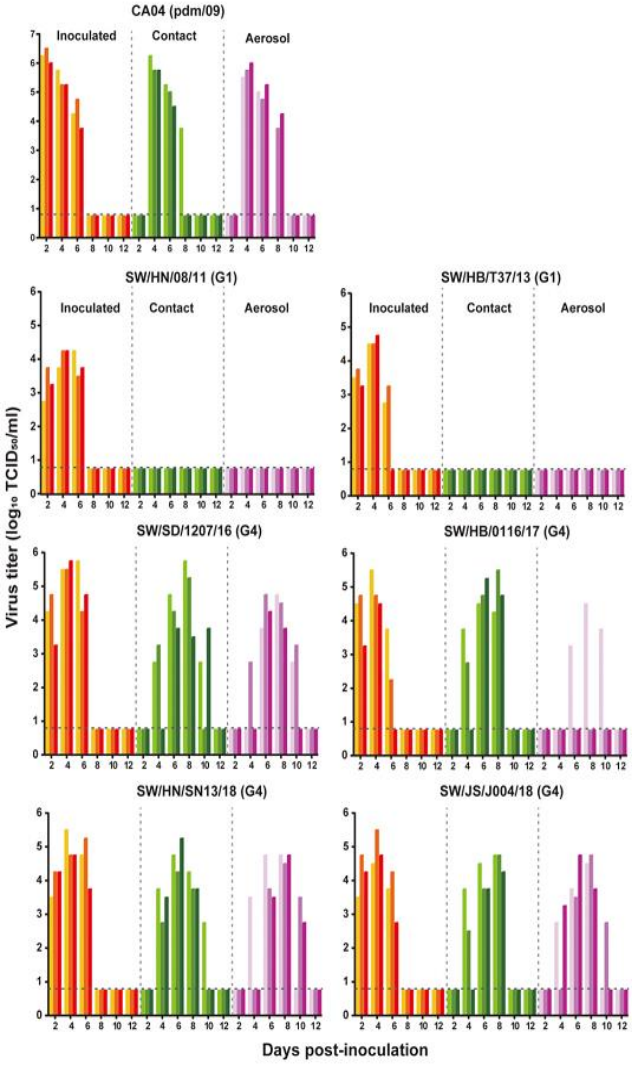

Fig. 8： EA H1N1 伝播機能の検出

Table 1. Seropositive rate of influenza virus in swine workers (SW) and common household population (CHP)

	Univariable analysis					Multivariable regression analysis	
	SW (n = 338)		CHP (n = 230)				
Strain (genotype)	No. positive	% positive	No. positive	% positive	P value, χ^2	aOR (95% CI) SW versus CHP	P value
SW/HN/08/11 (G1 EA H1N1)	22	6.5	5	2.2	**0.017**	3.02 (1.11 to 8.19)	**0.030**
Controls for possible cross-reactivity with pdm/09 H1N1						2.60 (0.93 to 7.23)	0.068
SW/SD/1207/16 (G4 EA H1N1)	35	10.4	10	4.4	**0.009**	2.60 (1.24 to 5.45)	**0.012**
Controls for possible cross-reactivity with pdm/09 H1N1						2.25 (1.05 to 4.83)	**0.038**
A/Michigan/45/2015 (pdm/09 H1N1)	131	38.8	73	31.7	0.087	1.38 (0.96 to 1.99)	0.082

Boldface indicates a statistically significant difference (P < 0.05). Model covariates: gender, age group, and collection year.

Fig. 9： 血清検査結果

その後、研究者らは、血清採取の年や年齢、性別と **G4 EA H1N1** ウィルス血清の有病率との関係について分析を行った。 養豚家グループ中、2016 年、2017 年及び 2018 年の G4 EA H1N1 ウィルスの血清陽性率はそれぞれ、6.7%、11.7%及び 11.7%であった。

更に、注目すべきは、**18~35** 歳に属する養豚家の血清陽性率は **20.5**%と他の年齢グループより高かったことだ。 性別差はなかった。 研究者らは、このデータは、若い農民の方が G4 EA H1N1 ウィルスへの感染リスクが高いことを示していると考えている。

Table S8. Characteristics of swine workers upon enrolment and odds ratios for seroprevalence of reference strains

	% Pos (No. positive) | OR (95% CI)‡		
Group (No. total)	SW/HN/08/11 (G1)	SW/SD/1207/16 (G4)	A/Michigan/45/2015 (pdm/09)
Gender			
Male (202)	6.9 (14) | 1.2 (0.5-2.9)	10.9 (22) | 1.2 (0.6-2.4)	41.1 (83) | 1.3 (0.8-2.0)
Female# (136)	5.9 (8) | Ref	9.6 (13) | Ref	35.3 (48) | Ref
Age (years)			
18–35 (44)	9.1 (4) | 1.6 (0.5-5.2)	**20.5*** (9) | 3.2 (1.3-7.7)	**54.5** (24) | 2.2 (1.1-4.1)
36–45 (51)	7.8 (4) | 1.4 (0.4-4.4)	15.7 (8) | 2.3 (1.0-5.7)	39.2 (20) | 1.2 (0.6-2.2)
> 45# (243)	5.8 (14) | Ref	7.4 (18) | Ref	35.8 (87) | Ref
Collection year			
2016# (90)	4.4 (4) | Ref	6.7 (6) | Ref	41.1 (37) | Ref
2017 (120)	9.2 (11) | 2.2 (0.7-7.1)	11.7 (14) | 1.8 (0.7-5.0)	33.3 (40) | 0.7 (0.4-1.3)
2018 (128)	5.5 (7) | 1.2 (0.4-4.4)	11.7 (15) | 1.9 (0.7-5.0)	42.2 (54) | 1.0 (0.6-1.8)

‡Odds ratio and 95% confidence interval compared to the control group.
*Boldface indicates a statistically significant difference compared with the control group (P < 0.05).
#Control group.

Fig. 10： 異なる集団の血清学的検査結果

研究の最後、研究者らは既存のインフルエンザワクチンが **G4 EA H1N1** 感染からヒトを保護することができるかについても調査した。残念なことに、**G4 EA H1N1** ウィルスは、現在のヒトインフルエンザウィルスワクチン株とは抗原が異なるものであり、 つまり、今のインフルエンザワクチンでは **G4 EA H1N1** ウィルス感染からヒトをほごすることができないということだ。

総じて、研究者らは以上の研究結果は、**G4 EA H1N1** がブタからヒトに受け継がれることがあるという仮説を支持するものと信じている。 さらに、ヒトが **G4 EA H1N1** に感染後、**G4 EA H1N1** の人体適応性は一層高まり、ヒト間でのパンデミックのリスクが高まった。

ゆえに、我々は、現在ブタ間で流行している **G4 EA H1N1** ウィルスを迅速に制御し、養豚家の情況を注意深く監視し、**G4 EA H1N1** ウィルスがヒト間でのパンデミックとなるリスクを低減させる必要がある。

G4 がカオスをもたらしませんように！

編集： 神 叨叨

http://k.sina.com.cn/article_5399531800_141d6511801900qjw0.html

PNAS： Chinese scientists discovered a new type of recombinant influenza virus in pigs, which has all the basic characteristics of a pandemic in the population | Scientific Discovery

More than 10 million people have been infected and more than 500,000 people have died. The COVID-19 has not yet shown signs of slowing down.

The world after 2020 is full of disturbing sense of uncertainty because of the novel coronavirus.

Today, a research team led by Gao Fu, director of the Chinese Center for Disease Control and Prevention, and Liu Jinhua, director of the Department of Preventive Veterinary Medicine of China Agricultural University being published in the well-known journal "Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)" has increased our uneasiness by a few points.

The results of this study found that a recombinant influenza virus, G4 EA H1N1, which has been dominant in swine herds since 2016, already has all the basic characteristics of a pandemic in the population [1]. For example, it can infect cells of the human respiratory system, can be spread by droplets, and it has low cross-reactivity with human influenza vaccine strains. What is more worrying is that serological surveys show that the infection rate of G4 EA H1N1 virus in the population is increasing.

Based on this, the researchers suggest that the epidemic of G4 EA H1N1 virus in swine should be quickly controlled, and the situation of the breeders should be closely monitored.

<<Figure 1>> Screenshot of the paper's first page

Influenza A virus (IAV) is a global virus that can infect humans, various mammals and poultry.

Influenza virus recombination is the main reason for generating new viruses with new antigens and biological characteristics. Such recombination may cause catastrophic human pandemic diseases.

Pigs are often regarded as a "melting pot" for the production of viruses with pandemic potential [2], because swine influenza viruses, avian influenza viruses and human influenza viruses can infect pigs. After these three viruses infect pigs at the same time, they can easily exchange genes and reorganize into new viruses. The 2009 H1N1 flu (pdm/09) is a good example [3, 4].

Therefore, continuous monitoring of swine influenza viruses (SIVs) is essential to prevent the pandemic of the virus among the population.

<<Figure 2>> A nasal swab test for a piglet (Source: sciencemag.org)

The Eurasian avian-like (EA) H1N1 swine influenza virus (EA H1N1) was discovered in 2001 and subsequently became the main virus circulating in Chinese swine herds. In 2009, pdm/09 H1N1 caused pandemic among the human beings, then had spread to pigs all over the world [5]. This backhaul has led to the emergence of new viruses recombined with swine influenza viruses EA H1N1 and pdm/09 H1N1 in some regions. There have even been sporadic successors [6, 7].

However, the scientific community currently lacks understanding of the prevalence, biological characteristics, and infectivity of the recombinant virus in the population.

<<Figure 3>> Influenza A virus (Source: wiki)

To solve this problem, the research team led by Gao Fu and Liu Jinhua analyzed more than 30,000 swine nasal swab samples collected in 10 provinces from 2011 to 2018.

Researchers have isolated a total of 179 swine flu viruses. After analyzing the genes encoding hemagglutinin (HA protein) and neuraminidase (NA protein) on the surface spike proteins of the virus, the researchers found that 165 were EA H1N1, and 7 were pdm/09 H1N1. This shows that EA H1N1 is the main subtype in China, and although pdm/09 H1N1 was originated in pigs, it is no longer suitable for breeding in pigs. In addition, the separation ratio of EA H1N1 in sick pigs increased from 1.4% in 2011 to 8.21%.

In order to understand the phylogenetic evolution of EA H1N1, the researchers selected a total of 77 viruses for whole genome sequencing according to the time and place of virus isolation. Then compare these sequences with all pig and human EA H1N1 viruses in the same time period. From the analysis results, after 2013, the genome diversity of EA H1N1 swine influenza virus increased.

<<Figure 4>> Evolution of EA H1N1

In order to study the evolution of the virus, the researchers conducted molecular clock phylogenetic analysis and genotyping analysis.

According to the genealogical classification, EA H1N1 viruses from 2011 to 2018 can be divided into six genotypes, G1-G6. Among them, G1 is pure EA H1N1, and other genes are replaced or mutated by some genes.

<<Figure 5>> Changes of different genotypes of EA H1N1 over time

It is not difficult to see from the above picture that the pure G1 EA H1N1 almost disappeared after 2014. The G4 EA H1N1 has soared from 2016 and became the mainstream. Specifically, the G4 EA H1N1 virus has the HA and NA genes of the EA H1N1 virus, the M gene of the pdm/09 H1N1 virus, the viral ribonucleoprotein (vRNP)

gene, and the non-structural (NS) gene of the TR H1N1 virus.

In order to assess the zoonotic potential of G4 EA H1N1, the researchers selected four representative G4 EA H1N1 strains, which were compared with two G1 EA H1N1 strains and one pdm/09 H1N1 strain.

The researchers' first finding was that the high-affinity binding receptor for G4 EA H1N1 is SAα2,6Gal, which is the same as pdm/09 H1N1. The researchers believe that this is a key prerequisite for G4 EA H1N1 infection of human cells.

Subsequently, the researchers used human bronchial epithelial (NHBE) cells and alveolar epithelial (A549) cells, two main target cells for influenza virus infection, to study the replication of G4 EA H1N1.

Overall, the replication capacity of G4 EA H1N1 is similar to that of pdm/09 H1N1, and stronger than the pure swine influenza virus G1 EA H1N1. This shows that G4 EA H1N1 can replicate efficiently in human airway epithelial cells.

<<Figure 6>> EA H1N1 replication ability in different cell lines

With the above cell research data, we can then carry out research on infectivity and transmissibility in ferrets, a model animal that studies influenza viruses. The results of the study are somewhat surprising.

G1 EA H1N1 and pdm/09 H1N1 only caused mild clinical symptoms in ferrets. The clinical symptoms of ferrets infected with G4 EA H1N1 are severe, such as fever, sneezing, wheezing, coughing, etc., and the body weight will also drop from 7.3% to 9.8%.

Autopsy and histopathological examination revealed that G4 EA H1N1 virus-infected lungs have more severe lesions than G1 EA H1N1 or pdm/09 H1N1 virus-infected lungs, such as obvious multifocal mergers, bleeding, and edema and showed more severe peribronchitis and bronchial pneumonia.

<<Figure 7>> Pathological test results of EA H1N1 infected ferret

How did G4 EA H1N1 spread among ferrets?

The results show that G4 EA H1N1, like pdm/09 H1N1, can be spread through direct contact and respiratory droplets. The G1 EA H1N1 cannot be transmitted in two ways.

Based on this, the researchers believe that G4 EA H1N1 has the ability to easily infect humans.

<<Figure 8>> EA H1N1 propagation capability detection

Can G4 EA H1N1 jump from pigs to humans to achieve cross-species transmission?

In order to clarify this issue, the researchers conducted serological tests in the farmer population. From 2016 to 2018, a total of 338 farmer serum samples from 15 farms were collected. In addition, 230 serum samples from ordinary families were collected as a control group.

The test results disturbed the researchers.

Of the 338 breeding blood samples, 35 were positive for G4 EA H1N1, accounting for 10.4%; the control group also had 10 positive samples, accounting for 4.4%. After controlling the cross-reaction of pdm/09 H1N1, the difference between the two groups was still significant.

<<Figure 9>> Serum test results

Subsequently, the researchers analyzed the relationship between the year, age and gender of serum collection and the prevalence of G4 EA H1N1 virus serum. Among the farmer groups, the seropositivity rates of G4 EA H1N1 virus in 2016, 2017 and 2018 were 6.7%, 11.7% and 11.7%, respectively.

In addition, it is worth noting that the seroprevalence rate of breeders between the ages of 18 and 35 is 20.5%, which is significantly higher than that of other age groups. There is no difference between different genders. In addition, it is worth noting that the seroprevalence rate of farmers between the ages of 18 and 35 is 20.5%, which is significantly higher than that of other age groups. There is no difference between different genders. The researchers believe that these data indicate that young pig farmers are at higher risk of contracting the G4 EA H1N1 virus.

<<Figure 10>> Serological test results of different populations

At the end of the study, the researchers also examined whether the existing influenza vaccine can protect humans from infection with G4 EA H1N1. Unfortunately, the G4 EA H1N1 virus differs in antigen from current human influenza vaccine strains. This also means that the current flu vaccine cannot protect humans from infection with the G4 EA H1N1 virus.

Overall, the researchers believe that the above findings support the hypothesis that G4 EA H1N1 can be passed from pig to human. Moreover, after human infection with G4 EA H1N1, it will further enhance the adaptability of G4 EA H1N1 to the human body and increase the risk of virus pandemic in the population.

Therefore, we should quickly control the G4 EA H1N1 virus that is currently circulating in pigs, and closely monitor the situation of pig farmers to reduce the risk of G4 EA H1N1 virus pandemic in the population.

May G4 not come to chaos.

Edit: Shen Daodao

:::::::::::::::::::::::::::::::: 以下は中国語原文 ::::::::::::::::::::::::::::::::

PNAS：要警惕！中国科学家在猪身上发现一种新型重组流感病毒，已具备在人群中大流行的所有基本特征丨科学大发现

新浪看点 k.sina.com.cn 2020-06-30 20:00 来源： 新浪网

超 1000 万人感染，超 50 万人死亡，新冠病毒还没有放缓脚步的迹象。

2020 年以后的世界因为新冠病毒充满了让人不安的不确定性。

而今天，由中国疾病预防控制中心主任高福和中国农业大学预防兽医学系主任刘金华领衔的研究团队，在著名期刊《美国科学院院报》（PNAS）上发表的研究论文，又将我们的不安增加了几分。

这项研究成果发现，**一种自 2016 年以来在猪群中占主导地位的重组流感病毒 G4 EA H1N1，已经具备了在人群中大流行的所有基本特征**[1]。例如它能感染人呼吸系统的细胞，可以通过飞沫传播，以及它与人类流感疫苗株的抗原交叉反应性较低。更让人担心的是，血清学调查表明，G4 EA H1N1 病毒在人群中的感染率在增加。

基于此，研究人员建议应迅速控制 G4 EA H1N1 病毒在猪群中的流行，并密切监测养殖人员的情况。

图 1： 论文首页截图

甲型流感病毒（IAV）是能感染人类、多种哺乳动物和禽类的全球性病毒。

流感病毒重组是产生具有新抗原和生物特征的新病毒的主要原因，这种重组有可能引起灾难性的人类大流行疾病。

猪，往往被视为生产具有大流行潜力病毒的“大熔炉”[2]，因为猪流感病毒、禽流感病毒和人流感病毒都可以感染猪。**这三种病毒同时感染猪之后，就能轻而易举地交换基因，重组成新的病毒**。2009 年 H1N1 流感（pdm/09）就是一个很好的例证[3, 4]。

因此对猪流感病毒（SIVs）进行持续监测，对防范病毒在人群中大流行至关重要。

图 2： 给小猪做鼻拭子检测（图源：sciencemag.org）

欧亚类禽型（eurasian avian-like，EA） H1N1 猪流感病毒（EA H1N1）发现于 2001 年，随后成为在中国猪群中流行的主要病毒。**到 2009 年的时候，在人群中大流行的 pdm/09 H1N1 又在世界各地传到猪身上**[5]。这种回传，导致一些地区出现猪流感病毒 EA H1N1 和 pdm/09 H1N1 重组的新病毒。甚至出现了零星的传人现象[6, 7]。

不过，目前科学界对这种重组病毒的流行情况、生物学特性，以及在人群中的传染性还缺乏了解。

图 3： 甲型流感病毒（图源：wiki）

为了解决这个问题，高福和刘金华领导的研究团队分析了从 2011 年到 2018 年间，在全国 10 个省采集的 3 万多份猪的鼻拭子样本。

研究人员累计分**离到 179 个猪流感病毒**。分析编码病毒表面刺突蛋白血凝素（HA 蛋白）和神经氨酸酶（NA 蛋白）的基因之后，研究人员发现 165 个是 EA H1N1，另外有 7 个是 pdm/09 H1N1。**这说明 EA H1N1 是中国主要的亚型，而 pdm/09 H1N1 虽然起源于猪，但是现在已经不适应在猪体内繁殖了。此外，而且 EA H1N1 在病猪中的分离占比从 2011 年的 1.4% ，上升到 8.21%。**

为了了解 EA H1N1 的系统发育演化，研究人员根据病毒分离时间和地点，共选取 77 株病毒进行全基因组测序。然后将这些序列与同一时间段所有的猪和人 EA H1N1 病毒对比分析。从分析结果来看，**2013 年之后，EA H1N1 猪流感病毒的基因组多样性增加**。

图 4： EA H1N1 的进化

为了研究病毒的进化，研究人员又进行了分子钟系统发育分析和基因型特征分析。

根据系谱分类，2011 年到 2018 年的 EA H1N1 病毒可以分成 G1-G6 六个基因型。其中 G1 就是纯正的 EA H1N1，其他基因型的是某些基因发生替换或者变异。

图 5：EA H1N1 不同基因型随时间的变化

从上图不难看出，**2014 年之后纯正的 G1 EA H1N1 几乎消失了**。而 **G4 EA H1N1** 从 **2016** 年开始急剧飙升，成为主流。具体来看，G4 EA H1N1 病毒拥有 EA H1N1 病毒的 HA 和 NA 基因，pdm/09 H1N1 病毒的 M 基因和病毒核糖核蛋白（vRNP）基因，以及 TR H1N1 病毒的非结构（NS）基因。

为了评估 G4 EA H1N1 的人畜共患潜力，研究人员选了四株代表性的 G4 EA H1N1，与两株 G1 EA H1N1 和一株 pdm/09 H1N1 做了深入的比较。

研究人员的第一个发现是，G4 EA H1N1 的高亲和力结合受体是 SAα2,6Gal，与 pdm/09 H1N1 一样。研究人员认为，这是 G4 EA H1N1 感染人体细胞的关键前提条件。

随后，研究人员利用人支气管上皮（NHBE）细胞和肺泡上皮（A549）细胞这两种流感病毒感染的主要靶细胞，研究了 G4 EA H1N1 的复制情况。

总的来说，G4 EA H1N1 的复制能力与 pdm/09 H1N1 相似，强于纯正的猪流感病毒 G1 EA H1N1。这说明，G4 EA H1N1 可以在人气道上皮细胞中高效复制。

图 6： EA H1N1 在不同细胞系中的复制能力

有了上面的细胞研究数据，接下来就可以在研究流感病毒的模式动物雪貂身上开展感染力和传播性的研究了。

研究结果多少有点儿让人吃惊。

G1 EA H1N1 和 pdm/09 H1N1 只在雪貂身上引起了轻微的临床症状。感染 G4 EA H1N1 的雪貂临床症状就严重了，例如出现发热、喷嚏、喘、咳嗽等，而且体重还会出现 7.3%到 9.8%不等的下降。

尸检和组织病理检查发现，G4 EA H1N1 病毒感染的肺比 G1 EA H1N1 或 pdm/09 H1N1 病毒感染的肺有更严重的病变，例如有明显的多灶性合并区、出血和水肿，并表现出更严重的支气管周围炎和支气管肺炎。

图 7：EA H1N1 感染雪貂后的病理检测结果

那 G4 EA H1N1 是如何在雪貂之间传播的呢？

研究结果显示，G4 EA H1N1 与 pdm/09 H1N1 一样，都可以通过直接接触传播和呼吸道飞沫传播。而 G1 EA H1N1 不能通过两种方式传播。

基于此，研究人员认为，G4 EA H1N1 有能力轻易感染人类。

图 8 EA H1N1 传播能力的检测

那 G4 EA H1N1 究竟能不能从猪跳到人的身上，实现跨物种传播呢？

为了搞清楚这个问题，研究人员在养殖人员群体中做了血清学检测。从 2016 年到 2018 年，共收集了 15 个农场的 338 份养殖人员血清样本。此外，还收集了 230 份来自普通家庭的血清样本作为对照组。

检测结果让研究人员感到不安。

在 338 分养殖人员的血样中，有 35 份对 G4 EA H1N1 呈阳性，占比 10.4%；对照组也有 10 份呈阳性，占比 4.4%。在控制 pdm/09 H1N1 的交叉反应之后，两组之间的差异依然显著。

图 9 血清检测结果

随后，研究人员又分析了血清采集年份、年龄和性别与 G4 EA H1N1 病毒血清流行率的关系。在养殖人员群体中，2016 年、2017 年和 2018 年 G4 EA H1N1 病毒的血清阳性率分别为 6.7%、11.7%和 11.7%。

另外，值得注意的是，18 岁至 35 岁这个年龄段的养殖人员的血清阳性率为 20.5%，显著高于其他年龄组。不同性别之间没有差异。研究人员认为，这些数据表明，年轻的养殖人员感染 G4 EA H1N1 病毒的风险较高。

图 10：不同人群的血清学检测结果

在研究的最后，研究人员还探索了现有的流感疫苗是否能保护人类免于感染 G4 EA H1N1。遗憾的是，G4 EA H1N1 病毒在抗原上与目前人类流感疫苗毒株不同。这也意味着，目前的流感疫苗不能保护人类免于感染 G4 EA H1N1 病毒。

总的来说，研究人员认为以上的研究结果，支持 G4 EA H1N1 能由猪传给人的假说。而且，人感染 G4 EA H1N1 之后，将进一步增强 G4 EA H1N1 对人体的适应性，增加病毒在人群中大流行的风险。

因此，我们应该迅速控制目前正在猪群中流行的 G4 EA H1N1 病毒，并密切监测养殖人员的情况，降低 G4 EA H1N1 病毒在人群中大流行的风险。

愿 G4 不来添乱。

编辑神叨叨

20200630D G4 EA H1N1 ： 新型組み換えウィルスをブタから発見！ ： PNAS(新浪看点)