

马树杰,张博,孔宇飞,等. A型流感病毒感染雪貂造模的研究进展[J].中国实验动物学报, 2019, 27(2):254-260.

Ma SJ, Zhang B, Kong YF, et al. Research progress of ferret models of influenza A virus infection [J]. Acta Lab Anim Sci Sin, 2019, 27(2):254-260.

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2019.02.020

A型流感病毒感染雪貂造模的研究进展

马树杰,张博,孔宇飞,关云涛*

(中国农业科学院哈尔滨兽医研究所兽医生物技术国家重点实验室, 哈尔滨 150069)

【摘要】 A型流感病毒(influenza A virus, IAV)感染人和动物,严重威胁公共卫生安全。动物模型在 IAV 研究中发挥着重要作用,不同的动物模型具有不同的优点和限制性。本文比较了雪貂与小鼠、豚鼠和非人灵长类动物模型的优点和限制性,突出说明雪貂在 IAV 研究中的重要性,并就雪貂在 IAV 致病性、传播和疫苗研发中的研究进展做了总结,以期为 IAV 的基础和应用研究提供参考。

【关键词】 A型流感病毒;雪貂;动物模型;致病性;传播;疫苗研发

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2019) 02-0254-07

Research progress of ferret models of influenza A virus infection

MA Shujie, ZHANG Bo, KONG Yufei, GUAN Yuntao*

(State Key Laboratory of Veterinary Biotechnology, Harbin Veterinary Research Institute,

Chinese Academy of Agricultural Sciences, Harbin 150069, China)

Corresponding author: GUAN Yuntao. E-mail: yuntaoguan@163.com

【Abstract】 Influenza A viruses (IAVs) infect humans and animals, and pose continuous threats to public health. Animal models have pivotal roles in IAV research, and different animal models have different advantages and limitations. We focused on the advantages and disadvantages of the use of ferrets, and compared them with those of mice, guinea pigs, and non-human primate models. We highlighted the important role of ferrets in IAV research. This paper briefly reviews the research progress in use of ferret models in the studies of pathogenesis, transmission and evaluation of IAVs. As such, it provides references for the basic and applied research of IAVs.

【Keywords】 influenza A virus; ferret; animal model; pathogenesis; transmission; vaccine development

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

流感病毒属于正粘病毒科(*Orthomyxoviridae*), 流感病毒属,它是单股负链具有囊膜的 RNA 病毒。根据核蛋白(nucleoprotein, NP)和基质蛋白(matrix, M)的不同,流感病毒可以分为 A、B 和 C 三种亚型。其中 A 型流感病毒(influenza A virus, IAV)是一种重要的人兽共患传染病病原,可以引起人和多种动物感染发病,对公共卫生安全具有巨大威胁。IAV

根据血凝素(hemagglutinin, HA)和神经氨酸酶(neuraminidase, NA)抗原性的不同,又可以分为不同的亚型。目前 HA 可以分为 18 个亚型,NA 可以分为 11 个亚型,其中 H1-H16 和 N1-N9 亚型病毒均已在禽类体内发现,而 H17N10 和 H18N11 的自然宿主是蝙蝠。IAV 的基因组分为 8 个节段,编码多达 17 种蛋白,其中必需蛋白有 10 种 PB2、PB1、PA、

[基金项目]国家重点研发计划项目(2016YFC1201402)。

Funded by National Key Research Program of China (2016YFC1201402).

[作者简介]马树杰(1989—),男,博士研究生,研究方向:预防兽医学。Email: sjmasdau@163.com

[通信作者]关云涛(1973—),男,研究员,研究方向:预防兽医学。Email: yuntaoguan@163.com

HA、NP、NA、M1、M2、NS1 和 NS2, 非必需蛋白主要包括 PB1-F2、PB1-N40、PA-X、PA-N155、PA-N182、M42 和 NS3^[1-6]。其中 PB2、PB1、PA、NP 和病毒的 vRNA 组装成核糖核蛋白复合体 (viral ribonucleoprotein, vRNP), vRNP 负责病毒的转录和复制—是 IAV 增殖的核心功能单位。HA 和 NA 蛋白是 IAV 的两种表面糖蛋白, HA 结合细胞表面的唾液酸受体, 并介导病毒囊膜与内吞体膜的融合, 促进病毒的入侵。NA 的神经氨酸酶活性可以切割宿主细胞和病毒表面与糖蛋白连接的唾液酸, 促进子代病毒粒子释放, 阻止新生病毒粒子在细胞表面的聚集。此外, M2 是病毒粒子的另一囊膜蛋白, 它的质子通道活性激活后, 导致病毒粒子内部酸化, 促进病毒的脱衣壳。

历史上曾发生过 4 次较大的流感大流行, 分别为 1918 年西班牙流感 (H1N1), 1957 年亚洲流感 (H2N2), 1968 年香港流感 (H3N2) 和 2009 年的甲型流感 (H1N1)。1918 年的西班牙流感大流行损失惨重, 至少造成 2000 万人死亡。IAV 变异频繁, 当人体内缺乏中和抗体时, 病毒感染人发病, 严重的甚至导致死亡, 比如 H7N9 亚型、H10N8 亚型感染人致死事件^[7-8]。新出现的 IAV 不仅严重危害了畜禽养殖业, 而且对公共卫生安全具有巨大的潜在威胁。据 WHO 统计, H7N9 IAV 自 2013 年爆发以来, 目前已经造成 1567 例人感染, 其中死亡 615 人, 致死率高达 39.2%^[9]。2017 年初, H7N9 IAV 的 HA 碱性裂解位点插入了 4 个氨基酸, 变成了对鸡呈高致病性的 H7N9 IAV^[10], 造成养殖场大批鸡死亡, 同时 2017 年冬季 H7N9 感染人病例激增, 对公共卫生安全持续造成威胁。

IAV 持续进化, 新的亚型不断出现, 流感大流行随时可能爆发, 因此 IAV 的研究一直是病毒学领域研究的热门。选择合适的动物模型研究 IAV 致病性和传播特性可以为病毒防控提供策略, 进而为疫苗的研制提供指导方针。雪貂 (*Mustela putorius furo*) 是哺乳动物, 属于鼬科, 貂属。雪貂缺乏盲肠, 但有对称的鼬科分泌麝香的肛门腺, 这对腺体是潜在的防御器官, 目前实验用的大部分雪貂均通过外科手术摘除了肛门腺。雪貂饲养的适宜温度是 18 ~ 22℃, 湿度是 40% ~ 60%, 温度高于 30℃, 成年

貂就表现出紧张不安, 有热虚脱的可能, 因此雪貂饲养室的空气对流和温度均应保持在适宜水平。IAV 研究中应用的雪貂需进行常见亚型如 H1、H3、H5、H7 和 H9 等流感病毒抗体的检测, 以确定实验中使用的雪貂流感病毒抗体阴性。雪貂是研究 IAV 较为常用的感染模型, 在 IAV 的致病性、传播能力和疫苗研发方面发挥着重要作用。

1 雪貂模型概述

在 IAV 研究中, 选择合适的动物模型有利于科学地阐释实验结果, 得出科学的结论。目前 IAV 研究中, 应用较普遍的动物模型有小鼠、豚鼠、雪貂和非人灵长类动物^[11-13]。不同的动物模型具有各自的优点和限制性 (表 1), 在选择动物模型时需要综合考虑。通过表 1 可以发现, 四种动物模型具有不同的宿主特性和 IAV 研究的应用范围。雪貂与非人灵长类动物二者具有相似的受体分布, 感染 IAV 后表现相似的临床症状, 均是 IAV 研究中较为理想的研究模型。但是考虑到动物的获得难易和饲养成本, 雪貂模型比非人灵长类动物模型更具优势, 此外在感染 IAV 后表现的临床症状方面, 雪貂比小鼠和豚鼠更具优势 (表 1), 且雪貂对 H1、H3、H5、H7 及 H9 等多种亚型的 IAV 均易感^[14], 因此雪貂是 IAV 研究中较为常用的动物模型。

利用雪貂模型研究 IAV 具有许多优点: 雪貂对 IAV 易感, 病毒未经适应即可感染; 雪貂上呼吸道和下呼吸道 $\alpha 2, 6$ -SA (人源受体) 和 $\alpha 2, 3$ -SA (禽源受体) 分布与人类类似, 可以有效模拟病毒自然状态下 IAV 的感染和传播^[15] (表 1), 因此雪貂模型评估 IAV 的传播能力应用广泛; 雪貂感染 IAV 后临床症状与人发病相似, IAV 致病性评估时雪貂常表现为发热、厌食、体重减轻、打喷嚏、鼻腔分泌物增多、嗜睡^[16-17] 症状 (表 1); 雪貂体型较小, 易于饲养, 实验操作简便。雪貂模型不足之处主要有: 缺乏近交系 (inbred); 价格昂贵, 有些实验室很难承担巨大的经济费用^[18]。但是综合评估, 雪貂作为动物模型优点大于缺点, 因此雪貂模型在 IAV 的致病性、跨宿主传播以及评估疫苗保护效力等方面应用十分广泛。同时雪貂基因组草图的绘制完毕, 为雪貂模型的广泛应用奠定了坚实的基础^[19]。

表 1 雪貂与小鼠、豚鼠和非人灵长类动物模型在 IAV 研究中的比较

Table 1 Comparisons of ferret models with mouse, guinea pig and non-human primate models in IAV research

	雪貂 <i>Mustela putorius furo</i>	小鼠 <i>Mus musculus</i>	豚鼠 <i>Cavia porcellus</i>	非人灵长类动物 <i>Macaca</i>
易感性	人流感、禽流感均易感	适应毒株易感	人流感、禽流感均易感	人流感易感
感染部位	上呼吸道和下呼吸道	主要感染下呼吸道	上呼吸道和下呼吸道	主要感染上呼吸道
上呼吸道分布的受体	$\alpha 2, 6\text{-SA}$	$\alpha 2, 6\text{-SA}$ 和 $\alpha 2, 3\text{-SA}$	$\alpha 2, 6\text{-SA}$	$\alpha 2, 6\text{-SA}$
下呼吸道分布的受体	$\alpha 2, 6\text{-SA}$ 和 $\alpha 2, 3\text{-SA}$	$\alpha 2, 3\text{-SA}$	$\alpha 2, 6\text{-SA}$ 和 $\alpha 2, 3\text{-SA}$	$\alpha 2, 6\text{-SA}$ 和 $\alpha 2, 3\text{-SA}$
临床症状	发热 厌食 体重减轻 打喷嚏 鼻腔分泌物增多 嗜睡	被毛凌乱 厌食 体重减轻 皮肤发绀 严重的死亡	症状不明显	发热 厌食 咳嗽 打喷嚏 鼻腔分泌物增多 嗜睡
动物获得难易	较难	易	易	难
近交系	无	有	无	无
饲养费用	较高	低	适中	高
遗传修饰	无	有	无	无
致病性研究	是	是	否	是
传播研究	是	否	是	否
疫苗研究	是	否	是	是

2 雪貂模型在 IAV 致病性上的应用

不同亚型的 IAV 对哺乳动物的致病性不同, 临床表现从不发病到死亡不等。雪貂感染 H1、H3、H6、H9 后, 尽管病毒可以在多个脏器内高效复制, 但是雪貂发病温和, 临床症状轻微, 往往呈现一过性发病^[20-22]。雪貂感染高致病性 H5 亚型禽流感病毒后, 往往出现典型的流感症状, 严重的出现神经系统症状, 并最终导致雪貂死亡^[14, 23]。Peng 等^[23] 将一株人源 H5N1 流感病毒分离株 A/Vietnam/1203/04 (H5N1) 感染雪貂, 观测期内雪貂出现严重的中枢神经系统症状, 呈现癫痫、斜颈以及瘫痪的姿势。病理学研究发现病毒主要感染神经元细胞, 而室管膜细胞和星形胶质细胞也有零星感染, 病理学变化表现为脑膜炎和脑炎。这表明高致病性 H5N1 流感病毒可以在雪貂中枢神经系统内高效增殖, 这可能是诱发雪貂死亡的一个重要因素。人感染高致病性 H5N1 流感病毒的致死案例中, 尸检发现脑也出现严重的损伤。高致病性 H5N1 流感病毒除了会诱发严重肺损伤之外, 中枢神经系统的损伤也是导致死亡的重要因素。Herfst 等^[24] 系统研究了一株人源 H5N6 高致病性流感分离株 (GZ/14), 该株病毒 PB2 蛋白 627 位点为赖氨酸 (lysine, K), 具有很高的聚合酶活性。给雪貂鼻腔接种该病毒, 接种后第 3 天雪貂活动性下降, 被毛凌乱, 眼角湿润, 平均体重下降 13%, 出现明显的流感感染症状。病

毒可以在肺、鼻甲和扁桃体等多器官复制。气管内接种, 雪貂出现重症肺炎, 接种后第 2 天即出现死亡。但是并非所有高致病性 H5 亚型流感病毒接种雪貂都出现严重流感症状。Noh 等^[25] 将一株 2.3.4.4 分支的高致病性 H5N6 流感病毒 (Md/Kr/2016) 滴鼻感染雪貂, 尽管可以在雪貂的鼻甲、肺和脑中低滴度复制, 但雪貂没有出现明显的临床症状, 体重也未下降。与 GZ/14 株相比, Md/Kr/2016 株病毒缺乏哺乳动物适应毒株的分子特征, 这可能是其对雪貂呈现低致病性的重要原因。Pulit-Penalosa 等^[26] 将 H5N2 和 H5N8 感染小鼠和雪貂, 虽然两株病毒均能引起小鼠严重发病, 但是雪貂并未表现明显临床症状, 无多器官感染。

IAV 感染哺乳动物或人后, 在宿主体内增殖, 容易获得适应哺乳动物的基因突变, 突变后的病毒对哺乳动物的致病性增强^[10, 22]。Li 等^[22] 将 H9N2 病毒以 10^6EID_{50} 剂量接种雪貂, 第二天采集的鼻洗液测序, 就发现 PB2 蛋白出现了 E627 K 或 D701 N 的突变, 突变后的病毒对哺乳动物的致病性大大增强。2013 年, 中国爆发新型低致病性 H7N9 流感疫情, 引起多人的死亡。研究表明雪貂感染 H7N9 流感病毒后临床症状表现并不明显, 但是病毒可以在肺脏、鼻甲、气管、扁桃体以及脑内增殖, 病理学检测发现雪貂出现严重的支气管肺炎^[27-28]。2017 年初, 低致病性 H7N9 流感病毒 HA 碱性裂解位点处插入了四个氨基酸, 突变成了高致病 H7N9 流感病

毒。不同来源的高致病 H7N9 流感病毒感染雪貂后,呈现出不同的致病性^[10, 29]。Shi 等^[10]选取 CK/SD008 株高致病性 H7N9 禽流感病毒感染雪貂,虽然病毒可以在雪貂的鼻甲、扁桃体、肺和脑内复制,但是雪貂临床症状并不明显。然而雪貂感染病毒后的第 4 天,剖杀取脏器后分离病毒测序,发现扁桃体、鼻甲和肺均检测到了 PB2 E627 K 或 D701 N 的突变病毒株。将突变病毒株 CK/SD008-PB2/627 K 和 CK/SD008-PB2/701 N 突变病毒再次滴鼻感染雪貂,雪貂发病严重,分别于感染后第 8 天和第 10 天各死亡一只。Imai 等^[29]评估了一株人源高致病性 H7N9 分离株(GD/3) 及其 NA 突变株 rGD/3-NA294R 和 rGD/3-NA294 K,这三株病毒感染雪貂后均出现严重的食欲下降,昏睡临床症状。病毒均可以在鼻甲、气管、肺、脑中复制,GD/3 可以在肾和小肠中复制。组织病理学检查发现肺出现严重的组织损伤。感染 GD/3, rGD/3-NA294R 和 rGD/3-NA294 K 的雪貂分别于第 8 天,第 4 和第 8 天以及第 6 天各死亡 1 只,2 只和 1 只。有趣的是,这些病毒并不具有经典的适应哺乳动物的分子标记 PB2 627 K 或 701 N。PB2 588 位点丙氨酸(alanine, A)到缬氨酸(valine, V)的突变可以增强病毒对哺乳动物的致病性^[30]。GD/3 及其 NA 突变株 rGD/3-NA294R 和 rGD/3-NA294 K 的 PB2 588 位均为 V,而 CK/SD008、CK/SD008-PB2/627 K 和 CK/SD008-PB2/701 N 的 PB2 588 位均为 A,这可能在一定程度上解释了 GD/3 及其 NA 突变株为什么对雪貂呈现高致病性。GD/3 分离于一名使用达菲且致死的患者,其 PB2 A588 V 的突变很有可能是病毒在患者体内复制是获得的。禽流感病毒在哺乳动物体内复制时获得适应性的突变,对哺乳动物的致病性大大增强。统计数据表明,H7N9 流感病毒感染人的毒株中,有 83% 的病毒株其 PB2 位点具有 627 K 或 701N^[10]。这些研究表明,虽然 HA 碱性裂解位点处含有多个碱性氨基酸是 H5 和 H7 高致病性流感病毒的分子特征,但是 HA 仅含有多个碱性氨基酸并不能一定对哺乳动物呈现高致病性,还需要多个其他基因的影响,比如 PB2 588, 627 和 701 位点。利用雪貂模型,研究人员揭示了这些位点对哺乳动物致病性的影响,通过监测 IAV 的这些氨基酸位点,可以为 IAV 致病性的评估和防控提供参考。

3 雪貂模型在 IAV 传播上的应用

流感病毒的传播主要有三种形式,即接触传

播、飞沫传播和空气传播。接触传播主要是指易感宿主直接或间接地接触到传染源的感染性分泌物,导致易感宿主发病;飞沫传播是指传染源咳嗽、打喷嚏或说话喷射出直径大于 5 μm 的小液滴,这些小液滴被易感宿主吸入到呼吸道黏膜,引起易感宿主发病;空气传播是指直径小于 5 μm 的干燥气溶胶,在空气中做布朗运动,可长距离传播,一旦被易感宿主吸入到呼吸道,即引发感染。一般利用雪貂模型研究 IAV 的接触传播和飞沫传播能力,尤其是研究飞沫传播能力应用最广泛,以此来评估季节性流感和禽流感病毒的人际间流行的风险^[31-32]。

IAV 由结合 $\alpha 2, 3\text{-SA}$ (禽源受体)受体向结合 $\alpha 2, 6\text{-SA}$ (人源受体)受体的转换通常被认为是 IAV 获得人与人之间传播能力并引发流感大流行的必要条件^[15]。禽流感病毒主要结合 $\alpha 2, 3\text{-SA}$ (禽源受体)受体,而人流感病毒主要结合 $\alpha 2, 6\text{-SA}$ (人源受体)受体,雪貂的上呼吸道黏膜表达有大量 $\alpha 2, 6\text{-SA}$ (人源受体)受体,这与人上呼吸道类似,而 $\alpha 2, 3\text{-SA}$ (禽源受体)受体则主要在下呼吸道表达,因此 HA 的受体结合特性在一定程度上决定了 IAV 能否在雪貂间飞沫传播。不同宿主 IAV HA 受体结合区域(receptor binding site, RBS)的氨基酸残基都很保守,而不同亚型 IAV 的受体结合特性又各不相同,即便是相同亚型,不同宿主来源也存在差异^[33]。Tumpey 等^[34]将 1918 H1N1 流感病毒株 SC18 的 HA 上引入 D190E 和 D225G 两个氨基酸突变后,病毒由结合 $\alpha 2, 6\text{-SA}$ 受体转变为结合 $\alpha 2, 3\text{-SA}$ 受体,雪貂飞沫传播由 3 传 3 变为 3 传 0,仅 HA 蛋白上两个氨基酸的突变即可以使病毒在雪貂上由高效飞沫传播变为不传播,由此可见 HA 受体结合特性在飞沫传播中的重要性。2013 年中国出现的低致病性 H7N9 流感病毒(LPAIV H7N9)可以同时结合人源受体和禽源受体^[27],分析这些病毒的 HA,发现 186 缬氨酸(V)和 226 位亮氨酸(L)是导致 LPAI H7N9 具备结合人源受体的关键氨基酸^[35]。LPAIV H7N9 在雪貂上的传播能力具有毒株特异性,不同毒株在雪貂上飞沫传播的效率也不相同^[27, 36-37]。

流感病毒 PB2 上的 E627 K 和 D701 N 的突变也能够促进病毒在雪貂间的飞沫传播。Shi 等^[10]将分离到的高致病性 H7N9 流感病毒 CK/SD008 接种雪貂,仅在一只传播组雪貂鼻洗液中分离到了低滴度病毒,传播能力较低;而当接种 CK/SD008-PB2/627 K 毒株时,三只传播组雪貂均分离到了病毒,高

效飞沫传播;而接种 CK/SD008-PB2/701 N 毒株时,两只传播组雪貂可以分离到病毒,另一只雪貂血清转阳,表明三只雪貂也均发生飞沫传播。Imai 等^[29]评估了一株人源高致病性 H7N9 分离株(GD/3) 及其 NA 突变株 rGD/3-NA294R 和 rGD/3-NA294 K 在雪貂上的飞沫传播能力,三株病毒均可以在雪貂间飞沫传播。这三株病毒均不含 PB2 627 K 和 701 N,但是 588 位点为 V,有研究表明 PB2 588 V 是哺乳动物适应性氨基酸^[30],但是该位点是否是导致这三株病毒发生飞沫传播的主导因素仍需进一步的实验研究。

IAV 能否发生飞沫传播,是由病毒、宿主和环境多因素决定的。低温和干燥可以促进 IAV 的飞沫传播能力^[38],而飞沫液滴大小也对飞沫传播具有影响。通过设计不同的实验,控制实验变量,可以利用雪貂模型评估不同因素对飞沫传播的影响。雪貂评估 IAV 的传播能力可以有效预测 IAV 在人际间的传播潜力^[32],从而为流感大流行提供预警,为制订防控措施提供参考。

4 雪貂模型在 IAV 疫苗评估方面的应用

疫苗在 IAV 的防控中发挥着重要的作用^[39-40],而选择合适的动物模型来评估疫苗的安全性和免疫原性对于疫苗的研发至关重要。由于雪貂模型在 IAV 研究中的优异表现,因此利用雪貂模型来评估流感疫苗的免疫保护效力在疫苗研究中应该十分广泛。

Kong 等^[41]构建了一株冷适应性弱毒活疫苗 H7N9/AAca,该疫苗免疫雪貂后血凝抑制效价和中和效价均较高,一次免疫就可以阻止病毒在雪貂下呼吸道复制,二次免疫可以完全阻止病毒在雪貂体内复制,而一次免疫就可以阻止病毒的呼吸道飞沫传播。Chen 等^[42]构建的 H7N9 ca 疫苗株在雪貂上有良好的免疫原性,单次免疫就可以保护野生型病毒 A/Anhui/1/2013 (H7N9)和异源 A/Netherlands/219/2003 (H7N7)的攻毒感染。Hatta 等^[43]构建了一株 H7N9 灭活疫苗株 HK125-HYPR8,肌肉注射免疫雪貂,攻毒保护实验表明该疫苗可以阻止病毒在雪貂下呼吸道复制,并能使上呼吸道的病毒较快清除,而对照组雪貂因出现严重的呼吸道症状死亡。Wang 等^[44]利用转座子诱变系统向 M2 基因插入了 6 个氨基酸,构建了一株减毒活疫苗 W7-791,该疫苗免疫小鼠和雪貂后,可以对 H1N1、H3N2 和

H5N1 的攻毒提供完全保护。Rudenko 等^[45]评估了一株 LPAI H7N9 和一株 HPAIV H7N9 疫苗,疫苗免疫雪貂后不表现临床症状,病毒学和病理学数据表明疫苗对雪貂安全性良好,一次免疫即可刺激机体产生较好的免疫原性。这些研究表明,无论是减毒活疫苗还是灭活疫苗,均可以用雪貂模型来评估其安全性和免疫原性,进而为疫苗在志愿者身上的应用提供参考,为疫苗研发提供了良好的保障。

5 结语与展望

一直以来 IAV 引起的流感都是对人类健康和养殖业具有严重威胁的人兽共患病。病毒持续进化,不断有新的 IAV 亚型感染人病例的报道^[7, 46-47],严重威胁着人类的健康。同时高致病性 H5 亚型流感病毒和高致病性 H7 亚型流感病毒在鸡群中的爆发,对社会造成了巨大的经济损失。H9 亚型流感病毒感染人病例只有零星报道^[48-49],但是 H9 亚型流感病毒在家禽中广泛流行,它可以为其他亚型 IAV 的重组提供内部基因^[50-51],这使得其危害性不容小觑。雪貂模型由于其对不同亚型的 IAV 易感性强,感染 IAV 后表现出与人相似的临床症状,呼吸道受体分布与人类似等诸多优点,在 IAV 研究中广泛应用。IAV 在哺乳动物体内复制时基因会发生适应性突变,利用雪貂模型评估病毒的基因突变能力和致病性,可以为病毒在人上的致病性提供预警。IAV 在人际间的传播能力受病毒、宿主和环境多种因素的影响,利用雪貂模型评估 IAV 的呼吸道飞沫传播能力,为 IAV 可能发生的人际间传播提供了参考。雪貂接种 IAV 疫苗后,产生高滴度抗体,快速清除病毒,有效保护机体。同时疫苗可以阻断病毒在免疫后雪貂上的飞沫传播能力。这些研究都为我们深入认识和防控 IAV 提供了依据,为预防流感大流行提供了坚实的保障。雪貂模型在 IAV 的研究中广泛应用,但是基于雪貂模型的基础研究仍进展缓慢。目前,雪貂全基因组的测定为进一步开展宿主方面的研究提供了保障,但是针对雪貂免疫因子的检测试剂及相关抗体仍很难获得,一定程度上限制了雪貂在研究 IAV 方面的应用。由此可见,雪貂模型距离像小鼠模型一样成熟仍有很长的一段路要走。

参 考 文 献(References)

- [1] Chen WS, Calvo PA, Malide D, et al. A novel influenza A virus mitochondrial protein that induces cell death [J]. Nat Med, 2001, 7(12): 1306-1312.

- [2] Wise HM, Foeglein A, Sun J, et al. A complicated message: Identification of a novel PB1-related protein translated from influenza A virus segment 2 mRNA [J]. *J Virol*, 2009, 83(16): 8021-8031.
- [3] Jagger BW, Wise HM, Kash JC, et al. An overlapping protein-coding region in influenza A virus segment 3 modulates the host response [J]. *Science*, 2012, 337(6091): 199-204.
- [4] Muramoto Y, Noda T, Kawakami E, et al. Identification of novel influenza A virus proteins translated from pa mRNA [J]. *J Virol*, 2013, 87(5): 2455-2462.
- [5] Wise HM, Hutchinson EC, Jagger BW, et al. Identification of a novel splice variant form of the influenza A virus M2 ion channel with an antigenically distinct ectodomain [J]. *PLoS Pathog*, 2012, 8(11): e1002998.
- [6] Selman M, Dankar SK, Forbes NE, et al. Adaptive mutation in influenza A virus non-structural gene is linked to host switching and induces a novel protein by alternative splicing [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2012, 1(11): e42.
- [7] 傅伟杰, 胡茂红, 刘晓青, 等. 江西省 1 例 H10N8 禽流感重症肺炎病例回顾性分析 [J]. *中国公共卫生*, 2014, 30(06): 818-819.
Fu WJ, Hu MH, Liu XQ, et al. Retrospective analysis of a case of severe pneumonia caused by H10N8 avian influenza in Jiangxi Province [J]. *Chin J Public Health*, 2014, 30(6): 818-819.
- [8] Chen Y, Liang WF, Yang SG, et al. Human infections with the emerging avian influenza A H7N9 virus from wet market poultry: clinical analysis and characterisation of viral genome [J]. *Lancet*, 2013, 381(9881): 1916-1925.
- [9] World Health Organization. Monthly Risk Assessment Summary. http://www.who.int/influenza/human_animal_interface/HAI_Risk_Assessment/en/.
- [10] Shi JZ, Deng GH, Kong HH, et al. H7N9 virulent mutants detected in chickens in China pose an increased threat to humans [J]. *Cell Res*, 2017, 27(12): 1409-1421.
- [11] Thangavel RR, Bouvier NM. Animal models for influenza virus pathogenesis, transmission, and immunology [J]. *J Immunol Methods*, 2014, 410:60-79.
- [12] Sally DA, Taubenberger JK, Bray M. The use of nonhuman primates in research on seasonal, pandemic and avian influenza, 1893-2014 [J]. *Antiviral Res*, 2015, 117:75-98.
- [13] 邓少嫦, 张钰, 黄韧. 禽流感的哺乳类动物模型研究进展 [J]. *中国比较医学志*, 2009, 19(12): 40-43+75.
Deng SC, Zhang Y, Huang R, et al. Advances in research on animal models for H5N1 avian influenza [J]. *Chin J Comp Med*, 2009, 19(12): 40-43+75.
- [14] Belser JA, Tumpey TM. H5N1 pathogenesis studies in mammalian models [J]. *Virus Res*, 2013, 178(1): 168-185.
- [15] de Graaf M, Fouchier RA. Role of receptor binding specificity in influenza A virus transmission and pathogenesis [J]. *EMBO J*, 2014, 33(8): 823-841.
- [16] Matsuoka Y, Lamirande EW, Subbarao K. The ferret model for influenza [J]. *Curr Protoc Microbiol*, 2009, Chapter 15: Unit 15G.2.
- [17] 邓巍, 许黎黎, 鲍琳琳, 等. 雪貂感染 H7N9 禽流感病毒动物模型的建立 [J]. *中国比较医学杂志*, 2014, 24(1): 68-71+14.
Deng W, Xu LL, Bao LL, et al. The ferret models for studying the novel avian-origin human influenza A (H7N9) virus [J]. *Chin J Comp Med*, 2014, 24(1): 68-71+14.
- [18] 张涛, 徐娟, 杨凤梅, 等. 流感病毒感染雪貂的标准化操作程序建立 [J]. *动物医学进展*, 2014, 35(10): 25-29.
Zhang T, Xu J, Yang TM, et al. Standard operation procedures of Influenza virus infection model in ferret [J]. *Progr Vet Med*, 2014, 35(10): 25-29.
- [19] Peng XX, Alfoldi J, Gori K, et al. The draft genome sequence of the ferret (*Mustela putorius furo*) facilitates study of human respiratory disease [J]. *Nat Biotechnol*, 2014, 32(12): 1250-1255.
- [20] Ryan KA, Slack GS, Marriott AC, et al. Cellular immune response to human influenza viruses differs between H1N1 and H3N2 subtypes in the ferret lung [J]. *PLoS One*, 2018, 13: e0202675.
- [21] Sun HL, Kaplan BS, Guan MH, et al. Pathogenicity and transmission of a swine influenza A (H6N6) virus [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2017, 6: e17.
- [22] Li XY, Shi JZ, Guo J, et al. Genetics, receptor binding property, and transmissibility in mammals of naturally isolated H9N2 avian influenza viruses [J]. *PLoS Pathog*, 2014, 10: e1004508.
- [23] Peng BH, Yun N, Chumakova O, et al. Neuropathology of H5N1 virus infection in ferrets [J]. *Vet Microbiol*, 2012, 156(3-4): 294-304.
- [24] Herfst S, Mok CKP, van den Brand JMA, et al. Human clade 2.3.4.4 A/H5N6 influenza virus lacks mammalian adaptation markers and does not transmit via the airborne route between ferrets [J]. *mSphere*, 2018, 3: e00405-17.
- [25] Noh JY, Lee DH, Yuk SS, et al. Limited pathogenicity and transmissibility of Korean highly pathogenic avian influenza H5N6 clade 2.3.4.4 in ferrets [J]. *Transbound Emerg Dis*, 2018, 65(4): 923-926.
- [26] Pulit-Penalzo JA, Sun XJ, Creager HM, et al. Pathogenesis and transmission of novel highly pathogenic avian influenza H5N2 and H5N8 viruses in ferrets and mice [J]. *J Virol*, 2015, 89(20): 10286-10293.
- [27] Zhang QY, Shi JZ, Deng GH, et al. H7N9 influenza viruses are transmissible in ferrets by respiratory droplet [J]. *Science*, 2013, 341(6144): 410-414.
- [28] Watanabe T, Kiso M, Fukuyama S, et al. Characterization of H7N9 influenza A viruses isolated from humans [J]. *Nature*, 2013, 501(7468): 551-555.
- [29] Imai M, Watanabe T, Kiso M, et al. A highly pathogenic avian H7N9 influenza virus isolated from a human is lethal in some ferrets infected via respiratory droplets [J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 22(5): 615-626.e618.

- [30] Xiao CC, Ma WJ, Sun N, et al. PB2-588 V promotes the mammalian adaptation of H10N8, H7N9 and H9N2 avian influenza viruses [J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 19474.
- [31] Zhou J, Wei JJ, Choy KT, et al. Defining the sizes of airborne particles that mediate influenza transmission in ferrets [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 2018, 115(10): 2386-2392.
- [32] Buhnerkempe MG, Gostic K, Park M, et al. Mapping influenza transmission in the ferret model to transmission in humans [J]. *elife*, 2015, 4: e07969.
- [33] Stevens J, Blixt O, Tumpey TM, et al. Structure and receptor specificity of the hemagglutinin from an H5N1 influenza virus [J]. *Science*, 2006, 312(5772): 404-410.
- [34] Tumpey TM, Maines TR, Van Hoeven N, et al. A two-amino acid change in the hemagglutinin of the 1918 influenza virus abolishes transmission [J]. *Science*, 2007, 315(5812): 655-659.
- [35] Xiong XL, Martin SR, Haire LF, et al. Receptor binding by an H7N9 influenza virus from humans [J]. *Nature*, 2013, 499(7459): 496-499.
- [36] Richard M, Schrauwen EJA, de Graaf M, et al. Limited airborne transmission of H7N9 influenza A virus between ferrets [J]. *Nature*, 2013, 501(7468): 560-563.
- [37] Zhu H, Wang D, Kelvin DJ, et al. Infectivity, transmission, and pathology of human-isolated H7N9 influenza virus in ferrets and pigs [J]. *Science*, 2013, 341(6142): 183-186.
- [38] Lowen AC, Mubareka S, Steel J, et al. Influenza virus transmission is dependent on relative humidity and temperature [J]. *PLoS Pathog*, 2007, 3(10): 1470-1476.
- [39] Shi JZ, Deng GH, Ma SJ, et al. Rapid evolution of H7N9 highly pathogenic viruses that emerged in China in 2017 [J]. *Cell Host Microbe*, 2018, 24(4): 558-568.
- [40] Yang W, Yin X, Guan L, et al. A live attenuated vaccine prevents replication and transmission of H7N9 highly pathogenic influenza viruses in mammals [J]. *Emerg Microbes Infect*, 2018, 7(1): 153.
- [41] Kong HH, Zhang QY, Gu CY, et al. A live attenuated vaccine prevents replication and transmission of H7N9 virus in mammals [J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 11233.
- [42] Chen ZY, Baz M, Lu J, et al. Development of a high-yield live attenuated H7N9 influenza virus vaccine that provides protection against homologous and heterologous H7 wild-type viruses in ferrets [J]. *J Virol*, 2014, 88(12): 7016-7023.
- [43] Hatta M, Zhong GX, Chiba S, et al. Effectiveness of whole, inactivated, low pathogenicity influenza A (H7N9) vaccine against antigenically distinct, highly pathogenic H7N9 virus [J]. *Emerg Infect Dis*, 2018, 24(10): 1910-1913.
- [44] Wang LL, Liu SY, Chen HW, et al. Generation of a live attenuated influenza vaccine that elicits broad protection in mice and ferrets [J]. *Cell Host & Microbe*, 2017, 21(3): 334-343.
- [45] Rudenko L, Kiseleva I, Krutikova E, et al. Two live attenuated vaccines against recent low and highly pathogenic H7N9 influenza viruses are safe and immunogenic in ferrets [J]. *Vaccines*, 2018, 6(4): pii: E74.
- [46] Wei SH, Yang JR, Wu HS, et al. Human infection with avian influenza A H6N1 virus: an epidemiological analysis [J]. *Lancet Respir Med*, 2013, 1(10): 771-778.
- [47] Zhang RS, Chen TM, Ou XH, et al. Clinical, epidemiological and virological characteristics of the first detected human case of avian influenza A(H5N6) virus [J]. *Infect Genet Evol*, 2016, 40: 236-242.
- [48] 郭元吉, 李建国, 程小雯, 等. 禽 H9N2 亚型流感病毒能感染人的发现 [J]. *中华实验和临床病毒学杂志*, 1999, 13(2): 105-108.
- Guo YJ, Li JG, Cheng XW, et al. Discovery of men infected by avian influenza A (H9N2) virus [J]. *Chin J Exp Clin Virol*, 1999, 13(2): 105-108.
- [49] Butt KM, Smith GJ, Chen HL, et al. Human infection with an avian H9N2 influenza A virus in Hong Kong in 2003 [J]. *J Clin Microbiol*, 2005, 43(11): 5760-5767.
- [50] Shi JZ, Deng GH, Liu PH, et al. Isolation and characterization of H7N9 viruses from live poultry markets — Implication of the source of current H7N9 infection in humans [J]. *Chin Sci Bull*, 2013, 58(16): 1857-1863.
- [51] Liu D, Shi WF, Shi Y, et al. Origin and diversity of novel avian influenza A H7N9 viruses causing human infection: phylogenetic, structural, and coalescent analyses [J]. *Lancet*, 2013, 381(9881): 1926-1932.

[收稿日期] 2018-09-28